

Идентификация сигнала ядерной локализации белка, кодируемого вирус-индуцируемым геном ViB3 *Nicotiana benthamiana***Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна***Савченко Я.Ю.¹, Ершова Н.М.²*

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: yana_savchenko_sych@mail.ru*; 2 - Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, *E-mail: ershovanatalie@gmail.com*

Развитие вирусного патогенеза в растениях сопровождается обширным изменением паттерна экспрессии генов, что меняет белковый состав клетки. При заражении вирусом табачной мозаики модельного растения *Nicotiana benthamiana* нами было обнаружено повышение экспрессии гена, кодирующего белок, который согласно биоинформатическому анализу содержит ДНК-связывающий домен В3 и предположительно является транскрипционным фактором. Белок был назван NbViB3 (*N. benthamiana* virus-induced B3 domain-containing protein). Транскрипционные факторы, содержащие В3 домены, регулируют экспрессию различных генов и влияют на такие биологические процессы, как рост, развитие, гормональные ответы и углеводный обмен [1]. Однако роль NbViB3 на фоне вирусного патогенеза неизвестна. Поэтому целью работы было охарактеризовать свойства нового клеточного фактора NbViB3 *N. benthamiana*. В исследовании использованы следующие методы: (1) биоинформационный анализ для изучения структурной организации белка NbViB3 и обнаружения сигнала ядерной локализации (NLS); (2) молекулярное клонирование для получения генноинженерных конструкций; (3) агробактериальная трансформация клеток листьев с последующей флуоресцентной микроскопией; (4) бимолекулярная комплементация флуоресценции (BiFC) для подтверждения взаимодействия NbViB3 с маркерами субъядерных структур; (5) вестерн-блот анализ. Были получены экспрессионные векторы, для продукции NbViB3 и его вариантов, слитых с GFP или фрагментами YFP, в растениях. Анализ внутриклеточной локализации NbViB3, слитого с GFP, показал скопление белка в ядрах. Использование метода BiFC позволило выявить локализацию NbViB3 в субъядерных структурах и взаимодействие с фибриларином, маркером ядрышка. С помощью сервиса NLSExplorer (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/NLSexplorer>) и cNLS Mapper (https://nls-mapper.iab.keio.ac.jp/cgi-bin/NLS_Mapper_form.cgi) был выявлен NLS в С-концевом фрагменте NbViB3. Делеция NLS, содержащего четыре остатка аргинина, привела к изменению паттерна распределения флуоресцентного сигнала, испускаемого GFP:NbViB3^{del4R}: белок был детектирован преимущественно по периферии клетки. Вестерн-блот анализ белков, выделенных из листьев, экспрессирующих GFP:NbViB3 и GFP:NbViB3^{del4R}, подтвердил стабильность соответствующих белков и их локализацию во фракции, обогащенной белками ядра, но также оба варианта GFP:NbViB3 были детектированы и во фракциях, обогащенных белками клеточной стенки и эндоплазматических структур. Таким образом, было показано, что (1) NbViB3 локализуется в ядре, (2) ко-локализуется и взаимодействует с фибриларином, маркером ядрышка, (3) имеет сигнал ядерной локализации.

Работа выполнена при поддержке РНФ № 19-74-20031.

Источники и литература

- 1) Swaminathan K., Peterson K., Jack T. The plant B3 superfamily // Trends in plant science. – 2008. – Т. 13. – №. 12. – С. 647-655.