

## КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРОСТОРОВОЇ СТРУКТУРИ БІЛКА-МОДУЛЯТОРА ГІБЕРЕЛІНОВОЇ ВІДПОВІДІ RHT-1 *TRITICUM AESTIVUM* L. З РОДИНИ DELLA-GRAS БІЛКІВ

Інтенсивні дослідження молекулярних механізмів росту рослин та їх регуляції є важливими для створення нових високоврожайних сортів пшениці. Короткостеблові сорти пшениці в певних умовах дають збільшення врожайності зерна та є стійкими до полягання. Причина полягає в зниженій відповіді цих сортів на фітогормон росту гіберелін, що пов'язано з мутантними алелями карликовості в одному з двох локусів Rht-B1 або Rht-D1 [1]. Ці гени короткостебловості були введені у геноми багатьох сортів пшениці у селекційних програмах за допомогою звичайних схрещувань.

Фітогормони гібереліни (ГК) є родиною тетрациклічних дітерпеноїдних рослинних гормонів, які стимулюють подовження стебла, проростання і перехід від вегетативного росту до цвітіння. У вищих рослин є декілька позитивних і негативних регуляторів сигнальних шляхів гібереліну (ГК-сигналіngu).

GRAS-білки належать до родини рослиноспецифічних регуляторів транскрипції генів і регулюють різні аспекти росту і розвитку рослин в якості репресорів ГК-сигналіngu [2]. Ці білки містять консервативний С-кінцевий GRAS-домен, назва якого походить від перших трьох ідентифікованих білків-членів цієї родини, які складаються з 400–700 а.з. і здебільшого локалізовані у ядрі клітини. GRAS-білки грають важливу роль у розвитку паростків та коренів рослин, відповіді на ГК-сигналінг та трансдукції сигналів фітохром-А, а також беруть участь у стійкості рослин до хвороб, біотичних та абіотичних стресів [3, 4]. GRAS-білки ідентифіковані більше ніж у 30 видів однодольних і дводольних рослин понад 20 родів [5–8]. GRAS-білки мають варіабельний N-кінець і консервативний С-кінцевий функціональний GRAS-домен, який містить специфічні консервативні послідовності [2]. У складі GRAS-домену виділяють субдомени

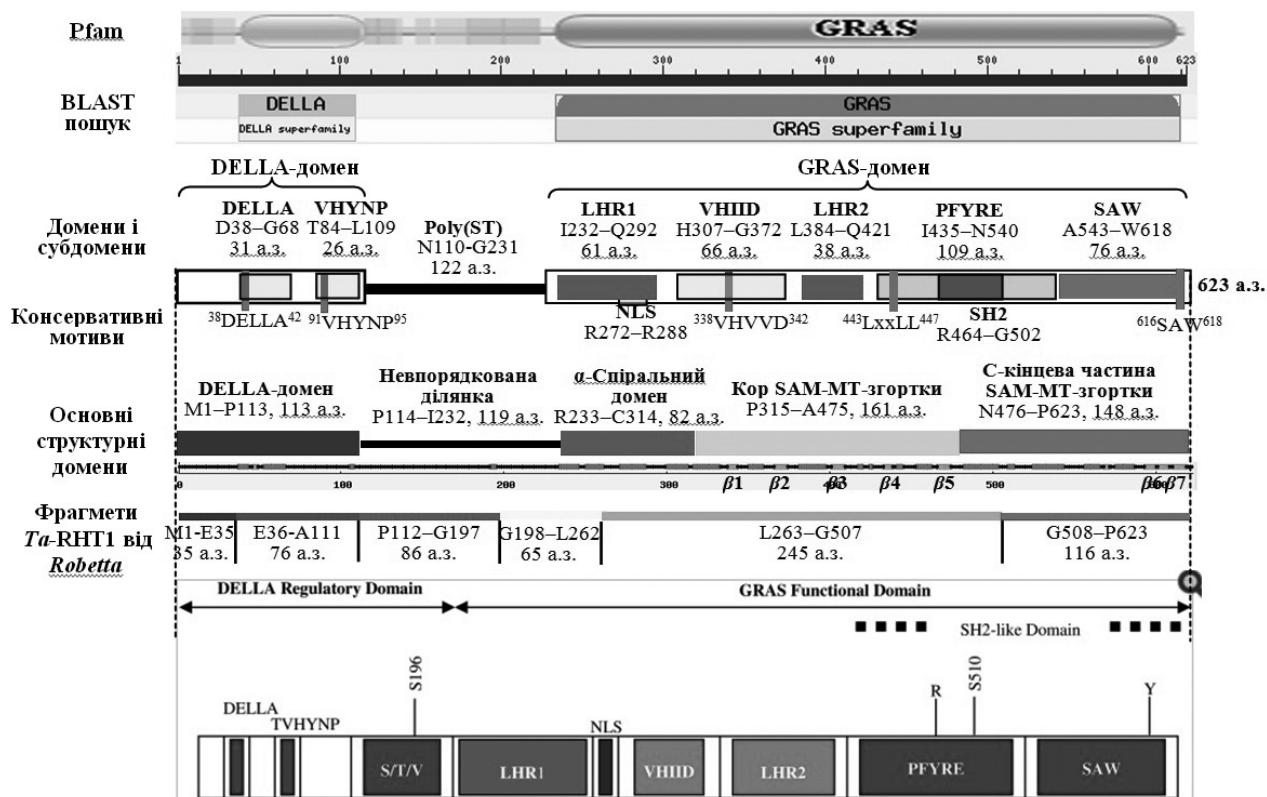
VHIIID, PFYRE і SAW, а також два LHR-повтори, NLS-мотив (Nuclear localized signal) та SH2-подібний домен. За будовою GRAS-домену рослиноспецифічні GRAS-білки схожі зі специфічними STAT-білками тварин – трансдукторами сигналу та активаторами транскрипції, які зв'язуються з ДНК [9, 10].

Підродина регуляторних DELLA-білків відноситься до GRAS-родини рослинних транскрипційних регуляторів [11]. Назва цієї підродина походить від висококонсервативного амінокислотного DELLA-мотиву (Asp-Glu-Leu-Leu-Ala) в їхньому N-кінцевому домені. Властивості DELLA-білків описано в україномовному огляді [1].

У складі DELLA-білків рослин виділяють два великих модуля: N-кінцевий регуляторний гіберелін-сигнальний DELLA-домен і С-кінцевий функціональний GRAS-домен, які відповідають ~25 % і ~75 % розміру білка відповідно. DELLA-домен характеризується наявністю трьох консервативних амінокислотних мотивів – DELLA, LEXLE і VHYNP. Мотиви DELLA і VHYNP є необхідними для зв'язування рецептора гібереліну GID1 і наступного ГК-залежного убіквітинування і протеолізу DELLA-білків [12].

Будову мономера DELLA-білків представлено на прикладі *Ta-RHT1*, який є типовим представником DELLA-підродина GRAS-родини білків (рис. 1). До складу двох основних доменів входять консервативні структурні субдомени, які позначаються в літературі за присутніми в них консервативними амінокислотними мотивами, а також ділянки, сайти, мотиви й окремі залишки з пост-трансляційними модифікаціями.

Мутантні варіанти DELLA-білка Reduced height protein 1 (RHT-1) пшениці *T. aestivum*, які кодуються алелями *Rht-B1b* і *Rht-D1b*, пов'язані із зміненою відповіддю на рослинний гормон росту гіберелін і відповідно з коротшим стеблом



**Рис. 1.** Доменна структура *Ta-RHT1*. А. В складі *Ta-RHT1* ділянка G15–P112 відповідає DELLA-домени, а ділянка ~A230–W618 відповідає С-кінцевому GRAS-домени. GRAS-домени є консервативним у всіх членів родини GRAS-білків. Представлено консервативні домени, субдомени і мотиви DELLA-білків. DELLA-білки містять унікальний N-кінцевий DELLA-домени з двома високо консервативними мотивами DELLA і VHYNP, а також еволюційно дивергентну неструктуровану Poly(S/T) ділянку (ділянка, збагачена залишками серину і треоніну, Ser і Thr)

рослини та стійкістю до вилягання. Ці мутантні варіанти є вкороченими з N-кінця на 64 а.з. завдяки точковим мутаціям, які призводять до утворення стоп-кодону в DELLA-домени [9] (рис. 1). Імовірно, трансляція мутантної мРНК відновлюється на одному з наступних старт-кодонів, які відповідають M65, M67 і M69 [9].

Порівняно до DELLA-білка дикого типу ця N-кінцева делеція M1–E64 ушкоджує еволюційно консервативний N-кінцевий гіберелін-сигнальний DELLA-домени, що робить мутантні білки RHT1 стійкими до ГК-індукованої деградації [9]. Проте вплив цієї мутації на структуру *Ta-RHT1* на його взаємодії з білками-партнерами вивчено недостатньо.

Метою нашої роботи є моделювання просторової структури окремих доменів повнорозмірного білка *Ta-RHT1* дикого типу і його вкороченого мутантного варіанта, структурний аналіз відомих функціонально важливих ділянок і мотивів цих білків та можливий молекулярний

механізм впливу N-кінцевої делеції M1–E64 на структуру і функцію *Ta-RHT1*.

### Матеріали і методи

Амінокислотні послідовності білків отримано з баз даних UniProtKB і NCBI/Protein. Множинне співставлення амінокислотних послідовностей проведено веб-сервером Clustal Omega 1.2.1 [13]. BLAST-пошук гомологів *Ta-RHT1* проведено за базою даних консервативних доменів білків Conserved Domain Database (CDD) [14], InterPro 54.0, Pfam, PANTHER і PROSITE. Передбачення *coiled-coil* ділянок і NLS-мотивів проведено за веб-серверами COILS [15]. Тип просторової згортки окремих доменів визначено за базами даних SCOP (Structural Classification of Proteins).

Передбачення доменної і вторинної структури повнорозмірних білків дикого типу, а також моделювання просторової структури кожного структурного домену проведено веб-сервером

Robetta [16]. Незалежне моделювання просторової структури повнорозмірних білків проведено веб-сервером I-TASSER [17], який використовує інший алгоритм пошуку структурних шаблонів, та веб-сервером Swiss-Model [18]. Візуалізацію просторових структур доменів і білків проведено за пакетами програм UCSF Chimera 1.11 [19] і PyMOL 1.7.6.0 [20].

### Результати та обговорення

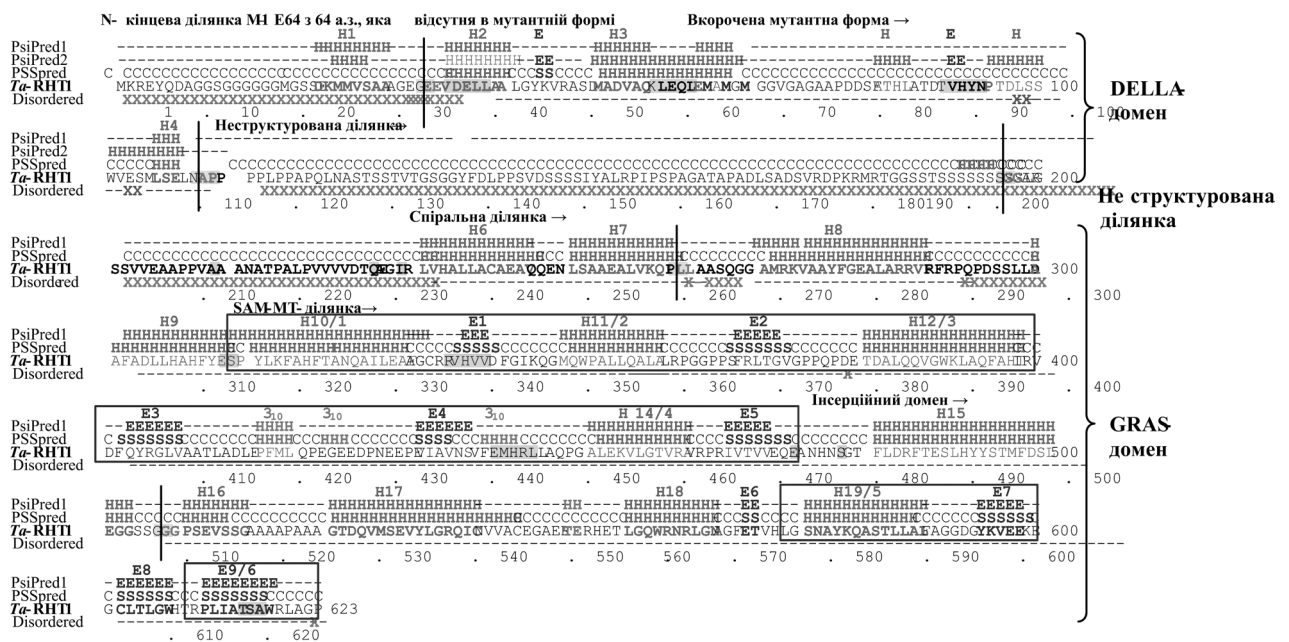
У складі *Ta*-RHT1 (UniProt код Q9ST59) присутні всі консервативні мотиви DELLA-білків: <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup>, <sup>60</sup>LE<sub>x</sub>LE<sup>64</sup>, <sup>91</sup>VHYNP<sup>95</sup>, <sup>338</sup>VHVVD<sup>342</sup> (варіант мотиву VHID), <sup>443</sup>MHRLL<sup>447</sup>, (варіант мотиву LxxLL) і <sup>616</sup>SAW<sup>618</sup>. BLAST-пошук гомологів *Ta*-RHT1, проведений проти консервативних доменів із декількох баз даних білкових родин і доменів, виявляє обидва модулі GRAS і DELLA (рис. 2 А). Велика С-кінцева ділянка ~233–617 а.з. (межі за Pfam 234–619, ~62 % розміру білка) відноситься до родини «GRAS superfamily». Відповідні записи для інших баз даних: InterPro IPR005202/TF\_GRAS; Pfam PF03514/GRAS; CDD CDD:252005; PANTHER PTHR31636:SF7 і PROSITE PS50985/GRAS; PANDIT PF03514; Pseudofam PF03514. N-кінцева ділянка G15–P112 (граничі за Pfam

38–114) а.з. відноситься до родини «DELLA superfamily». Відповідні записи для інших баз даних: InterPro IPR030006/TF\_DELLA і IPR021914/TF\_DELLA\_N; Pfam PF12041/DELLA; CDD CDD:256813; PANTHER PTHR31636:SF47 і PTHR31636:SF50; PANDIT PF12041; Pseudofam PF12041.

### Структурно неупорядковані ділянки.

У структурі *Ta*-RHT1 присутні ділянки з низькою амінокислотною консервативністю, які, ймовірно, збігаються з ділянками підвищеної структурної неупорядкованості. До них належать: більша частина N-кінцевого домену, невелика ділянка між DELLA- і VHYNP-субдоменами, велика за розміром (N110–G231, ~122 а.з.) ділянка між DELLA- і LHR1-доменами, тобто між основними DELLA- і GRAS-доменами, невеликі ділянки після LHR1- і LHR2-субдоменів, ділянка всередині PFYRE-домену і невелика С-кінцева ділянка. Можна припустити, що основні DELLA- і GRAS-домени з'єднані великим за розміром і гнучким міждоменним лінкером із частково неупорядкованою просторовою структурою.

**Вторинна структура та інші властивості *Ta*-RHT1, передбачені з амінокислотної послідовності.** Вторинна структура *Ta*-RHT1, яку пе-



**Рис. 2.** Передбачення доменної і вторинної структури *Ta*-RHT1. А. Графічне представлення результатів NR PSI-BLAST співставлень з веб-сервером Robetta. Позначено границі 6 передбачених структурних доменів і вторинну структуру. Б. Доменна структура, структурно-неупорядковані ділянки та вторинна структура. Передбачені чотири неупорядковані ділянки (disordered, 29% від 623 а.з.) позначено символом 'x'. Елементи вторинної структури позначено як: Н,  $\alpha$ -/<sub>3</sub><sup>10</sup>-спіралі; Е/С,  $\beta$ -тяжі; С, нерегулярна конформація (coil). В. Передбачення нормалізованого В-фактору від I-TASSER

редбачено з Robetta (PsiPred), нараховує всього ~17  $\alpha$ -спіралей і 9  $\beta$ -тяжів, а також 4 структурно-непорядковані ділянки: M1–D38, P112–R233, L263–G268 і Q292–A300, дві з яких є великими за розміром і збігаються з ділянками f1 і f3, а також з першою половиною ділянки f4 (рис. 3 Б). Незалежно передбачена вторинна структура *Ta*-RHT1 з I-TASSER (PSSpred) добре збігається з наведеною вище. Всього передбачено 20  $\alpha$ -спіралей (із них 5 коротких) і 10  $\beta$ -тяжів (із них 2 коротких) (рис. 3 Б). Розбіжності між передбаченнями PsiPred і PSSpred позначено сірим фоном (рис. 3 Б). Консервативний мотив <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> припадає на середину  $\alpha$ -спіралі H2, мотив <sup>91</sup>VHYNP<sup>95</sup> відповідає короткій петлі між двома  $\alpha$ -спіралями, мотив <sup>338</sup>VHVVD<sup>342</sup> збігається з  $\beta$ -тяжом E2, і мотив <sup>416</sup>SAW<sup>418</sup> припадає на кінець  $\beta$ -тяжу E10.

Ділянки доменної структури *Ta*-RHT1, передбачені з Robetta. Проведено передбачення доменної структури з веб-сервером Robetta (рис. 3 А, Б). У складі *Ta*-RHT1 за результатами двох методів (Ginzu 1 і 2) передбачено наявність шести структурних ділянок (f1–f6), з яких f1 і f2 відповідають DELLA-домени, а f3–f6 – GRAS-до-

мену. Для кожної ділянки обрано структурний шаблон і отримано модельні просторові структури за гомологією. Знайдені структурні шаблони (PDB ID: 4KIB:B і 1VL5:A) є бактеріальними SAM-залежними метилтрансферазами [21]. Деякі з визначених структурних ділянок збігаються з межами субдоменів DELLA-GRAS-білків, описаними в науковій літературі (рис. 1).

Найбільша за розміром ділянка A333–W618 (286 а.з.) *Ta*-RHT1 охоплює 9 передбачених  $\beta$ -тяжів, які перемежуються  $\alpha$ -спіралями, і відповідає, імовірно, SAM-МТ-згортці або згортці Росмана, в яку інтегровано два додаткових інсерційних домени, як це характерно для багатьох SAM-МТ. Перший у послідовності  $\beta$ 1-тяж SAM-МТ-згортки припадає на V338–D342 і повністю збігається з VHID-мотивом.

Модельна структура DELLA-домени *Ta*-RHT1. Для DELLA-домени *Ta*-RHT1 побудована повноатомна модельна просторова структура з використанням структурного шаблону 2ZSH:B за веб-серверами I-TASSER і Robetta (M1–P113, 113 а.з. і 1550 атомів та Q11–G126 а.з., 116 а.з. і 1732 атомів включно з H-атомами відповідно).

#### *Ta*-RHT1

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
MKREYQDAGG	SGGGGGMG	SEDKMMVSA	AGEGEEVDEL	LAALGYKVR	SDMADVAQEL	EOLEMAMCMG	GVGAGAAPPD	SFATHLATDT	VHYNPTDLS	100
WVESMLSELN	APPPPLPP	QLNASTSSTV	TGSGGYFDLP	PSVDSSTSIY	ALRPIPPAG	ATAPADLSAD	SVRDPKRMRT	GGSTSSSSSS	SSSLGGGAR	200
SSVVEAAPV	AAANATPAL	PVVVVDTQEA	GIRLVHALLA	CAEAVQOENL	SAEAALVKQI	PIL AASQGGA	M RKVAAYFGE	ALARRVFFR	PQPDSSLLDA	300
AFADLLHAHF	YESCPYLKFA	HFTANQALIE	AFAGCRVHV	VD FGIKQGMQ	WPALLQALAL	RPGGPPSFR	TGVGPPQDE	TDAL QOVGWK	LAQFAHTIRV	400
DFQYRGLVAA	TLADLEPFML	QPEGEEDPNE	EPEVIAVNSV	FEMHRLLAQP	GALEKVLGTV	RAVR PRIVTV	VEQEAHNSG	TFLRRTESL	HY YSTMFDLSL	500
EG GSSGGGPS	EVSSGAAAP	AAAGTDQVMS	EVYLGRIQCN	VVACEGAERT	ERHETLQQR	NRLGNAGFET	VHLGSNAYKQ	ASTLLALFAG	GDQY KVEEKE	600
GCLTLGWHTR	PLIATSAWRL	AGP								623

#### Структурний шаблон VL5:A

#### *Ta*-RHT1, модель m2

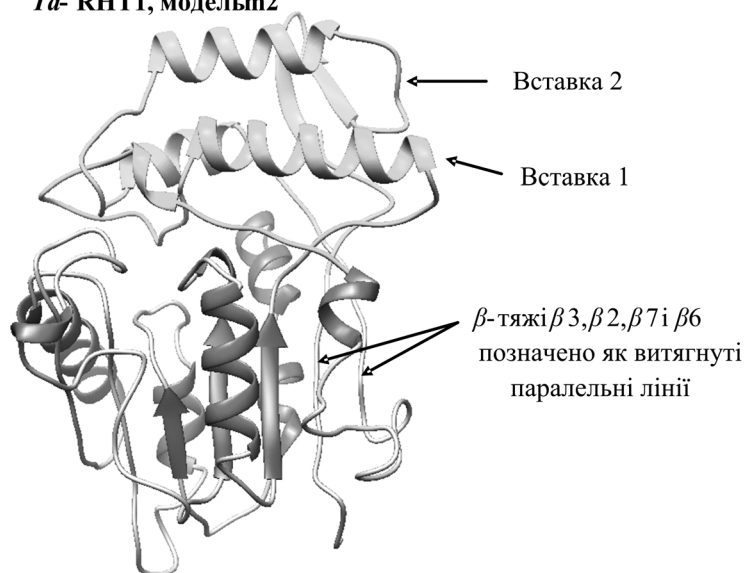


Рис. 3. Передбачена модель просторової структури *Ta*-RHT1. Модель просторової структури мономера *Ta*-RHT1 побудована за гомологією за допомогою сервера I-TASSER. Отримана модель m2 є компактною і достатньо реалістичною

В структурі цих DELLA-доменів присутні чотири  $\alpha$ -спіралі. Серед кращих можливих структурних шаблонів, які знайдено в якості структурних шаблонів для GRAS-домену веб-серверами Robetta і I-TASSER, знаходяться кристалографічні структури SAM-MT з трьох бактерій і дріжджів (PDB-коди: 4KIB:A, 1VL5:A, 4OBX:A і 4UY7:A). Кристалографічна структура 4KIB, зокрема, відповідає гомодимеру метилтрансферази *Streptomyces hygrosopicus* в комплексі з S-аденозил-L-гомоцистеїном і метилфенилпируватною кислотою.

Додатково нами проаналізовано структури п'яти SAM-MT, які співставлено з GRAS-доменом рослин у роботі [21] (PDB коди: 1IM8:A, 1X19:A, 3GWZ:A, 3OU2:A і 2AOT:A). Просторові структури всіх цих дев'яти SAM-MT містять консервативну просторову згортку, яка охоплює варіабельні інсерційні елементи. Більшість цих кристалографічних структур є гомодимерами або поєднанням гомодимерів, як і передбачений стан GRAS-білків рослин. Співставлення порядку передбачених елементів вторинної структури *Ta-RHT1* з вторинною структурою дев'яти наведених SAM-MT демонструє добре співпадіння всіх консервативних елементів SAM-MT згортки.

Субодиниці дев'яти наведених SAM-MT сформовані SAM-MT-згортою з основним  $\beta$ -шаром з семи  $\beta$ -тяжів, який має консервативну просторову структуру (рис. 3 А).  $\beta$ -тяжі йдуть у порядку 3-2-1-4-5-7-6 і є паралельними, за винятком  $\beta 7$ -тяжу, який є антипаралельним і знаходиться безпосередньо біля С-кінця білка. На початку SAM-MT-згортки знаходиться  $\alpha$ -спіраль H1, присутність якої є характерною для SAM-MT. Тяжі  $\beta 3$  і  $\beta 4$  з'єднані петлею, яка може містити  $3_{10}$ -спіраль або ще одну додаткову  $\alpha$ -спіраль.  $\alpha$ -спіралі H1–H3 знаходяться з одного боку від  $\beta$ -шару, а H4 і H5 – з іншого боку. Між  $\beta 4$ -тяжем і H4-спіраллю знаходиться консервативна  $3_{10}$ -спіраль, присутність якої в GRAS-домені свідчить на користь SAM-MT-згортки. У всіх проаналізованих SAM-MT для корової ділянки H1– $\beta 5$  характерна відсутність вставок, однак є певні варіації в розмірах  $\alpha$ -спіралей,  $\beta$ -тяжів та з'єднуючих петель, і цю ділянку можна співставити з GRAS-доменом *Ta-RHT1*. У складі різних SAM-MT між  $\beta 5$ -тяжем і H5-спіраллю, як правило, знаходиться вставка 1 (інсерційний домен), яка є варіабельною за розміром і має різну топологію ( $\alpha$ -спіральна,  $\beta$ -складчаста або змішана  $\alpha/\beta$ -структура). Наприклад, у 4KIB:A і 1VL5:A її розмір становить  $\sim 27$  і 25 а.з. Між  $\beta 6$  і  $\beta 7$ -тяжами іноді може знаходити-

ся вставка 2, наприклад, у 4KIB:A вона відсутня, а у 1VL5:A її розмір становить  $\sim 50$  а.з.

У GRAS-домені *Ta-RHT1* присутні вставка 1 між  $\beta 5$  і H5 та вставка 2 між  $\beta 6$  і  $\beta 7$ -тяжами, що ускладнює співставлення DELLA-білків рослин із структурними шаблонами SAM-MT. Проблема вибору структурного шаблону (або декількох шаблонів) для відносно невеликого домену полягає у необхідності порівняти не лише їхні корові ділянки, а й по всій довжині, включаючи співставлення також для  $\beta 6$ - і  $\beta 7$ -тяжів та вставок 1 і 2.

**Моделювання GRAS-домен сервером I-TASSER.** Проведено незалежне моделювання GRAS-домену *Ta-RHT1* (A213–P623, 411 а.з.) з I-TASSER за заданим структурним шаблоном 4KIB:A. З амінокислотної послідовності передбачено 9  $\beta$ -тяжів, 13  $\alpha$ -спіралей і три  $3_{10}$ -спіралі. На  $\alpha$ -спіральній ділянці L234–F332 присутні 5 довгих  $\alpha$ -спіралей, а для ділянки R337–W618 передбачено чергування  $\beta$ -тяжів і  $\alpha$ -спіралей, характерне для згортки SAM-MT.

**Моделні просторові структури окремих доменів *Ta-RHT1* від Robetta.** Для шести передбачених структурних ділянок *Ta-RHT1* запропоновано структурні шаблони і побудовано модельні просторові структури. Моделювання кожної ділянки з перекриттям сусідніх ділянок на 4–6 а.з. проведено веб-сервером незалежно і послідовно. Для кожної змодельованої ділянки f1–f6 отримано по п'ять компактних альтернативних модельних структур.

Усі ділянки мають глобулярні і достатньо компактні модельні структури. Найменша N-кінцева f1 (M1–E35, 35 а.з.) передбачена як структурно невпорядкована, однак має дві  $\alpha$ -спіралі (коротку і довгу). Консервативний DELLA-домен f2 (E36–A111) має  $\alpha$ -спіральний тип і містить чотири  $\alpha$ -спіралі (2 короткі і 2 довгі), які присутні і в кристалографічній структурі шаблону (2ZSH:B). Ділянка f3 (P112–G197) є структурно невпорядкованою і має 2 або 3 короткі спіралі, а її моделювання є найбільш проблемним. Ця ділянка з'єднує більш структуровані DELLA- і GRAS-домени.

**Функціонально важливі елементи *Ta-RHT1*.** В LHR1-домені знаходиться сигнал ядерної локалізації NLS R272–R288 для *Ta-RHT1*, а також ділянка димеризації. В SH2-подібному домені PFYRE-домену *Ta-RHT1* знаходиться консервативний залишок аргініну R485. В SAW-домені *Ta-RHT1* знаходиться консервативний залишок тирозину Y594, який, імовірно, може фосфорилюватися. Вірогідно, ці залишки є функ-

ціонально важливими та можуть забезпечувати регуляцію активності білка шляхом фосфорилювання.

Отже, нами отримана модель просторової структури мономера *Ta-RHT1* та його мутантної форми з N-кінцевою делецією M1–E64, в якій відсутні характерні амінокислотні мотиви <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> та <sup>60</sup>LExLE<sup>64</sup>. Оскільки мотив <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> є необхідним для зв'язування рецептора гібереліну *GID1* і наступного ГК-залежного убиквітинування і протеолізу DELLA-білка, очевидно, що результатом мутації є порушення в першу чергу специфічного зв'язування *Ta-RHT1* з рецептором *GID1*.

### Висновки

Отримано модель просторової структури DELLA-білка *Ta-RHT1* методом комп'ютерного моделювання за гомологією, причому в якості

структурного шаблону використано SAM-залежні метилтрансферази. Проаналізовано структурні особливості функціональних ділянок і консервативних мотивів та передбачено функціональні сайти і амінокислотні залишки. Консервативний залишок тирозину Y594 в SAW-домени, імовірно, може фосфорилюватися та забезпечувати регуляцію активності білка *Ta-RHT1*. N-кінцева делеція M1–E64 *Ta-RHT1*, пов'язана із зміненою відповіддю на гормон росту гіберелін і, відповідно, з коротшим стеблом пшениці та її стійкістю до вилягання, призводить до втрати характерних амінокислотних мотивів <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> та <sup>60</sup>LExLE<sup>64</sup>. Оскільки мотив <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> є необхідним для зв'язування рецептора гібереліну, очевидно, що результатом мутації є порушення специфічного зв'язування *Ta-RHT1* з рецептором *GID1* та наступного ГК-залежного убиквітинування і протеолізу DELLA-білка.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Гіберелін-сигнальні шляхи рослин // Цитологія і генетика. – 2011. – 45, № 4. – С. 67–78.
2. Pysh L.D., Wysocka-Diller J.W., Camilleri C., Bouche D., Benfey P.N. The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the SCARECROW-LIKE genes // Plant J. – 1999. – 18, № 1. – P. 111–119.
3. Mayrose M., Ekengren S., Melech-Bonfil S., Martin G.B., Sessa G. A novel link between tomato GRAS genes, plant disease resistance and mechanical stress response // Mol. Plant Pathol. – 2006. – 7, № 6. – P. 593–604.
4. Cao D., Cheng H., Wu W., Soo H.M., Peng J. Gibberellin mobilizes distinct DELLA-dependent transcriptomes to regulate seed germination and floral development in *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2006. – 142. – P. 509–525.
5. Tian C.G., Wan P., Sun S.H., Li J., Chen M. Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. – 2004. – 54. – P. 519–532.
6. Itoh H., Sasaki A., Ueguchi-Tanaka M., Ishiyama K., Kobayashi M., Hasegawa Y., Minami E., Ashikari M., Matsuoka M. Dissection of the phosphorylation of rice DELLA protein, SLENDER RICE1 // Plant Cell Physiol. – 2005. – 46. – P. 1392–1399.
7. Lee M.H., Kim B., Song S.K., Heo J.O., Yu N.I., Lee S.A., Kim M., Kim D.G., Sohn S.O., Lim C.E., Chang K.S., Lee M.M., Lim J. Large-scale analysis of the GRAS gene family in *Arabidopsis thaliana* // Plant Mol. Biol. – 2008. – 67. – P. 659–670.
8. Tong H., Jin Y., Liu W., Li F., Fang J., Yin Y., Qian Q., Zhu L., Chu C. Dwarfing and low tillering, a new member of the GRAS family, plays positive roles in brassinosteroid signaling in rice // Plant J. – 2009. – 58, № 5. – P. 803–816.
9. Richards D.E., Peng J., Harberd N.P. Plant GRAS and metazoan STATS: one family? // Bioessays. – 2000. – 22. – P. 573–577.
10. Peng J., Richards D.E., Hartley N.M., Murphy G.P., Devos K.M., Flintham J.E., Beales J., Fish L.J., Worland A.J., Pelica F., Sudhakar D., Christou P., Snape J.W., Gale M.D., Harberd N.P. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators // Nature. – 1999. – 400, № 6741. – P. 256–261.
11. Yoshida H., Hirano K., Sato T., Mitsuda N., Nomoto M., Maeo K., Koketsu E., Mitani R., Kawamura M., Ishiguro S., Tada Y., Ohme-Takagi M., Matsuoka M., Ueguchi-Tanaka M. DELLA protein functions as a transcriptional activator through the DNA binding of the indeterminate domain family proteins // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2014. – 111, № 21. – P. 7861–7866.
12. Murase K., Hirano Y., Sun T.P., Hakoshima T. Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor *GID1* // Nature. – 2008. – 456, №7221. – P. 459–463.
13. Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J., Thompson J.D., Higgins D.G. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega // Mol. Syst. Biol. – 2011. – 7. – P. 539.
14. Marchler-Bauer A., Derbyshire M.K., Gonzales N.R., Lu S., Chitsaz F., Geer L.Y., Geer R.C., He J., Gwadz M., Hurwitz D.I., Lanczycki C.J., Lu F., Marchler G.H., Song J.S., Thanki N., Wang Z., Yamashita R.A., Zhang D., Zheng C., Bryant S.H. CDD: NCBI's conserved domain database // Nucl. Acids Res. – 2015. – 43 (Database issue). – P. D222–D222.
15. Lupas A., Van Dyke M., Stock J. Predicting coiled coils from protein sequences // Science. – 1991. – 252, № 5009. – P. 1162–1164.
16. Kim D.E., Chivian D., Baker D. Protein structure prediction and analysis using the Robetta server // Nucl. Acids Res. – 2004. – 32, Suppl. 2. – P. W526–W531.
17. Yang J., Zhang Y. I-TASSER server: new development for protein structure and function predictions // Nucl. Acids Res. – 2015. – 43, № W1. – P. W174–W181.

18. Biasini M., Bienert S., Waterhouse A., Arnold K., Studer G., Schmidt T., Kiefer F., Cassarino T.G., Bertoni M., Bordoli L., Schwede T. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information // Nucl. Acids Res. – 2014. – 42, № W1. – P. W252–W258.
19. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis // J. Comput. Chem. – 2004. – 25, № 13. – P. 1605–1612.
20. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.7.4 Schrödinger, LLC.
21. Zhang D., Iyer L.M., Aravind L. Bacterial GRAS domain proteins throw new light on gibberellic acid response mechanisms // Bioinformatics. – 2012. – 28, № 19. – P. 2407–2411.

**ODYNETS K.O.<sup>1</sup>, KORNELYUK O.I.<sup>1</sup>, CHEBOTAR S.V.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Zabolotny str., 150, e-mail: kornelyuk.imbg@gmail.com

<sup>2</sup> Odesa National University named after I. Mechnikov, Ukraine, 65058, Odesa, Champagne Lane, 2, e-mail: s.v.chebotar@gmail.com

**COMPUTER MODELING OF PROTEIN SPATIAL STRUCTURE OF HIBBERELLIN RESPONSE RHT-1 TRITICUM AESTIVUM L. FROM DELLA-GRAS PROTEINS FAMILY**

**Aim.** Modeling of 3D structure of wheat RHT-1 protein (Reduced height protein 1, *Ta*-RHT1) which is a modulator of plant growth hormone gibberellin response and belongs to the DELLA subfamily of GRAS family of plant protein repressors of transcription. **Methods.** BLAST-analysis, 3D structure modeling by Robetta, I-TASSER and Swiss-Model web-servers. **Results.** For *Ta*-RHT1 protein the secondary and subdomain structure and regions of high structural disorder are predicted. Crystal structures of SAM-dependent methyltransferases containing  $\beta$ -layer with seven  $\beta$ -strands were used as structural templates for modeling. Conservative tyrosine Y594 residue in SAW-domain can probably be phosphorylated and ensure the regulation of activity of *Ta*-RHT1 protein. N-terminal deletion M1-E64 in *Ta*-RHT1 is associated with altered response to growth hormone gibberellin and therefore shorter stalk of wheat and its resistance to lodging, leads to loss of specific <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> and <sup>60</sup>LE<sup>64</sup> motifs. Since <sup>38</sup>DELLA<sup>42</sup> motif is required for binding to gibberellin receptor, apparently these mutations resulted in violations of specific binding of *Ta*-RHT1 with GID1 and violation of the subsequent proteolysis and ubiquitination of DELLA-protein.

**Keywords:** DELLA protein, GRAS family, gibberellin response, structure modeling.