

**ТРАНСКРИПЦИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНА ОРНИТИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В
*ARABIDOPSIS THALIANA***

А.А. Егорова

Научный руководитель: к.б.н. С.В. Герасимова
Новосибирский государственный университет
Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, 630090
E-mail: egorova@bionet.nsc.ru

THE TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF OAT GENE IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

A.A. Egorova

Scientific Supervisor: S.V. Gerasimova
Novosibirsk State University
Russia, Novosibirsk, Pirogova str., 2, 630090
E-mail: egorova@bionet.nsc.ru

Abstract. *Ornithine aminotransferase (OAT) enzyme catalyzes the transfer of the delta-amino group from L-ornithine to oxo-glutarate. In plants, this reaction biochemically connects urea cycle, proline cycle, and polyamines biosynthesis pathway. OAT activity is usually associated with biotic and abiotic stress response and nitrogen metabolism. Our previous results show that OAT promoter activity is associated with growth zones. The aim of present study is to investigate the transcriptional regulation of the plant OAT gene in Arabidopsis thaliana.*

The transcriptional regulation of OAT gene was investigated on A. thaliana plants with reporter gene system containing E.coli β -glucuronidase gene (GUS) under A. thaliana OAT gene promoter control. Seedlings were treated with different growth regulators; the promoter activity was analyzed histochemically. The reporter protein expression was observed in response to different forms of auxin (IAA, NAA, and 2,4D), cytokine (6-BAP), and ethylene precursor (ACC). These results allow us to suggest the role of OAT gene in plant cell proliferation and expansion. The results show that OAT gene might be involved in plant growing processes.

Введение. Одним из важнейших признаков организмов является их способность к росту. Рост растения осуществляется за счет функционирования меристем. В меристемах происходят активные метаболические процессы, в частности азотного метаболизма. Фермент орнитинаминотрансфераза (ОАТ) катализирует трансаминирование орнитина и альфа-кетоглутарата. Этот фермент связывает разные метаболические циклы: цикл мочевины, цикл накопления и деградации пролина, связан с биосинтезом полиаминов, алкалоидов, участвует в азотном метаболизме растений. Показана его связь с различными биотическими и абиотическими стрессами. Но все еще имеются противоречивые сведения о функциях этого гена. В нашей лаборатории была показана активность этого гена в меристемах и повышенная способность к росту трансформантов с повышенной экспрессией гена ОАТ в условиях солевого стресса [1, 2].

Цель данной работы - изучение транскрипционной регуляции гена ОАТ *Arabidopsis thaliana*. Исследование проводится в трансгенных растениях *A. thaliana*, несущих репортерную конструкцию, позволяющую визуализировать активность промотора гена ОАТ.

Материалы и методы. Изучение активности промотора гена ОАТ проводилось на трансгенных растениях *Arabidopsis thaliana* поколения Т3, несущих репортерный ген глюкоксидазы *E. coli* под контролем промотора гена ОАТ *A. thaliana* [2]. Недельные проростки, выращенные на среде MS 1/2 [3] с добавлением канамицина пересаживались на среду MS 1/2 с добавлением разнообразных индукторов: α -нафтилуксусная кислота (НУК), индоллил-3-уксусная кислота (ИУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-D), 6-бензиламинопури́н (БАП), кинетин, транс-зеатин, гибберелловая кислота (ГА3), аминоклопропан-1-карбоксилловая кислота (АЦК), абсцизовая кислота (АБК), метилжасмонат. Определение экспрессии репортерного гена β -глюкоксидазы проводилось гистохимическим методом с использованием модифицированного субстрата X-Gluc (Fermentas).

Результаты. Было показано, что транскрипционная активность промотора гена ОАТ индуцируется в ответ на некоторые из растительных гормонов, участвующие в регуляции роста и развития. Сильнее всего видна реакция на один из синтетических ауксинов — 2,4-D, так же есть реакция на все виды ауксинов – НУК, ИУК, 2,4-D, использовавшиеся в работе. Из использованных цитокининов, промотор активировал только БАП, также была реакция на АЦК, предшественник этилена (Таблица 1, Рисунок 1).

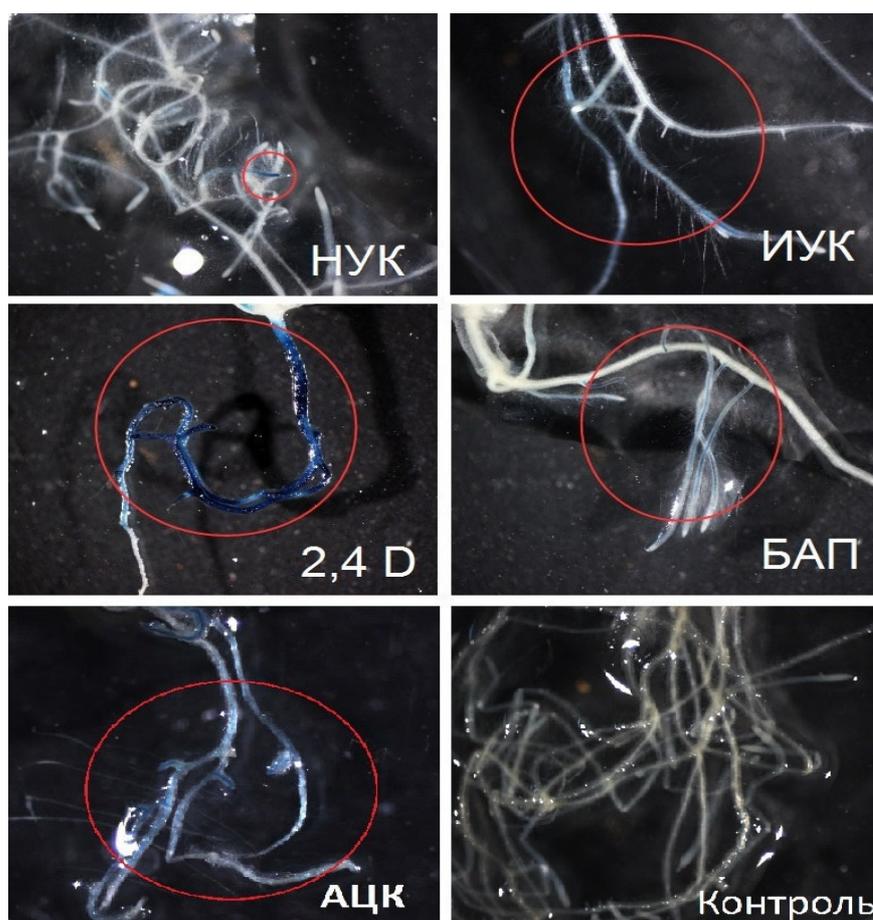


Рисунок 1. Экспрессия гена-репортера в ответ на некоторые из индукторов

Таблица 1.

Индукция промотора гена *OAT A. thaliana*

Индуктор	Концентрация вещества	Локализация активности промотора	Продолжительность воздействия, дни
НУК	1 мг/л	Кончики корней	6
ИУК	2 мг/л	Отдельные корни	6
2,4D	0,5 мг/л	Вся корневая система.	6
БАП	1 мг/л	Боковые корни	6
Кинетин	10 мкМ и 100 мкМ	Нет индукции	
Транс-зеатин	100 мкМ	Нет индукции	
Гибберелловая кислота	10 мкМ	Нет индукции	
АЦК	50 мкМ	По длине корней	4
АБК	100 мкМ	Нет индукции	
Метилжасмонат	1 mM	Нет индукции	

Заключение. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что ген *OAT* регулируется стимулами, связанными с ростовыми процессами растений. Реакция на разные виды ауксинов позволяет предположить связь функций гена *OAT* с растяжением клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Герасимова С.В. и др. Трансформанты табака, экспрессирующие кДНК гена орнитинаминотрансферазы *Medicago truncatula* // Генетика. – 2010. – Т. 46. – № 7. – С. 1000–1003.
2. Герасимова С.В. и др. Анализ транскрипционной активности промотора гена дельта орнитинаминотрансферазы *Arabidopsis thaliana* // Генетика. – 2011. – Т.47. – №5. – С. 707–710.
3. Murashige T., Skoog F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*, vol. 15, no. 3, pp. 473–497.