

Экспрессия генов АТФаз Р-типа морской микроводоросли *Dunaliella maritima* Massyuk в условиях гиперосмотического солевого шока

Научный руководитель – Балнокин Юрий Владимирович

Храмов Дмитрий Евгеньевич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: plasm2010@yandex.ru

Галотолерантные микроводоросли, обитающие в соленых средах, осуществляют экспорт ионов Na^+ из цитоплазмы посредством Na^+ -транспортирующих АТФаз Р-типа, локализованных в плазматической мембране [1, 2]. Наличие Na^+ -АТФазы было показано и для микроводоросли *Dunaliella maritima* [4]. Вместе с тем, анализ *in silico* транскриптомов родственного галотолерантного вида, *D. tertiolecta*, не выявил АТФаз, которые можно было бы однозначно отнести к группе Na^+ -АТФаз [3]. Однако в транскриптомах *D. tertiolecta*, наряду с другими АТФазами Р-типа, были обнаружены две различные H^+ -АТФазы (НА1Dte и НА2Dte) и две Ca^{2+} -АТФазы (СА1 Dte и СА2 Dte). На основании теоретических данных о последовательностях H^+ - и Ca^{2+} -АТФаз микроводоросли *D. tertiolecta*, были выбраны праймеры для клонирования частичных последовательностей АТФаз Р-типа водоросли *D. maritima*: НА1 Dma, НА2 Dma, СА1 Dma. Клонирование было осуществлено методом ОТ-ПЦР с применением специфичных праймеров для каждого фермента и тотальной РНК из *D. maritima*. Последующее секвенирование клонированных фрагментов подтвердило наличие соответствующих АТФаз у микроводоросли *D. maritima*.

Методом qRT-PCR была проанализирована экспрессия генов этих АТФаз (НА1 Dma, НА2 Dma, СА1 Dma) в условиях гиперосмотического солевого шока и определен относительный уровень представленности транскриптов этих ферментов. В экспериментах была использована водоросль *D. maritima*, акклиматизированная к пониженным концентрациям NaCl в среде роста (0,1 М NaCl). Гиперосмотический солевой шок для водоросли создавали резким увеличением концентрации NaCl в наружной среде до 0,5 М.

Результаты экспериментов показали, что при гиперосмотическом солевом шоке происходит существенная индукция транскрипции гена АТФазы НА2 Dma, тогда как транскрипция генов других исследуемых АТФаз (НА1 Dma, СА1 Dma) быстро репрессируется и остается на относительно низком уровне. Полученные данные говорят в пользу того, что АТФаза НА2 Dma необходима для преодоления клеткой гиперосмотического солевого стресса. *Исследование поддержано РФФИ, грант №16-04-01544.*

Источники и литература

- 1) Балнокин Ю.В. Ионный гомеостаз и солеустойчивость растений. 2012. Изд-во «Наука», Москва. 100 с.
- 2) Попова Л.Г., Балнокин Ю.В. Na^+ -АТФазы галотолерантных микроводорослей. // Физиология растений. 2013. Т. 60 (4). С. 499 – 511.
- 3) Попова Л.Г., Беляев Д.В., Шувалов А.В., Юрченко А.А., Маталин Д.А., Балнокин Ю.В. Анализ транскриптома морской зеленой микроводоросли *Dunaliella tertiolecta*: обнаружение последовательностей, кодирующих АТФазы Р-типа. // Материалы Годичного собрания ОФР и международной научной конференции и школы молодых ученых «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий». 2014. Калининград. Изд-во Аксиос. Ч. II. С. 363-365.

- 4) Popova L.G., Shumkova G.A., Andreev I.M., Balnokin Y.V. Functional identification of electrogenic Na⁺-translocating ATPase in the plasma membrane of the halotolerant microalga *Dunaliella maritima* // FEBS Letters. 2005.V. 579. P. 5002-5006.