

УДК 631.52:604.6:577.214.625:633.11:004.65

ПРОМОТОРЫ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНОВ

© 2012 г. О.Г. Смирнова, А.В. Кочетов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: planta@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 14 ноября 2011 г. Принята к публикации 19 декабря 2011 г.

Проведение экспериментов в области молекулярной генетики растений часто требует применения методов генной инженерии, в том числе использования трансгенных растений. Представлены данные о промоторах генов пшеницы с экспериментально проверенным паттерном экспрессии, аннотированных в базе данных TGP (TransGene Promoters). База TGP может быть использована в качестве источника информации при планировании генно-инженерных экспериментов различной направленности.

Ключевые слова: промоторы, пшеница, трансгенные растения, базы данных.

Введение

Промотор определяет пространственно-временной спектр и уровень экспрессии трансгена, находящегося под его контролем. В настоящее время при трансформации однодольных растений наиболее часто используется конститутивный промотор гена убиквитина (*Ubi*) кукурузы. Много усилий в последнее время прилагается для поиска более эффективных промоторов. Тканеспецифичная или регулируемая экспрессия трансгенов привлекательна для предотвращения потерь энергии, затрачиваемой растением на ненужное накопление трансгенного продукта, а также для предотвращения возможных побочных эффектов трансгенного продукта на растение. К настоящему времени в базе данных GenBank представлено более 500 нуклеотидных последовательностей промоторных районов различных генов пшеницы. Около 50 промоторов уже были проверены на функциональность в однодольных (пшеница, рис, ячмень, кукуруза, рожь) и двудольных (табак, арабидопсис, капуста, люцерна, огурец, томат, перец) видах. Важно отметить, что один и тот же промотор может обеспечивать различные паттерны экспрессии трансгена в разных видах растений. Активность промоторов изучают с использованием репортерных генов. В трансгенной конструкции репортерный ген располагается сразу за промотором,

и количество нарабатываемого репортерным геном продукта коррелирует с активностью промотора. Как правило, при изучении активности промоторов пшеницы использовали ген фермента β-глюкуронидазы из *Escherichia coli*. В ряде случаев был использован ген зеленого флюоресцентного белка медузы *GFP*. В данной статье представлен обзор промоторов пшеницы, использованных в генетической инженерии растений. Представлены тканеспецифичные промоторы из семян, корней, пыльцы, репродуктивных органов, фотосинтетических тканей, эпидермиса пшеницы, а также промоторы, индуцируемые при абиотическом и биотическом стрессе. Приведены примеры и возможности целевого использования промоторов пшеницы для экспрессии трансгенов у растений.

Тканеспецифичные промоторы пшеницы

Эндосперм пшеницы является главным источником энергии и белков для большей части людей и домашних животных. Белки клейковины составляют около 80 % белков муки. Значительная часть тканеспецифичных промоторов пшеницы принадлежит генам запасных белков и других белков семян. Промоторы генов, кодирующих 1Dx5 и 1Bx17 субъединицы высокомолекулярного запасного белка глютелина, проявляют специфическую активность в эндосперме трансгенной пшеницы (*Lamacchia et*

al., 2001; Oszvald *et al.*, 2008a, b). Короткий фрагмент промотора TaHMGlu1Bx17 (173 п.о.), связанный с первым интроном гена актина риса, имеет такой же уровень экспрессии, как и длинный 1890 п.о. TaHMGlu1Bx17-промотор без интрона (Oszvald *et al.*, 2008a). Генетическая трансформация обеспечивает изменение состава зерна пшеницы за счет экспрессии новых генов или за счет снижения уровня нежелательных белков. Недостатком некоторых белков клейковины, таких, как α - и γ -глиадины, является способность вызывать повреждение ворсинок тонкой кишки и приводить к заболеванию целиакии. Много исследований направлено на улучшение качества зерна пшеницы. Промоторы α - и γ -глиадинов могут быть хорошими кандидатами для снижения уровня нежелательных глиадинов у пшеницы, экспрессируя в эндосперме соответствующие антисмысловые РНК (Van Herpen *et al.*, 2008; Piston *et al.*, 2009).

Белки пуроиндолины PinA и PinB определяют текстуру и мукомольные качества зерна пшеницы. Пуроиндолины были использованы для изменения текстуры зерна пшеницы, риса, кукурузы. У пшеницы промоторы пуроиндолинов активны только в эндосперме (Wiley *et al.*, 2007). В семенах трансгенного риса, наряду с эндоспермом, промоторы пуроиндолинов проявляли активность в алейроновом слое и в клетках эпидермиса. Промотор PinA был также активен в эмбрионе, корнях проростков, листьях, сосудистых тканях цветковых чешуй и пыльце риса. Активность промотора PinA возрастала в листьях риса при механическом повреждении и заражении патогеном (Evrard *et al.*, 2007). В трансгенных пшенице и ячмене TdPR60 промотор проявлял наибольшую активность в транспортных клетках эндосперма, в то время как у риса промотор TdPR60 был активен внутри эндосперма на ранних стадиях налива зерна (Kovalchuk *et al.*, 2009).

Промоторы генов гистонов проявляют активность в тканях меристем и могут быть использованы для изучения влияния на клеточный цикл митогенов и стрессовых воздействий (Terada *et al.*, 1993; Ito *et al.*, 1995; Yang *et al.*, 1995; Huh *et al.*, 1997; Taoka *et al.*, 1998; Bilgin *et al.*, 1999). Сильная конститутивная активность промотора глутатионтрансферазы GstA1, сшитого с интроном гена *TaWIR1a*, наблюдалась в

эпидермисе трансгенной пшеницы и ячменя (Altpeter *et al.*, 2005; Himmelbach *et al.*, 2007). Специфическая активность в эпидермисе может быть использована для экспрессии защитных белков, направленных против патогенной атаки. Промотор гена, специфичного для пыльцы белка PSG719, проявляет активность исключительно на поздних стадиях созревания пыльцы у трансгенного табака. Промотор может быть использован в сельском хозяйстве при создании форм с мужской стерильностью (Chen *et al.*, 2010). В трансгенном арабидопсисе промотор гена цитокининоксидазы/дегидрогеназы СКХ2.1 преимущественно экспрессируется в репродуктивных органах и в сосудистых тканях семядолей и листьев розетки. На стадии взрослого растения активность промотора не наблюдается в листьях, стеблях и корнях (Zhang *et al.*, 2011). Промотор гена фруктозо-1,6-бисфосфатазы FBPase имеет высокую активность в фотосинтетических тканях, меристемах побегов, латеральных почках и корнях трансгенного табака. Этот промотор был использован для наработки и изучения влияния вирусных белков на транспорт макромолекул между клетками (Lloyd *et al.*, 1991; Peleg *et al.*, 2007). Фрагмент промотора гена хлорофилл *a/b* связывающего белка Cab1 размером 268 п.о. функционирует как светочувствительный энхансер в фотосинтетических тканях трансгенного табака (Nagy *et al.*, 1987; Fejes *et al.*, 1990).

Кислые почвы снижают продуктивность растений из-за высокой концентрации в них растворимых катионов алюминия, ингибирующих рост корней. Устойчивость пшеницы к $Al^{(3+)}$ коррелирует с экспрессией гена транспортера малата TaALMT1, который высвобождает анионы малата из кончиков корней. Анионы малата защищают чувствительные зоны роста корней, связываясь с $Al^{(3+)}$ в апопласте. Изучение трансгенных растений риса позволило установить, что tandemно повторенные элементы в аллельных вариантах промоторов гена TaALMT1 усиливают экспрессию (Ryan *et al.*, 2010). Данное исследование является примером того, как идеальные tandemные повторы в промоторных районах связаны с регуляцией транскрипции и фенотипическими изменениями в контексте эволюционной адаптации к основным абиотическим стрессам (табл.).

Таблица

Экспрессия промоторов пшеницы в трансгенных растениях

Промотор и его размер (п.о.)	Тканеспецифичная активность промотора и его регуляторы	Объект трансгенеза. Литературный источник
TaHMGWGlulDx5 (1249), TaHMGWGlulBx17 (1890) (HMW Glutelin)	Эндосперм	Пшеница, рис, ячмень (Lamacchia <i>et al.</i> , 2001; Oszvald <i>et al.</i> , 2008a, b)
TaLMWGlulD1 (968, 356) (LMW Glutelin)	Эндосперм	Табак (Colot <i>et al.</i> , 1987) Пшеница (Stoger <i>et al.</i> , 1999, 2001)
γ -Gliadin (900)	Эндосперм	Пшеница (Piston <i>et al.</i> , 2009)
α -Gliadin (592)	Эндосперм, алейрон	Пшеница (Van Herpen <i>et al.</i> , 2008)
TaPinA (1214) (Puroindoline A)	Эндосперм. Индуктор – патоген, поранение	Пшеница, рис (Wiley <i>et al.</i> , 2007; Evrard <i>et al.</i> , 2007)
TaPinB (1063) (Puroindoline B)	Эндосперм	Пшеница, рис (Wiley <i>et al.</i> , 2007; Evrard <i>et al.</i> , 2007)
TdPR60 (2147) (Lipid transfer protein)	Зерно. Транспортные клетки эндосперма	Пшеница, ячмень, рис (Kovalchuk <i>et al.</i> , 2009)
Ltp7.1a (748), Ltp7.2a, (1440), Ltp9.1a (1393), Ltp9.2d (1260), Ltp9.3e (827), Ltp9.4a (846) (Lipid transfer protein)	Щиток, эпикарпий, сосудистые ткани листьев, корней, цветов	Рис (Boutrot <i>et al.</i> , 2007)
TaLtp1 (988) (Lipid transfer protein)	Семядоли, гипокотиль, молодые листья, цветы	Арабидопсис (Wang <i>et al.</i> , 2010)
TH315 (845, 202) (Histone H1)	S-фаза клеточного цикла	Рис, табак (Taoka <i>et al.</i> , 1998)
TH254 (1175), TH274, (1830) (Histone H2A)	S-фаза клеточного цикла. Проростки, цветы	Табак (Huh <i>et al.</i> , 1997)
TH123 (1631) (Histone H2B)	Меристемы корней, листьев и цветов	Табак (Yang <i>et al.</i> , 1995)
TaHistone H3 (1768)	Меристемы побегов, корней, молодые листья, цветы	Рис, табак (Terada <i>et al.</i> , 1993; Ito <i>et al.</i> , 1995)
TaHistone H4 (720)	S-фаза клеточного цикла. Регуляторы – ауксин и абсцизовая кислота	Кукуруза (Bilgin <i>et al.</i> , 1999)
TaGstA1 (2295) (Glutathione S-transferase)	Эпидермис	Ячмень (Himmelbach <i>et al.</i> , 2007) Пшеница (Altpeter <i>et al.</i> , 2005; Schweizer, 2008)
TaPSG719 (1019) (Pollen-specific protein)	Пыльца	Табак (Chen <i>et al.</i> , 2010)
TaCKX2.1 (1353) (Cytokinin oxidase)	Цветы, ткани сосудов	Арабидопсис (Zhang <i>et al.</i> , 2011)
TaCab1 (843) (Chlorophyll a/b-binding protein)	Фотосинтетические ткани. Индуктор – свет	Табак (Nagy <i>et al.</i> , 1987, Fejes <i>et al.</i> , 1990)
TaFBPase (1673) (Chloroplast fructose-1,6-bisphosphatase)	Фотосинтетические ткани и меристемы	Табак (Lloyd <i>et al.</i> , 1991)
TaGermin (1160) (Oxalate oxidase)	Индуктор – Cd, Cu, Co, поранение, вирус табачной мозаики	Табак (Berna, Bernier, 1999)
TaAIDFa (2730) (Dehydration responsive element-binding factor a)	Индуктор – засуха, соль, холод, абсцизовая кислота	Пшеница (Xu <i>et al.</i> , 2008)

Окончание таблицы

Промотор и его размер (п.о.)	Тканеспецифичная активность промотора и его регуляторы	Объект трансгенеза. Литературный источник
Wdhn13 (1098), Wrab17 (1806), Wrab18 (928), Wrab19 (831) (Cor/Lea proteins)	Индуктор – засуха, холод, абсцизовая кислота	Табак (Kobayashi <i>et al.</i> , 2008) Пшеница (Egawa <i>et al.</i> , 2006)
Wcor15 (1700) (Chloroplast-targeted cold-responsive protein)	Листья. Индуктор – свет, холод	Табак (Takumi <i>et al.</i> , 2003)
Wcs120 (941) (Cold acclimation protein)	Листья. Индуктор – свет, холод	Пшеница, ячмень, рис, рожь, капуста, люцерна, огурец, томат, перец (Ouellet <i>et al.</i> , 1998)
TaEm (646) (Early methionine protein)	Семена (эмбрион, алейрон). Индуктор – абсцизовая кислота	Табак (Marcotte <i>et al.</i> , 1989) Ячмень, рис, пшеница (Furtado, Henry, 2005)
TdPRPI-1 (1821), TdPRPI-10 (3127), TdPRPI-11 (3012) (Defensin)	Завязь. Индуктор – поранение	Рис, пшеница (Kovalchuk <i>et al.</i> , 2010)
TaPT2 (579), TaPT2-1 (1744) (Phosphate transporter)	Корни. Индуктор – фосфорное голодание	Арабидопсис, пшеница (Tittarelli <i>et al.</i> , 2007) Табак (Cui <i>et al.</i> , 2011)
TaPHT1.2 (1302) (Phosphate transporter)	Корни. Индуктор – Fe, S, фосфорное голодание, сахароза, глюкоза. Репрессор – ауксин, цитокинин, азот	Арабидопсис (Miao <i>et al.</i> , 2009)
TaALMT1-I (1117), TaALMT1-V (1677), TaALMT1-VI (1527) (Malate transporter)	Корни	Рис (Ryan <i>et al.</i> , 2010)

Индукцируемые промоторы пшеницы

У пшеницы выделен целый ряд промоторов, которые индуцируются при стрессе, вызванном абиотическими и биотическими факторами. Преимущество этих промоторов перед тканеспецифичными заключается в том, что они активны лишь в определенный период времени, после воздействия индуктора. Активность индуцируемых промоторов зависит от дозы индуктора и возвращается к исходному уровню после прекращения воздействия. Меняя количество регулятора, можно контролировать время и интенсивность синтеза трансгена.

Следует отметить значительное внимание исследователей к изучению промоторов пшеницы, чувствительных к неблагоприятным условиям среды (табл.). Активность промотора гена оксалаат оксидазы TaGermin усиливается при воздействии на проростки солей тяжелых металлов и поранении (Berna, Bernier, 1999). Активность промотора TaAIDFa становится

выше в условиях засухи, низких температур, засоления и при обработке абсцизовой кислотой (Xu *et al.*, 2008). Активность промоторов *Cor/Lea*-генов (cold-responsive/late-embryogenesis-abundant) *Wdhn13*, *Wrab17*, *Wrab18* и *Wrab19* возрастает при воздействии холода, засухи и абсцизовой кислоты (Egawa *et al.*, 2006; Kobayashi *et al.*, 2008). Активность промотора гена *Wcor15* увеличивается в листьях при низких температурах исключительно на свету (Takumi *et al.*, 2003). Промотор гена *Wcs120* индуцируется низкими температурами у зерновых (пшеница, ячмень, рис и рожь), крестоцветных (капуста), бобовых (люцерна) и тыквенных (огурец), но не в семействе пасленовых (томат, перец) (Ouellet *et al.*, 1998). Изучение активности промотора *Wcs120* у большого числа видов позволило прийти к выводу, что у однодольных и двудольных растений существуют транскрипционные факторы, способные узнавать цис-элементы гетерологичных промоторов, индуцируемых холодом. Чувствительность к

холоду у некоторых видов (таких, как рис или огурец) связана не с отсутствием или неэффективностью транскрипционных факторов, а с неэффективностью промоторов генов, гомологичных *Wcs120*. Использование промоторов *Cor/Lea*-генов также может обеспечить экспрессию целевых генов при воздействии на растения низких температур. Значительно меньше исследований было посвящено изучению промоторов пшеницы, обеспечивающих устойчивость к патогенам. Лишь два промотора, TaGermin и TaPinA, повышали устойчивость к вирусу табачной мозаики и *Magnaporthe grisea* соответственно у трансгенного табака и риса (Berna, Bernier, 1999; Evrard *et al.*, 2007).

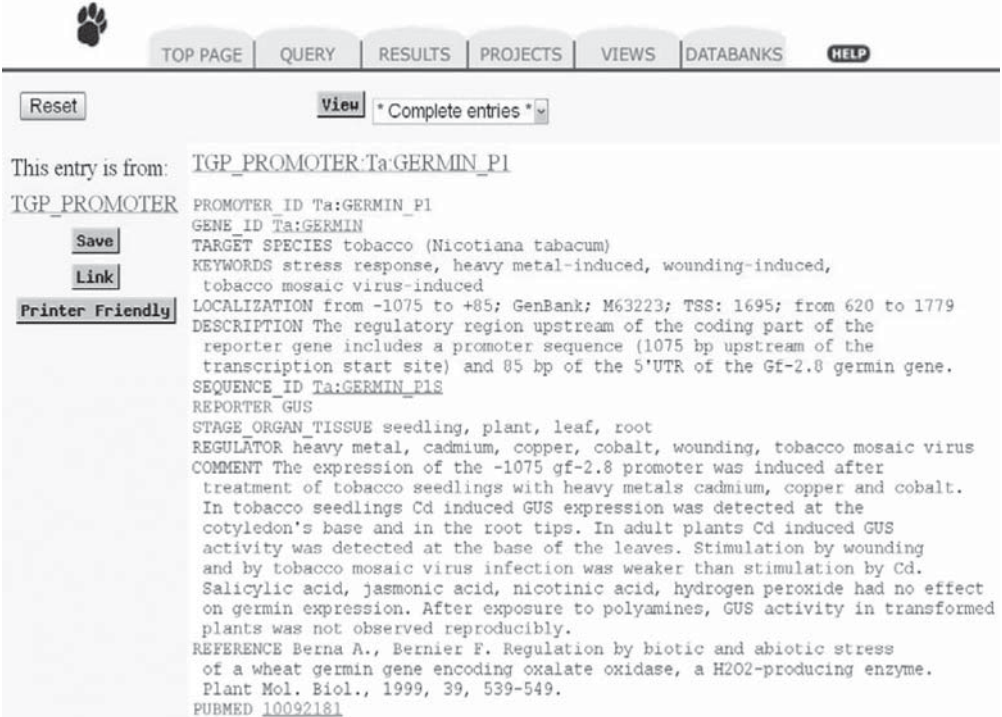
Промоторы PRPI из *Triticum durum* активны в завязях трансгенных растений пшеницы и риса. Во время прорастания семян риса работа промоторов отмечалась в эмбрионах, корнях и coleoptилях. Промоторы индуцировались при механическом повреждении в листьях, стеблях и зерне трансгенных растений риса. Промоторы PRPI могут быть использованы для специфического накопления белков, обеспечивающих устойчивость к патогенам, в уязвимых тканях развивающегося и прорастающего зерна (Kovalchuk *et al.*, 2010).

При фосфорном голодании промоторы генов фосфатных транспортеров PT2, PT2-1 и PHT1.2 обеспечивают повышенную экспрессию репортерного гена в корнях пшеницы, арабидопсиса и табака. Сахар, Fe, S, N, цитокинин и ауксин влияют на активность промотора PHT1.2 (Tittarelli *et al.*, 2007; Miao *et al.*, 2009; Cui *et al.*, 2011). Повышение активности этих промоторов может служить сигналом о низком уровне фосфора. Индуцируемые промоторы пшеницы могут быть использованы в качестве инструмента для создания растений-индикаторов окружающей среды и растений, устойчивых к неблагоприятным абиотическим и биотическим воздействиям.

Представление данных о промоторах в базе TGP

Информация о размерах промотора, нуклеотидной последовательности, паттерне транскрипции и регуляторах, влияющих на активность промоторов пшеницы, более детально может быть представлена в формате базы данных TGP (TransGene Promoters) (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/dbases/tgp/home.html>) (рис.).

База TGP накапливает информацию о конститутивных, тканеспецифичных и индуцибельных



TOP PAGE QUERY RESULTS PROJECTS VIEWS DATABANKS HELP

Reset View * Complete entries *

This entry is from: TGP_PROMOTER:Ta:GERMIN_P1

TGP_PROMOTER

Save Link Printer Friendly

PROMOTER ID Ta:GERMIN_P1
 GENE ID Ta:GERMIN
 TARGET SPECIES tobacco (Nicotiana tabacum)
 KEYWORDS stress response, heavy metal-induced, wounding-induced, tobacco mosaic virus-induced
 LOCALIZATION from -1075 to +85; GenBank; M63223; TSS: 1695; from 620 to 1779
 DESCRIPTION The regulatory region upstream of the coding part of the reporter gene includes a promoter sequence (1075 bp upstream of the transcription start site) and 85 bp of the 5'UTR of the Gf-2.8 germin gene.
 SEQUENCE ID Ta:GERMIN_P1S
 REPORTER GUS
 STAGE ORGAN TISSUE seedling, plant, leaf, root
 REGULATOR heavy metal, cadmium, copper, cobalt, wounding, tobacco mosaic virus
 COMMENT The expression of the -1075 gf-2.8 promoter was induced after treatment of tobacco seedlings with heavy metals cadmium, copper and cobalt. In tobacco seedlings Cd induced GUS expression was detected at the cotyledon's base and in the root tips. In adult plants Cd induced GUS activity was detected at the base of the leaves. Stimulation by wounding and by tobacco mosaic virus infection was weaker than stimulation by Cd. Salicylic acid, jasmonic acid, nicotinic acid, hydrogen peroxide had no effect on germin expression. After exposure to polyamines, GUS activity in transformed plants was not observed reproducibly.
 REFERENCE Berna A., Bernier F. Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germin gene encoding oxalate oxidase, a H2O2-producing enzyme. Plant Mol. Biol., 1999, 39, 539-549.
 PUBMED 10092181

Рис. Представление данных о промоторе гена гермина пшеницы в базе TGP.

промоторах, активность которых была охарактеризована в трансгенных растениях (Smirnova *et al.*, 2011). Все промоторы в базе TGP сопровождаются ссылками на соответствующие публикации. Информация о промоторе также включает ссылку на базу последовательностей GenBank, позиции промотора относительно старта транскрипции или трансляции в этой ссылке. Приводится название вида растений, использованных для трансгенеза.

Информация о промоторе в базе TGP сопровождается информацией о соответствующем ему гене. Дается информация о названии гена и его продукта, что очень важно для точной идентификации промотора этого гена. Представлена информация об экспрессии гена, что позволяет сравнивать уровень активности и тканевую специфичность промотора в естественном состоянии и в чужеродной среде. Интерфейс базы TGP позволяет проводить поиск промоторов с определенными характеристиками. Представление промоторов пшеницы в базе TGP дает возможность выбрать стадио-, тканеспецифичный, конститутивный или индуцибельный промотор для выполнения различных экспериментальных задач. Исследователь может быстро получить последовательность выбранного промотора, а также характеристику экспрессии исходного гена, которому принадлежит выбранный промотор. Эти данные могут быть использованы для дизайна генетических конструкций при проведении фундаментальных и биотехнологических исследований.

Использование промоторов пшеницы для наработки целевых продуктов

Промотор глютелина TaLMWGlu1D1 (от -326 до +30) в комбинации с Ubi-1 интроном кукурузы был использован для наработки LegA субъединицы легумина гороха в зерновке трансгенной пшеницы. Были показаны успешный процессинг трансгенных полипептидов и образование LegA гексамеров *in vivo* (Stoger *et al.*, 2001). Для повышения уровня каротиноидов в зерне была создана трансгенная элитная пшеница, в эндосперме которой экспрессия гена фитоенсинтазы кукурузы *PSY1* протекала под контролем специфичного для эндосперма промотора пшеницы HMWGlu1Dx5 (Cong *et*

al., 2009). С целью улучшения усвоения зерна животными была создана трансгенная пшеница, экспрессирующая в эндосперме эндоксила-назу из *Bacillus subtilis* и эстеразу феруловой кислоты из *Aspergillus niger* под контролем HMWGlu1Dx5 промотора (Harholt *et al.*, 2010). Промоторы пшеницы используют для наработки съедобных вакцин в растениях. Под контролем TaHMWGlu1Bx17 промотора был обеспечен высокий уровень накопления реагента для диагностики вируса HIV (0,56 % растворимого белка) и субъединицы В токсина холеры (2,1 % растворимого белка) в эндоспермах ячменя и риса (Schuenmann *et al.*, 2002; Oszvald *et al.*, 2008b). Промоторы пшеницы PRPI могут быть использованы как инструмент для повышения устойчивости к заболеваниям у зерновых культур (Kovalchuk *et al.*, 2010). Промотор GstA1 в комбинации с WIR1a интроном был успешно использован для повышения устойчивости зерновых культур к патогенным грибам. Сверхэкспрессия пероксидазы TaPERO в эпидермисе пшеницы под контролем GstA1i промотора приводила к повышению устойчивости к мучнистой росе (Schweizer, 2008). Таким образом, достаточно большое разнообразие промоторов пшеницы, экспрессирующихся в различных тканях и при различных воздействиях, может быть успешно использовано при решении различных биотехнологических задач.

Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.» (07.514.11.4052); интеграционным проектом СО РАН и программой Президиума РАН «Биологическое разнообразие», а также РФФИ в рамках гранта № 10-04-90411.

Литература

- Altpeter F., Varshney A., Abderhalden O. *et al.* Stable expression of a defense-related gene in wheat epidermis under transcriptional control of a novel promoter confers pathogen resistance // Plant Mol. Biol. 2005. V. 57. P. 271–283.
- Berna A., Bernier F. Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germ in gene encoding oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme // Plant Mol. Biol. 1999. V. 39. P. 539–549.

- Bilgin M., Dedeoğlu D., Omirulleh S. *et al.* Meristem, cell division and S phase-dependent activity of wheat histone H4 promoter in transgenic maize plants // *Plant Sci.* 1999. V. 143. P. 35–44.
- Boutrot F., Meynard D., Guiderdoni E. *et al.* The *Triticum aestivum* non-specific lipid transfer protein (TaLtp) gene family: comparative promoter activity of six TaLtp genes in transgenic rice // *Planta*. 2007. V. 225. P. 843–862.
- Chen L., Tu Z., Hussain J. *et al.* Isolation and heterologous transformation analysis of a pollen-specific promoter from wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Mol. Biol. Rep.* 2010. V. 37. P. 737–744.
- Colot V., Robert L.S., Kavanagh T.A. *et al.* Localization of sequences in wheat endosperm protein genes which confer tissue-specific expression in tobacco // *EMBO J.* 1987. V. 6. P. 3559–3564.
- Cong L., Wang C., Chen L. *et al.* Expression of phytoene synthase1 and carotene desaturase crtI genes result in an increase in the total carotenoids content in transgenic elite wheat (*Triticum aestivum* L.) // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. P. 8652–8660.
- Cui X., Zhang Y., Zhao F. *et al.* Molecular characterization and expression analysis of phosphate transporter gene TaPT2-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Frontiers of Agriculture in China*. 2011. V. 5. P. 274–283.
- Egawa C., Kobayashi F., Ishibashi M. *et al.* Differential regulation of transcript accumulation and alternative splicing of a DREB2 homolog under abiotic stress conditions in common wheat // *Genes Genet. Syst.* 2006. V. 81. P. 77–91.
- Evrard A., Meynard D., Guiderdoni E. *et al.* The promoter of the wheat puroindoline-a gene (*PinA*) exhibits a more complex pattern of activity than that of the *PinB* gene and is induced by wounding and pathogen attack in rice // *Planta*. 2007. V. 225. P. 287–300.
- Fejes E., Pay A., Kanevsky I. *et al.* A 268 bp upstream sequence mediates the circadian clock-regulated transcription of the wheat *Cab-1* gene in transgenic plants // *Plant Mol. Biol.* 1990. V. 15. P. 921–932.
- Furtado A., Henry R.J. The wheat Em promoter drives reporter gene expression in embryo and aleurone tissue of transgenic barley and rice // *Plant Biotechnol. J.* 2005. V. 3. P. 421–434.
- Harholt J., Bach I.C., Lind-Bouquin S. *et al.* Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) accumulating heterologous endo-xylanase or ferulic acid esterase in the endosperm // *Plant Biotechnol. J.* 2010. V. 8. P. 351–362.
- Himmelbach A., Zierold U., Hensel G. *et al.* A set of modular binary vectors for transformation of cereals // *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1192–1200.
- Huh G.H., Nakayama T., Meshi T., Iwabuchi M. Structural characteristics of two wheat histone H2A genes encoding distinct types of variants and functional differences in their promoter activity // *Plant Mol. Biol.* 1997. V. 33. P. 791–802.
- Ito T., Fujimoto Y., Nakayama T., Iwabuchi M. A farup-stream sequence of the wheat histone H3 promoter functions differently in rice and tobacco cultured cells // *Plant Cell Physiol.* 1995. V. 36. P. 1281–1289.
- Kobayashi F., Ishibashi M., Takumi S. Transcriptional activation of *Cor/Lea* genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat DREB2 homolog in transgenic tobacco // *Transgenic Res.* 2008. V. 17. P. 755–767.
- Kovalchuk N., Li M., Wittek F. *et al.* Defensin promoters as potential tools for engineering disease resistance in cereal grains // *Plant Biotechnol. J.* 2010. V. 8. P. 47–64.
- Kovalchuk N., Smith J., Pallotta M. *et al.* Characterization of the wheat endosperm transfer cell-specific protein TaPR60 // *Plant Mol. Biol.* 2009. V. 71. P. 81–98.
- Lamacchia C., Shewry P.R., Di Fonzo N. *et al.* Endosperm-specific activity of a storage protein gene promoter in transgenic wheat seed // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52. P. 243–250.
- Lloyd J.C., Raines C.A., John U.P., Dyer T.A. The chloroplast FBPase gene of wheat: structure and expression of the promoter in photosynthetic and meristematic cells of transgenic tobacco plants // *Mol. Gen. Genet.* 1991. V. 225. P. 209–216.
- Marcotte W.R.J., Russell S.H., Quatrano S.R. Absciscic acid-responsive sequence from the Em gene of wheat // *Plant Cell.* 1989. V. 1. P. 969–976.
- Miao J., Sun J., Liu D. *et al.* Characterization of the promoter of phosphate transporter TaPHT1.2 differentially expressed in wheat varieties // *J. Genet. Genomics.* 2009. V. 36. P. 455–466.
- Nagy F., Boutry M., Hsu M.Y. *et al.* The 5'-proximal region of the wheat *Cab-1* gene contains a 268-bp enhancer-like sequence for phytochrome response // *EMBO J.* 1987. V. 6. P. 2537–2542.
- Oszvald M., Gardonyi M., Tamas C. *et al.* Development and characterization of a chimaeric tissue-specific promoter in wheat and rice endosperm // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2008a. V. 44. P. 1–7.
- Oszvald M., Kang T.J., Tomoskozi S. *et al.* Expression of cholera toxin B subunit in transgenic rice endosperm // *Mol. Biotechnol.* 2008b. V. 40. P. 261–268.
- Ouellet F., Vazquez-Tello A., Sarhan F. The wheat wcs120 promoter is cold-inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species // *FEBS Lett.* 1998. V. 423. P. 324–328.
- Peleg G., Malter D., Wolf S. Viral infection enables phloem loading of GFP and long-distance trafficking of the protein // *Plant J.* 2007. V. 51. P. 165–172.
- Piston F., Marin S., Hernando A., Barro F. Analysis of the activity of a gamma-gliadin promoter in transgenic wheat and characterization of gliadin synthesis in wheat by MALDI-TOF during grain development // *Mol. Breed.* 2009. V. 23. P. 655–667.
- Ryan P.R., Raman H., Gupta S. *et al.* The multiple origins of aluminium resistance in hexaploid wheat include *Aegilops tauschii* and more recent cis mutations to TaALMT1 // *Plant J.* 2010. V. 64. P. 446–455.
- Schuenmann P.H.D., Coia G., Waterhouse P.M. Biopharming the SimpliRED HIV diagnostic reagent in barley, potato and tobacco // *Mol. Breed.* 2002. V. 9. P. 113–121.
- Schweizer P. Tissue-specific expression of a defence-related peroxidase in transgenic wheat potentiates cell death in pathogen-attacked leaf epidermis // *Mol. Plant Pathol.* 2008. V. 9. P. 45–57.
- Smirnova O.G., Ibragimova S.S., Kochetov A.V. Simple

- database to select promoters for plant transgenesis // Transgenic Res. 2011. DOI: 10.1007/s11248-011-9538-2.
- Stoger E., Williams S., Keen D., Christou P. Constitutive versus seed specific expression in transgenic wheat: temporal and spatial control // Transgenic Res. 1999. V. 8. P. 73–82.
- Stoger E., Parker M., Christou P., Casey R. Pea legumin overexpressed in wheat endosperm assembles into an ordered paracrystalline matrix // Plant Physiol. 2001. V. 125. P. 1732–1742.
- Takumi S., Koike A., Nakata M. *et al.* Cold-specific and light-stimulated expression of a wheat (*Triticum aestivum* L.) Cor gene *Wcor15* encoding a chloroplast-targeted protein // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. P. 2265–2274.
- Taoka K., Ohtsubo N., Fujimoto Y. *et al.* The modular structure and function of the wheat H1 promoter with S phase-specific activity // Plant Cell Physiol. 1998. V. 39. P. 294–306.
- Terada R., Nakayama T., Iwabuchi M., Shimamoto K. A wheat histone H3 promoter confers cell division-dependent and-independent expression of the *gusA* gene in transgenic rice plants // Plant J. 1993. V. 3. P. 241–252.
- Tittarelli A., Milla L., Vargas F. *et al.* Isolation and comparative analysis of the wheat TaPT2 promoter: identification *in silico* of new putative regulatory motifs conserved between monocots and dicots // J. Exp. Bot. 2007. V. 58. P. 2573–2582.
- Van Herpen T.W., Riley M., Sparks C. *et al.* Detailed analysis of the expression of an alpha-gliadin promoter and the deposition of alpha-gliadin protein during wheat grain development // Ann. Bot. 2008. V. 102. P. 331–342.
- Wang H.W., Kwon H.J., Yim W.C. *et al.* Expressional diversity of wheat *nsLTP* genes: evidence of subfunctionalization *via cis*-regulatory divergence // Genetica. 2010. V. 138. P. 843–852.
- Wiley P.R., Tosi P., Evrard A. *et al.* Promoter analysis and immunolocalization show that puroindoline genes are exclusively expressed in starchy endosperm cells of wheat grain // Plant Mol. Biol. 2007. V. 64. P. 125–136.
- Xu Z.S., Ni Z.Y., Liu L. *et al.* Characterization of the *TaAIDFa* gene encoding a CRT/DRE-binding factor responsive to drought, high-salt, and cold stress in wheat // Mol. Genet. Genomics. 2008. V. 280. P. 497–508.
- Yang P., Taoka K., Nakayama T., Iwabuchi M. Structural and functional characterization of two wheat histone H2B promoters // Plant Mol. Biol. 1995. V. 28. P. 155–172.
- Zhang J., Liu W., Yang X. *et al.* Isolation and characterization of two putative cytokinin oxidase genes related to grain number per spike phenotype in wheat // Mol. Biol. Rep. 2011. V. 38. P. 2337–2347.

WHEAT PROMOTER SEQUENCES FOR TRANSGENE EXPRESSION

O.G. Smirnova, A.V. Kochetov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: planta@bionet.nsc.ru

Summary

Gene engineering techniques and transgenic plants are frequently used in plant molecular genetics. Promoters from wheat genes with verified patterns of activity (annotated in TransGene Promoters Database, TGP) are discussed. The TGP database can be used as an information resource for planning various genetic engineering experiments.

Key words: promoters, wheat, transgenic plants, database.