

Особенности активации экспрессии гена *ViB3 Nicotiana benthamiana*

Т.В. Комарова^{1,2*}, А.Р. Алимова^{1,2}, Я.Ю. Савченко³, Е.В. Шешукова¹, К.А. Камарова¹, Н.М. Ершова¹

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

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва Россия

³ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

* t.komarova@belozersky.msu.ru

Цель: Исследование механизмов регуляции экспрессии гена *ViB3 Nicotiana benthamiana* в условиях вирусной инфекции.

Материалы и методы: Последовательность промоторной области гена *ViB3 N. benthamiana* идентифицирована по базе данных SolGenomicsNetwork (<https://solgenomics.net/>). Для амплификации и получения генноинженерных конструкций на основе промотора *ViB3* использованы стандартные методы молекулярного клонирования. Анализ уровня экспрессии генов осуществляли с помощью количественной ПЦР, предваряемой обратной транскрипцией. Доставку генетического материала в клетки листьев *N. benthamiana* проводили при использовании *Agrobacterium tumefaciens*, штамм GV3101, путем инфильтрации. Растения с системной инфекцией вируса табачной мозаики (ВТМ) и Y вируса картофеля (YBK) получали при использовании инокулюма, содержащего вирусные частицы. Для заражения растений ВТМ крестоцветных (крВТМ) и X вирусом картофеля использовали соответствующие плазмиды, кодирующие инфекционную копию вируса, которые доставляли в клетки нижних листьев растений с помощью агроинфильтрации.

Результаты: В ответ на инфекцию ВТМ запускается экспрессия множества генов, среди которых в растении *N. benthamiana* был идентифицирован ген *ViB3* (virus-induced B3 domain containing), кодирующий ядерный белок. Согласно биоинформатическому анализу белок ViB3 относится к семейству транскрипционных факторов, содержащих ДНК-связывающие B3 домены. Члены этого семейства играют важную роль в различных процессах роста и развития растений [2]. В геноме *N. benthamiana* с помощью сравнительного анализа были идентифицированы гены, кодирующие белки, содержащие домен(ы) B3. Эти белки были классифицированы на четыре подсемейства на основе их филогенетических связей, а именно: ARF, RAV, LAV и REM. ViB3 относится к наиболее многочисленному, но наименее изученному подсемейству REM. В составе ViB3 обнаружено два домена B3, а также предположительный сигнал ядерной локализации. Ранее нами было показано, что экспрессия *ViB3* активируется в сотни раз в ответ на системную инфекцию ВТМ [1]. В настоящей работе мы продемонстрировали, что *ViB3* индуцируется и при системной инфекции вирусами других таксономических групп, а именно, Potexviridae (X вирус картофеля) и Potyviridae (Y вирус картофеля). Кроме того, при инфекции родственным ВТМ тобамовирусом (крВТМ) наблюдается повышение экспрессии *ViB3* в 40–50 раз. Повышение уровня накопления мРНК гена как правило связано с активацией промотора. Поэтому была проанализирована последовательность, расположенная перед кодирующей областью ViB3, и при использовании репортерного гена показано, что она выполняет функцию промотора. В составе ПрViB3 обнаружены регуляторные элементы, которые задействованы при ответах на стрессы и в защитных реакциях растения, в том числе чувствительные к салициловой кислоте, играющей существенную роль в антивирусной защите.

Выводы: Экспрессия *ViB3 N. benthamiana* активируется в ответ на заражение вирусами разных таксономических групп. ПрViB3 содержит *цис*-элементы, функционирование которых связано со стрессовыми условиями, в том числе с воздействием биотических факторов. Белок ViB3 принадлежит к подсемейству REM семейства транскрипционных факторов, содержащих домен B3.

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

Список литературы

- 1 Мавренкова К.А., Комарова Т.В., Ершова Н.М. Новый клеточный фактор *Nicotiana benthamiana*, содержащий ДНК-связывающий домен B3, подавляет развитие тобамовирусной инфекции. В: Международный конгресс «VIII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы». Санкт-Петербург, 2024;387
- 2 Swaminathan K., Peterson K., Jack T. *Trends Plant Sci.* 2008;13:647-655