

Молекулярное клонирование нитратного транспортера SaNRT1.1/NPF6.3 эугалофита *S. altissima* (L.) Pall. и исследование его экспрессии**Научный руководитель – Балнокин Юрий Владимирович****Коношенкова Алена Олеговна***Студент (бакалавр)*

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

E-mail: alenakonoshenkova@gmail.com

Семейство нитратных транспортеров NRT/NPF растений включает локализованные в плазмалемме белки, транспортирующие в симпорте с протоном нитрат, нитрит, пептиды, аминокислоты, глюкозинолаты, ауксины, АБК и гиббереллины. С помощью RACE определена и затем клонирована полноразмерная нуклеотидная последовательность кДНК нитратного транспортера *Suaeda altissima* SaNRT1.1. Филогенетический анализ и выравнивание клонированной последовательности показывает, что SaNRT1.1 принадлежит семейству транспортеров NRT1/PRT. В аминокислотной последовательности белка SaNRT1.1 присутствуют мотивы, свойственные транспортерам этого семейства, в частности мотив ExxER (EACER), участвующий в связывании протона и сопряжении анион-протонного транспорта, а также консервативный а.о. треонина на N-конце белка в положении 106 (Thr106). SaNRT1.1 наиболее сходен с охарактеризованными ранее двааффинными нитратными транспортерами AtNPF6.3, MtNRT1.3 и OsNRT1.1A, а также с низкоаффинным нитратным транспортером ZmNPF6.4.

В работе исследовали экспрессию SaNRT1.1 в органах *S. altissima* и транспортную функцию белка, кодируемого этим геном. Для этого осуществили гетерологическую экспрессию SaNRT1.1 в нокаут-мутанте дрожжей *Hansenula polymorpha* Δ ynt1 по единственному гену семейства NPF/NRT - двааффинному транспортеру YNT1, участвующему в поглощении нитрата из окружающей среды. Нокаут гена YNT1 приводит к подавлению роста мутанта Δ ynt1 на минимальных средах, содержащих нитрат (0.2-5 мМ) в качестве единственного источника азота.

Для проведения функциональной комплементации получен дрожжевой делеционный мутант Δ ynt1 на основе штамма DL1. Положительным контролем комплементации мутации Δ ynt1 служил NPF6.3 (NRT1.1/CHL1), клонированный из *Arabidopsis thaliana*. Экспрессия AtNPF6.3 приводила к восстановлению роста мутанта Δ ynt1 на минимальных средах, содержащих NO_3^- (SD, 0.2-5 мМ), до уровня дикого типа. Частичное восстановление роста мутанта на селективных средах наблюдалось в результате экспрессии SaNRT1.1, что указывает на возможное участие белка SaNRT1.1 в транспорте ионов NO_3^- .

Для дальнейшего изучения физиологической роли SaNRT1.1 исследовали относительную представленность транскриптов гена SaNRT1.1 в органах *S. altissima*. SaNRT1.1 экспрессируется как в корнях, так и в листьях *S. altissima*, наибольший относительный уровень экспрессии наблюдали в корнях. Экспрессия SaNRT1.1 достоверно не изменялась (1) в условиях стационарного засоления в ряду концентраций NaCl (0, 250 и 750 мМ NaCl) при разной доступности нитрата (0.5/15 мМ NO_3^-) в среде культивирования; (2) при добавлении 5 мМ $\text{NO}_3^-/\text{Cl}^-$ в питательную среду с низкой концентрацией нитрата (0.5 мМ).

Высокий уровень экспрессии SaNRT1.1 в органах эугалофита при разной доступности нитрата в среде культивирования, а также частичная комплементация мутации Δ ynt1 свидетельствуют в пользу того, что SaNRT1.1 является ортологом AtNPF6.3 и выполняет сходную физиологическую функцию у *S. altissima*, в частности участвует в поглощении

нитрата.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда №22-74-00051.