

Конструирование доминантно-негативного мутанта динамина и его продукция в клетках растений

Научный руководитель – Чичкова Нина Валентиновна

Пигиданов Артемий Александрович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: artemiy.pigidanov@mail.ru

Конференция «Ломоносов 2021»

Секция «Физико-химическая биология»

Конструирование доминантно-негативного мутанта динамина и его продукция в клетках растений

Пигиданов Артемий Александрович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: artemiy.pigidanov@mail.ru

Фитаспазы относятся к семейству растительных субтилизин-подобных протеаз и отличаются от других членов семейства специфичностью расщепления после аминокислотного остатка аспартата и необычной динамикой локализации. После секреции в апопласт здоровых растительных тканей фитаспазы способны возвращаться обратно в клетки, испытывающие стресс. Недавно было обнаружено участие клатрин-опосредованного эндоцитоза в интернализации фитаспазы.

Динамин — это ГТФаза, необходимая для отделения везикул от клеточной мембраны в процессе эндоцитоза, в том числе клатрин-опосредованного. Чтобы подтвердить участие клатрин-опосредованного эндоцитоза в наблюдаемой интернализации фитаспазы под действием стресса, были получены две конструкции: ген, кодирующий белок динамина 1А *Arabidopsis thaliana* дикого типа с присоединенным флуоресцентным белком mRFP (Dpr 1A - mRFP) и ген, кодирующий белок доминантно-негативного мутанта динамина 1А, лишённого ГТФазной активности, с присоединенным флуоресцентным белком mRFP (Dpr 1A K47A - mRFP). Эти конструкции были продуцированы в клетках *Nicotiana benthamiana* с помощью агроинfiltrации. Красная флуоресценция наблюдалась в цитоплазме по периферии клеток с помощью флуоресцентной микроскопии. Иммуноблоттинг экстрактов из инfiltrированных листьев подтвердил продукцию обоих белков в клетках растений. Интересно, что продукция мутантного белка Dpr 1A (но не белка дикого типа) вызывала гибель листьев растения *Nicotiana tabacum* (на второй день после агроинfiltrации) и *Nicotiana benthamiana* (на пятый день).

В дальнейшем мы планируем исследовать как ингибирование эндоцитоза с помощью Dpr 1A K47A - mRFP скажется на способности фитаспазы входить в клетку при стрессе.