

Анализ нерепликативных белков вирусов семейства *Qinviridae***Научный руководитель – Соловьев Андрей Геннадьевич*****Селифонов Игорь Владимирович****Студент (специалист)*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия*E-mail: selifonov2002@gmail.com*

Согласно современным представлениям о систематике вирусов, подавляющее большинство вирусов с РНК-геномом отрицательной полярности (группа V по Балтимору) группируются в монофилетический таксон - тип Negarnaviricota. Эта группа охватывает широкий круг хозяев и включает ряд важных патогенов человека и животных. Многие (-)оцРНК-вирусы на данный момент не были выделены и известны только по метагеномным данным. Среди них - вирусы семейства *Qinviridae*, геном которых представлен двумя молекулами РНК и кодирует два белка: репликазу и капсидный белок. Изначально эти вирусы были обнаружены у членистоногих и нематод, однако впоследствии они были найдены у растений. Вирусы семейства *Qinviridae* не имеют генов транспортных белков, и механизмы их репликации и межклеточного транспорта в организме растения неизвестны. В данной работе изучается эволюция N-белков *Qinviridae*, на примере вируса клевера RCQRV (red clover qin-related virus) исследуются их локализация и функции.

Из базы данных UniProt были скачаны последовательности N-белков *Qinviridae*, к ним были добавлены последовательности вирусов растений, собранные из метагеномных данных, после чего было построено выравнивание программой Muscle. Полученное выравнивание использовалось для построения филогенетического дерева максимального правдоподобия программой IQ-TREE, а также для предсказания структур капсидных белков с помощью AlphaFold2. Кодирующая последовательность гена N-белка RCQRV (*QinNP*) была амплифицирована с помощью ОТ-ПЦР на матрице тотальной РНК зараженного растения и клонирована в бинарные векторы рЛН*. Таким образом были получены конструкции для экспрессии свободного N-белка, а также N-белка, слитого с GFP и с mRFP (*QinNP-GFP*, *QinNP-mRFP*). Данные конструкции были введены в растения *Nicotiana benthamiana* методом агроинфильтрации. Свободный капсидный белок был исследован на предмет комплементации межклеточного транспорта с помощью репортерной конструкции PVX-POL-GFP. Внутриклеточная локализация химерных белков определялась методом флуоресцентной конфокальной микроскопии.

Согласно полученному выравниванию, последовательности N-белков вирусов растений семейства *Qinviridae* содержат консервативную вставку длиной порядка 150 аминокислотных остатков вблизи N-конца, которая отсутствует у вирусов животных. При этом на филогенетическом дереве, построенном по последовательностям N-белков, вирусы животных четко отделены от вирусов растений. В структурах, предсказанных AlphaFold2, вставка соответствует дополнительному домену, содержащему четыре альфа-спирали и небольшой антипараллельный бета-лист. Химерные белки, содержащие GFP на N- или C-конце, образуют в растительной клетке мелкие включения, ассоциированные с поверхностью ЭПР. Включения *QinNP-mRFP* имеют более выраженную структуру и часто повторяют форму ЭПР. При этом эксперименты с PVX-POL-GFP не подтверждают участие *QinNP* в межклеточном транспорте и в регуляции пропускной способности плазмодесм.