

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-11

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ ДОМЕН В3, В РАСТЕНИИ *NICOTIANA BENTHAMIANA* И АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ИХ ГЕНОВ***GENOME-WIDE IDENTIFICATION AND EXPRESSION PROFILE ANALYSIS OF *NICOTIANA BENTHAMIANA* PLANT GENES ENCODING B3 DOMAIN-CONTAINING PROTEINS**А. Р. Алимова^{1,2}, Я. Ю. Савченко³, 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. Ломоносова³Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. СеченоваA. R. Alimova^{1,2}, Ya. Yu. Savchenko³, N. M. Ershova¹, K. A. Kamarova¹, E. V. Sheshukova¹, T. V. Komarova^{1,2}¹Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow²Lomonosov Moscow State University³I. M. Sechenov First Moscow State Medical University

✉ alfiya_2000@mail.ru

Аннотация

Регуляция экспрессии генов осуществляется на транскрипционном уровне с помощью специальных белков — транскрипционных факторов (ТФ), взаимодействующих с ДНК. Семейство ТФ, которые содержат ДНК-связывающий домен В3, является специфичным для растений. Эти ТФ участвуют в процессах роста, развития и в формировании защитного ответа на стресс. С помощью биоинформатического анализа были изучены гены, кодирующие ТФ с доменом В3, в растениях *Nicotiana benthamiana*.

Abstract

Transcription factors (TFs) are special proteins that interact with DNA and regulate gene expression at the transcriptional level. Superfamily of B3 DNA-binding domain-containing TFs is plant-specific. These TFs are involved in the growth, development processes and formation of responses to stress. Genes coding B3 domain-containing TF in *Nicotiana benthamiana* plants were studied using bioinformatical analysis.

Для нормального роста и развития, а также для формирования защитных реакций против стрессовых воздействий растения используют различные механизмы. Одним из таких механизмов является регуляция транскрипции генов, отвечающих за данные процессы. Особые белки, транскрипционные факторы (ТФ), способны «узнавать» регуляторные последовательности ДНК и связываться с ними с помощью ДНК-связывающего домена, тем самым запуская или (реже) ингибируя транскрипцию целевых генов. Одни ТФ также могут связывать другие ТФ и определенные молекулы (коактиваторы или корепрессоры) или привлекать различные клеточные машинерии для регуляции экспрессии генов.

Семейство ТФ, которые содержат ДНК-связывающий В3-домен, специфично для растений. Оно подразделяется на пять подсемейств, выполняющих различные функции: ARF (auxin response factors), RAV (related to ABI3/VP1), LAV (leafy cotyledon2 [LEC2]-abscisic acid insensitive [ABI3]- VIVIPAROUS-1/abscisic acid insensitive 3-like [VAL]) и REM (reproductive meristem). Представители этого семейства ТФ играют важную роль в процессе формирования отдельных органов растений, синтезе фитогормонов, а также участвуют в сигнальных путях и в защите растений от абиотических стрессов (недостатка влаги, повышенного содержания солей, экстремальных температур, повышенной освещенности) [1].

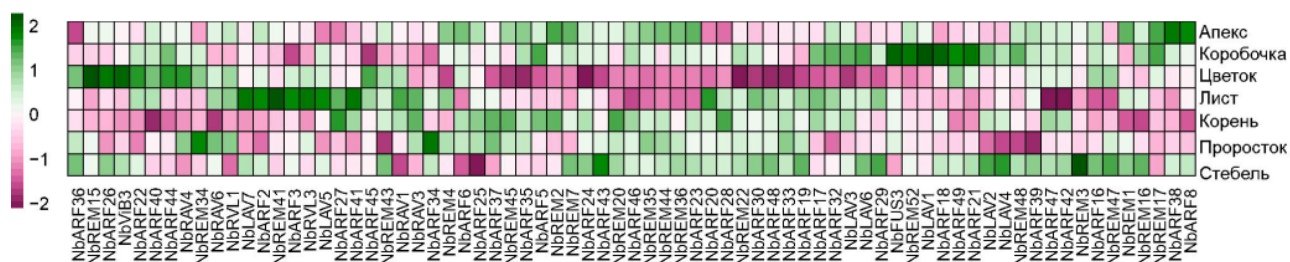
Nicotiana benthamiana является модельным организмом для изучения различных биологических процессов, в том числе механизмов устойчивости к стрессовым воздействиям и к вирусной инфекции. Однако нет данных о его генах, кодирующих белки, содержащие домен В3, и их роли в ответах на биотические стрессы. Целью настоящей работы является поиск, идентификация и характеристика генов, кодирующих белки с доменом В3, и анализ их профиля экспрессии.

В геноме *N. benthamiana*, полученном из базы данных SolGenomics [2], с помощью биоинформатического инструмента HMMER и сравнительного анализа были идентифицированы гены (91), кодирующие белки, содер-

* Исследование выполнено в рамках государственного задания ИОГен РАН.

© А. Р. Алимова, Я. Ю. Савченко, Н. М. Ершова, К. А. Камарова, Е. В. Шешукова, Т. В. Комарова, 2025

жащие домен(ы) B3. Эти белки были классифицированы на четыре подсемейства на основе их филогенетических связей, а именно: ARF, RAV, LAV и REM. Реконструкция филогении была проведена на основе множественного выравнивания нуклеотидных или белковых последовательностей с использованием алгоритма FastTree [3], включающего метод «объединения соседей» (англ. Neighbor-Joining). Полученные транскриптомные данные из базы данных NCBI SRA (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>, SRA ID: SRP018508) были предобработаны с помощью биоинформатических инструментов FastQC и Trimmomatic. Затем производилось картирование на референсный геном с помощью TopHat2, оценка уровня экспрессии с помощью HTSeq-count и анализ дифференциально экспрессирующихся генов с помощью пакета edgeR на языке R. В ходе анализа транскриптомных данных из органов растения обнаружено, что, например, повышенная экспрессия 30 генов необходима для роста и развития листьев растений, а экспрессия 45 генов снижена в цветках (см. рисунок).



Анализ уровня экспрессии генов *N. benthamiana*, кодирующих содержащие домен(ы) B3 белки в различных органах.

Темно-зеленый цвет отражает повышенную экспрессию, темно-лиловый цвет — сниженную

Дополнительно был проведен поиск дифференциально экспрессирующихся генов в листьях при нормальных условиях и в условиях абиотического стресса (засуха), в результате которого было выявлено 16 генов. С помощью веб-сервисов WoLF PSORT (<https://www.genscript.com/wolf-psort.html>) и DeepLoc (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLoc-2.1/>) была предсказана субклеточная локализация белков: 86 белков локализованы в ядре, 1 белок — в цитоплазме, 2 белка — в цитоплазме/ядре, 1 белок — в хлоропласте/ядре и 1 белок — в хлоропласте/митохондрии. Однако результаты предсказания требуют экспериментального подтверждения.

На основании проведенного анализа были сделаны следующие выводы: 1) геном *N. benthamiana* кодирует 91 белок, содержащий домен(ы) B3; 2) предсказанные белки подразделяются на 4 подсемейства: ARF (39), RAV (10), LAV (8) и REM (34); 3) экспрессия 16 генов семейства повышается в листьях при наступлении абиотического стресса (засуха); 4) 86 белков из 91, предположительно, имеют ядерную локализацию.

Таким образом, в *N. benthamiana* были идентифицированы гены, кодирующие белки семейства ТФ, содержащие домен B3. Был охарактеризован их профиль экспрессии в различных органах растения и в ответ на абиотический стресс, а также предсказана субклеточная локализация кодируемых белков.

Литература

1. Swaminathan K. et al. The plant B3 superfamily // Trends in Plant Science. 2008. Vol. 13, No. 12. P. 647–655.
2. Fernandez-Pozo N. The Sol Genomics Network (SGN) — from genotype to phenotype to breeding // Nucleic Acids Research. 2015. Vol. 43, No. D1. P. D1036–D1041.
3. Price M. N. et al. FastTree 2 — Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments // Plos One. 2010. Vol. 5, No. 3. P. e9490.