

**Влияние экспрессии генов Вах и Vcl-x1 в растениях *Nicotiana tabacum* на развитие программируемой клеточной гибели****Репина Мария Николаевна***Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: rep-masha@yandex.ru*

Устойчивость растений к различным патогенам может зависеть, в частности, от программируемой клеточной смерти (ПКС или PCD), вызывающей появление локальных некрозов на первично зараженных листьях и блокирование системного распространения инфекции. Механизм программируемой клеточной смерти (PCD) растений в настоящее время недостаточно изучен и существенно отличается от PCD животных [n2]. В частности, у растений отсутствуют каспазы и присутствуют каспазо-подобные ферменты [n1], например VPE (вакуолярная протеиназа). Одной из мишеней VPE является белок VirD2, играющий ключевую роль в переносе ДНК из агробактерии в ядро растительной клетки. Ключевыми регуляторными белками PCD животных являются Вах и Vcl-x1, связанные с внешней мембраной митохондрий и регулирующие высвобождение цитохрома c в цитоплазму, что является сигналом для запуска так называемого «внутреннего» пути PCD. Гены, кодирующие VPE и хеликазный домен (p50) РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса табачной мозаики (ВТМ) были клонированы в бинарный вектор, предназначенный для трансформации агробактерии с последующей инфильтрацией листьев и временной экспрессией целевых генов. Известно, что p50 способен вызывать гиперчувствительный ответ в растениях табака (*Nicotiana tabacum*) с генотипом NN. Предполагается, что белок, кодируемый N-геном, может являться мишенью белка p50. Также в бинарный вектор перенесли гены человека, кодирующие белки Вах и Vcl-x1, оказывающие, соответственно, положительное и негативное влияние на развитие PCD в клетках животных. Было показано, что белок Вах, как и p50, способен вызывать в модельной системе реакцию гиперчувствительного ответа (3-5 день после инокуляции). Гомологи данного белка у растений отсутствуют, но можно предположить, что, по аналогии с животными, развитие PCD зависит от проницаемости наружной мембраны митохондрий. Вектор, кодирующий Vcl-x1, инокулированный совместно с Вах, напротив, оказывал ингибирующее воздействие на появление признаков PCD. Упомянутые гены были клонированы в векторы семейства pET, предназначенные для экспрессии в *E. coli*. Уровень синтеза p50 и VPE можно охарактеризовать как высокий, при этом количество Вах и Vcl-x1 в лизатах после индукции было незначительным - по-видимому, из-за наличия гидрофобных трансмембранных доменов. Белки были выделены и использованы для иммунизации мышей и получения поликлональных антисывороток. Таким образом, для исследования молекулярных механизмов PCD в растениях была разработана модельная система, предусматривающая временную экспрессию генов животного и растительного происхождения в листьях табака.

**Источники и литература**

- 1) Bozhkov, P., Filonova, L., Suarez, M. et al. VEIDase is a principal caspase-like activity involved in plant programmed cell death and essential for embryonic pattern formation. *Cell Death Differ* 11, 175–182 (2004).
- 2) Lam, E. Controlled cell death, plant survival and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5, 305–315 (2004).