

Изучение пути внутриклеточной секреции гликопротеина, регулирующего межклеточный транспорт макромолекул в условиях стресса у растений рода *Nicotiana*

Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна

Кузнецова К.С.¹, Ершова Н.М.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: ksenia1672@bk.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: ershovanatalie@gmail.com*

Растения используют плазмодесмы (ПД), наноскопические каналы, соединяющие цитоплазму и эндоплазматический ретикулум (ЭР) соседних клеток, для передачи различных сигналов и макромолекул [3]. Пропускная способность ПД строго регулируется. В ответ на стрессовые воздействия запускаются различные защитные и адаптивные реакции, в том числе вовлекающие систему межклеточного транспорта. Нами ранее был идентифицирован ген *KPILP* (Kunitz protease inhibitor like protein), экспрессия которого резко возрастает в листьях растений в ответ на стресс [3]. Показано, что *KPILP* содержит сигнальный пептид [3], который характерен для секретируемых белков. Однако исследование субклеточной локализации *KPILP*, слитого с GFP, показало, что белок распределен по периферии клетки в виде точечных образований, характерных для белков, ассоциированных с ПД. При этом продемонстрирована способность *KPILP* стимулировать межклеточный транспорт [1]. Целью данной работы было изучение пути внутриклеточной секреции и механизма функционирования *KPILP*.

Для подтверждения того, что внутриклеточная секреция *KPILP* осуществляется при участии ЭР и аппарата Гольджи (АГ), использовали антибиотик брэфельдин А (BFA), который препятствует транспорту белка из ЭР в АГ. После обработки BFA листьев, экспрессирующих *KPILP-GFP*, наблюдали изменение распределения флуоресцентного сигнала, указывающее на нарушение секреции *KPILP-GFP* через эндомембраны ЭР и АГ. Другим подтверждением секреции *KPILP* через АГ является присутствие в его составе по крайней мере трех N-связанных гликанов, подтвержденное обработкой PNGase F, отщепляющей гликаны, в результате чего белок изменяет свою электрофоретическую подвижность.

Наиболее изученным механизмом регуляции апертуры ПД является изменение содержания каллозы в клеточной стенке в районе ПД [4]. Мы показали, что уровень каллозы при повышенной экспрессии *KPILP* в листьях неотличим от контроля. Полученные данные указывают на то, что *KPILP* стимулирует межклеточный транспорт макромолекул по механизму, не вовлекающему изменение содержания каллозы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-08012.

Источники и литература

- 1) 1. Ershova N.M. et al. The involvement of the Kunitz peptidase inhibitor-like protein in plasmodesmata gating control in the Solanaceae plants // FEBS Open Bio. – 2018 - V. 8. Suppl 1. - С. 200
- 2) 2. Sevillem I., Yadav S. R., Helariutta Y. Plasmodesmata: channels for intercellular signaling during plant growth and development // Plasmodesmata. – Humana Press, New York, NY, 2015 – С. 3-24

- 3) 3. Sheshukova E. V. et al. An alternative nested reading frame may participate in the stress-dependent expression of a plant gene // *Frontiers in Plant Science*. – 2017 – Т. 8. – С. 2137
- 4) 4. Zavaliev R. et al. Biology of callose (beta-1,3-glucan) turnover at plasmodesmata // *Protoplasma*. – 2011 – Т. 248. – С. 117–130