

Сайленсинг генов AKR2 в растениях *Nicotiana benthamiana*

Научный руководитель – Соловьев Андрей Геннадьевич

Селифонов Игорь Владимирович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: slfn@inbox.ru

Жизненный цикл вирусов растений включает их межклеточный транспорт через плазмодесмы – регулируемые каналы, соединяющие клетки растения в единый симпласт. В процессе эволюции вирусы приобрели гены, продукты которых обеспечивают транспорт вирусного генома через плазмодесмы и носят название транспортных белков [2]. Одним из хорошо изученных примеров генов транспортных белков вирусов растений является тройной блок генов (TGB) X-вируса картофеля (PVX), кодирующий белки TGB1, TGB2, и TGB3.

Ранее путем скрининга с использованием дрожжевой двугибридной системы было выяснено, что белок TGB2 взаимодействует с продуктами трех близкородственных генов *Nicotiana tabacum*, гомологичных генам AKR2 *Arabidopsis thaliana*. В свою очередь, эти белки связываются с β -1,3-глюканазой – ферментом, потенциально задействованным в регуляции пропускной способности плазмодесм посредством гидролиза каллозы. Авторы выдвинули предположение, что белки AKR2 используются вирусом для облегчения его межклеточного транспорта [1].

С целью валидации предложенного механизма был проведен вирус-индуцированный сайленсинг генов AKR2 в *Nicotiana benthamiana*. Биоинформатический анализ выявил наличие трех гомологов AKR2 в геноме растения. Участок их наибольшего сходства был амплифицирован и клонирован в вектор на основе вируса погрешковости табака (TRV). Полученная конструкция была введена в растения *N. benthamiana* методом агроинфильтрации. В растения контрольной группы была доставлена сходная конструкция, содержащая фрагмент гена GFP вместо участка AKR2. Через 12 дней после инфильтрации в образцах листьев шести растений (по три из каждой группы) были измерены уровни экспрессии исследуемых генов методом RT-qPCR с нормализацией на ген F-box-белка. В опытной группе относительная экспрессия исследуемых генов была снижена в среднем на 86% по сравнению с контрольной, это отличие было статистически достоверным. Также было отмечено, что растения с сайленсингом генов AKR2 отличались некоторой задержкой роста и хлоротической пятнистостью верхних листьев.

Растения со сниженным уровнем экспрессии AKR2 будут использованы для анализа эффективности межклеточного транспорта PVX и внутриклеточной локализации транспортных белков.

Источники и литература

- 1) Fridborg I., Grainger J., Page A., Coleman M., Findlay K., Angell S. TIP, a novel host factor linking callose degradation with the cell-to-cell movement of Potato virus X // Mol Plant Microbe Interact. 2003, №16(2). p. 132-140.
- 2) Heinlein M. Plant virus replication and movement // Virology. 2015, №479-480. p. 657-671.