

УДК 577.21

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ПО ПОВЫШЕНИЮ ОСМОТОЛЕРАНТНОСТИ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ DREB И AREB/ABF

Е.Н. ТИЩЕНКО, Б.В. МОРГУН

*Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17*

Рассмотрена эффективность использования разнообразных эндогенных и экзогенных генов, кодирующих транскрипционные факторы DREB и AREB/ABF, для повышения уровня толерантности культурных злаковых растений с привлечением молекулярных биотехнологий.

Ключевые слова: DREB, AREB/ABF, трансгенные растения, осмотолерантность.

Одно из направлений генетической инженерии по повышению уровня устойчивости культурных растений к осмотическим стрессам связано с генами, кодирующими транскрипционные факторы (*trans*-действующие факторы, TFs), так называемыми мастер-регуляторами [53, 29]. Один и тот же мастер-регулятор, специфично взаимодействуя с гомологичными *cis*-действующими элементами промоторов, индуцирует транскрипцию структурных генов, контролирующих биосинтез белков, непосредственно принимающих участие в поддержании жизнеспособности растений в неблагоприятных условиях окружающей среды. Такой тип транскрипционной регуляторной системы называют регулоном (генными сетями). Мастер-регуляторы функционируют как ключевые посредники, принимающие участие в генетическом уровне регуляции процессов адаптации/устойчивости растений. Будучи сами стрессиндуцируемыми, транскрипционные факторы могут быть компонентами комплексных сигнальных сетей, включающих различные регулоны. Они объединены в семейства и субсемейства на основе наличия консервативных аминокислотных последовательностей, взаимодействующих с гомологичными *cis*-элементами, содержащимися в промоторах генов, транскрипцию которых они регулируют. К их числу относятся AP2/ERF, AREB/ABF, NAC, MYB, MYC, WRKY, NF-Y, ERF, Cys2His2 zinc-finger [26, 29, 55].

В последние годы интенсивно исследуется функция генов, кодирующих транскрипционные факторы, которые прямо или опосредовано могут быть вовлечены в регуляцию процессов адаптации/устойчивости культурных растений в ответной реакции на осмотические стрессы. Среди них интерес представляют АБК-независимые (DREB) и АБК-зависимые (AREB/ABF) транскрипционные факторы.

Цель данной работы — анализ перспективности использования генов TFs DREB и AREB/ABF для повышения уровня осмотолерантности культурных злаковых растений.

DREB-субсемейство TFs. TFs DREB-субсемейства относятся к обширному семейству AP2/ERF и содержат весьма консервативный среди растений ДНК-связывающий домен AP2/ERF размером около 60 аминокислот. Они были открыты у модельного объекта *Arabidopsis thaliana* L. и в соответствии с их структурной характеристикой подразделены на 6 субгрупп (A-1—A-6), члены которых могут выполнять различные функции [39]. Наиболее широко у арабидопсиса представлены транскрипционные факторы DREB1/CBF (Dehydration-Responsive Element Binding protein 1/C-repeat Binding Factor), принадлежащие к субгруппе A-1, и DREB2, которые относятся к субгруппе A-2. Гены, кодирующие DREB1/CBF, главным образом индуцируются пониженной температурой и дегидратацией, тогда как *DREB2*-гены — осмотическими стрессами. Гены, кодирующие TFs DREBs, были идентифицированы и у ряда культурных злаковых растений, в том числе кукурузы, пшеницы, риса, ячменя [6, 36, 37, 44]. Вместе с тем их функция изучена недостаточно.

Белки DREBs, специфично связываясь с DRE-, CRT- или LTRE-последовательностями промоторов, активируют транскрипцию генов регулона. DRE (Dehydration-Responsive Element) является *cis*-действующим элементом промотора с коровой последовательностью A/GCCGAC. Он был идентифицирован у арабидопсиса как АБК-независимый элемент, необходимый для регуляции экспрессии генов в ответ на водный дефицит, засоление, холод. Подобные коровые мотивы CRT (C-Repeat) и LTRE (Low-Temperature-Responsive Element) параллельно были обнаружены и в промоторах генов, транскрипция которых индуцируется холодом. Обсуждаемые *cis*-действующие элементы были идентифицированы в промоторах ряда стрессиндуцированных структурных генов арабидопсиса, в том числе *rd29A*, *rd10*, *rd17*, *Kin1*, *cor6.6*, *cor15a*, а также их ортологов в геномах некоторых культурных растений [15, 17, 27, 32, 39, 47, 52].

Исследования аминокислотных последовательностей белков TFs DREBs ряда растений показали, что сигнал ядерной локализации находится в N-терминальной щелочной аминокислотной области (KKR). Кислая аминокислотная область (DDD) C-терминали связана с *trans*-активацией. Рядом с ДНК-связывающим доменом AP2/ERF расположена консервативная область, обогащенная серином и треонином. Предполагается, что она может быть связана с фосфорилированием белков DREB [22, 61]. Принципиальное значение имеет консервативность расположения аминокислотных остатков валина и глутамина (соответственно в положениях 14 и 19) ДНК-связывающего домена. Небольшие вариации в сайтах связывания могут приводить к различной ДНК-связывающей способности транскрипционных факторов. DREB1 проявляет наибольшую аффинность к A/GCCGACNT-последовательности, тогда как DREB2 — к ACCGAC [38, 39, 61].

Хотя белки DREB1/CBF и DREB2 арабидопсиса объединяет гомология с ДНК-связывающим доменом AP2/ERF, гены, кодирующие эти TFs, дифференциально реагируют на осмотические стрессы и пониженную температуру. Разные функции могут выполнять и индивидуальные гены одной и той же субгруппы *DREBs*. Наряду с этим отдельные представители *DREB1/CBF* и *DREB2* могут транскрибироваться в ответ на хо-

лодовой и осмотические стрессы, что предполагает участие индивидуальных членов этого субсемейства в перекрестных путях передачи сигналов. Более того, регуляция экспрессии генов *DREBs* арабидопсиса может осуществляться не только на транскрипционном, но и на посттранскрипционном уровне. В частности, это касается гена *DREB2A*, в центральной области которого содержится негативный регуляторный домен, в результате чего ген *DREB2A* является нефункциональным [29, 38, 39, 53]. Первоначальные генетико-физиологические исследования, проведенные на модельном объекте, экспериментально обосновали целесообразность использования генов транскрипционных факторов DREB-субсемейства для повышения уровня осмотолерантности культурных растений.

На сегодня у ряда однодольных идентифицированы ортологи генов арабидопсиса *DREB1/CBF* и *DREB2*. Согласно данным, представленным в GenBank, они могут содержать разнообразные субсемейства генов TFs. В частности, *DREB1/CBF* *Triticum aestivum* L. кодируются 15 различными генами, *Zea mays* L. — 3, *Hordeum vulgare* L. — 13, *Secale cereale* L. — 3, *Avena sativa* L. — 4, *Oryza sativa* L. — 9 [2]. Наиболее детально исследована функция DREBs-субсемейства риса. Ряд его членов, в том числе OsDREB1A, OsDREB1B, OsDREB1F рассматриваются как мастер-регуляторы, среди которых OsDREB1F принимает участие в АБК-зависимых и АБК-независимых путях передачи сигналов (табл. 1). Что касается генов *DREB2*, то у риса идентифицировано по крайней мере 5 гомологов арабидопсиса — *OsDREB2A*, *OsDREB2B*, *OsDREB2C*, *OsDREB2E*, *OsAB14*, среди которых только гены *OsDREB2A* и *OsDREB2B* являются функциональными и индуцируются водным дефицитом, засолением, повышенной температурой. Помимо этого ген *OsDREB2B* транскрибируется в ответ и на холодовой стресс. Транскрипционные факторы OsDREB2A и OsDREB2B относятся к мастер-регуляторам. Регуляция экспрессии гена *OsDREB2B* осуществляется путем альтернативного сплайсинга пре-мРНК, в результате чего образуются функциональная и нефункциональная формы [25, 46]. Альтернативный сплайсинг генов *DREB2* характерен также и для других злаков — кукурузы, пшеницы, ячменя [7, 36]. В частности, регуляция экспрессии гена *Wdreb2* пшеницы (гомолога *DREB2A* арабидопсиса) в ответ на водный дефицит, засоление, холодовой стресс происходила как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне путем альтернативного сплайсинга. В результате в зависимости от типа стрессора шло образование разных функциональных форм — *Wdreb2alpha*, *Wdreb2beta* и *Wdreb2gamma* [7]. Помимо этого в геноме пшеницы выявлен ген неактивной β-изоформы, в которой отсутствовал домен активации транскрипции. К тому же в генах, кодирующих функциональную и неактивную изоформы, содержится разное количество экзонов [41].

Функционирование DREB1/CBF- и DREB2-регулонов обычно не связано с путями передачи сигналов при участии абсцизовой кислоты (АБК) — фитогормона, который продуцируется при водном дефиците и играет важную роль в реакции на стресс. Тем не менее регуляция экспрессии некоторых структурных генов может осуществляться и АБК-зависимым, и АБК-независимым путями. В частности, это характерно для индуцируемого водным дефицитом и АБК гена кукурузы *rab17*, в промоторе которого содержится как DRE, так и АБК-реагирующий элемент ABRE [17]. Промотор этого гена часто используется для стрессиндуцированной экспрессии трансгенов при разработке молекулярных биотехнологий (см. табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. Характеристика регуляторных генов *DREB*-семейства, использованных для повышения уровня толерантности трансгенных растений к абиотическим стрессам

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого- биохимическая характеристики)
<i>Пшеница</i> [35]	
<p><i>DREB1A</i> арабидопсиса (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i>-типа) <i>Промотор</i>: индуцибельный rd29A</p>	<p>Повышенная устойчивость трансгенных растений пшеницы, содержащих функциональный ген <i>DREB1A</i>, к водному дефициту в вегетационных опытах. Подтверждение толерантности растений в полевых условиях.</p> <p>Замедленное прорастание семян трансгенных растений в условиях стресса и в норме (за исключением нескольких трансгенных линий). Нормальный рост и морфология на поздних стадиях развития rd29A::<i>DREB1A</i>-растений.</p> <p>В трансгенных линиях наблюдалось улучшенное развитие, большее число колосков, а также более разветвленный фенотип корня. Отсутствие различий по морфологическим показателям и скорости роста между rd29A::<i>DREB1A</i>-растениями и нетрансгенным контролем на начальных этапах водного дефицита, ускоренная гибель контроля при развитии стресса.</p>
<i>Пшеница</i> [12]	
<p><i>GmDREB</i> сои (<i>Glycine max</i>, кодирует TF <i>DREB</i>) <i>Промоторы</i>: конститутивный Ubi, индуцибельный rd29A</p>	<p>Повышенная толерантность трансгенных растений (Ubi::<i>GmDREB</i> и rd29A::<i>GmDREB</i> T1-поколения) к водному дефициту и засолению.</p> <p>Нормальный рост, развитие Ubi::<i>GmDREB</i>- и rd29A::<i>GmDREB</i>-растений с функциональным геном <i>GmDREB</i> сои. Отсутствие различий по показателям — скорость роста и длина колоса относительно контроля.</p> <p>Повышенное содержание растворимых сахаров.</p>
<i>Пшеница</i> [10]	
<p><i>GhDREB</i> хлопчатника (кодирует TF <i>DREB</i>- субсемейства) <i>Промоторы</i>: конститутивный Ubi, индуцибельный rd29A</p>	<p>Трансгенные растения пшеницы (Ubi::<i>GhDREB</i> и rd29A::<i>GhDREB</i>) показывали повышенный уровень устойчивости к водному дефициту, засолению, отрицательным низким температурам.</p> <p>Накопление в трансгенных растениях растворимых сахаров. В условиях стресса поддерживался более высокий уровень содержания хлорофилла по сравнению с контролем. Между трансгенными и контрольными растениями фенотипических различий не наблюдалось.</p>
<i>Пшеница</i> [41]	
<p><i>DREB</i> (кодирует TF <i>DREB</i>- субсемейства) <i>Промотор</i>: индуцибельный rd29A</p>	<p>Повышенная толерантность T0- и T1-трансгенных растений пшеницы, сверхэкспрессирующих <i>DREB</i>, к водному дефициту. После прекращения полива (в течение 15 суток) и последующей регидратации (10 суток) трансгенные растения в отличие от контроля оставались жизнеспособными.</p> <p>Более чем двукратное повышение содержания <i>L</i>-пролина в листьях и семенах трансгенных растений T2-поколения.</p>
<i>Пшеница и ячмень</i> [27]	
<p><i>TaDREB2</i> (Асс. DQ353852) и <i>TaDREB3</i></p>	<p>Повышенная устойчивость к водному дефициту и отрицательным низким температурам трансгенных растений пшеницы и ячменя (35S::<i>TaDREB2</i> и 35S::<i>TaDREB3</i>).</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая характеристики)
<p>(Асс. Q353853) пшеницы (кодируют TFs <i>DREB</i> из семян пшеницы) <i>Промотор</i>: конститутивный удвоенный 35S, индуцибельный — Rab17-кукурузы</p>	<p>В трансгенных растениях, конститутивно сверхэкспрессирующих <i>TaDREB2</i> и <i>TaDREB3</i>, в нормальных условиях культивирования наблюдались замедление скорости роста, задержка цветения, уменьшение урожая по сравнению с нетрансгенным контролем. Вместе с тем трансгенные растения были более жизнеспособными в условиях водного дефицита.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>TaDREB2</i> и <i>TaDREB3</i> приводила к повышению уровня экспрессии других генов <i>DREB/CBF</i> и значительного количества стрессреагирующих генов LEA/COR/DHN.</p> <p>Применение стрессиндуцибельного промотора минимизировало негативное влияние сверхэкспрессии трансгенов на рост и развитие трансгенных растений.</p>
<p>Кукуруза [1]</p>	
<p><i>DREB1A/CBF3</i> арабидопсиса (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i>-типа) <i>Промотор</i>: индуцибельный rd29A</p>	<p>Повышение уровня устойчивости к водному дефициту, засолению, положительной низкой температуре трансгенных растений кукурузы.</p> <p>Получено поколение трансгенной линии, в которой ген <i>DREB1A/CBF3</i> наследовался по Менделю и его экспрессия индуцировалась в ответ на стрессоры, тогда как в нормальных условиях культивирования наблюдалась его едва различимая транскрипция.</p> <p>Конститутивная экспрессия <i>DREB1A/CBF3</i> приводила к замедлению скорости роста и стерильности большинства трансгенных растений.</p> <p>Наблюдалось повышение уровня транскрипции гена <i>ZmCAT3</i> при положительной низкой температуре.</p>
<p>Кукуруза [60]</p>	
<p><i>TsCBF1</i> двудольного галофита <i>Thellungiella halophila</i> (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i>-типа)</p>	<p>Повышение уровня толерантности к водному дефициту семенного поколения трансгенных растений кукурузы, сверхэкспрессирующих ген <i>TsCBF1</i>, на основании таких показателей, как относительное водное содержание, накопление осмолитов, снижение уровня гибели клеток по сравнению с контролем.</p> <p>Для трансгенных растений было характерным увеличение урожайности, уменьшение продолжительности фазы выметывания пестичных столбиков в условиях стресса.</p>
<p>Рис и арабидопсис [15]</p>	
<p><i>OsDREB1A</i>, <i>OsDREB1B</i> риса; <i>DREB1A/CBF3</i>, <i>DREB1B/CBF1</i>, <i>DREB1C/CBF2</i> арабидопсиса <i>Промоторы</i>: модифицированный CaMV 35S, конститутивный Ubi кукурузы</p>	<p>Толерантность к водному дефициту, засолению, низким температурам трансгенных растений риса и арабидопсиса, сверхэкспрессирующих гены <i>OsDREB1</i> или <i>AtDREB1</i>.</p> <p>Аналогичный эффект был характерен и для трансгенных растений арабидопсиса с функциональными генами <i>OsDREB1</i> и <i>AtDREB1</i>.</p> <p>Замедленная скорость роста этих трансгенных растений в нормальных условиях культивирования.</p> <p>Увеличение содержания в трансгенных растениях риса и арабидопсиса свободного <i>L</i>-пролина и растворимых сахаров (рафинозы, сахарозы, глюкозы, фруктозы) в нормальных и стрессовых условиях.</p> <p>Повышение уровня экспрессии гена, кодирующего α-амилазу.</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого- биохимическая характеристики)
<i>Рис</i> [33]	
<i>HvCBF4</i> (кодируют TF ячменя <i>DREB1/CBF</i> -типа) <i>Промотор:</i> конститутивный <i>Ubi</i> кукурузы	<p>Повышение уровня толерантности трансгенных растений риса, сверхэкспрессирующих ген <i>HvCBF4</i>, к водному дефициту, засолению, пониженным температурам. Замедления скорости роста <i>Ubi::HvCBF4</i>-растений не происходило.</p> <p>Идентифицировано 15 генов риса, транскрипция которых индуцировалась <i>HvCBF4</i> ячменя, включая гены, кодирующие белки аминотрансферазы, цитохрома P₄₅₀, а также пролин-обогащенного белка (Pro-rich) и лейцинобогатого белка (LRR). Улучшенные показатели флуоресценции хлорофилла по сравнению с контролем.</p>
<i>Рис</i> [32]	
<i>ABF3</i> и <i>CBF3/DREB1A</i> арабидопсиса (кодируют TF <i>AREB/ABF</i> - и <i>DREB</i> -субсемейств) <i>Промотор:</i> конститутивный	<p>Проведен сравнительный анализ трансгенных растений риса, конститутивно сверхэкспрессирующих гены арабидопсиса <i>CBF3/DREB1A</i> и <i>ABF3</i>, принимающих участие соответственно в АБК-независимом и АБК-зависимом путях передачи сигналов.</p> <p>Функционирование гена <i>CBF3/DREB1A</i> приводило к повышению уровня толерантности трансгенных растений к водному дефициту и засолению, однако уровень их устойчивости к низким температурам был незначительный.</p> <p>Трансгенные растения риса, сверхэкспрессирующие ген <i>ABF3</i>, показывали повышенный уровень толерантности только к водному дефициту.</p> <p>Идентифицировано соответственно 12 и 7 генов-мишеней, которые активировались в <i>CBF3</i>- и <i>ABF3</i>- трансгенных растениях и, по-видимому, были связаны с акклимацией к условиям стресса. В условиях водного дефицита индуцировалось соответственно 13 и 27 генов.</p> <p>Снижения скорости роста и видимых фенотипических изменений в трансгенных растениях не наблюдалось, несмотря на конститутивную экспрессию генов <i>CBF3</i> или <i>ABF3</i>.</p>
<i>Рис</i> [50]	
<i>ZmCBF3</i> кукурузы (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i> -типа) <i>Промотор:</i> конститутивный <i>Ubi</i> кукурузы	<p>Ген <i>ZmCBF3</i> кукурузы индуцируется низкими температурами и АБК.</p> <p>Повышенная толерантность трансгенных растений риса Т3-поколения к водному дефициту, засолению, пониженным температурам.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>ZmCBF3</i> не вызывала замедления скорости роста трансгенных растений в нормальных условиях.</p> <p>Урожайность в нормальных условиях не отличалась от контроля.</p> <p>В трансгенных растениях наблюдалось уменьшенное содержание малондальдегида.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>ZmCBF3</i> приводила к повышению уровня транскрипции стрессиндуцируемых генов, в частности <i>Dip1</i>, <i>Hsp70</i>, <i>Lip5</i>.</p>
<i>Рис и арабидопсис</i> [47]	
<i>OsDREB1F</i> риса (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i> -типа)	<p>Ген <i>OsDREB1F</i> риса индуцируется водным дефицитом, засолением, пониженными температурами, экзогенной АБК.</p> <p>Повышенная толерантность трансгенных растений риса, сверхэкспрессирующих свой собственный ген <i>OsDREB1F</i>, а также</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая характеристики)
<p><i>OsDREB1E</i> <i>OsDREB1G</i> <i>OsDREB2B</i> риса (кодирует TF <i>DREB</i>-типа)</p>	<p>трансгенных растений арабидопсиса с функциональным <i>OsDREB1F</i>-геном к водному дефициту, засолению, низким температурам.</p> <p>Экспрессия гена <i>OsDREB1F</i> в трансгенных растениях арабидопсиса помимо <i>COR</i>-генов, реагирующих на холод, приводила к повышению уровня транскрипции стресс-индуцибельных генов <i>rd29B</i> и <i>RAB18</i>, что предполагает участие гена <i>OsDREB1F</i> в АБК-зависимых и АБК-независимых путях передачи сигналов.</p> <p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [4]</p> <p>Повышение уровня устойчивости трансгенных растений риса, сверхэкспрессирующих свои собственные гены <i>OsDREB1G</i> и <i>OsDREB2B</i>, к водному дефициту. Функционирование гена <i>OsDREB1E</i> оказывало незначительный эффект на осмотолерантность.</p> <p>Нормальный рост трансгенных растений (35S::<i>OsDREB1G</i>) и (35S::<i>OsDREB2B</i>) в условиях моделированного водного дефицита, при котором наблюдалась гибель растений контрольных вариантов.</p>
<p><i>OsDREB2</i> риса (кодирует TF <i>DREB2</i>-типа)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Арабидопсис</i> [25]</p> <p>Показано, что среди генов TF риса <i>OsDREB2</i> (<i>OsDREB2A</i>, <i>OsDREB2B</i>, <i>OsDREB2C</i>, <i>OsDREB2E</i>, <i>OsAB14</i>) функциональными являются только <i>OsDREB2A</i> и <i>OsDREB2B</i>, которые индуцируются в ответ на абиотические стрессы. Из двух форм <i>OsDREB2B</i>, функциональный ген образуется путем альтернативного сплайсинга пре-мРНК.</p> <p>Трансгенные растения арабидопсиса, транскрибирующие ген <i>OsDREB2B</i>, показывали повышенный уровень экспрессии <i>OsDREB2A</i> и ряда генов-мишеней, а также были толерантными к водному дефициту и тепловому шоку.</p> <p><i>OsDREB2B</i> рассматривается как ключевой регуляторный ген среди генов <i>OsDREB2</i>-типа, связанных со стрессустойчивостью.</p>
<p><i>ZmDREB2A</i> кукурузы (кодирует TF <i>DREB2</i>-типа) <i>Промоторы</i>: конститутивный 35S, индуцибельный RB29A</p>	<p style="text-align: center;"><i>Арабидопсис</i> [36]</p> <p>Транскрипция гена <i>ZmDREB2A</i> в проростках кукурузы индуцируется водным дефицитом, засолением, холодным и тепловым стрессами.</p> <p>В отличие от <i>DREB2A</i> арабидопсиса <i>ZmDREB2A</i> продуцирует две формы транскриптов, из которых только одна является функциональной и индуцируется абиотическими стрессорами.</p> <p>Конститутивная или стрессиндуцированная экспрессия гена <i>ZmDREB2A</i> приводила к повышению уровня устойчивости трансгенных растений арабидопсиса к водному дефициту.</p> <p>В трансгенных растениях RB29A::<i>ZmDREB2A</i> наблюдался нормальный рост, а в 35S::<i>ZmDREB2A</i> — уменьшение размера листьев розетки.</p> <p>Кроме генов, кодирующих LEA-белки, осуществлялась экспрессия ряда генов, связанных с тепловым шоком и детоксикацией.</p> <p>Сверхэкспрессия гена <i>ZmDREB2A</i> повышала также термотолерантность трансгенных растений, что указывало на участие TF <i>ZmDREB2A</i> в индукции транскрипции генов, реагирующих как на водный, так и тепловой стрессы.</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого- биохимическая характеристики)
<i>Арабидопсис</i> [37]	
<i>ZmDREB1A</i> кукурузы (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i> -типа) <i>Промотор:</i> конститутивный 35S	<p>Экспрессия гена <i>ZmDREB1A</i> в растениях кукурузы индуцируется холодом, с низким уровнем — засолением. Транзиентно экспрессируется при ранении.</p> <p>Повышенная толерантность трансгенных растений арабидопсиса к водному дефициту и пониженным температурам.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>ZmDREB1A</i> в трансгенных растениях арабидопсиса приводила к экспрессии генов, индуцируемых <i>DREB1A</i>-арабидопсиса.</p>
<i>Табак</i> [13]	
<i>OsDREB1B</i> риса (кодирует TF <i>DREB1/CBF</i> -типа) <i>Промотор:</i> конститутивный <i>CaMV35S</i>	<p>Ген риса <i>OsDREB1B</i> дифференциально регулируется на транскрипционном уровне осмотическими стрессами, холодом, окислительным стрессом, АБК, салициловой кислотой,</p> <p>В условиях моделированного водного дефицита (ингибирующая концентрация маннита) в трансгенных растениях, сверхэкспрессирующих <i>OsDREB1B</i>, наблюдался улучшенный рост корней, повышенная стабильность мембран, активность DPPH.</p> <p>По сравнению с контролем трансгенные растения, сверхэкспрессирующие <i>OsDREB1B</i>, в условиях длительного осмотического стресса накапливали большую сырую массу, удерживали большее количество воды.</p> <p><i>CaMV35S::OsDREB1B</i>-растения были толерантными к окислительному стрессу и промораживанию, показывали пониженную чувствительность к вирусной инфекции стрик.</p> <p>Полученные данные свидетельствуют о перекрестной устойчивости растений к абиотическим и биотическим стрессам.</p>

Первоначальные генетико-физиологические исследования, проведенные на модельном объекте — арабидопсисе, экспериментально обосновали целесообразность использования генов транскрипционных факторов DREB-субсемейства для повышения уровня его осмотолерантности. В дальнейшем показано (см. табл. 1), что манипуляции с рядом чужеродных и собственных генов *DREBs* приводили к повышению толерантности трансгенных культурных растений к отдельным абиотическим стрессорам и/или их комбинации. При этом уровень устойчивости мог различаться. Так, в трансгенных растениях пшеницы, сверхэкспрессирующих гены, кодирующие транскрипционные факторы *DREB1A* арабидопсиса и *GmDREB* сои, соответственно повышался уровень их устойчивости к водному дефициту, а также к водному дефициту и засолению [12, 35]. В трансгенных растениях пшеницы с функциональным геном хлопчатника *GhDREB* наблюдалась толерантность не только к водному дефициту, засолению, но и к холодовому стрессу [11]. Повышенная устойчивость к водному дефициту и отрицательным температурам зафиксирована также и в трансгенных растениях пшеницы, сверхэкспрессирующих гены своих собственных транскрипционных факторов — *TaDREB2* и *TaDREB3* [27]. Функционирование этих генов в трансгенных растениях ячменя давало аналогичный эффект. Сверхэкспрессия гена *TsCBF*, кодирующего TF галофита *Thellungiella halophila*,

приводила к повышению уровня устойчивости кукурузы к водному дефициту, при этом увеличивалась урожайность семенного поколения трансгенных растений [60]. Конститутивная или стрессиндуцированная экспрессия гена *ZmDREB2A* кукурузы в трансгенных растениях арабидопсиса повышала уровень устойчивости к водному дефициту и термотолерантности [36], тогда как трансгенные растения картофеля с функциональным геном *DREB1B* арабидопсиса показывали толерантность к водному дефициту и промораживанию [28]. Более того, наряду со стрессоустойчивостью манипуляции с генами транскрипционных факторов могли приводить к толерантности и к биотическим факторам [13].

В ряде случаев показано, что экспрессия трансгенов, кодирующих TFs DREB-субсемейства, помимо повышения уровня транскрипции структурных генов, принимающих непосредственное участие в процессах устойчивости и адаптации растений к стрессам, сопровождалась индукцией транскрипции генов других типов транскрипционных факторов [12, 27, 40]. Среди этих генов можно отметить *STZ*, который, как считается, задействован далее в путях передачи сигналов и контроле экспрессии стрессиндуцируемых структурных генов. Наряду с этим предполагается участие этого TF в молекулярных механизмах, связанных с замедлением скорости роста трансгенных растений [12]. Следует подчеркнуть, что изменения паттернов транскрипции регуляторных генов могли вызывать замедление скорости роста трансформантов и в оптимальных для их развития условиях.

Сравнительный анализ однодольных и двудольных показал, что в условиях стресса повышенная толерантность растений с функциональными *DREB*-генами была сопряжена с улучшением ряда физиолого-биохимических показателей (по сравнению с нетрансгенным контролем). Вместе с тем в нестрессовых условиях наряду с отсутствием различий в процессах роста и развития трансгенных растений в них могли происходить негативные изменения (см. табл. 1). Наиболее часто нежелательные последствия были характерны для растений, в которых транскрипция трансгенов осуществлялась под контролем сильных конститутивных промоторов [1, 4, 15, 27, 36, 60]. Наблюдались также варианты, в которых существенных изменений при использовании как конститутивных, так и стрессиндуцибельных промоторов не происходило [10, 12, 31, 33].

Отметим, что значительная эктопическая экспрессия трансгена в нормальных условиях культивирования могла замедлять скорость роста, что в конечном итоге приводило к карликовости, а также задержке периода цветения. Один из возможных путей решения этой проблемы связан с выбором целевого гена и стрессиндуцибельного промотора, под контролем которого осуществляется его транскрипция. В этом отношении представляют интерес, в частности, промотор гена *Rab17* кукурузы, принадлежащего к группе генов *LEA/DHN* и активирующегося водным дефицитом и АБК, а также промотор стрессиндуцибельного гена *Rd29A* арабидопсиса. Для ряда трансгенных растений показано, что в нормальных условиях культивирования их применение минимизировало негативное влияние на рост и развитие на протяжении всего периода вегетации или отдельных его этапов [27, 35]. Следует отметить, что использование стрессиндуцибельного промотора не всегда давало гарантию низкого уровня экспрессии целевого гена в трансгенных растениях, культивируемых в отсутствие стрессовых факторов. В частности, среди трансгенных линий кукурузы были варианты, в которых ген

DREB1A/CBF3 экспрессировался конститутивно, несмотря на использование промотора стрессиндуцибельного гена *rd29A*, что приводило к замедлению скорости роста и стерильности большинства трансгенных растений [1]. В тоже время в условиях жесткого стресса замедление процессов развития, наоборот, может способствовать выживанию трансгенных растений, сверхэкспрессирующих гены транскрипционных факторов *DREBs*.

Оценки урожайности *DREB*-трансгенных растений единичны. Так, показано повышение урожайности трансгенных растений кукурузы, сверхэкспрессирующих ген двудольного галофита *Thellungiella halophila TsCBF1* [60]. Урожайность трансгенных растений риса с функциональным геном кукурузы *ZmCBF3* не отличалась от контроля, а урожайность трансгенных растений пшеницы и ячменя, конститутивно сверхэкспрессирующих *TaDREB2* и *TaDREB3*, уменьшалась [50, 27].

AREB/ABF — субсемейство TFs. AREB/ABF (ABA Responsive Element Binding proteins/factors) — АБК-зависимые транскрипционные факторы, относятся к bZIP (basic leucine zipper) семейству TFs, которые функционируют в путях передачи сигналов в ответ на абиотические стрессы, а также в ходе созревания и прорастания семян. В промоторах большинства генов, индуцируемых АБК, содержится консервативный *cis*-действующий элемент ABRE (ABR-Responsive Element, АБК-реагирующий элемент) с консенсусной последовательностью PyACGTGG. Этот *cis*-элемент характерен для семейства G-box (CACGTG), принимающего участие в молекулярных механизмах транскрипции широкого ряда генов растений. ABREs содержат коровую последовательность ACGT, распознаваемую bZIP-белками. Хотя эта последовательность консервативна, ее фланкирующие последовательности могут различаться. Так, ABRE кукурузы — GACGTG, риса — CGTACGTGTC, арабидопсиса — GACGTG; bZIP-белки содержат консервативную основную область и лейциновый zipper. Консервативная основная область ответственна за последовательность-специфичное связывание ДНК, тогда как менее консервативная область zipperа — за специфичность димеризации bZIP-TFs [9, 29, 55].

Для АБК-зависимой индукции транскрипции генов единственной копии этого *cis*-элемента недостаточно. Для успешной АБК-индуцируемой экспрессии структурных генов требуются или дополнительные копии ABRE, или другие *cis*-элементы, известные как «связанные» элементы CE (Coupling Element). В данное время к CEs относят CE1, CE3 (Coupling Element 1 и 3), DRE/CRT, motifIII [9, 20, 42, 43]. ABRE и CE составляют АБК-реагирующие промоторные комплексы ABRCs (ABA-Response promoter Complexes) — ABRC1 и ABRC2. С элементами CE взаимодействуют транскрипционные факторы CEBFs (CE element binding factors). Известен ряд CE. В частности, помимо 5-ACGTGGC-3 в промоторах генов ячменя содержатся CE1 и CE3, включающие соответственно CACC- и GCGTGTC-последовательности. За элементом ACGT в АБК-индуцированном гене ячменя *HVA1* следует CE3, а в гене *HVA22* — CE1. CE1 и CE3 показывают различия в пространственном расположении относительно ABRE [43]. Вместе с тем CE1 кукурузы содержит последовательность CACCG, с которой связывается *trans*-действующий фактор ZmABI4 [30]. Показано, что ряд CEBFs, взаимодействующих с CE1, принадлежит к В-3 или А-6 AP2/ERF-субсемействам белков. Считается, что CEBFs вовлечены в АБК- и сахарорегулируемые пути передачи сигналов. Так, TF кукурузы ZmABI4 взаимодействует с *cis*-элементом промотора сахарореагирующего гена *ADH1*. Более того,

CE1 может функционировать как ABRE элемент, опосредующий ответы не только на абиотические, но и биотические стрессы [20, 30]. На примере арабидопсиса также показано, что в ответ на АБК в качестве связанных с ABRE элементов могут быть DRE/CRT-последовательности, что предполагает взаимодействие DREB- и ABRF-регулонов [29, 32]. Более того, помимо ABRE, DRE в промоторах генов могут содержаться и другие *cis*-элементы, в частности, MYBRS, MYCRS, с которыми способны взаимодействовать транскрипционные факторы MYB и MYC. Эти транскрипционные факторы (AREB, DREB, MYB и MYC) могут быть вовлечены как в АБК-сигналинг, так и в ответную реакцию на стресс [3, 56].

Для активации транскрипционных факторов AREB/ABF принципиальное значение может иметь АБК-зависимая посттранскрипционная модификация, связанная с фосфорилированием аминокислотных последовательностей. Фосфорилируют и позитивно контролируют TFs три субкласса III протеинкиназ SnRK2 (sucrose non-fermenting-1 related protein kinase 2): SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 и SRK2I/SnRK2.3. АБК-активированная киназа фосфорилирует Ser/Thr-остатки сайтов RXXS/T в консервативной области белков всех форм AREB. Для получения функциональной формы они образуют гомо- и гетеродимеры в ядре и взаимодействуют с протеинкиназой SRK2D/SnRK2.2 [8, 9, 58].

Среди 75 различных транскрипционных факторов bZIP арабидопсиса (AtbZIP1–AtbZIP75) 13 относятся к субсемейству AREB/ABFs. АБК индуцирует экспрессию около 10% белок-кодирующих генов, значительно больше, чем другие фитогормоны растений. Транскрипция этих генов регулируется главным образом двумя различными субсемействами транскрипционных факторов bZIP: AREB/ABFs (AREB1/ABF2, AREB2/ABF4, ABF1, ABF3) и ABI5/AtDPBF (ABI5, EEL, DPBF2/AtbZIP67, DPBF4, AREB3). Экспрессия генов, кодирующих первое субсемейство, осуществляется преимущественно в вегетативных тканях в условиях стресса, тогда как других — в семенах. Что касается членов субсемейства AREB/ABFs, то в ответ на абиотический стресс их функция может быть различной. В частности, трансгенные растения арабидопсиса, сверхэкспрессирующие ген *AREB1*, были гиперчувствительными к АБК и толерантными к водному дефициту, ген *ABF1* индуцировался холодом, но не осмотическими стрессами. Остальные члены этого семейства (AREB1/ABF2, AREB2/ABF4 и ABF3) реагировали на дегидратацию, засоление, АБК. Они рассматриваются как ключевые регуляторы в АБК-сигналинге. Кроме того, есть основание считать, что AREB1/ABF2 принимает участие в перекрестных путях передачи сигналов, связанных с глюкозой [8, 9, 16, 29, 58].

В последние годы значительно расширилось представление о генах культурных растений, кодирующих транскрипционные факторы семейства AREB/ABFs. Так, в геноме кукурузы идентифицировано 125 генов bZIP-семейства, кодирующих 170 различных bZIP-белков. Они разделены на 11 групп. Анализ генома двух инбредных линий показал, что 22 гена могут быть связаны со стрессустойчивостью. Такое же количество обсуждаемых генов обнаружено и у риса [3, 48].

Однако функциональное значение преобладающего большинства представителей AREB/ABFs не исследовано не только у модельного объекта — *Arabidopsis thaliana*, но и у культурных растений. В табл. 2 приведены ряд примеров транскрипционных факторов, которые на основании изучения их роли методами функциональной геномики, генетической

ТАБЛИЦА 2. Характеристика регуляторных генов *AREB*-субсемейства, связанных с толерантностью растений к абиотическим стрессам

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая характеристики)
<i>Каллюс пшеницы, табак</i> [19]	
<p><i>Wabi5</i> пшеницы (кодирует TF bZIP-семейства <i>AREB/ABF</i>) <i>Промотор:</i> холодреагирующих генов пшеницы <i>Cor/Lea</i></p>	<p>Паттерны экспрессии гена <i>Wabi5</i> (ортолог HvABI5 ячменя), который активируется пониженными температурами, водным дефицитом, обработкой АБК, различаются в генотипах пшеницы с различным уровнем стрессустойчивости и чувствительности к АБК.</p> <p>Проростки трансгенных растений табака показали значительное повышение уровня устойчивости к отрицательным низким температурам, осмотическим и солевым стрессам, а также гиперчувствительность к АБК.</p> <p>WABI5 функционирует как транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию генов пшеницы <i>Cor/Lea</i> (<i>Wdhn13</i>, <i>Wrab18</i> и <i>Wrab19</i>) в ответ на ряд абиотических стрессов.</p>
<i>Каллюс пшеницы, табак</i> [18]	
<p><i>Wlip19</i> пшеницы (кодирует TF bZIP-семейства <i>AREB/ABF</i>) <i>Промотор:</i> холодреагирующих генов пшеницы <i>Cor/Lea</i></p>	<p>Экспрессия гена <i>Wlip19</i> в проростках пшеницы индуцируется низкими температурами (уровень транскрипции выше в генотипах, отличающихся повышенной морозоустойчивостью), а также в ответ на водный дефицит и на экзогенную обработку АБК.</p> <p>Трансгенные растения табака, сверхэкспрессирующие ген <i>Wlip19</i> пшеницы, показывали значительное повышение уровня устойчивости к абиотическим стрессам, особенно к замораживанию.</p> <p>В каллюсе пшеницы и в трансгенных растениях табака с функциональным геном <i>Wlip19</i> наблюдалось повышение экспрессии <i>GUS</i>-гена, запускаемого под контролем промоторов четырех <i>Cor/Lea</i>-генов пшеницы: <i>Wdhn13</i>, <i>Wrab17</i>, <i>Wrab18</i>, <i>Wrab19</i>.</p> <p>WLIP19 действует как транскрипционный регулятор <i>Cor/Lea</i>-генов.</p> <p>Показано прямое белок-белковое взаимодействие между WLIP19 и OBF1 – гомолога TaOBF1, другого TF bZIP-типа пшеницы.</p>
<i>Пшеница, арабидопсис</i> [11]	
<p><i>GmbZIP1</i> (кодирует TF сои <i>AREB</i> bZIP-семейства)</p>	<p>TF <i>GmbZIP1</i> солетолерантной формы сои кодируется единственным геном и состоит из 438 аминокислот, консервативный bZIP-домен которого содержит 60 аминокислот. <i>GmbZIP1</i> наиболее близко связан с <i>AtABF2</i> и <i>OstrAB1</i>.</p> <p>Экспрессия гена <i>GmbZIP1</i> индуцируется в вегетативных органах сои АБК, водным дефицитом, пониженной температурой.</p> <p>Повышение уровня устойчивости трансгенных растений пшеницы, сверхэкспрессирующих ген <i>GmbZIP1</i>, к водному дефициту.</p> <p>Функционирование гена <i>GmbZIP1</i> приводило к изменению в стрессиндуцированной экспрессии генов, вовлеченных в генетический уровень регуляции закрытия устьиц арабидопсиса под влиянием АБК в условиях водного дефицита и засоления.</p> <p>В трансгенных растениях замедления скорости роста не происходило.</p>
<i>Рис</i> [62]	
<p><i>OsABI5</i> риса (кодирует TF bZIP-семейства)</p>	<p>Экспрессия гена <i>OsABI5</i> риса индуцируется в проростках АБК, засолением, down-регулируется водным дефицитом и пониженной температурой (4 °C).</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая характеристики)
<p><i>Промотор:</i> конститутивный 35S</p>	<p>Сверхэкспрессия <i>OsABI5</i> в трансгенных растениях риса вызвала гиперчувствительность к АБК и солевому стрессу. Супрессия гена <i>OsABI5</i> способствовала повышению уровня стрессоустойчивости, однако приводила к понижению фертильности.</p> <p><i>OsABI5</i> риса функционирует как отрицательный регулятор.</p>
<p><i>AP37</i>, <i>AP59</i> риса (кодируют TFs риса с <i>AP2</i>-доменом, соответственно субгруппы 1 и 2) <i>Промотор:</i> конститутивный <i>OsCcl</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [31]</p> <p>Оба гена индуцируются через 2 ч в ответ на водный дефицит, засоление, но различаются по профилям транскрипции при экспозиции к пониженным температурам и АБК.</p> <p>Сверхэкспрессия генов <i>AP37</i>, <i>AP59</i> в трансгенных растениях риса приводила к повышению уровня устойчивости к водному дефициту и засолению на стадии вегетативного роста.</p> <p>Толерантность к пониженным температурам наблюдалась только в растениях риса, сверхэкспрессирующих ген <i>AP37</i>.</p> <p>В полевых условиях <i>OsCcl::AP37</i>-растения показывали значительное повышение устойчивости к водному дефициту, а также увеличение урожайности (на 16—57%).</p> <p>В полевых условиях урожайность <i>OsCcl::AP59</i>-растений, наоборот, снижалась (на 23—43%) как в норме, так и при водном дефиците.</p> <p>Отклонений в скорости роста трансгенных растений не зафиксировано.</p> <p>Идентифицировано 10 и 38 генов-мишеней <i>AP37</i> и <i>AP59</i> соответственно, 37 генов были общими.</p> <p>В трансгенных растениях <i>OsCcl::AP37</i> индуцировалась экспрессия ряда генов, связанных с метаболизмом углерода (фосфоглюконатацетилтрансфераза, фосфоглюкомутаза, УДФ-глюкозилтрансфераза), функционирование которых может быть связано с повышением содержания растворимых сахаров.</p> <p>В <i>OsCcl::AP37</i>- и <i>OsCcl::AP59</i>-растениях риса повышался уровень экспрессии ряда антиоксидантных генов (в частности пероксидазы, аскорбатоксидоредуктазы).</p>
<p><i>EDT1/HDG11</i> арабидопсиса (кодирует TF HD-bZIP)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [59]</p> <p>Толерантность трансгенных растений риса, сверхэкспрессирующих ген <i>EDT1/HDG11</i>, к водному дефициту.</p> <p>Повышение урожайности трансгенных растений в норме и в условиях стресса, которое сопровождалось более развитой корневой системой, пониженной плотностью устьиц, более высокой эффективностью использования воды (WUE), повышенной фотосинтетической активностью.</p> <p>В трансгенных растениях наблюдались повышение уровня АБК, накопление <i>L</i>-пролина, растворимых сахаров, увеличенная активность ферментов, связанных с ингибированием АФК.</p>
<p><i>ZmABI5</i> кукурузы (кодирует TF bZIP-семейства) <i>Промотор:</i> конститутивный CaMV 35S</p>	<p style="text-align: center;"><i>Табак</i> [54]</p> <p>Экспрессия гена <i>ZmABI5</i> кукурузы индуцировалась АБК, салициловой кислотой, засолением, повышенными и пониженными температурами, ранением, маннитолом.</p> <p>В промоторе гена <i>ZmABI5</i> содержатся <i>cis</i>-элементы — DRE, ABRE, MYBRS, MYCRS.</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого- биохимическая характеристики)
	<p>Трансгенные растения табака показывали стрессчувствительные фенотипы к водному дефициту, засолению, экстремальным температурам.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>ZmABI5</i> приводила к изменению уровня транскрипции гена <i>PR5</i>, содержащего GCC-боксы, а также генов <i>CAT1</i>, <i>APX</i>, <i>NtERD10 A, B, C, D</i> (DRE/CRT-генов).</p> <p>По сравнению с контролем в трансгенных растениях содержание малондиальдегида было выше, а <i>L</i>-пролина — ниже.</p> <p>TF кукурузы <i>ZmABI5</i> рассматривается как отрицательный регулятор.</p>
<p><i>OsbZIP16</i> риса (кодирует TF bZIP-семейства) Промотор: конститутивный <i>Actin1</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Puc</i> [3]</p> <p>Повышенная устойчивость <i>Actin1::OsbZIP16</i>-растений риса к водному дефициту на стадиях прорастания и кущения.</p> <p>Уровень устойчивости трансгенных линий риса, конститутивно сверхэкспрессирующих ген <i>OsbZIP16</i> под контролем промотора своего собственного гена <i>Actin1</i>, позитивно коррелировал с уровнем экспрессии этого гена.</p> <p>Повышенная чувствительность проростков (<i>Actin1::OsbZIP16</i>) к АБК.</p> <p>В области промотора гена <i>Actin1</i> находится ряд <i>cis</i>-элементов — ABRE, DRE, LTRE, MYBRS, MYCRS, CRT — предполагаемых сайтов связывания разных TFs.</p> <p>В условиях стресса показано существенное повышение экспрессии стрессиндуцибельных структурных генов <i>LEA7</i>, <i>RAB21</i>, <i>RAB16D</i>.</p> <p>При дегидратации установлено, что сверхэкспрессия <i>OsbZIP16</i> в трансгенных растениях приводила к дифференциальной транскрипции более 1200 генов, в том числе связанных с метаболизмом, локализацией и транспортом липидов.</p> <p>Предположено, что <i>OsbZIP16</i> является позитивным регулятором транскрипции.</p>
<p><i>OsbZIP23</i> риса (кодирует TF bZIP-семейства AREB/ABF)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Puc</i> [49]</p> <p>Экспрессия гена риса <i>OsbZIP23</i> с высоким уровнем осуществляется в ответ на водный дефицит, засоление, обработку АБК.</p> <p>Повышенная устойчивость трансгенных растений риса к осмотическим стрессам.</p> <p>В трансгенных растениях риса, сверхэкспрессирующих <i>OsbZIP23</i>, индуцируется транскрипция сотен генов, функция половины которых была связана с реакцией на стресс или с повышением уровня толерантности растений.</p>
<p><i>ZmbZIP72</i> кукурузы (кодирует TF bZIP-семейства) Промотор: конститутивный 35S</p>	<p style="text-align: center;"><i>Арабидопсис</i> [57]</p> <p>Ген <i>ZmbZIP72</i> представлен в геноме кукурузы одной копией (содержит 3 интрона), дифференциально экспрессируется в различных вегетативных органах. В проростках индуцируется водным дефицитом, засолением, АБК.</p> <p>Повышенная устойчивость 35S::<i>ZmbZIP72</i>-растений арабидопсиса к водному дефициту и засолению (с более низким уровнем).</p> <p>Сверхэкспрессия гена <i>ZmbZIP72</i> в растениях арабидопсиса повышала уровень экспрессии АБК-индуцибельных генов <i>RAB18</i>, <i>HIS1-3</i>.</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого- биохимическая характеристики)
<p><i>OsbZIP46</i> риса (кодирует TF 3-го субсемейства bZIP-семейства) <i>Промотор:</i> конститутивный Ubi кукурузы</p>	<p>Повышенное содержание <i>L</i>-пролина, снижение выхода электролитов и потери воды в листьях.</p> <p>Рассматривается как транскрипционный активатор. Для активности трансактивации необходима последовательность аминокислот (23—63) в N-терминальной области.</p> <p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [45]</p> <p>Экспрессия гена <i>OsbZIP46</i> риса с высоким уровнем индуцируется водным дефицитом, обработкой АБК, повышенными температурами, пероксидом водорода, но не холодным или солевым стрессом.</p> <p><i>OsbZIP46</i> весьма гомологичен TFs ABI5 и <i>OsbZIP23</i>, положительно регулирующих стресстолерантность трансгенных растений соответственно арабидопсиса и риса.</p> <p>Сверхэкспрессия <i>OsbZIP46</i> в трансгенных растениях риса увеличивала чувствительность к АБК, не оказывая позитивного эффекта на толерантность к водному дефициту.</p> <p>TF <i>OsbZIP46</i> может взаимодействовать с гомологами белков протеинкиназ SnRK2.</p> <p>Создана функциональная форма TF <i>OsbZIP46</i> (<i>OsbZIP46CA1</i>) за счет делеции домена D в его промоторе, оказывающем отрицательный эффект на активацию гена.</p> <p>Конститутивная сверхэкспрессия гена <i>OsbZIP46CA1</i> существенно повышала толерантность к осмотическим стрессам и приводила к экспрессии многих генов, продукты которых связаны со стрессустойчивостью.</p> <p>Предположено, что положительная регуляция толерантности к водному дефициту с участием TF <i>OsbZIP46</i> осуществляется при участии его функциональной формы <i>OsbZIP46CA1</i>. Рекомендовано использование гена <i>OsbZIP46CA1</i> для создания трансгенных растений, устойчивых к осмотическим стрессам.</p>
<p><i>OsbZIP72</i> риса (кодирует TF bZIP-семейства) <i>Промотор:</i> конститутивный <i>CaMV 35S</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [23]</p> <p>Повышенная устойчивость трансгенных растений риса к водному дефициту.</p> <p>В проростках трансформантов, конститутивно сверхэкспрессирующих <i>OsbZIP72</i>, наблюдалась гиперчувствительность к АБК. В них повышался уровень экспрессии генов, в частности <i>LEAs</i>.</p> <p>Замедление прорастания семян трансгенных растений.</p> <p>Предположено участие этого гена в АБК-сигналинге на ранних этапах онтогенеза.</p> <p><i>OsbZIP72</i> рассматривается как положительный регулятор и может использоваться для получения трансгенных растений с повышенным уровнем устойчивости к водному дефициту.</p>
<p><i>OsbZIP52/RISBZ5</i> риса (кодирует TF bZIP-семейства)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Рис</i> [21]</p> <p>Экспрессия гена <i>OsbZIP52</i> риса индуцируется пониженными температурами (4°C), но не водным дефицитом, засолением или АБК.</p> <p>Трансгенные растения риса, сверхэкспрессирующие ген <i>OsbZIP52</i>, показывали значительную чувствительность к холоду и засолению.</p>

Источник гена	Трансгенное растение (фенотип, молекулярно-генетическая и физиолого-биохимическая характеристики)
	<p>Ген <i>OsZIP52</i> индуцировал транскрипцию генов <i>OsLEA3</i>, <i>OsTPP1</i>, <i>Rab25</i>, β-<i>gal</i>, <i>LOC_Os05g11910</i>, <i>LOC_Os05g39250</i>.</p> <p>TF <i>OsZIP52</i> способен формировать гомодимерный комплекс.</p> <p>Предполагается, что <i>OsZIP52/RISBZ5</i> функционирует как отрицательный регулятор в условиях водного дефицита и холодового стресса.</p>
<p><i>ABF3</i> и <i>CBF3/DREB1A</i> (<i>CBF3</i>) арабидопсиса (кодируют TFs AREB- и DREB- семейств)</p>	<p style="text-align: center;"><i>Pis</i>, <i>арабидопсис</i> [32]</p> <p>Гены арабидопсиса <i>ABF3</i> и <i>CBF3/DREB1A</i> (<i>CBF3</i>) являются компонентами АБК-зависимых и АБК-независимых путей, индуцируемых в ответ на абиотические стрессы.</p> <p>В трансгенных растениях риса, конститутивно сверхэкспрессирующих <i>ABF3</i>, повышался уровень устойчивости к водному дефициту, тогда как <i>CBF3</i>-растениях — к водному дефициту и засолению. При использовании этих конструкций наблюдался низкий уровень толерантности к пониженным температурам.</p> <p>Для трансгенных растений арабидопсиса была характерна повышенная толерантность к пониженным температурам.</p> <p>В трансгенных растениях риса негативного влияния на рост и видимых фенотипических изменений не наблюдалось, а в трансгенных растениях арабидопсиса происходило замедление роста.</p>
<p><i>OsZIP60</i> риса (кодирует TF риса <i>bZIP</i>-семейства) <i>Промотор</i>: конститутивный <i>CaMV35S</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>Pis</i> [51]</p> <p>Ген <i>OsZIP60</i> конститутивно экспрессируется в растениях риса (максимальный уровень наблюдается в листьях).</p> <p>Повышенная устойчивость трансгенных растений риса, сверхэкспрессирующих свой собственный ген <i>OsZIP60</i>, к водному дефициту и к тепловому стрессу.</p> <p>Пониженная потеря воды в листьях.</p>

инженерии, анализа физиологических и биохимических показателей, могут рассматриваться как положительные или отрицательные регуляторы генов AREB-регулонов. Такие исследования позволяют проводить скрининг генов — возможных кандидатов при разработке биотехнологий по повышению уровня устойчивости культурных растений к осмотическим стрессам и экстремальным температурам.

Значительную гомологию с членами семейства AREB2/ABF4 арабидопсиса показывает, в частности, TRAB1 (Transcription Factor Responsible for ABA Regulation1) риса. Этот транскрипционный фактор быстро фосфорилируется в ответ на АБК. Считается, что он принимает участие в регуляции экспрессии генов, однако его роль в стрессустойчивости еще непонятна. Установлено, что среди исследованных транскрипционных факторов риса *OsZIP16*, *OsZIP72*, *OsZIP46* рассматриваются как положительные регуляторы, тогда как TRAB1 и *OsABI5* считаются отрицательными регуляторами [3, 24, 49, 62].

Что касается *OsABI5*, который связывается с ABRE в промоторах генов-мишеней, то его сверхэкспрессия под конститутивным 35S-про-

мотором в трансгенных растениях риса вызывала гиперчувствительность к АБК и солевому стрессу, а его репрессия способствовала повышению уровня стресстолерантности, однако приводила к снижению фертильности [62]. Анализ гена *ZmABI5* кукурузы, являющегося гомологом АВА-нечувствительного (*ABI*) 5 гена арабидопсиса, в трансгенных растениях табака тоже показал, что он функционирует как отрицательный регулятор, поскольку его экспрессия приводила к повышению чувствительности табака к водному дефициту, засолению, экстремальным температурам (повышенным и пониженным) [54]. В промоторной области гена *ZmABI5* помимо ABRE содержатся также другие *cis*-действующие элементы — DRE, MYBRS и MYCRS. Отметим также, что транскрипционный фактор риса ABI5-Like1 (ABL1), вовлеченный в пути передачи сигналов при участии АБК, расположен в ядре и напрямую взаимодействует с G-боксом ABREs, в частности генов WRKY-семейства транскрипционных факторов [56]. То есть, в ответ на стресс расширяется спектр TFs других семейств, которые могут запускать экспрессию разных структурных генов, связанных со стрессустойчивостью.

В отличие от других активаторов транскрипции положительным регулятором АБК-сигналинга и толерантности растений риса к водному дефициту является модифицированная форма TF OsbZIP46, а именно OsbZIP46CA1, в котором удален домен D, негативно влияющий на образование активной формы белка. При этом определенную роль играет и фосфорилирование аминокислотных последовательностей белка [45]. Именно эта форма рекомендована авторами для разработки молекулярных технологий по повышению устойчивости риса к водному дефициту.

Кроме того, имеются сведения о том, что транскрипционные факторы AREB могут принимать участие не только в повышении устойчивости к абиотическим, но и к биотическим стрессам. Так, трансгенные растения томатов, сверхэкспрессирующие гены, кодирующие транскрипционные факторы томата SlAREB1 и SlAREB2, были толерантными к водному дефициту, засолению. При этом TF SlAREB1 регулировал уровень транскрипции генов, связанных как с абиотическими, так и биотическими стрессами [34].

Анализ уровня экспрессии генов ряда трансгенных растений показал, что сверхэкспрессия генов, кодирующих как гомо-, так и гетерогенные транскрипционные факторы AREB/ABF-субсемейства, может приводить к индукции транскрипции структурных генов, продукты которых имеют отношение к повышению уровня толерантности растений. В частности генов, контролирующих метаболизм L-пролина, сахаров, липидного обмена, а также генов антиоксидантных ферментов, дегидринов, LEAs. К их числу относятся, например, стрессиндуцибельные гены (*RAB18*, *RAB21*, *AtRD29A*, *AtCOR47*), которые обычно используются как маркерные гены, активируемые транскрипционными факторами AREBs в ответ на действие АБК и водный дефицит. Транскриптомный анализ показал, что может изменяться экспрессия до 1,5–2,0 тыс. генов (см. табл. 2).

Отметим, что экспрессия трансгенов, кодирующих транскрипционные факторы, может приводить не только к повышению уровня устойчивости к водному дефициту, засолению в период вегетативного роста, но и к увеличению урожая семенного поколения трансгенных растений

в условиях стресса по сравнению с контролем. Это было продемонстрировано, в частности, на примере трансгенных растений риса [31]. При этом, несмотря на использование своего собственного гена *AP37*, функционирующего под промотором конститутивно экспрессирующего гена *OsCscI*, отклонений от процессов роста не наблюдалось. Наряду с этим применение другого гена — *AP59*, наоборот, приводило к снижению урожая в полевых условиях в норме и при водном дефиците.

В целом функциональный анализ ряда генов, кодирующих транскрипционные факторы, показал, что они могут быть использованы при создании трансгенных линий разных видов (однодольных и двудольных). Особый интерес вызывают те из них, функционирование которых оказывает позитивное влияние на процессы комплексной устойчивости растений к различным абиотическим факторам, не оказывая негативного влияния на рост и урожайность, однако сведения по этому вопросу ограничены. Проведенные исследования показали, что возможен также поиск генов транскрипционных факторов, задействованных в перекрестных путях передачи сигналов, связанных с рядом абиотических и биотических стрессоров. Вместе с тем следует отметить, что среди проанализированных на сегодня генов TFs bZIP-семейства недостаточно изучен вопрос об их влиянии на физиолого-биохимические показатели трансгенных растений.

Что касается перспективности использования регуляторных генов AREB-субсемейства для повышения осмотолерантности злаковых, то для пшеницы можно отметить ген *GmbZIP1* солетолерантной формы сои; для риса — его собственный ген *AP37*, сверхэкспрессия которого приводила не только к значительному повышению устойчивости к водному дефициту, но и урожайности в условиях стресса без отклонений в процессах роста в нормальных условиях культивирования, *EDT1/HDG11* арабидопсиса, а также гены риса *OsbZIP72* и модифицированный *OsbZIP46CA1*. Для кукурузы, ячменя экспериментальные данные ограничены.

В целом представленные данные свидетельствуют о перспективности разработки биотехнологий по повышению уровня устойчивости культурных злаков к осмотическим стрессам с использованием ряда генов транскрипционных факторов *DREB1/CBF*- и *DREB2*-типов, а также *AREB/ABF*. Среди них особый интерес представляют гены, функционирование которых не вызывает отклонения от нормы по показателям роста и продуктивности в нестрессовых условиях культивирования.

1. Al-Abed D., Parani M., Reddy T. et al. Genetic Engineering of Maize with the *Arabidopsis DREB1A/CBF3* Gene Using Split-Seed Explants // Crop Sci. — 2007. — 47. — P. 2390—2402.
2. Badawi M., Danyluk J., Boucho B. et al. The *CBF* gene family in hexaploid wheat and its relationship to the phylogenetic complexity of cereal *CBFs* // Mol. Gen. Genomics. — 2007. — 277. — P. 533—554.
3. Chen H., Wei Chen, Zhou J. et al. Basic leucine zipper transcription factor *OsbZIP16* positively regulates drought resistance in rice // Plant Sci. — 2012. — 193. — P. 8—17.
4. Chen J.-Q., Meng X.-P., Zhang Y. et al. Over-expression of *OsDREB* genes lead to enhanced drought tolerance in rice // Biotechnol. Lett. — 2008. — 30. — P. 2191—2198.
5. Chen M., Xu Z., Xia L. et al. Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, *GmDREB3*, in soybean (*Glycine max* L.) // J. Exp. Bot. — 2009. — 6. — P. 1—15.

6. Dubouzet J.G., Sakuma Y., Ito Y. et al. OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt — and cold-responsive gene expression // *Plant J.* — 2003. — **33**. — P. 751–763.
7. 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 // *Gen. Genet. Syst.* — 2006. — **81**, N 2. — P. 77–91.
8. Fujita Y., Fujita M., Satoh R. et al. AREB1 is a transcription activator of novel ABRE dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* — 2005. — **17**. — P. 3470–3488.
9. Fujita Y., Fujita M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants // *J. Plant Res.* — 2011. — **124**. — P. 509–525.
10. Gao S.-Q., Chen M., Xia L.-Q. et al. A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE-binding transcription factor gene, GhDREB, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat // *Plant Cell Rep.* — 2009 — **28**. — P. 301–311.
11. Gao S.Q., Chen M., Xu Z.S. et al. The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants // *Plant Mol. Biol.* — 2011. — **75**, N 6. — P. 537–53.
12. Gao S., Xu H., Chen G. X. et al. Improvement of wheat drought and salt tolerance by expression of a stress inducible transcription factor *GmDREB* of soybean (*Glycine max*) // *Chin. Sci. Bull.* — 2005. — **50**, N 23. — P. 2714–2723.
13. Gutha L. R., Reddy A. R. Rice *DREB1B* promoter shows distinct stress-specific responses, and the overexpression of cDNA in tobacco confers improved abiotic and biotic stress tolerance // *Plant Mol. Biol.* — 2008. — **68**, N 6. — P. 533–555.
14. Hanson J., Hanssen M., Wiese A. et al. The sucrose regulated transcription factor bZIP11 affects aminoacid metabolism by regulating the expression of *asparagine synthetase1* and *proline dehydrogenase 2* // *Plant J.* — 2008. — **5**, N 3. — P. 935–949.
15. Ito Y., Kutsura K., Maruyama K. et al. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice // *Plant Cell Physiol.* — 2006. — **47**, N 1. — P. 141–153.
16. Kim S.Y. The role of ABF family bZIP class transcription factors in stress response // *Physiol. Plant.* — 2006. — **126**. — P. 519–527.
17. Kizis D., Pages M. Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab17 regulation through the drought-responsive element in an ABA-dependent pathway // *Plant J.* — 2002. — **30**, N 6. — P. 679–689.
18. Kobayashi F., Maeta E., Terashima A. et al. Development of abiotic stress tolerance via bZIP-type transcription factor LIP19 in common wheat // *J. Exp. Bot.* — 2008B. — **59**, N 4. — P. 891–905.
19. Kobayashi F., Maeta E., Terashima A., Takumi S. Positive role of a wheat HvAB15 ortholog in abiotic stress response of seedlings // *Physiol. Plant.* — 2008 A. — **134**, N 1. — P. 74–86.
20. Lee S.J., Park J.H., Lee M.H. et al. Isolation and functional characterization of CE1 binding proteins // *BMC Plant Biol.* — 2010. — Dec 16;10:277. — doi: 10.1186/1471-2229-10-277.
21. Liu C., Wu Y., Wang X. bZIP-transcription factor OsbZIP52/RISBZ5: a potential negative regulator of cold and drought stress response in rice // *Planta.* — 2012. — **235**, N 6. — P. 1157–1169.
22. Liu Q., Kasuga M., Sahana Y. et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought and low gene expression, respectively, in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* — 1998. — **10**. — P. 1391–1406
23. Lu G., Gao C., Zheng X., Han B. Identification of OsbZIP72 as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice // *Planta.* — 2009. — **229**. — P. 605–615.
24. Ma H., Cho J.I., Han M. et al. The ABRE-binding bZIP transcription factor OsABF2 is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice // *J. Plant Physiol.* — 2010. — **15**. — P. 1512–1520.
25. Matsukura S., Mizoi J., Yoshida T. et al. Comprehensive analysis of rice DREB2-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes // *Mol. Gen. Genomics.* — 2010. — **283**, N 2. — P. 185–196.
26. Mizoi J., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — **1819**. — P. 86–96.

27. *Morran S., Eini O., Pyvovarenko T. et al.* Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors // *Plant Biotechnol. J.* — 2011. — **9**, N 2. — P. 230–249.
28. *Movahedi S., Sayed B. E., Tabatabaei, H. et al.* Constitutive expression of *Arabidopsis DREB1B* in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance // *Biol. Plant.* — 2012. — **56**, N 1. — P. 37–42.
29. *Nakashima K., Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K.* Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stress in *Arabidopsis* and grasses // *Plant Physiol.* — 2009. — **149**. — P. 88–95.
30. *Niu X., Helentjaris T., Bate N.J.* Maize ABI4 binds coupling element1 in abscisic acid and sugar response genes // *Plant Cell.* — 2002. — **14**. — P. 2565–2575.
31. *Oh S.-J., Kim Y. S., Kwon C.-W. et al.* Overexpression of the transcription factor AP37 in rice improves grain yield under drought conditions // *Plant Physiol.* — 2009. — **150**. — P. 1368–1379.
32. *Oh S.J., Song S.I., Kim Y.S. et al.* *Arabidopsis* CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth // *Plant Physiol.* — 2005. — **138**. — P. 341–351.
33. *Oh Se-Jun, Kwon Chang-Woo, Choi Dong-Woog, Kim Ju-Kon.* Expression of barley HvCBF4 enhances tolerance to abiotic stress in transgenic rice // *Plant Biotechnol. J.* — 2007. — **5**. — P. 646–656.
34. *Orellana S., Yanez M., Espinoza A. et al.* The transcription factor SIAREB1 confers drought, salt stress tolerance and regulates biotic and abiotic stress-related genes in tomato // *Plant Cell Environ.* — 2010. — **33**, N 12. — P. 2191–208.
35. *Pellegrineschi A., Reynolds M., Pacheco M. et al.* Stress-induced expression in wheat of the *Arabidopsis thaliana* DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions // *Genome.* — 2004. — **47**. — P. 493–500.
36. *Qin F., Kakimoto M., Sakuma Y. et al.* Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. // *Plant J.* — 2007. — **50**. — P. 54–69.
37. *Qin F., Sakuma Y., Li J. et al.* Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in *Zea mays* L. // *Plant Cell Physiol.* — 2004. — **45**, N 8. — P. 1042–1052.
38. *Sakuma Y., Liu Q., Dubouzet J.G. et al.* DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration — and cold inducible gene expression // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2002. — **290**. — P. 998–1009.
39. *Sakuma Y., Maruyama K., Osakabe K. et al.* Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor, DREB2A, involved in drought responsive gene expression // *Plant Cell.* — 2006. — **18**. — P. 1292–1309.
40. *Savitch L.V., Allard G., Seki M. et al.* The effect of overexpression of two *Brassica* CBF/DREB1-like transcription factors on photosynthetic capacity and freezing tolerance in *Brassica napus* // *Plant Cell Physiol.* — 2005. — **46**, N 9. — P. 1525–1539.
41. *Sazegari S., Niazi A.* Isolation and molecular characterization of wheat (*Triticum aestivum*) Dehydration Responsive Element Binding Factor (DREB) isoforms // *AJCS.* — 2012. — **6**, N 6. — P. 1037–1044.
42. *Shen Q., Casaretto J.A., Zhang P., Ho T.-H. D.* Functional definition of ABA-response complexes: the promoter units necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Plant Mol. Biol.* — 2004. — **54**, N 1. — P. 111–124.
43. *Shen Q., Zhang P., Ho T.H.* Modular nature of abscisic acid (ABA) response complexes: composite promoter units that are necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley // *Plant Cell.* — 1996. — **8**. — P. 1107–1119.
44. *Shen Y.G., Zhang W.K., He S.J. et al.* An EREBP/AP2 type protein in *Triticum aestivum* was a DRE-binding transcription factor induced by cold, dehydration and ABA stress // *Theor. and Appl. Genetics.* — 2003. — **106**. — P. 923–930.
45. *Tang N., Zhang H., Li X. et al.* Constitutive activation of transcription factor OsbZIP46 improves drought tolerance in rice // *Plant Physiol.* — 2012. — **158**. — P. 1755–1768.
46. *Todaka D., Nakashima K., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K.* Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice // *Rice.* — 2012. — 5:6 [http:// www.theicejournal.com/content/5/1/6](http://www.theicejournal.com/content/5/1/6)
47. *Wang Q., Guan Y., Wu Y. et al.* Overexpression of a rice OsDREB1F gene increases salt, drought, and low temperature tolerance in both *Arabidopsis* and rice // *Plant Mol. Biol.* — 2008. — **67**, N 6. — P. 589–602.

48. Wei K., Chen J., Wang Y. et al. Genome-wide analysis of bZIP-encoding genes in maize // DNA RESEARCH. — 2012. — **19**.— P. 463–476.
49. Xiang Y., Tang N., Du H. et al. Characterization of OsbZIP23 as a key player of the basic leucine zipper transcription factor family for conferring abscisic acid sensitivity and salinity and drought tolerance in rice // Plant Physiol. — 2008. — **148**, N 4. — P. 1938–1952.
50. Xu M., Li L., Fan Y., Wan J., Wang L. ZmCBF3 overexpression improves tolerance to abiotic stress in transgenic rice (*Oryza sativa*) without yield penalty // Plant Cell Rep. — 2011. — **30**(10). — P. 1949–1957.
51. Xu Yu, Xiang-Li Niu, Yang Sheng-Hui et al. Research on heat and drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by overexpressing transcription factor OsbZIP60 // China Agric. Sci. — 2011. — **44**, N 20. — P. 4142–4149.
52. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress // Plant Cell. — 1994. — **6**. — P. 251–264.
53. Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses // Annu. Rev. Plant Biol. — 2006. — **57**. — P. 781–803.
54. Yan F., Deng W., Wang X. et al. Maize (*Zea mays* L.) homologue of ABA-insensitive (ABI) 5 gene plays a negative regulatory role in abiotic stresses response // Plant Growth Regul. — 2012. — DOI 0.1007/s10725-012-9727-x
55. Yang S., Vanderbeld B., Wan J., Huang Y. Narrowing down the targets: Towards successful // Mol. Plant. — 2010. — **3**, N 3. — P. 469–490.
56. Yang X., Yang Y.N., Xue L.J. et al. Rice ABI5-Like1 regulates abscisic acid and auxin responses by affecting the expression of ABRE-containing genes // Plant Physiol. — 2011. — **156**, N 3. — P. 1397–1409.
57. Ying S., Zhang D.F., Fu J. et al. Cloning and characterization of a maize bZIP transcription factor, ZmbZIP72, confers drought and salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* // Planta. — 2012. — **235**, N 2. — P. 253–266.
58. Yoshida T., Fujita Y., Sayama H. et al. AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation // Plant J. — 2010. — **61**. — P. 672–685.
59. Yu L., Xi Chen, Zhen Wang et al. *Arabidopsis* EDT1/HDG11 confers drought tolerance in transgenic rice without yield penalty // Plant Physiol. — 2013. — **4**. — DOI:10.1104/pp.113.217596
60. Zhang S., Li N., Gao F. et al. Over-expression of *TsCBF1* gene confers improved drought tolerance in transgenic maize // Mol. Breed. — 2010. — **26**, N 3. — P. 455–465.
61. Zhou M.-L., Ma J.-T., Pang J.-F. et al. Regulation of plant stress response by dehydration responsive element binding (DREB) transcription factors // Afr. J. Biotechnol. — 2010. — **9**, N 54. — P. 9255–9279.
62. Zou M., Guan Y., Ren H. et al. A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance // Plant Mol. Biol. — 2008. — **66**, N 6. — P. 675–683.

Получено 09.09.2015

ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ З ПІДВИЩЕННЯ ОСМОТОЛЕРАНТНОСТІ
КУЛЬТУРНИХ ЗЛАКОВИХ РОСЛИН ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНІВ
ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ DREB ТА AREB/ABF

О.М. Тищенко, Б.В. Моргун

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

Розглянуто ефективність використання різноманітних ендегенних та екзогенних генів, що кодують транскрипційні фактори DREB і AREB/ABF, для підвищення рівня толерантності культурних злакових рослин із залученням молекулярних біотехнологій.

GENETIC ENGINEERING FOR OBTAINING OF OSMOTOLERANT TRANSGENIC PLANTS BY USING GENES WHICH CODE TRANSCRIPTIONAL FACTORS DREB AND AREB/ABF

O.M. Tishchenko, B.V. Morgun

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022 Ukraine

Abiotic stresses such as drought and salinity significantly influence plant growth and productivity worldwide. DREBs and AREB/ABF are important plant transcriptional factors that regulate the expression of many stress-inducible structural genes in an ABA-independent as well as ABA-dependent manner. The role and effectiveness of DREBs and AREB/ABF in the stress tolerance are under discuss.

Key words: DREB, AREB/ABF, transgenic plants, osmotolerance.