

Исследование экспрессии генов тауматиноподобных белков *Filipendula ulmaria* в ответ на заражение *Bipolaris sorokiniana* с использованием глубокого секвенирования транскриптомов

Е.А. Истомина*, Т.И. Одинцова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук, Москва, Россия

* mer06@yandex.ru

Для защиты от биотического стресса растения в ходе эволюции выработали множественные защитные механизмы, одним из которых является синтез белков, связанных с патогенезом – PR-белков (Pathogenesis-Related proteins). По гомологии структуры и сходству выполняемых функций выделяют 18 семейств PR-белков. Одно из них – PR5, включает тауматиноподобные белки (ТПБ). ТПБ представляют собой эволюционно консервативное семейство белков, которые участвуют в защите растений от разных видов стресса. ТПБ – это низкомолекулярные белки, устойчивые к действию протеаз и денатурации, вызванной изменением pH или температуры, что связано с наличием 8 дисульфидных связей в их молекулах. ТПБ обладают противогрибковыми свойствами, связываясь с β -1,3-глюканами гриба, они нарушают синтез клеточной стенки.

Filipendula ulmaria – таволга вязолистная (семейство Розовые), является ценным лекарственным растением, которое широко используется в нетрадиционной медицине благодаря своим противовоспалительным, обезболивающим, ранозаживляющим и противомикробным свойствам. Детерминанты противомикробных свойств белковой природы у таволги не изучены.

Цель настоящей работы состояла в обнаружении генов ТПБ у таволги и исследовании их экспрессии в ответ на заражение грибом *Bipolaris sorokiniana* через 24 и 48 ч после заражения с использованием глубокого секвенирования транскриптомов.

Методы: Был проведен транскриптомный анализ растений таволги после заражения *B. sorokiniana*. Для проведения эксперимента использовали 4 образца растительной ткани в двух технических повторностях: 2 зараженных *B. sorokiniana* и 2 контрольных образца через 24 и 48 ч после инокуляции патогеном или водой соответственно. Секвенирование транскриптомов проводили на приборе Illumina NextSeq 500. Сборка транскриптомов осуществлялась с помощью программы maSpades v3.15.4. Программу TransDecoder v5.5.0. использовали для определения открытых рамок считывания в контигах. Для выявления тауматиноподобных белков в полученных транскриптомных данных использовали в качестве модели консервативные мотивы ТПБ из базы данных NCBI CDD. Все обнаруженные последовательности были проверены на наличие консервативных мотивов с помощью программы InterProScan. Изоэлектрические точки и молекулярные массы определяли с помощью программы ProtParam, область сигнального пептида – с помощью программы SignalP 4.1. Для установления субклеточной локализации использовали программу Cell-PLoc 2.0.

Результаты: В результате транскриптомного анализа *F. ulmaria* после заражения *B. sorokiniana* через 24 и 48 ч после заражения было выявлено 12 генов, кодирующих тауматиноподобные белки. Все обнаруженные белки имели гомологию с ТПБ семейства Розовые, процент гомологии составлял от 75 до 95%. Длина обнаруженных ТПБ составляла от 219 до 317 ак; молекулярная масса варьировала от 23 до 35 кДа; значения pI белков составлял от 4,3 до 8,4. У 11 ТПБ предсказано наличие сигнальной последовательности, длина которой была от 19 до 28 ак. Было установлено, что 7 обнаруженных ТПБ локализируются в цитоплазме, а 5 – в вакуолях. При изучении дифференциальной экспрессии генов ТПБ в ответ на заражение растений таволги *B. sorokiniana* было обнаружено, что у 6 генов из 12 экспрессия достоверно менялась в ответ на заражение ($|\log_2\text{FoldChange}| > 1$, $p < 0,05$). Через 24 ч после обработки патогеном у двух генов экспрессия падала ($-1,44 < \log_2\text{FoldChange} < -1,12$), а у одного гена возрастала ($\log_2\text{FoldChange} = 1,45$) по сравнению с контролем. Через 48 ч после обработки растений патогеном экспрессия трех генов возрастала ($1,0 < \log_2\text{FoldChange} < 1,6$).

Выводы: В транскриптомах таволги в ответ на заражение грибом *B. sorokiniana* было выявлено 12 генов тауматиноподобных белков. Экспрессия четырех генов возрастала в ответ на инфекцию, у двух генов экспрессия падала, экспрессия остальных генов не менялась в ответ на заражение. Полученные результаты свидетельствуют о сложной регуляции экспрессии генов ТПБ у таволги и их различной роли в инфекционном процессе и защите от грибного патогена *B. sorokiniana*.