

Моделирование структуры белка tRolC *Nicotiana tabacum* и его функциональная связь с другими белками

Цветкова А.Д.^{*1}, Швец Д.Ю.^{2,3}, Мусин Х.Г.², Кулуев Б.Р.^{1,2}

¹Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра, Уфа, Россия

³Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Аннотация. Ген *trolC* является гомологом онкогена *rolC* *Agrobacterium rhizogenes* и попал в геном *Nicotiana tabacum*, вероятнее всего, в результате горизонтального переноса генов. Этот ген довольно консервативен, экспрессируется в молодых органах, однако его функции, как и агробактериального гена *rolC*, остаются неизвестными. В настоящей работе проанализирована предположительная структура белка tRolC *Nicotiana tabacum*, предсказанная с помощью сервиса I-TASSER. Наличие у белка tRolC аминокислотных остатков активного центра и сайта связывания, а также белок-связывающей и ARTT-петли, сходных по структуре с белком b6 *Agrobacterium vitis*, свидетельствует о выполнении ими сходных биологических функций. На основе полученных данных высказана гипотеза о наличии у белка tRolC АДФ-рибозилтрансферазной активности, позволяющей ему влиять на рост и устойчивость растений к стрессам, а также на биосинтез вторичных метаболитов посредством влияния на регуляцию экспрессии генов через взаимодействие с факторами транскрипции, компонентами РНК-интерференции или проявление гистонподобной активности.

Ключевые слова: *Agrobacterium rhizogenes*, *rol*-гены, *rolC*, белок b6, АДФ-рибозилтрансферазы, компьютерное моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

Ген *trolC* – растительный гомолог онкогена *rolC*, который относится к *plast*-генам, поскольку, попав в геном *Nicotiana tabacum* L. в результате естественного горизонтального переноса генов от *Agrobacterium rhizogenes* (*Rhizobium rhizogenes*), эволюционно закрепился и, вероятно, участвует в регуляции роста и стрессоустойчивости растения [1]. Экспрессия гена *trolC* была обнаружена в молодых листьях и кончиках побегов, индуцируется ауксином и подавляется цитокинином [2]. Есть сведения, что ген также экспрессируется в ауксин-индуцированных адвентивных корнях [3]. Накапливаются данные о позитивном влиянии гена *trolC* на устойчивость растений к абиотическим стрессам. К примеру, морфометрический анализ трансгенных растений табака, экспрессирующих фрагмент гена *trolC* в антисмысловой ориентации под контролем 35S CaMV промотора, продемонстрировал, что подавление экспрессии этого гена приводит к ухудшению роста корней, как при нормальных условиях, так и при действии тяжелых металлов и гипотермии. К тому же, в промоторной области гена *trolC* имеются цис-регуляторные элементы, активируемые холодом [4]. Известно, что

*mustafinaa2001@mail.ru

фенотипические проявления генов *trolC* и *rolC* штамма A4 *A. rhizogenes* сходны с эффектами другого *plast*-гена из *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium tumefaciens*) - *6b*: это хлороз листьев, накопление крахмала, рост изолированных корней на средах с низким содержанием сахарозы, сахарозозависимое расширение листовых дисков [5]. Исходя из этого и некоторых других данных, справедливо предполагать, что белки *tRolC*, *RolC* и *6b* выполняют схожие биологические функции.

На сегодняшний день исследований, посвященных определению биологических функций гена *trolC* и кодируемого им белка, проведено сравнительно мало. Так, с помощью технологии транзientной экспрессии у растений *Nicotiana benthamiana* Domin. удалось доказать, что *RolC* растворим и локализуется в цитоплазме, но может проникать и в ядро [6]. Есть данные о локализации части пула белка *RolC* в ядрышке [7], что также делает его схожим с белком *6b* [8]. Сообщалось, что *RolC* штамма A4 *A. rhizogenes* обладает гликолитической активностью и участвует в высвобождении цитокининов из конъюгатов с N- и O-глюкозидами [9]. Нужно отметить, что у *N. tabacum*, как и у агробактерий, могут расщепляться только O- и N3-глюкозиды [10]. Несмотря на описанные результаты, корни у *rolC*-трансформированных табаков не отличаются по чувствительности к цитокининам от обычных корней [11], поэтому гипотеза цитокинин- β -глюкозидазы пока не подтверждена. Получены данные о положительном влиянии белка *RolC* на содержание 2-изопентиладенина, обладающего цитокининовой активностью [12]. Наличие цис-регуляторных элементов, активируемых сахарозой, в промоторной области на расстоянии -135...-94 от точки инициации транскрипции связывают с возможной функцией *RolC*, который выступает в качестве участника или регулятора метаболизма сахарозы [1, 13]. Сахароза выступает в качестве сигнальной молекулы, регулирующей специфическую экспрессию гена *rolC* во флоэме [14]. Несмотря на описанные результаты, вопрос о биохимической активности белка *tRolC* остается открытым. Поэтому целью данного исследования явилось компьютерное моделирование структуры белка *tRolC* и определение его функциональной связи с другими белками, о функциях которых могло иметься больше информации. Предполагалось, что такой биоинформационный анализ позволит приблизиться к пониманию биохимических функций белка *tRolC*.

Определение структуры белка является основой для понимания его функций. На сегодняшний день в банке данных о белках PDB [15] имеется около 216 000 записей о белках с известной структурой и более 1 000 000 записей со структурами, предсказанными AlphaFold [16], однако последние часто имеют невысокий уровень надежности и не дают представления о каталитической функции белков и их сходстве с другими полипептидами [17, 18]. Сервис I-TASSER [19] по имеющейся аминокислотной последовательности распознает трединг-шаблонные структуры из PDB и осуществляет их сборку, что используется для предсказания структуры и функций белка. Кроме того, I-TASSER позволяет предсказывать сайты связывания лиганда, активные сайты, а также ферментативную активность [20].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для поиска аминокислотных последовательностей *RolC*-подобных белков были использованы сервисы NCBI Entrez [21] и NCBI BLAST [22]. Множественное выравнивание последовательностей проводили с помощью сервиса EMBL-EBI Clustal Omega [23]. Для визуализации результатов выравнивания и построения филогенетического древа использовали программу Jalview 2.11.3.3 [24]. Филогенетическое древо было построено методом Neighbour Joining с помощью матрицы BLOSUM62. Для предсказания структуры белка и его функций был использован сервис I-TASSER [25], а для исследования топологического сходства белковых структур – сервер TM-score [26]. Поиск пространственных структур белков производился с помощью сервиса RCSB PDB [15], а для их просмотра была

использована программа JSmol 14.32. Для поиска гомологичных последовательностей в геноме *Arabidopsis thaliana* L. использовали сервис TAIR [27], а для предсказания белок-белковых взаимодействий – STRING [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Выравнивание аминокислотных последовательностей белка tRoIC и гомологичных белков

Проанализированы аминокислотные последовательности RoIC-подобных белков следующих организмов: штаммов *A. rhizogenes*: A4, 15834, NCPPB1855 (WP_142692216.1), 1724 (ASK42899.1) и K599 (pRi2659) (ABS11825.1), растений *N. tabacum* (CAA62988.1), *N. glauca* (CAA27160.1), *N. tomentosiformis* (1 - AIM40174.1; 2 – AIM40177.1), *Linaria cretica* (1 – AXO59181.1; 2 – AXO59182.1), *L. genistifolia* (AGH15831.1), *L. vulgaris* (1 – AFA43818.1; 2 – ACD81987.1) (рис. 1,a). У *N. tomentosiformis*, *L. cretica* и *L. vulgaris* имеются два различающихся по структуре RoIC-подобных белка, что, по всей видимости, связано с разным временем горизонтального переноса Т-ДНК [29].

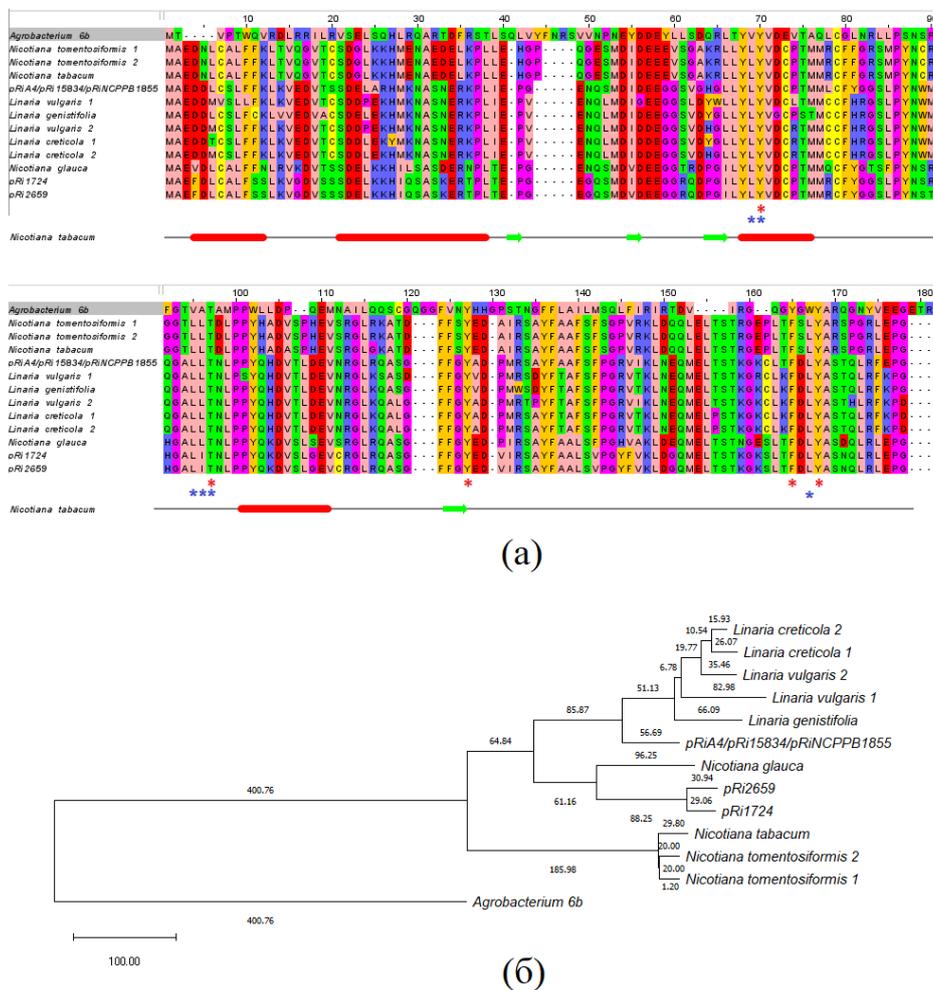


Рис. 1. (a) – выравнивание аминокислотных последовательностей RoIC-подобных белков с ближайшим структурным гомологом белком 6b и предположительная структурная организация tRoIC *N. tabacum*: α -спирали обозначены красным цветом, β -структуры – зеленым; (б) – филогенетическое дерево RoIC-подобных белков и белка 6b. Звездочками изображены аминокислотные остатки, предположительно составляющие активный центр и сайт связывания (красные – сравнение с данными по 6b, синие – предсказание I-TASSER).

На рисунке 1 изображено выравнивание аминокислотных последовательностей исследуемых белков (рис. 1,а) и филогенетическое древо их сходства (рис. 1,б). Хорошо известно о сходных морфогенетических эффектах генов *rolC* и *6b* [5], поэтому последний тоже был использован для анализа. Для растений рода *Linaria*, из имеющихся гомологов агробактериальных белков, наиболее близкими по первичной структуре оказались белки штаммов А4, 15834 и NCPPB1855 *A. rhizogenes*. Для *N. glauca* ближайшими структурными гомологами являются белки штаммов 1724 и K599. Белки *tRoIC N. tabacum* и *N. tomentosiformis* отличаются от вышеупомянутых растительных белков сильнее, наиболее близкими к ним оказались белки штаммов А4, 15834 и NCPPB1855. Нужно отметить, что сходство аминокислотных последовательностей у *N. tabacum* и *N. tomentosiformis*, вероятно, обусловлено общностью их происхождения. Считается, что вид *N. tabacum* был образован в результате гибридизации *N. tomentosiformis* × *N. sylvestris*, однако в процессе эволюции кЛТ-ДНК претерпевала сильные изменения, что объясняет накопившиеся различия в их структуре [30].

2. Моделирование пространственной структуры *tRoIC* с помощью сервиса I-TASSER

Сервис I-TASSER использует метод трединга для предсказания пространственной структуры полипептидов, которые не имеют гомологов с известной структурой. Метод основан на распознавании определенных фолдов, имеющих в других белках с известной структурой [31]. Моделирование I-TASSER начинается с определения шаблонов структур из библиотеки PDB с помощью программ LOMETS [32], каждая из которых генерирует до десятка тысяч выравниваний исследуемой аминокислотной последовательности со структурами, имеющимися в PDB. I-TASSER отбирает шаблоны с наивысшим Z-score, то есть с наивысшей значимостью выравнивания, при этом хорошим считается значение Z-score >1.

В таблице 1 представлены 10 лучших шаблонов трединга для моделирования пространственной структуры *tRoIC* (CAA62988.1), отобранных из программ LOMETS.

Таблица 1. Структуры, использованные I-TASSER в качестве шаблонов трединга *tRoIC N. tabacum*

№	Программа трединга	PDB ID	Название	Организм	Ident 1	Ident 2	Cov	Norm. Z-score
1	FFAS-3D	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.25	0.24	0.88	2.04
2	SP3	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.23	0.24	0.93	1.62
3	HHSEARCH	3AQ2	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.25	0.24	0.88	9.19
4	wdPPAS	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.23	0.24	0.92	1.75
5	Neff-PPAS	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.22	0.24	0.93	1.85
6	HHSEARCH2	3AQ2	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.25	0.24	0.92	9.35
7	pGenTHREADER	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.26	0.24	0.89	1.97
8	HHSEARCH I	3AQ2	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.26	0.24	0.91	6.15
9	FFAS03	3AQ2A	6b белок	<i>Agrobacterium vitis</i>	0.24	0.24	0.88	2.03
10	FFAS-3D	8BH7A	Фактор созревания рибосомы P	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.15	0.22	0.65	0.54

Ident1 – процентная идентичность шаблона и исследуемой последовательности в выровненной области; *Ident2* – процентная идентичность всего шаблона и исследуемой последовательности; *Cov* – перекрываемость выравнивания (количество выровненных аминокислотных остатков, деленное на длину анализируемого белка); *Norm. Z-score* – нормализованный Z-score выравнивания.

Принимая во внимание значение Z -score, можно сделать вывод, что главным трединг-шаблоном для исследуемого полипептида является белок 6b *A. vitis* (3AQ2). Кроме того, белок 6b является наиболее близким белком с известной структурой (табл. 2). Известно, что функции белка 6b отдаленно сходны с RolC-подобными белками и его экспрессия также приводит к аномальной морфологии корней и побегов [33].

Помимо структуры tRolC, нами также была предсказана структура белка RolC (WP_142692216.1) *A. rhizogenes* (рис. 2,а). Для определения различий в функционально значимых участках цепей данных белков проводили наложение на пространственную структуру tRolC двух моделей – предсказанной структуры RolC и 6b (рис. 2,б,в,г).

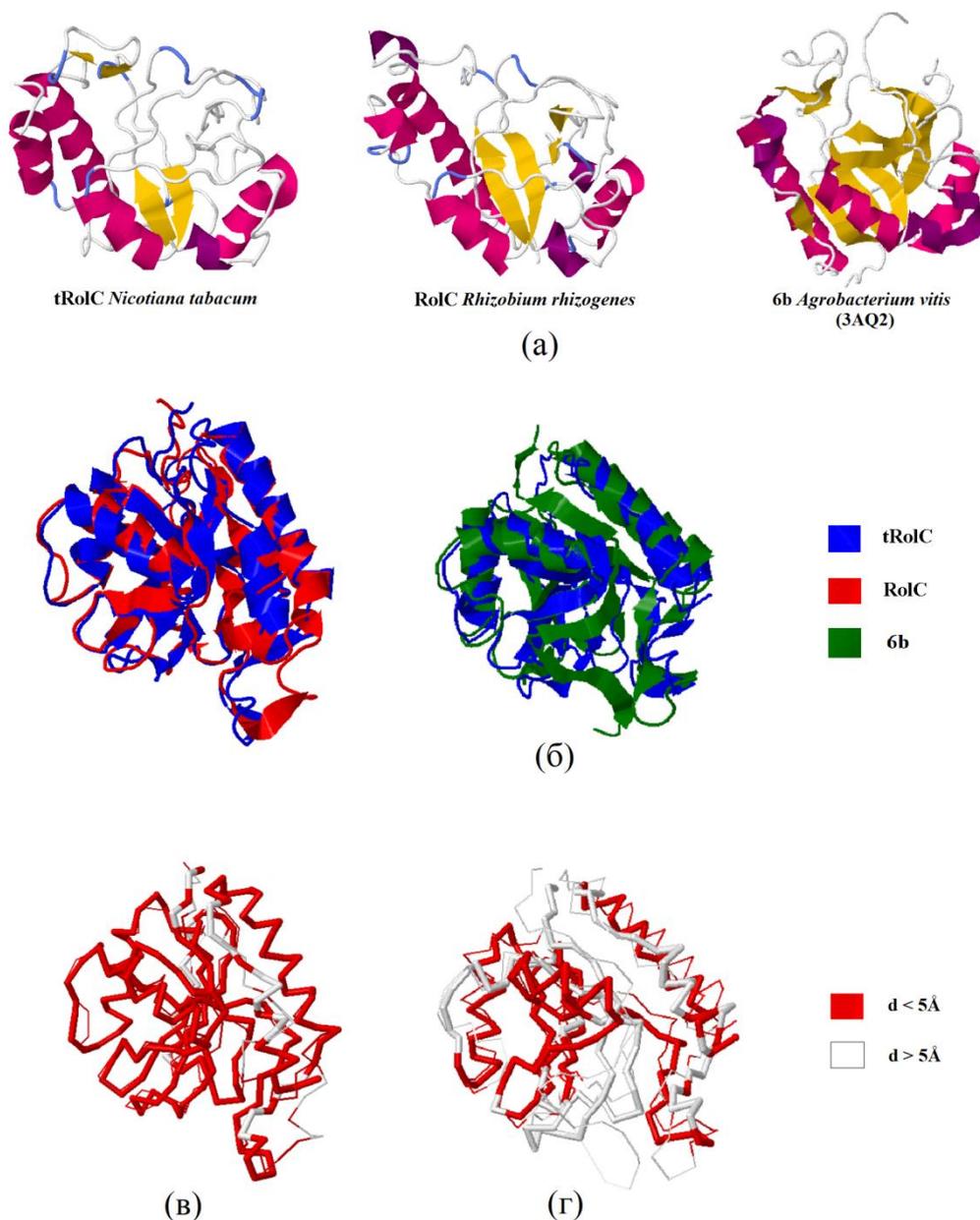


Рис. 2. Сравнение структуры белков tRolC *N. tabacum*, RolC *A. rhizogenes* и 6b *A. vitis*: (а) – трехмерные структуры белков tRolC, RolC и 6b (3AQ2, А-цепь); (б) – сравнение tRolC с RolC и 6b посредством наложения их структур; (в) – толстой линией изображен tRolC, тонкой – RolC; (г) – толстой линией изображен tRolC, тонкой – 6b. Аминокислотные остатки, для которых расстояние между C_{α} -атомами составляет менее 5 Å, выделены красным.

Кроме того, что структуры tRoIC и RoIC имеют сходную топологию, их предположительные сайты связывания лиганда и активные центры также являются одинаковыми по аминокислотному составу (рис. 1,а), что позволяет в некоторой степени применять последующее описание tRoIC и к бактериальному белку RoIC.

3. Сходство tRoIC с другими белками

Для определения структурного сходства tRoIC с другими белками использовали программу TM-align, которая сопоставляет лучшую из предсказанных моделей со всеми структурами в PDB [34]. В таблице 2 представлены 10 белков, имеющих наибольшее структурное сходство, то есть наивысший *TM-score*, с предсказанной моделью I-TASSER.

Таблица 2. Наиболее близкие по структуре белки для tRoIC (по *TM-score*)

№	PDB ID	Название	<i>TM-score</i>	<i>RMSD</i> ^a	<i>IDEN</i> ^a	<i>Cov</i>	Организм	Активность
1	3aq2A	6b белок	0.854	2.00	0.202	0.933	<i>Agrobacterium vitis</i>	АДФ-рибозил трансфераза
2	1ikpA	экзотоксин А	0.494	4.41	0.105	0.733	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	АДФ-рибозил трансфераза
3	6edgA	экзотоксин А	0.479	4.69	0.096	0.733	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	АДФ-рибозил трансфераза
4	3kr7A	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.470	4.76	0.051	0.711	<i>Homo sapiens</i>	АДФ-рибозил трансфераза
5	2x5yA	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.466	4.50	0.055	0.689	<i>Homo sapiens</i>	АДФ-рибозил трансфераза
6	2q5tA	холерный токсин	0.465	4.92	0.059	0.733	<i>Vibrio cholerae</i>	АДФ-рибозил трансфераза
7	7z0sC	формиат гидроген-лиаза, субъединица 3	0.461	5.07	0.064	0.761	<i>Escherichia coli</i>	НАДН - дегидрогеназа
8	3bljB	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.460	5.06	0.078	0.728	<i>Homo sapiens</i>	АДФ-рибозил трансфераза
9	7nyrL	НАДН-хиноокси-редуктаза, субъединица L	0.459	5.06	0.053	0.744	<i>Escherichia coli</i>	НАДН - дегидрогеназа
10	2q6mA	холерный токсин	0.457	4.42	0.073	0.672	<i>Vibrio cholerae</i>	АДФ-рибозил трансфераза

RMSD^a – среднеквадратическое отклонение между аминокислотными остатками, структурно выровненными с помощью TM-align; *IDEN*^a – процент идентичности последовательностей в структурно выровненной области; *Cov* – перекрываемость выравнивания, построенного с помощью TM-align (доля выровненных аминокислотных остатков в общей длине запрашиваемого белка).

Большую часть близких по структуре белков составляют бактериальные экзотоксины, проявляющие АДФ-рибозилтрансферазную активность (6b, экзотоксин А, холерный токсин) [35]. Кроме того, структура tRoIC имеет отдаленное сходство с поли(АДФ-рибоза)-полимеразами человека (PARP), что указывает на предположительную каталитическую функцию tRoIC [36].

В предсказанной структуре белка tRoIC имеется четыре α -спирали, а также четыре β -тяжа, образующих два перпендикулярных β -листа (рис. 2,а). Примечательно, что центральный модуль структуры b6 тоже включает два перпендикулярных β -листа и одну α -спираль. Кроме того, центральный модуль b6 демонстрирует высокую структурную гомологию со структурой экзотоксина А и холерного токсина, несмотря на отсутствие какого-либо видимого сходства аминокислотных последовательностей между ними [33]. В структуре tRoIC, подобно b6, имеется два антипараллельных β -тяжа с расположенной между ними петлей (рис. 2,а), которая проявляет высокое структурное сходство с ARTT-мотивом (ADP-ribosylating toxin turn–turn motif), присутствующим также в структурах экзотоксина А и холерного токсина [35]. Кроме того, в предсказанной модели имеется структура, схожая с белок-связывающей петлей b6, которая может играть роль как в самоассоциировании, так и во взаимодействии с другими белками [33].

4. Предположительная ферментативная активность tRoIC

Известно, что структурно схожие белки могут выполнять схожие функции, однако для большей надежности предсказания функций I-TASSER обращается к вспомогательным программам. Так, программа COFACTOR предсказывает классификацию фермента и сайты связывания лигандов, используя сравнение структур и белок-белковые сети [37], а программа COACH объединяет полученные результаты [38]. Для определения биологически значимых взаимодействий типа лиганд – белок I-TASSER обращается к базе данных BioLiP2, в которую данные о структуре белка извлекаются из PDB, а информация о биологических функциях – из литературы и баз данных [39].

В соответствии с полученными результатами, tRoIC относится к белкам класса 2.4.2.30 (табл. 3) – НАД(+)-АДФ-рибозилтрансфераз. Ферменты данного класса способны переносить свою АДФ-рибозильную группу на молекулу-акцептор – нуклеиновую кислоту или белок. Поли-АДФ-рибозилирование является наиболее распространенным механизмом работы АДФ-рибозилтрансфераз и представляет собой процесс сложной посттрансляционной модификации белков, характеризующейся добавлением поли(АДФ-рибозы) (PAR) к белкам с помощью поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP) и удалением PAR с помощью поли(АДФ-рибоза)-гликогидролазы (PARG) [40]. PARP участвуют в регуляции разных клеточных процессов у эукариот [41, 42]. Так, у млекопитающих PARP способны распознавать одно- или двуцепочечные разрывы ДНК, связываться с ними и облегчать процесс репарации [43]. Кроме того, ряд исследований показали, что PARP также участвуют в ремоделировании хроматина, регуляции транскрипции и убиквитинирования, функций веретена деления и centrosомы, а также образовании стресс-гранул [44–46]. Нужно отметить, что в растениях многие НАД(+)-АДФ-рибозилтрансферазы все еще имеют неясные функции. Так, у *A. thaliana* обнаружены три PARP, локализованные в ядре, каждый из которых участвует в репарации ДНК [40]. Группой исследователей обнаружено, что PARP в зависимости от величины окислительного стресса, участвуют в регуляции двух противоположных процессов – репарации ДНК и клеточной гибели [47]. Кроме того, сообщается об активации фермента на начальной стадии апоптоза, однако четко его роль в данном процессе не определена [48]. Обнаружено, что снижение активности PARP ингибирует гибель клеток и повышает устойчивость к засухе, жаре, повышенному освещению за счет снижения распада NAD^+ и, следовательно, потребления энергии [49]. Можно предположить, что белок tRoIC способен выполнять ряд описанных функций, однако исследования в данной области должны быть продолжены. Известно, что в клетках табака никотинамид, который является побочным продуктом реакции переноса АДФ-рибозила на поли-АДФ-рибозильную цепь, способен превращаться в никотин [50, 51]. Есть также данные, что повышение уровня

экспрессии генов *rolC* и *trolC* в табаке приводит к увеличению содержания никотина [13, 52], что может быть связано с НАД(+)-АДФ-рибозилтрансферазной активностью данных белков.

Таблица 3. Предположительная ферментативная активность *tRoIC* и его активные центры

№	C-score ^{EC}	PDB ID	Название	TM-score	RMSD ^a	IDEN ^a	Cov	Фермент	Остатки активного центра
1	0.198	3kczA	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.447	4.80	0.099	0.700	2.4.2.30	–
2	0.194	1zm2B	экзотоксин А	0.454	4.66	0.061	0.711	2.4.2.-	–
3	0.192	1gs0A	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.441	5.03	0.049	0.711	2.4.2.30	118
4	0.190	1uk0A	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.452	4.99	0.074	0.711	2.4.2.30	118
5	0.190	1a26A	поли(АДФ-рибоза)-полимераза	0.448	5.01	0.088	0.706	2.4.2.30	–

C-score^{EC} – достоверность предсказания классификации фермента (от 0 до 1, чем выше C-score^{EC}, тем надежнее предсказание); TM-score – величина глобального сходства между структурами запрашиваемого и шаблонного белков; RMSD^a – RMSD между аминокислотными остатками, структурно выровненными с помощью TM-align; IDEN^a – процент идентичности последовательностей в структурно выровненной области; Cov – перекрываемость выравнивания, построенного с помощью TM-align (доля выровненных аминокислотных остатков в общей длине запрашиваемого белка).

В таблице 4 приведены возможные лиганды *tRoIC* и сайты их связывания. Лиганд ЗАВ (3-аминобензамид), входящий в структуру танкиразы (4TKF) человека, взаимодействует с аминокислотными остатками, схожими с остатками сайта связывания лиганда белка 6b (рис. 3,а). Кроме того, 3-аминобензамид является аналогом никотинамида, что также указывает на возможную АДФ-рибозилтрансферазную активность белка *tRoIC*.

Таблица 4. Предположительные сайты связывания лиганда, предсказанные I-TASSER

№	C-score	PDB ID	PDB CCD ID	Остатки сайта связывания
1	0.17	4tkfA	ЗАВ	64,65,89,90,91,157
2	0.09	4tkfA	33C	64,65,66,70,73,74,78,79,80,87,88,89
3	0.05	1sumB	FE	29,30,33
4	0.03	2v50D	LMT	35,38
5	0.03	4il6R	HEM	31,35

C-score – достоверность предсказания (от 0 до 1, чем выше C-score^{EC}, тем надежнее предсказание); ЗАВ – 3-аминобензамид, 33C – 4-[(3aR,4R,7S,7aS)-1,3-диоксооктагидро-2H-4,7-метаноизоиндол-2-ил]-N-(хиолин-8-ил)бензамид, FE – ион железа, LMT – додецил-β-D-мальтозид, HEM – гем.

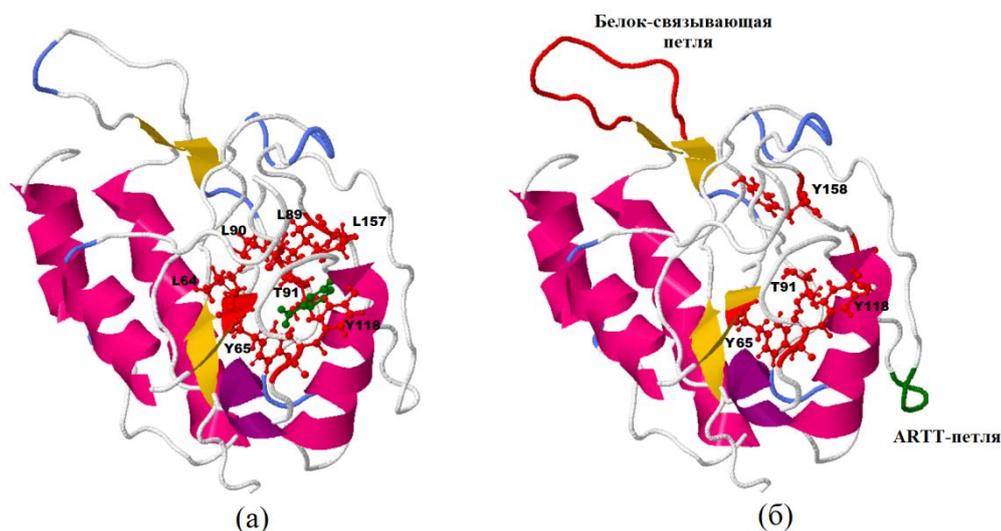


Рис. 3. Структура белка tRoIC, предсказанная с помощью I-TASSER: (а) – в шаростержневой модели изображены аминокислотные остатки активного центра и сайта связывания, предсказанные I-TASSER, зеленым цветом выделен 3-аминобензамид - структурный аналог никотинамида; (б) – в шаростержневой модели изображены аминокислотные остатки активного центра и сайта связывания, красным цветом выделена белок-белок связывающая петля, зеленым – ARTT-петля в соответствии с Wang et al. [33].

5. Предположительный активный центр и сайт связывания tRoIC

По данным I-TASSER, активный центр фермента представлен остатком Y118, а наиболее вероятными аминокислотами сайта связывания являются L64, Y65, L89, L90, T91, L157 (рис. 3,а).

бb белок является представителем нового семейства токсинов с Y66, T93 и Y153 в качестве каталитических остатков. Y66 образует водородную связь с NAD⁺, в то время как боковая цепь T93 образует водородную связь с Y153. Гидрофобная среда, создаваемая ароматическими группами Y121, Y153, Y156, участвует в связывании никотинамидного кольца NAD⁺ [33]. Выравнивание аминокислотной последовательности белка бb с RoIC-подобными белками, несмотря на их различия, выявило консервативность данных остатков (рис. 1). Единственным отличием является наличие у RoIC-подобных белков фенилаланина (F155) вместо похожего по свойствам тирозина у бb, однако есть вероятность, что функциональную роль данного каталитического остатка берет на себя Y158 (рис. 3,б), являющийся консервативным также для бb белка.

На рисунке 4,а изображены предположительные остатки активного центра и сайта связывания белка tRoIC, исходя из структурной гомологии белков tRoIC и бb. Расположение аминокислотных остатков активного центра в структуре, предсказанной I-TASSER, и в структуре бb является сходным, что косвенно подтверждает правильность полученной нами структуры tRoIC. Однако, в соответствии с литературными данными, основным каталитическим остатком, по-видимому, является Y158, а не Y118, как это предсказывает I-TASSER.

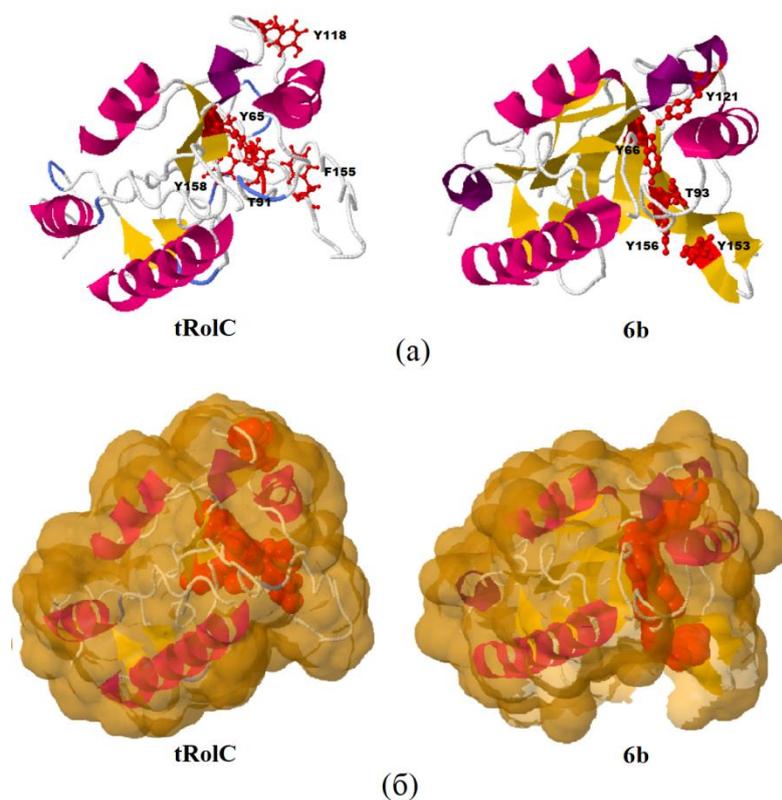


Рис. 4. Структуры белков tRoIC и 6b, а также их аминокислотные остатки активного центра и сайта связывания: (а) – в шаростержневой модели; (б) – в ван-дер-ваальсовой модели. Оранжевым цветом показана поверхность, доступная растворителю.

Для белков tRoIC и 6b характерна закрытость предполагаемого NAD⁺-связывающего кармана для субстрата и других белков (рис. 4,б), а для его открытия у белка 6b требуются значительные конформационные изменения, в том числе присоединение АДФ-рибозилирующего фактора [33]. Вероятно, активация белка tRoIC происходит похожим способом и также требует дополнительного фактора рибозилирования.

6. Возможные механизмы действия белка tRoIC

Mohajjel-Shoja и др. [5] выявили, что морфогенетические эффекты генов *trolC* и *rolC* штамма A4 *A. rhizogenes* схожи с эффектами гена *6b*. Кроме того, RoIC-подобные белки и белок 6b подавляют развитие корневых волосков и рост корней, а также участвуют в образовании энаций, что является одним из убедительных доказательств функционального сходства данных белков, так как подобные морфологические изменения являются необычными и редкими [53, 54].

Как белок RoIC, так и 6b обнаруживаются в ядрышке [7, 8], где происходят не только процессы созревания рРНК, но и малых РНК, в том числе, участвующих в РНК-интерференции. Известно, что белок 6b напрямую взаимодействует с ключевыми компонентами DCL1-SE-HYL1 и RISC/AGO1, отвечающими за биогенез малых некодирующих РНК, подавляя способность растительных клеток к РНК-интерференции [33]. Было показано, что белок 6b осуществляет свою супрессорную роль, напрямую воздействуя на SE и AGO1 – два ключевых компонента в механизме биогенеза микроРНК у *A. thaliana*, что сближает его с белками-супрессорами вирусов, таких как 2b, P0, HcPro, P19 [33]. Исходя из этого, было высказано предположение о том, что растительный онкоген 6b также подавляет врожденный иммунитет трансформированных клеток, как и вирусные белки, что нельзя исключить, с учетом

того, что агробактерии являются патогенами растений. Кроме того, нами обнаружено структурное сходство белка tRoIC с холерным токсином и экзотоксином А, которые характерны для патогенов человека. Все это может говорить о том, что данная группа белков важна для патогенеза и может иметь как общее происхождение, так и функциональную схожесть.

Белок 6b способен участвовать в пролиферации растительных клеток посредством ассоциации с ядерными белками NtSIP1 [8], NtSIP2 [55] и гистонem H3 [56]. Кроме того, 6b обладает активностью, подобной гистоновым шаперонам, и способен влиять на экспрессию различных генов, в том числе генов *IAA*, *KNOX* I класса, *CUC* и генов, связанных с клеточным делением у табака и *A. thaliana* [55, 57]. Поскольку наиболее изученным предполагаемым транскрипционным фактором, с которым взаимодействует белок 6b, является NtSIP1, нами было принято решение рассмотреть его белок-белковые взаимодействия на примере *A. thaliana*. С помощью сервиса TAIR были обнаружены гомологичные к NtSIP1 последовательности (рис. 5,а), которые затем использовали для построения сети взаимодействия белков. Так, обнаружено, что последовательность AT4G26940 имеет структурное сходство с бета-1,3-галактозилтрансферазой (B3GALT4), которая может взаимодействовать с белками биосинтеза клеточной стенки GT14, FUT4, FUT6, GALT29A и GAL4, а также с белком F28O9.50, который активирует экспрессию генов, ответственных за рост клеток растяжением (рис. 5,б). Последовательность AT1G62700 сходна с активатором транскрипции NAC026 (рис. 5,в), который участвует в формировании ксилемы, способствует экспрессии факторов транскрипции MYB46, MYB85 [58], MYB83 и MYB58 и генов, участвующих в регуляции биосинтеза клеточной стенки у *A. thaliana*. Кроме того, NAC026 взаимодействует с белком LBD30, который участвует в позитивной регуляции дифференцировки элементов сосудов, а также с протеазой XCP1, принимающей участие в гибели клеток ксилемы во время ксилогенеза в корнях [59].

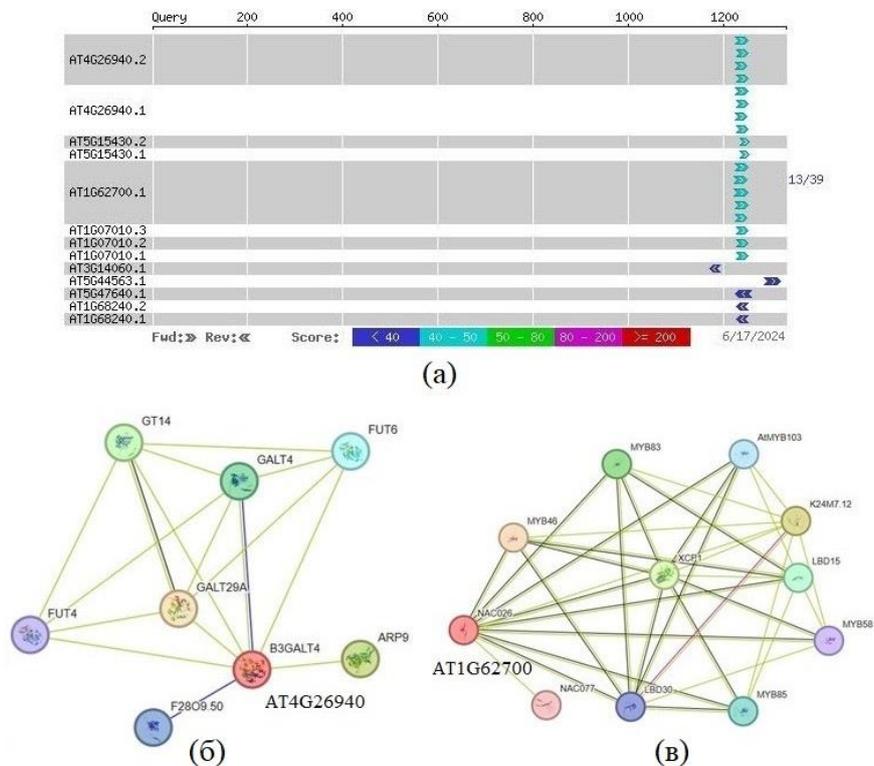


Рис. 5. Поиск функциональной связи белка tRoIC с другими белками: (а) – поиск структурных гомологов *NtSIP1* в геноме *A. thaliana*; (б) – белок-белковые взаимодействия бета-1,3-галактозилтрансферазы; (в) – белок-белковые взаимодействия фактора транскрипции NAC026.

Похожие морфологические эффекты, сходство пространственных структур и функционально важных аминокислотных остатков белков *b6* и *tRolC* позволяет делать выводы о схожести их действия на молекулярном уровне. Возможно, белок *tRolC* способен к активации функциональных гомологов *NAC026* и других транскрипционных факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предсказанная трехмерная структура белка *tRolC* имеет высокое структурное сходство с белком *b6*, несмотря на отсутствие видимой гомологии в их аминокислотных последовательностях. Кроме того, белок *tRolC* проявляет структурное сходство с экзотоксином А и холерным токсином, что позволяет предположить, что и его агробактериальный предшественник *RolC* также выполняет схожие функции. Аминокислотные остатки активного центра и сайта связывания белков *tRolC* и *RolC* имеют сходную структуру с остатками белка *b6*, что свидетельствует о выполнении ими сходных биологических функций. Аналогично структуре белка *b6*, в модели белка *tRolC* выделяется белок-связывающая петля, определяющая взаимодействие с другими белками, и ARTT-петля, имеющаяся у АДФ-рибозилирующих токсинов. Предсказанная структура *tRolC* обладает НАД(+)-АДФ-рибозилтрансферазной активностью, позволяющей ему взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами и белками, тем самым оказывая влияние на разнообразные метаболические процессы, в том числе на рост и устойчивость растений к абиотическим стрессам, а также на биосинтез вторичных метаболитов. Полученные нами результаты позволяют предполагать, что наиболее вероятными механизмами действия белка *tRolC* являются регуляция экспрессии ряда генов через взаимодействие с транскрипционными факторами, влияние на РНК-интерференцию, а также проявление гистонopodobной активности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Otten L. The *Agrobacterium* phenotypic plasticity (*plast*) genes. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2018. V. 418. P. 375–419. doi: [10.1007/82_2018_93](https://doi.org/10.1007/82_2018_93)
2. Meyer A.D., Ichikawa T., Meins F. Horizontal gene transfer: regulated expression of a tobacco homologue of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene. *Molecular & General genetics: MGG*. 1995. V. 249. No. 3. P. 265–273. doi: [10.1007/BF00290526](https://doi.org/10.1007/BF00290526)
3. Гумерова Г.Р., Чемерис А.В., Никоноров Ю.М., Кулуев Б.Р. Морфологический и молекулярный анализ изолированных культур адвентивных корней табака, полученных методами биобаллистической бомбардировки и агробактериальной трансформации. *Физиология растений*. 2018. Т. 65. № 5. С. 376–387.
4. Кулуев Б.Р., Мусин Х.Г., Баймухаметова Э.А. Вклад гена *tROL* в регуляцию роста табака при действии стрессовых факторов. *Biomics*. 2021. Т. 13. № 3. С. 360–367. doi: [10.31301/2221-6197.bmcs.2021-25](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2021-25)
5. Mohajjel-Shoja H., Clement B., Perot J., Alioua M., Otten L. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *trolC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other *plast* genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*. 2011. V. 24. No. 1. P. 44–53. doi: [10.1094/MPMI-06-10-0139](https://doi.org/10.1094/MPMI-06-10-0139)
6. Favero B.T., Tan Y., Lin Y., Hansen H.B., Shadmani N., Xu J., He J., Müller R., Almeida A., Lütken H. Transgenic *Kalanchoë blossfeldiana*, containing individual *rol* genes and open reading frames under 35S promoter, exhibit compact habit, reduced plant growth, and altered ethylene tolerance in flowers. *Frontiers in Plant Science*. 2021. V. 12. P. 672023. doi: [10.3389/fpls.2021.672023](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.672023)
7. Shkryl Yu., Veremeichik G., Avramenko T., Gorpenchenko T., Tchernoded G., Bulgakov V. Transcriptional regulation of enzymes involved in ROS metabolism and abiotic stress resistance in *rolC*-transformed cell cultures. *Plant Growth Regulation*. 2022. V. 97. P. 485–497. doi: [10.1007/s10725-022-00812-1](https://doi.org/10.1007/s10725-022-00812-1)

8. Kitakura S., Fujita T., Ueno Y., Terakura S., Wabiko H., Machida Y. The protein encoded by oncogene 6b from *Agrobacterium tumefaciens* interacts with a nuclear protein of tobacco. *The Plant Cell*. 2002. V. 14. No. 2. P. 451–463. doi: [10.1105/tpc.010360](https://doi.org/10.1105/tpc.010360)
9. Estruch J.J., Chriqui D., Grossmann K., Schell J., Spena A. The plant oncogene *rolC* is responsible for the release of cytokinins from glucoside conjugates. *The EMBO Journal*. 1991. V. 10. No. 10 P. 2889–2895.
10. Matveeva T.V., Sokornova S.V., Lutova L.A. Influence of *Agrobacterium* oncogenes on secondary metabolism of plants. *Phytochemistry Reviews*. 2015. V. 14. P. 541–554.
11. Faiss M., Strnad M., Redig P., Doležal K., Hanuš J., Van Onckelen H., Schmülling T. Chemically induced expression of the *rolC*-encoded β -glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: *rolC* does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta. *The Plant Journal*. 1996. V. 10. No. 1. P. 33–46. doi: [10.1046/J.1365-313X.1996.10010033.X](https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.1996.10010033.X)
12. Alcalde M.A., Müller M., Munne-Bosch S., Landin M., Gallego P.P., Bonfill M., Palazon J., Hidalgo-Martinez D. Using machine learning to link the influence of transferred *Agrobacterium rhizogenes* genes to the hormone profile and morphological traits in *Centella asiatica* hairy roots. *Frontiers in Plant Science*. 2022. V. 13. P. 1001023. doi: [10.3389/fpls.2022.1001023](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1001023)
13. Хафизова Г.В., Матвеева Т.В. Ген *rolC* агробактерий: на пути к пониманию функции. *Биотехнология и селекция растений*. 2021. Т. 4. № 1. С. 36–46. doi: [10.30901/2658-6266-2021-1-04](https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-1-04)
14. Yokoyama R., Hirose T., Fujii N., Aspúria E.T., Kato A., Uchimiya H. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants. *Molecular & General Genetics: MGG*. 1994. V. 244. No. 1. P. 15–22. doi: [10.1007/BF00280182](https://doi.org/10.1007/BF00280182)
15. RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB). URL: <https://www.rcsb.org/> (accessed 18.09.2024).
16. AlphaFold Protein Structure Database. URL: <https://www.alphafold.com/> (accessed 18.09.2024).
17. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Tunyasuvunakool K., Bates R., Židek A., Potapenko A. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021. V. 596. No. 7873. P. 583–589. doi: [10.1038/s41586-021-03819-2](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2)
18. Burley S.K., Bhikadiya C., Bi C., Bittrich S., Chao H., Chen L., Craig P. A., Crichlow G. V., Dalenberg K., Duarte J. M. et al. RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. *Nucleic Acids Research*. 2023. V. 51. No. 1. P. 488–508. doi: [10.1093/nar/gkac1077](https://doi.org/10.1093/nar/gkac1077)
19. Yang J., Zhang Y. Protein Structure and Function Prediction Using I-TASSER. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2015. doi: [10.1002/0471250953.bi0508s52](https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0508s52)
20. Yang J., Zhang Y. I-TASSER server: new development for protein structure and function predictions. *Nucleic Acids Research*. 2015. V. 43. P. 174–181. doi: [10.1093/nar/gkv342](https://doi.org/10.1093/nar/gkv342)
21. NCBI Entrez. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 18.09.2024).
22. NCBI BLAST. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed 18.09.2024).
23. EMBL-EBI Clustal Omega. URL: <https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo> (accessed 18.09.2024).
24. Waterhouse A.M., Procter J.B., Martin D.M.A., Clamp M., Barton G.J. Jalview Version 2—a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics*. 2009. V. 25. No. 9. P. 1189–1191. doi: [10.1093/bioinformatics/btp033](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033)
25. I-TASSER. URL: <https://zhanggroup.org/I-TASSER/> (accessed 18.09.2024).

26. TM-score Server. URL: <https://zhanggroup.org/TM-score/> (accessed 18.09.2024).
27. TAIR. URL: <v2.arabidopsis.org/> (accessed 18.09.2024).
28. STRING. URL: <string-db.org/> (accessed 18.09.2024).
29. Chen K., Dorlhac de Borne F., Szegedi E., Otten L. Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. 2014. V. 80. No. 4. P. 669–682. doi: [10.1111/tpj.12661](https://doi.org/10.1111/tpj.12661)
30. Матвеева Т.В., Сокоурнова С.В. Биологические особенности природно-трансгенных растений и их роль в эволюции. *Физиология растений*. 2017. Т. 64. № 5. С. 323–336.
31. Xu Y., Liu Z., Cai L., Xu D. Protein structure prediction by protein threading. *Computational Methods for Protein Structure Prediction and Modeling*. 2010. P. 1–42. doi: [10.1007/978-0-387-68825-1_1](https://doi.org/10.1007/978-0-387-68825-1_1)
32. Zheng W., Wuyun Q., Zhou X., Li Y., Freddolino P.L., Zhang Y. LOMETS3: integrating deep learning and profile alignment for advanced protein template recognition and function annotation. *Nucleic Acids Research*. 2022. V. 50. P. 454–464. doi: [10.1093/nar/gkac248](https://doi.org/10.1093/nar/gkac248)
33. Wang M., Soyano T., Machida S., Yang J.Y., Jung C., Chua N.H., Yuan Y.A. Molecular insights into plant cell proliferation disturbance by *Agrobacterium* protein 6b. *Genes & Development*. 2011. V. 25. No. 1. P. 64–76. doi: [10.1101/gad.1985511](https://doi.org/10.1101/gad.1985511)
34. Zhang Y., Skolnick J. TM-align: a protein structure alignment algorithm based on the TM-score. *Nucleic Acids Research*. 2005. V. 33. No. 7. P. 2302–2309. doi: [10.1093/nar/gki524](https://doi.org/10.1093/nar/gki524)
35. Deng Q., Barbieri J.T. Molecular mechanisms of the cytotoxicity of ADP-ribosylating toxins. *Annual Review of Microbiology*. 2008. V. 62. P. 271–288. doi: [10.1146/annurev.micro.62.081307.162848](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162848)
36. Qiu W., Lam R., Voytyuk O., Romanov V., Gordon R., Gebremeskel S., Vodsedalek J., Thompson C., Beletskaya I., Battaile K.P. et al. Insights into the binding of PARP inhibitors to the catalytic domain of human tankyrase-2. *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography*. 2014. V. 70. No. 10. P. 2740–2753. doi: [10.1107/S1399004714017660](https://doi.org/10.1107/S1399004714017660)
37. Zhang C., Freddolino P.L., Zhang Y. COFACTOR: improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein-protein interaction information. *Nucleic Acids Research*. 2017. V. 45. No. 1. P. 291–299.
38. Yang J., Roy A., Zhang Y. Protein-ligand binding site recognition using complementary binding-specific substructure comparison and sequence profile alignment. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2013. V. 29. No. 20. P. 2588–2595.
39. Zhang C., Zhang X., Freddolino P.L., Zhang Y. BioLiP2: an updated structure database for biologically relevant ligand-protein interactions. *Nucleic Acids Research*. 2024. V. 52. No. 1. P. 404–412. doi: [10.1093/nar/gkad630](https://doi.org/10.1093/nar/gkad630)
40. Zhang H., Gu Z., Wu Q., Yang L., Liu C., Ma H., Xia Y., Ge X. Arabidopsis PARG1 is the key factor promoting cell survival among the enzymes regulating post-translational poly(ADP-ribosylation). *Scientific Reports*. 2015. V. 5. P. 15892. doi: [10.1038/srep15892](https://doi.org/10.1038/srep15892)
41. Aravind L., Zhang D., de Souza R.F., Anand S., Iyer L.M. The natural history of ADP-ribosyltransferases and the ADP-ribosylation system. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2015. V. 384. P. 3–32. doi: [10.1007/82_2014_414](https://doi.org/10.1007/82_2014_414)
42. Rack J.G.M., Palazzo L., Ahel I. (ADP-ribosyl)hydrolases: structure, function, and biology. *Genes & Development*. 2020. V. 34. P. 263–284. doi: [10.1101/gad.334631.119](https://doi.org/10.1101/gad.334631.119)

43. Huber A., Bai P., de Murcia J.M., de Murcia G. PARP-1, PARP-2 and ATM in the DNA damage response: functional synergy in mouse development. *DNA Repair*. 2004. V. 3. No. 8–9. P. 1103–1108. doi: [10.1016/j.dnarep.2004.06.002](https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.06.002)
44. Gibson B.A., Kraus W.L. New insights into the molecular and cellular functions of poly(ADP-ribose) and PARPs. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 2012. V. 13. No. 7. P. 411–424. doi: [10.1038/nrm3376](https://doi.org/10.1038/nrm3376)
45. Kalisch T., Ame J.C., Dantzer F., Schreiber V. New readers and interpretations of poly(ADP-ribosylation). *Trends in Biochemical Sciences*. 2012. V. 37. No. 9. P. 381–390. doi: [10.1016/j.tibs.2012.06.001](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2012.06.001)
46. Leung A., Todorova T., Ando Y., Chang P. Poly(ADP-ribose) regulates post-transcriptional gene regulation in the cytoplasm. *RNA Biology*. 2012. V. 9. P. 5. P. 542–548. doi: [10.4161/rna.19899](https://doi.org/10.4161/rna.19899)
47. Amor Y., Babiychuk E., Inze D., Levine, A. The involvement of poly(ADP-ribose) polymerase in the oxidative stress responses in plants. *FEBS Letters*. 1998. V. 440. No. 1–2. P. 1–7. doi: [10.1016/s0014-5793\(98\)01408-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)01408-2)
48. De Block M., Verduyn C., De Brouwer D., Cornelissen M. Poly(ADP-ribose) polymerase in plants affects energy homeostasis, cell death and stress tolerance. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. 2005. V. 41. P. 95–106. doi: [10.1111/j.1365-313X.2004.02277.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02277.x)
49. Tian R.H., Zhang G.Y., Yan C.H., Dai Y.R. Involvement of poly(ADP-ribose) polymerase and activation of caspase-3-like protease in heat shock-induced apoptosis in tobacco suspension cells. *FEBS Letters*. 2000. V. 474. No. 1. P. 11–15. doi: [10.1016/s0014-5793\(00\)01561-1](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01561-1)
50. Frost G.M., Yang K.S., Waller G.R. Nicotinamide adenine dinucleotide as a precursor of nicotine in *Nicotiana rustica* L. *The Journal of Biological Chemistry*. 1967. V. 242. No. 5. P. 887–888.
51. Amini G., Sokornova S., Mohajjel-Shoja H., Stavrianidi A.N., Rodin I., Matveeva T.V. Induced expression of *rolC* for study of its effect on the expression of genes associated with nicotine synthesis in tobacco. *Ecological Genetics*. 2020. V. 18. No. 4. P. 413–422. doi: [10.17816/ecogen33768](https://doi.org/10.17816/ecogen33768)
52. Palazon J., Cusido R.M., Roig C., Piñol M.T. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants. *Plant Cell Reports*. 1998. V. 17. No. 5. P. 384–390. doi: [10.1007/s002990050411](https://doi.org/10.1007/s002990050411)
53. Helfer A., Clement B., Michler P., Otten L. The *Agrobacterium* oncogene AB-6b causes a graft-transmissible enation syndrome in tobacco. *Plant Molecular Biology*. 2003. V. 52. No. 2. P. 483–493. doi: [10.1023/a:1023962121894](https://doi.org/10.1023/a:1023962121894)
54. Gremillon L., Helfer A., Clement B., Otten L. New plant growth-modifying properties of the *Agrobacterium T-6b* oncogene revealed by the use of a dexamethasone-inducible promoter. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. 2004. V. 37. No. 2. P. 218–228. doi: [10.1046/j.1365-313x.2003.01956.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01956.x)
55. Kitakura S., Terakura S., Yoshioka Y., Machida C., Machida Y. Interaction between *Agrobacterium tumefaciens* oncoprotein 6b and a tobacco nucleolar protein that is homologous to TNP1 encoded by a transposable element of *Antirrhinum majus*. *Journal of Plant Research*. 2008. V. 121. No. 4. P. 425–433. doi: [10.1007/s10265-008-0160-1](https://doi.org/10.1007/s10265-008-0160-1)
56. Terakura S., Ueno Y., Tagami H., Kitakura S., Machida C., Wabiko H., Aiba H., Otten L., Tsukagoshi H., Nakamura K. et al. An oncoprotein from the plant pathogen agrobacterium has histone chaperone-like activity. *The Plant Cell*. 2007. V. 19. No. 9. P. 2855–2865. doi: [10.1105/tpc.106.049551](https://doi.org/10.1105/tpc.106.049551)
57. Terakura S., Kitakura S., Ishikawa M., Ueno Y., Fujita T., Machida C., Wabiko H., Machida Y. Oncogene *6b* from *Agrobacterium tumefaciens* induces abaxial cell division at late stages of leaf development and modifies vascular development in petioles. 2006. *Plant and Cell Physiology*. V. 47. No. 5. P. 664–672. doi: [10.1093/pcp/pcj036](https://doi.org/10.1093/pcp/pcj036)

58. Zhong R., Lee C., Zhou J., McCarthy R.L., Ye Z.H. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*. 2008. V. 20. No. 10. P. 2763–2782. doi: [10.1105/tpc.108.061325](https://doi.org/10.1105/tpc.108.061325)
59. Avci U., Earl Petzold H., Ismail I.O., Beers E.P., Haigler C.H. Cysteine proteases XCP1 and XCP2 aid micro-autolysis within the intact central vacuole during xylogenesis in Arabidopsis roots. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*. 2008. V. 56. No. 2. P. 303–315. doi: [10.1111/j.1365-313X.2008.03592.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03592.x)

Рукопись поступила в редакцию 08.08.24, переработанный вариант поступил 16.09.2024.
Дата опубликования 28.09.2024.

===== BIOINFORMATICS =====

Modeling Of the Structure of the tRoC Protein of *Nicotiana tabacum* and Its Functional Relation to Other Proteins

Tsvetkova A.D.¹, Shvets D.Yu.^{2,3}, Musin Kh.G.², Kuluev B.R.^{1,2}

¹*Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia*

²*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

³*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

Abstract. The *troC* gene is a homologue of the *rolC* oncogene of *Agrobacterium rhizogenes* and most likely got into *Nicotiana tabacum* genome during horizontal gene transfer. This gene is quite conserved and is expressed in young organs, but its functions, like the agrobacterium *rolC* gene, remain unknown. The putative structure of the tRoC protein of *Nicotiana tabacum*, predicted using the I-TASSER service, was analyzed in the study. The presence of amino acid residues in the tRoC protein of the active center and binding site, as well as a protein-binding and ARTT loop, similar in structure to protein 6b of *Agrobacterium vitis*, indicates that they perform similar biological functions. Based on the data, a hypothesis was put forward about the presence of ADP-ribosyltransferase activity in the tRoC protein, which allows it to influence the growth and stress tolerance, as well as the biosynthesis of secondary metabolites by influencing the regulation of gene expression through interaction with transcription factors, RNA interference, or the manifestation of histone-like activity.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes*, *rol* genes, *rolC*, 6b protein, ADP-ribosyltransferases, computer modeling.