

ДНК-технологии в селекции растений

УДК 577.21

СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ГЕН *recA* *E. coli* ДЛЯ ИНДУКЦИИ РЕКОМБИНАЦИИ В РАСТЕНИЯХ*

Р.А. КОМАХИН, В.В. КОМАХИНА, А.А. ЖУЧЕНКО

На основе литературных данных и с использованием современных моделей механизмов рекомбинации у эукариот рассматривается возможность использования гена *recA* *E. coli*, белковый продукт которого участвует в рекомбинации *in vivo*, для индукции мейотической рекомбинации в растениях. С помощью современных молекулярно-биологических методов проведен анализ *in silico* и клонирование нуклеотидной последовательности гена *recA* *E. coli*, а также создан на его основе ряд химерных генов, в которых *recA* сливается в рамке считывания с последовательностью репортерного гена и сигнала ядерной локализации. Проведен комплексный молекулярно-биологический анализ экспрессии клонированных генов в бактериях и функциональный анализ свойств химерных белковых продуктов. На основании полученных данных созданы растительные экспрессионные векторы, содержащие нативные и химерные гены под контролем промотора 35S CaMV, и агробактериальные штаммы для трансформации растений.

Ключевые слова: рекомбинация, *recA*, сигнал ядерной локализации, экспрессия генов, химерные гены, мейоз.

Рекомбинация является фундаментальным процессом, который получил развитие у всех живых организмов про- и эукариотического происхождения. Само понятие «рекомбинация» включает очень широкий круг рекомбинационных явлений, разнообразных по своему происхождению, механизму действия, охвату рекомбинируемой ДНК и значению для жизнедеятельности отдельной клетки, ткани, организма, популяции и вида. В частности рекомбинационная изменчивость у всех организмов, в том числе у растений, базирующаяся на обмене целых хромосом, отдельных генов или нуклеотидов, обеспечивает образование преобладающей части адаптивно значимых генотипов в расщепляющихся поколениях. Именно за счет рекомбинаций образуются новые, включая трансгрессивные и интрогрессивные по хозяйственно ценным признакам и их сочетаниям, варианты (1). За счет рекомбинации мутационная изменчивость может быть преобразована в адаптивно значимые сочетания генов, сохраняемые в процессе естественного и искусственного отбора. Благодаря рекомбинации, главным образом мейотической, организмы обладают способностью адаптироваться к стохастически изменяющимся условиям окружающей среды. Следует отметить, что практически все сорта сельскохозяйственных растений и породы животных, а также значительная часть полезных штаммов микроорганизмов созданы с использованием рекомбинации. При этом основным инструментом создания адаптивного генетического разнообразия исходного материала является мейоз. Однако известно, что в профазе I мейоза распределение рекомбинационных событий между гомологичными/гомеологичными хромосомами носит неравномерный характер, сохраняя недоступные для кроссинговера зоны. Между тем включение в кроссоверный обмен вышеназванных «молчащих» участков повысит эффективность селекционных методов за счет увеличения/уменьшения частоты и спектра рекомбинации между сцепленными генами. Последнее особенно важно при интрогрессивной

* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ № 03-04-48878-а и № 06-04-08097-офи.

гибридизации, ставящей своей целью перенос отдельных генов хозяйственно ценных признаков из генома дикорастущих видов в геном культурных растений.

Начало изучению влияния внешних факторов на рекомбинацию было положено работами Plough (2) о зависимости частоты кроссинговера от температуры. В последующие десятилетия оценка изменения частоты рекомбинации в ответ на внешние воздействия (температура, различного рода излучения, химические вещества) оставалась едва ли не единственным подходом к изучению механизмов рекомбинации у высших организмов (1, 3, 4). Следует отметить, что работы по данному направлению являются актуальными в наши дни и проводятся с использованием современных молекулярно-биологических методов, а также вовлечением в скрещивания трансгенных организмов (5, 6).

В качестве эндогенных факторов, влияющих на частоту кроссинговера, обычно учитывают его особенности в макро- и микроспорогенезе гетерозигот, зависимость от месторасположения репродуктивных органов и др. Однако одним из перспективных, с нашей точки зрения, является подход, основанный на использовании для индукции рекомбинации чужеродных генов, белковые продукты которых участвуют в рекомбинации *in vivo*. Так, следуя логике одной из популярных в настоящее время молекулярных моделей рекомбинации у эукариот (репарации двуцепочечных разрывов ДНК) (7), резонно предположить, что изменить уровень и спектр кроссинговера можно путем целенаправленного воздействия на основные этапы данного процесса (например, на этап обмена цепями ДНК).

Наиболее хорошо изученным представителем семейства белков, катализирующих обмен цепями ДНК, является RecA *E. coli* (8). Гомологи данного белка были обнаружены как в бактериях и археях, так и в низших и высших эукариотах, включая растения (9, 10). Высокая степень гомологии аминокислотных последовательностей и сходство основных биохимических свойств белков данного семейства дают основание полагать, что процессы, которые они катализируют *in vivo*, так же сходны. Практически одновременно было предпринято несколько попыток повлиять на генетическую рекомбинацию в различных организмах с использованием бактериального белка RecA. Растения табака и митохондрии клеток млекопитающих, экспрессирующие ген *recA*, проявили рост устойчивости к химическим и физическим агентам, повреждающим ДНК, и увеличение внутрихромосомной рекомбинации; в клетках растений табака достоверно увеличивалось число сестринских хроматидных обменов (11-13). Экспрессия гена *recA*, слитого с сигналом ядерной локализации большого антигена Т вируса SV40, в клетках тератокарциномы мыши F9 продемонстрировала десятикратное увеличение частоты gene targeting (гомологичной рекомбинации) в локусе *hprt* (14).

Таким образом, предпринимаются попытки индуцировать частоту гомологичной рекомбинации в эукариотах за счет экспрессии гена *recA E. coli*. Однако ни в одной из проанализированных нами работ не оценивалось влияние гетерологичного гена и его белкового продукта на мейоз и частоту кроссинговера в потомстве гибридов растений. Очевидно, что для проведения подобных исследований необходимо создать удобный соответствующий инструмент, а именно растительные экспрессионные векторы для трансформации растений и, собственно, трансгенные растения, экспрессирующие ген *recA*. Основной целью представленной работы было создание генетических конструкций, содержащих ген *recA E. coli*, и изучение возможности их использования для индукции рекомбинации в растениях.

Методика. В работе использовали стандартные процедуры молекулярного клонирования (выделение плазмидной ДНК, обработка эндонуклеазами рестрикции и модификации плазмидной ДНК, лигирование, электрофоретическое разделение фрагментов плазмидной ДНК, элюирование фрагментов ДНК из агарозных гелей), которые проводились согласно методическим руководствам в протоколах фирм-изготовителей.

Последовательность гена *recA* *E. coli* была получена из GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Nucleotide&list_uids=42678&dopt=GenBank).

Модификацию нуклеотидных последовательностей генов и конструирование плазмид для экспрессии в клетках *E. coli* и растений проводили следующим образом. Последовательность гена *recA* получали с помощью ПЦР, используя праймеры: RecA(+) 5'-ggatccatggctatcgacgaaacaacagaaag-3' и RecA(-) 5'-agatctaaaaatcttcgtagttctgctacgc-3' («Синтол», Россия) и тотальную ДНК *E. coli* штамма BL21(DE3) в качестве матрицы. Полученный ПЦР-фрагмент клонировали в плазмиду pGEM-T Easy Vector («Promega», США) с образованием плазмиды pGEM-*recA*. Далее фрагмент *Bam*HI-*Bgl*II плазмиды pGEM-*recA* клонировали в плазмиду pQE-*lic*BM3, предварительно гидролизованную ферментами *Bam*HI и *Bgl*II, с образованием плазмиды pQE-*recA* и в сайт *Bam*HI плазмиды pQE-*lic*BM3 с образованием pQE-*recA-lic*BM3.

Для направления гетерологичных белковых продуктов (RecA и RecA-*lic*BM3) в ядро растительной клетки гены *recA* и *recA-lic*BM3 были слиты в рамке считывания с последовательностью ДНК, кодирующей лидерный сигнал (пептид) ядерной локализации — NLS (5'-ggatccssccsaagaagaagagaagggtgaagatagatct-3'). Для этого *Bam*HI-*Bgl*II фрагменты плазмид pQE-*recA* и pQE-*recA-lic*BM3 были клонированы в плазмиду pGEM-NLS, предварительно гидролизованную по сайту *Bgl*II, с образованием плазмид pGEM-NLS-*recA* и pGEM-NLS-*recA-lic*BM3. Далее *Bam*HI-*Bgl*II-фрагменты полученных плазмид клонировали в плазмиду pQE-*lic*BM3, предварительно гидролизованную ферментами *Bam*HI и *Bgl*II, с образованием плазмид pQE-NLS-*recA* и pQE-NLS-*recA-lic*BM3.

Получение плазмид для экспрессии в клетках растений p35S-*recA*, p35S-*recA-lic*BM3, p35S-NLS-*recA* и p35S-NLS-*recA-lic*BM3, в которых экспрессия целевых генов контролируется сильным конститутивным промотором 35S CaMV, проводили по следующей схеме. Фрагменты *Bam*HI-*Xba*I плазмид pQE-*recA*, pQE-*recA-lic*BM3, pQE-NLS-*recA* и pQE-NLS-*recA-lic*BM3 клонировали в плазмиду p35S-*lic*BM2 (получена в лаборатории функциональной геномики ИОГен РАН, зав. лаб. проф. Э.С. Пирузян), предварительно гидролизованную ферментами *Bam*HI и *Xba*I, с образованием плазмид p35S-*recA*, p35S-*recA-lic*BM3, p35S-NLS-*recA* и p35S-NLS-*recA-lic*BM3.

Определение активности лихеназы с помощью энзимограмм и чашечного теста проводилось согласно (15).

Анализ последовательности гена *recA* проводился с использованием программ GENSCAN (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>) и GENART (<http://gcua.de/>).

Использованные бактериальные штаммы: *E. coli* XL1-Blue («Stratagene», США) и BL21(DE3) («Novagene», США), *Agrobacterium tumefaciens* AGL0.

Результаты. Эффективность экспрессии гетерологичных генов в клетках растений-реципиентов зависит от многих факторов. Как минимум, необходимыми условиями успешной реализации гетерологичной генетической информации является соответствие частот использования ко-

донов гетерологичного гена и организма-реципиента (16), а также отсутствие в нуклеотидных последовательностях гетерологичных генов областей, которые могут быть узнаны клеточными компонентами организма-реципиента как интроны (17). Проведение такого анализа (*in silico*) является важным, поскольку позволит установить, нуждается ли нуклеотидная последовательность гена в модификациях для эффективной экспрессии в клетках растений томата.

Сравнительный анализ кодонового состава (относительная адаптивная ценность кодонов) гена *recA E. coli*, проведенный с использованием программы GENART, позволил заключить, что нуклеотидная последовательность данного гена не содержит редкие кодоны и, следовательно, не будет происходить преждевременная терминация трансляции транскрипта гена *recA* в клетках растений томата *Solanum lycopersicum*. Помимо этого, анализ транскрипта гена *recA E. coli* с помощью программы GENSCAN не выявил в его последовательности возможных областей для альтернативного сплайсинга в клетках растений.

Таким образом, проведенный *in silico* анализ нуклеотидной последовательности *recA E. coli* позволил сделать заключение, что нет видимых ограничений и не требуется дополнительных модификаций гена *recA* для эффективной экспрессии в клетках растений томата, и перейти к непосредственному этапу получения экспрессионных векторов.

В соответствии с выбранной схемой клонирования был клонирован нативный ген *recA E. coli*. Однако белок, который кодирует данный ген, не обладает специфическими ферментативными активностями или свойствами, за счет которых он легко может быть идентифицирован из совокупности белков гетерологичного организма (растения или бактерии). Поэтому, для облегчения его идентификации в гетерологичном организме, нуклеотидная последовательность гена *recA* была слита в рамке считывания с последовательностью репортерного гена термостабильной лихеназы (разработан в лаборатории функциональной геномики ИОГен РАН под руководством проф. Э.С. Пирузян), с образованием гибридного гена *recA-licBM3*.

Следует также отметить, что присутствие ядерной оболочки в клетках растений может быть препятствием для выполнения гетерологичными белками RecA и RecA-LicBM3 своей роли, поскольку известно, что небольшие белки (до 50 кДа) транспортируются в ядро и из него без сигналов практически свободно. Для белков с молекулярной массой более 50 кДа это проблематично (теоретически рассчитанная молекулярная масса белка RecA-LicBM3 составляет 65 кДа). Обычно для того, чтобы преодолеть это затруднение, гетерологичные белки с N- или C-конца сливают в рамке считывания с последовательностью лидерного пептида (сигнала), который направляет синтезирующийся белок в соответствующий компартмент (ядро) клетки. Поэтому на основании литературных данных и с учетом частоты использования кодонов в клетках растений томата (базы данных GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/> и Codon Usage Database <http://www.kazusa.or.jp/codon/>) нами была разработана последовательность нуклеотидов, кодирующая лидерный сигнал ядерной локализации — NLS. Созданная последовательность лидерного сигнала была слита в рамке считывания с 5'-концом генов *recA* и *recA-licBM3*.

Прежде чем использовать клонированные гены (*recA*, *recA-licBM3*, NLS-*recA* и NLS-*recA-licBM3*) непосредственно для создания растительных экспрессионных векторов, необходимо было быстро проверить возможность экспрессии химерных генов (*recA-licBM3*, NLS-*recA* и NLS-

recA-licBM3) и функциональные свойства RecA и LicBM3 в составе химерных белков. Поэтому гены *recA*, *recA-licBM3*, *NLS-recA* и *NLS-recA-licBM3* были сначала клонированы в экспрессионные бактериальные векторы системы pQE. Полученными плазмидами были трансформированы клетки бактерий *E. coli* XL1-Blue. Бактериальные трансформанты, экспрессирующие химерные гены, были отобраны на соответствующих селективных средах.

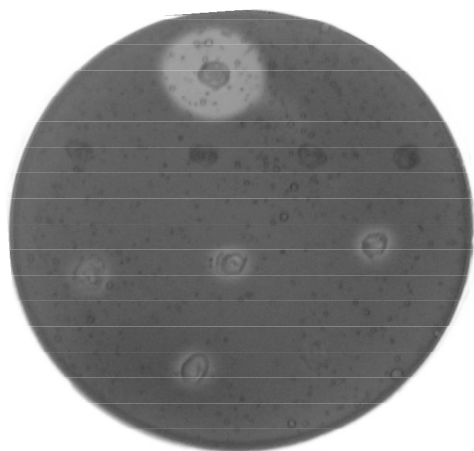


Рис. 1. Чашечный тест бактериальных трансформантов *E. coli* XL1-Blue: 1 — колония, экспрессирующая ген *licBM3*; 2, 3 — колонии, экспрессирующие ген *recA*; 4, 5 — колонии, экспрессирующие ген *NLS-recA*; 6, 7 — колонии, экспрессирующие ген *recA-licBM3*; 8, 9 — колонии, экспрессирующие ген *NLS-recA-licBM3*.

Первоначально экспрессия всех клонированных генов была проанализирована методом чашечного теста (по активности лихеназы) (рис. 1).

Как видно из рисунка 1 (просветленные пятна активности вокруг колоний), лихеназная активность выявлена только у трансформантов, несущих репортерный ген лихеназы (№ 1) или гибридные гены (№ 6-9), в состав которых входит лихеназа.

Для изучения влияния NLS на экспрессию генов *NLS-recA* и *NLS-recA-licBM3* была проведена ИПТГ-индукция и бактериальные белковые лизаты проанализированы методом электрофореза в ПААГе (рис. 2).

Как видно из представленных результатов, в бактериальных трансформантах происходит образование белковых продуктов с молекулярными массами, которые соответствуют теоретически рассчитанным, а именно: белок RecA имеет массу около 39 кДа, белок NLS-RecA — около 41 кДа, гибридный белок RecA-LicBM3 — 65 кДа и белок NLS-RecA-LicBM3 — около 67 кДа, LicBM3 — 25-26 кДа. Теоретически рассчитанная молекулярная масса NLS — 1,6 кДа.

Методом энзимогрaмм было показано, что лихеназа в составе гибридных белков сохраняет свои свойства, а именно термостабильность и активность (рис. 2, просветленные пятна активности на энзимограмме на месте гибридных белков).

Однако присутствие NLS в составе белков NLS-RecA и NLS-RecA-LicBM3 отражается на количественной стороне их экспрессии. Так, на рисунке 2 доля (от суммарного белка) целевых белков NLS-RecA (дорожка

3) и NLS- RecA-LicBM3 (дорожка 5) меньше, чем соответствующих белков RecA и RecA-LicBM3 (дорожки 2 и 4), то есть наличие NLS приводит к уменьшению уровня экспрессии целевых генов в клетках бактерий *E. coli*.

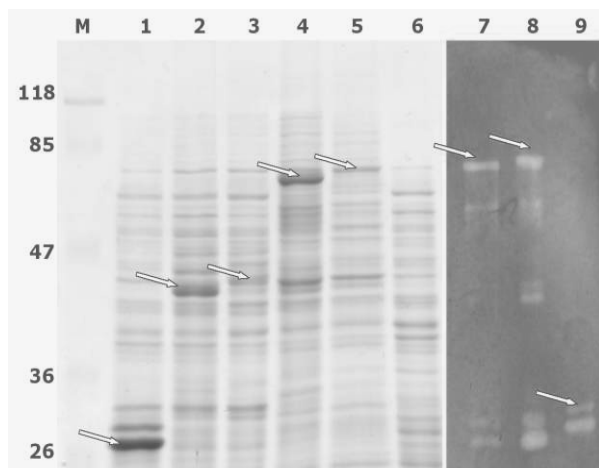


Рис. 2. Электрофореграмма (дорожки М, 1, 2, 3, 4, 5, 6) и энзимогамма (дорожки 7, 8, 9) бактериальных белковых лизатов: М — маркер молекулярных масс; 1, 9 — LicBM3; 2 — RecA; 3 - NLS-RecA; 4 — RecA-LicBM3; 5 — NLS-RecA-LicBM3; 6 — контроль; 7 — RecA-LicBM3; 8 — NLS-RecA-LicBM3. Стрелками показано положение соответствующих белковых продуктов.

Возможно, данный эффект является результатом «несоответствия» кодового состава NLS для клеток бактерий, поскольку он был оптимизирован для клеток томата. Проведенный анализ частоты использования кодонов последовательности NLS в *E. coli* позволил установить, что кодон AGA аминокислоты аргинина (R) относительно редко (в 5 % случаев) используется в клетках бактерий. Можно предположить, что, находясь в начале химерных генов NLS-*recA* и NLS-*recA-licBM3*, этот редкий для *E. coli* кодон может приводить к задержке, а возможно и к абортации трансляции белка.

Для того чтобы проверить, сохраняются ли свойства белка RecA в составе гибридного белка RecA-LicBM3, была определена способность нативного, мутантного и гибридных белков связываться с одноцепочечной ДНК и предохранять ее от расщепления нуклеазой S1 (15). Полученные результаты свидетельствовали о том, что только нативный RecA и гибридный RecA-LicBM3 белки способны связываться с оц-ДНК и предохранять ее от действия нуклеазы S1.

p35S- <i>recA</i> :		35S CaMV	<i>recA</i>	pA	
p35S- <i>recA-licBM3</i> :		35S CaMV	<i>recA</i>	<i>licBM3</i>	pA
p35S-NLS- <i>recA</i> :	NLS	35S CaMV	<i>recA</i>	pA	
p35S-NLS- <i>recA-licBM3</i> :	NLS	35S CaMV	<i>recA</i>	<i>licBM3</i>	pA

Рис. 3. Схемы экспрессионных векторов для трансформации растений: p35S-*recA*, p35S-*recA-licBM3*, p35S-NLS-*recA* и p35S-NLS-*recA-licBM3* — обозначения экспрессионных векторов; *recA* и *licBM3* — последовательности генов *recA* *E. coli* и термостабильной лихеназы; 35S — промотор 35S РНК вируса мозаики цветной капусты; NLS — последовательность, кодирующая лидерный сигнал (пептид транспорта в ядро; pA — область полиаденилирования.

Проведенные эксперименты позволили реализовать заключительный этап данной работы, а именно сконструировать растительные экспрессион-

ные векторы (рис. 3), содержащие гены *recA*, *recA-licBM3*, *NLS-recA* и *NLS-recA-licBM3* под контролем промотора 35S, и на их основе создать агробактериальные штаммы для трансформации растений.

Таким образом, комплексный *in silico* анализ нуклеотидной последовательности гена *recA E. coli* позволяет сделать вывод, что нет видимых ограничений для его экспрессии в клетках растений томата. Сравнительный анализ экспрессии нативных и гибридных генов, в которых последовательность гена *recA* слита в рамки считывания с последовательностями репортерного гена лихеназы и синтетического сигнала ядерной локализации, показал, что в клетках бактерий *E. coli* происходит образование соответствующих белковых продуктов, однако сигнал ядерной локализации может ограничивать уровень экспрессии генов, в состав которых он входит. Кроме того, как *RecA*, так и лихеназа сохраняют свои основные свойства в составе гибридных белков. С использованием полученных результатов созданы растительные экспрессионные векторы, содержащие гены *recA*, *recA-licBM3*, *NLS-recA* и *NLS-recA-licBM3* под контролем промотора 35S, и на их основе получены агробактериальные штаммы (на основе AGL0) для трансформации растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений (рекомбинация, адаптация, агробиоценоз). Кишинев, 1980.
2. P l o u g h H.H. The effect of temperature on linkage in the second chromosome of *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1917, 3(9): 553-555.
3. S c h e w e M.J., S u z u k i D.T., E r a s m u s U. The genetic effects of mitomycin C in *Drosophila melanogaster*. II. Induced meiotic recombination. Mutat. Res., 1971, 12(3): 269-279.
4. S o n t a S., K o n g Z. Mitomycin C-induced meiotic crossing-over on the interstitial segments in the Chinese hamster heterozygous for a reciprocal translocation. Jpn. J. Genet., 1988, 63(5): 457-463.
5. M a t s u o k a A., L u n d i n C., J o h a n s s o n F. e.a. Correlation of sister chromatid exchange formation through homologous recombination with ribonucleotide reductase inhibition. Mutat. Res., 2004, 547(1-2): 101-107.
6. W a n g Q., P o n o m a r e v a O.N., L a s a r e v M. e.a. High frequency induction of mitotic recombination by ionizing radiation in Mlh1 null mouse cells. Mutat. Res., 2006, 594(1-2): 189-198.
7. S z o s t a k J.W., O r r - W e a v e r T.L., R o t h s t e i n R.J. e.a. The double-strand-break repair model for recombination. Cell, 1983, 33: 25-35.
8. B i a n c o P.R., T r a c y R.B., K o w a l c z y k o w s k i S.C. DNA strand exchange proteins: a biochemical and physical comparison. Front. Biosci., 1998, 3: 570-603.
9. B a u m a n n P., W e s t S.C. Role of the human RAD51 protein in homologous recombination and double-strand-break repair. Trends Biochem. Sci., 1998, 23(7): 247-251.
10. K a w a b a t a M., K a w a b a t a T., N i s h i b o r i M. Role of *recA*/RAD51 family proteins in mammals. Acta. Med. Okayama, 2005, 59(1): 1-9.
11. R e i s s B., K l e m m M., K o s a k H. e.a. RecA protein stimulates homologous recombination in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(7): 3094-3098.
12. R e i s s B., S c h u b e r t I., K o p c h e n K. e.a. RecA stimulates sister chromatid exchange and the fidelity of double-strand break repair, but not gene targeting, in plants transformed by *Agrobacterium*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97: 3358-3363.
13. P a u l R., D a l i b a r t R., L e m o i n e S. e.a. Expression of *E. coli recA* targeted to mitochondria of human cells. Mutat. Res. DNA Repair, 2001, 486: 11-19.
14. S h c h e r b a k o v a O.G., L a n z o v V.A., O g a w a H. e.a. Overexpression of bacterial *recA* protein stimulates homologous recombination in somatic mammalian cells. Mutat. Res., 2000, 459(1): 65-71.
15. К о м а х и н Р.А., А б д е е в а И.А., С а л е х и Д ж у з а н и Г.Р. и др. Термостабильная лихеназа как трансляционный репортер. Генетика, 2005, 41(1): 31-39.
16. S h a r p P.M., L i W.H. The codon adaptation index — a measure of directional synony-

- mous codon usage bias, and its potential applications. Nucl. Acids Res., 1987, 15(3): 1281-1295.
17. B u r g e C.B., K a r l i n S. Finding the genes in genomic DNA. Curr. Opin. Struct. Biol., 1998, 8: 346-354.

*ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
биотехнологии РАСХН,
127550 г. Москва, ул. Тимирязевская, 42,
e-mail: recombination@agrobiotech.ru*

*Поступила в редакцию
5 марта 2007 года*

CREATION OF EXPRESSION VECTORS WITH *recA* GENE FROM *E. coli* FOR THE PURPOSE INDUCTION OF RECOMBINATION IN PLANTS

R.A. Komakhin, V.V. Komakhina, A.A. Zhuchenko

S u m m a r y

Taking into account current models of recombination in eucaryotes the authors make an attempt to use *recA* gene from *E. coli*, protein product of which participates in recombination in vivo, for induction of meiotic recombination in plants. The analysis was made of *recA* gene DNA sequence in silico, that was cloned and the chimeric genes were obtained in which the nucleotide sequences of *recA* reporter gene and sign of nuclear localization are fused in the frame. The complex molecular-biological analysis of expression of cloned genes in bacteria and functional analysis of properties of chimeric protein products were carry out. On the basis of obtained data the authors construct the native and chimeric genes under control of 35S CaMV promoter and agrobacterial strains for the plant transformation.