

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-175

**ВИРУС-ИНДУЦИРУЕМЫЙ ФАКТОР KPILP NICOTIANA TABACUM СТИМУЛИРУЕТ
МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ МАКРОМОЛЕКУЛ*****NICOTIANA TABACUM VIRUS-INDUCED FACTOR KPILP STIMULATES INTERCELLULAR
TRANSPORT OF MACROMOLECULES**А. Р. Алимова^{1,2}, Н. М. Ершова¹, К. А. Камарова¹, Е. В. Шешукова¹, Т. В. Комарова^{1,2}¹Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва²Московский государственный университет им. М. В. ЛомоносоваA. R. Alimova^{1,2}, N. M. Ershova¹, K. A. Kamarova¹, E. V. Sheshukova¹, T. V. Komarova^{1,2}¹Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow²Lomonosov Moscow State University

✉ alfiya_2000@mail.ru

Аннотация

В растениях клетки сообщаются друг с другом посредством плазмодесм, пропускная способность которых ограничена и строго регулируется с помощью различных механизмов. Вирусы растений способны вызывать «расширение» просвета плазмодесм для распространения по растению, зачастую эксплуатируя клеточные факторы для этого. В работе исследован вирус-индуцируемый клеточный фактор табака, повышающий проницаемость плазмодесм.

Abstract

In plants, cells are connected with each other via plasmodesmata, permeability of which is limited and highly regulated with various mechanisms. Viruses are able to perform plasmodesmata gating to move from cell to cell and within the plant. They exploit cellular factors to affect plasmodesmata. Current study provides characteristics of such virus-induced tobacco cellular factor that activates intercellular transport.

Межклеточный транспорт макромолекул и низкомолекулярных соединений у высших растений осуществляется через плазмодесмы (ПД) — каналы, соединяющие цитоплазму соседних клеток. Кроме того, ПД используются различными вирусами растений для межклеточного (ближнего) транспорта. В регуляции пропускной способности ПД участвуют клеточные белки, локализованные как в ПД, так и в других компартментах клетки, а также полисахарид каллоза [1]. Одним из факторов, влияющих на проницаемость ПД, является KPILP (*Kunitz peptidase inhibitor-like protein*), обнаруженный в модельном растении *Nicotiana benthamiana*. Ранее показано, что 1) в норме *NbKPILP* экспрессируется преимущественно в корнях интактных растений; 2) уровень мРНК *NbKPILP* возрастает тысячекратно при заражении вирусом табачной мозаики (ВТМ); 3) *NbKPILP* стимулирует межклеточный транспорт макромолекул в листьях; 4) *NbKPILP* способствует развитию инфекции ВТМ [2–4]. Гомологи KPILP были обнаружены у ряда представителей семейства Пасленовых, но без дополнительной верификации нельзя экстраполировать свойства исследуемого клеточного фактора модельного растения на его гомологи из других, даже близкородственных видов. Целью настоящей работы было определить особенности экспрессии KPILP *N. tabacum* L. (cv. Petit Havana) (*NtKPILP*) и его роль в регуляции межклеточного транспорта в табаке. В ходе работы выявлено, что наиболее высокий уровень экспрессии *NtKPILP* детектируется в корнях как зрелых растений (возраст 5–6 недель), так и проростков, при этом в листьях относительное количество мРНК в 10–15 раз ниже, чем в корнях. Для оценки экспрессии *NtKPILP* в ответ на вирусную инфекцию растения *N. tabacum* L. (cv. Petit Havana) заражали ВТМ. Уровень экспрессии *NtKPILP* в листьях на 7–10-й день после заражения повышался в 250 раз по сравнению с интактными растениями. Таким образом, в ответ на инфекцию ВТМ происходит активация *NtKPILP* в *N. tabacum*, т. е. KPILP является вирус-индуцируемым клеточным фактором как в *N. benthamiana*, так и в *N. tabacum*.

Роль *NtKPILP* в регуляции межклеточного транспорта оценивали в трех группах табаков: интактные растения, растения с повышенной экспрессией *NtKPILP* и растения, в которых его экспрессия была подавлена с помощью вирус-индуцируемого сайленсинга. Такая модельная система аналогична разработанной ранее

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ (№ 19-74-20031).

для *N. benthamiana* [3, 4]. Растения каждой из групп инфильтрировали суспензией агробактерий для доставки в клетки листьев плазмиды для синтеза 2xGFP (две слитые молекулы GFP). Этот репортерный белок используется в качестве маркера для оценки эффективности межклеточного транспорта, так как он может распространяться из первично-трансформированной клетки в соседние только при увеличенной апертуре ПД. В интактных табаках через 48 ч после агроинфильтрации 100 % клеток с флуоресцентным сигналом GFP являлись одиночными (2xGFP не перемещался из клетки в клетку). В табаках с повышенной или подавленной экспрессией *NtKPILP* наблюдалось формирование многоклеточных кластеров, содержащих сигнал GFP. После подсчета одиночных клеток и кластеров с флуоресцентным сигналом оказалось, что при повышенной экспрессии *NtKPILP* доля многоклеточных (состоящих из 3х и более клеток) кластеров составила 27,4 % ($\pm 2,2$), а доля одиночных клеток — 52,2 % ($\pm 2,5$). В листьях с подавленной экспрессией *NtKPILP* доля многоклеточных кластеров составила 1,5 % (± 1), а доля одиночных клеток — 81,5 % (± 4). Анализ уровня отложений каллозы в районе ПД в листьях растений каждой из групп показал, что повышение экспрессии *NtKPILP* приводит к двукратному снижению содержания каллозы, что согласуется с результатами функционального теста с 2xGFP. Таким образом, можно заключить, что повышение уровня экспрессии *NtKPILP* приводит к увеличению пропускной способности ПД по каллоза-зависимому механизму и активации межклеточного транспорта в растениях *Nicotiana tabacum* L. (cv. Petit Havana).

Литература

1. Dorokhov Y.L. et al. Plasmodesmata Conductivity Regulation: A Mechanistic Model // *Plants*. 2019. Vol. 8. Plasmodesmata Conductivity Regulation, № 12. P. 595
2. Sheshukova E. V. et al. An Alternative Nested Reading Frame May Participate in the Stress-Dependent Expression of a Plant Gene // *Front. Plant Sci.* 2017. Vol. 8. P. 2137.
3. Ershova N. et al. *Nicotiana benthamiana* Kunitz peptidase inhibitor-like protein involved in chloroplast-to-nucleus regulatory pathway in plant-virus interaction // *Front. Plant Sci.* 2022. Vol. 13. P. 1041867.
4. Ershova N. et al. A novel cellular factor of *Nicotiana benthamiana* susceptibility to tobamovirus infection // *Front. Plant Sci.* 2023. Vol. 14. P. 1224958.