

Garg A., Kirchler T., Fillinger S., Chaban C.

**INACTIVATION OF ARABIDOPSIS BZIP FACTORS BY SITE-DIRECTED  
MUTAGENESIS IN THE DNA-BINDING DOMAIN.**

Eberhard Karls University of Tuebingen, ZMBP  
Auf der Morgenstelle 32, Tuebingen, 72076, Germany  
e-mail: christina.chaban@zmbp.uni-tuebingen.de

Basic region leucine zipper (bZIP) transcription factors regulate diverse processes in eukaryotic cells. In plants they are involved in abiotic stress signaling, energy metabolism, seed germination, pathogen defense, seedling and plant development and senescence (Jakoby et al., 2002). The basic region of the bZIP factors contains a number of basic amino acids and is responsible for both nuclear localization and DNA binding. The so-called zipper domain has the amphipathic alpha-helical structure enabling hydrophobic interaction between such helices and hence dimerization.

In Arabidopsis there are 74 members subdivided in ten groups based on structural homology (Jakoby et al., 2002). The heterodimerization network of C-/S1-group members controls the expression of key metabolic enzymes, as well as the endosperm-specific genes (Alonso et al., 2009) and play important role in the metabolic reprogramming under energy starvation (Weltmeir et al., 2009). However, a certain level of promiscuity in the dimerization between C- and S1-group members makes the clarification of specific roles and mechanisms of action of individual bZIPs especially challenging.

In order to overcome the problem of functional redundancy and enable the inactivation of a signaling pathway dependent on a specific bZIP factor, we aimed at developing a new approach based on the manipulation of the DNA-binding activity of bZIP factors. The molecular biology methods such as PCR, cloning, mutagenesis, bacteria transformation have been used in order to generate different versions of bZIP factors and produce recombinant proteins. For the protein functional analysis, the in vitro DNA binding assays, in vivo protein interaction studies, as well as gene reporter assays have been employed.

In contrast to animals and fungi, a high level of Cys, Ser or Tyr conservation was found at positions 15 and 19 in the DNA-binding domain (DBD) of plant bZIP factors, which are in the direct contact with the DNA backbone (Kirchler et al., 2010; Miller et al., 2003). Since these residues can be potentially phosphorylated, which would lead to the introduction of a negative charge and theoretically reduce their affinity to the negatively charged DNA backbone, we substituted these conserved Ser residues in the representatives of C/S1 heterodimerization network either to phosphorylation-mimicking Asp or unphosphorylatable Ala residues. The Ser-to-Asp substitution in the DBD of bZIP53 indeed disrupted its binding to the cognate DNA sequence, whereas Ser-to-Ala substitution made no effect. Further on, the introduction of a negative charge at the site of contact with DNA backbone completely inhibited its transactivation capacity. We also show that heterodimerization of bZIP53 with bZIP10 or bZIP25 remains mainly unaltered for protein versions carrying either Ser-to-Ala or Ser-to-Asp substitutions. Likewise, the nuclear localization signal, which overlaps with DBD, is maintained functional in both protein versions.

Thus, mimicking Ser phosphorylation through Asp substitution in the DBD seems to be sufficient to inactivate bZIP factors both as homo- and as heterodimers. Since the dimerization properties of mutated proteins remain unchanged, this would open a great possibility of using such bZIP versions for the generation of specific dominant negative

mutants and further help to decipher signaling cascades operating in the bZIP dimerization networks with high level of functional redundancy.

This work was supported by Marie Curie Actions FP7- People-2010-ITN (MERIT) to AG and CC.

**В. Федак<sup>1</sup>, О. Мамчур<sup>2</sup>**

### **НАГРОМАДЖЕННЯ НЕЗАМІННИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ЗЕРНІ ЖИТА ОЗИМОГО ЗА ОБРОБКИ МІКРОДОБРИВОМ ТА РЕГУЛЯТОРОМ РОСТУ**

<sup>1</sup>Інститут сільського господарства Карпатського регіону  
вул. Грушевського, 5, с. Оброшино, Пустомитівський р-н, Львівська обл., 81115

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005  
e-mail: 8202571@gmail.com

**V. Fedak, O. Mamchur ACCUMULATION OF ESSENTIAL FATTY ACIDS IN WINTER RYE GRAIN BY GROWTH REGULATOR AND MICROFERTILIZER.** The positive influence of microfertilizer Yarylo zernovyі and growth stimulator of agrostimulin on accumulation of essential fatty acids in winter rye grain was established.

Одним із пріоритетних завдань сучасного рослинництва є дослідження комплексу взаємовідносин між змінами навколишнього середовища та динамікою метаболізму рослини, що є визначальним як для виживання її в природних умовах, так і для отримання високих врожаїв.

Для вдосконалення технологічних прийомів вирощування рослин, зокрема озимого жита, та для одержання високих врожаїв, важливим залишається з'ясування фізіолого-біохімічних особливостей формування їх продуктивних ознак. Тому вивчення комплексу чинників, що визначають продуктивність жита озимого, зокрема, застосування мікродобрив та регуляторів росту, як елементів технологій вирощування, є актуальним.

Метою роботи було встановити вплив мікродобрив і стимулятора росту на нагромадження незамінних жирних кислот у зерні жита озимого.

Дослідження проводились у 5-ти пільній сівозміні на сірому лісовому поверхнево оглеєному ґрунті з відповідно запланованими аналізами рослин і зерна на конкретні цілі. Робота виконувалась із використанням методичних підходів, що застосовуються для польових і лабораторних дослідженнях. Сорт – Інтенсивне 95 (ННЦ «ІЗ НААН»)

Схема досліду включає в собі 3 варіанти:

Контрольний (без застосування мікродобрив і регулятора росту)

З обробкою мікродобривом Ярило Зерновий у фазі кущення, повторно – у фазу колосіння

З обробкою регулятором росту Агrostимулін у фазі кущення, повторно – у фазу колосіння.

Нами встановлено, що при обробці посівів мікродобривом Ярило зерновий у зерні озимого жита у фазі молочної та повної стиглості зростає вміст незамінних жирних кислот, зокрема вміст лінолевої та ліноленової кислот у фазу молочної стиглості зростає відповідно із 5,17 і 7,62 до 5,79 і 8,24 мг/г сирової ваги відповідно при обробці мікродобривом, та до 5,23 і 7,79 мг/г сирової ваги при обробці стимулятором росту. У фазу повної стиглості їх вміст зростає із 8,55 і 1,89 до 9,32 і 2,11 24 мг/г сирової ваги при обробці мікродобривом та до 8,95 і 2,02 24 мг/г сирової ваги при