

Ксилоглюкан эндотрансглюкозилаза/гидролаза 19 *Nicotiana benthamiana* влияет на межклеточный транспорт макромолекул

К.А. Камарова^{1*}, Н.М. Ершова¹, Е.В. Шешукова¹, А.А. Антимонова^{1,2}, Т.В. Комарова^{1,2}

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

* kamila.kamarova@yandex.ru

doi 10.18699/PlantGen2025-

Цель: Влияние как биотических, так и абиотических факторов окружающей среды запускает в растениях биологические механизмы, способствующие координированному ответу растений на стресс. Важнейшую роль в таком ответе играет межклеточный транспорт. Клетки растений соединены между собой плазмодесмами (ПД), каналами, с помощью которых осуществляется транспорт как низкомолекулярных веществ, так и макромолекул. ПД имеют ограниченную и строго регулируемую пропускную способность, при этом апертюра ПД может изменяться в результате прямого или опосредованного воздействия клеточных белков, а также изменения уровня экспрессии целого ряда генов. Целью данной работы было определение роли ксилоглюкан эндотрансглюкозилазы/гидролазы 19 *Nicotiana benthamiana* (NbXTH19) в регуляции межклеточного транспорта макромолекул.

Материалы и методы: Оценку межклеточного транспорта макромолекул проводили при использовании конструкции 35S-2xGFP, кодирующей двукратную молекулу зеленого флуоресцентного белка, которая в норме не способна перемещаться из клетки в клетку. Для наблюдения за распространением BTM использовали вирусный вектор BTM:GFP, в котором ген белка оболочки был заменен на ген *GFP*. Доставку в клетки листьев генетического материала осуществляли методом инфильтрации трансформированными штаммами *Agrobacterium tumefaciens*. Ранее были получены генноинженерные конструкции 35S-NbXTH19 и 35S-NbXTH19mut для суперэкспрессии гена *NbXTH19* и его варианта с мутацией, *NbXTH19mut* (Шешукова и др., 2024). Обе конструкции содержали последовательность конститутивного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты.

Результаты: Белки класса ксилоглюкан эндотрансглюкозилаз/гидролаз принимают активное участие в ответах на стрессовые воздействия, следовательно, могут быть вовлечены в регуляцию межклеточного транспорта. Для проверки этого предположения была проведена оценка эффективности распространения из клетки в клетку репортерной молекулы двукратного GFP (2xGFP) на фоне суперэкспрессии гена, кодирующего ксилоглюкан эндотрансглюкозилазу/гидролазу 19 *N. benthamiana* (NbXTH19). Повышенная экспрессия *NbXTH19* приводит к активации межклеточного транспорта: при ко-экспрессии 35S-2xGFP с 35S-NbXTH19 доля 1-клеточных кластеров, содержащих 2xGFP, падает по сравнению с контролем (ко-экспрессии 35S-2xGFP с вектором pCambia), а доля многоклеточных кластеров, состоящих из 2, 3 или более клеток, возрастает. Ранее показано, что NbXTH19 подвергается N-гликозилированию по остатку аспарагина в положении 114 [1]. Его вариант NbXTH19mut с заменой Asn114 на аланин не является гликопротеином. Так как отсутствие посттрансляционных модификаций может влиять на корректный фолдинг и функциональную активность белка, была проведена оценка влияния суперэкспрессии *NbXTH19mut* на распространение 2xGFP. Оказалось, что эффект повышенной экспрессии *NbXTH19mut* в отношении межклеточного транспорта макромолекул не отличается от эффекта, наблюдаемого при использовании 35S-NbXTH19.

Вирусы используют ПД для распространения по ткани, этот этап необходим для успешного развития инфекции. При этом ранее было показано, что экспрессия *NbXTH19* [2] повышается при заражении вирусом. Для проверки гипотезы о влиянии NbXTH19 на распространение вирусной инфекции была проведена оценка эффективности ближнего транспорта BTM:GFP. Показано, что при ко-экспрессии BTM:GFP с 35S-NbXTH19 или 35S-NbXTH19mut наблюдается тенденция к увеличению доли фокусов большего размера по сравнению с контрольной комбинацией (BTM:GFP+pCambia).

Выводы: Повышенная экспрессия *NbXTH19* стимулирует межклеточный транспорт макромолекул и способствует распространению вирусной инфекции по ткани, при этом наличие сайта гликозилирования N114 не является ключевым для реализации этой функции NbXTH19.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 19-74-20031, <https://rscf.ru/project/19-74-20031/>.

Список литературы

- 1 Шешукова Е.В., Ершова Н.М., Антимонова А.А., Камарова К.А., Комарова Т.В. Сборник тезисов XI Международной конференции молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины. Разд. V. 2024;573-574
- 2 Ershova N., Sheshukova E., Kamarova K., Arifulin E., Tashlitsky V., Serebryakova M., Komarova T. *Front Plant Sci.* 2022;13:1041867