



© О. А. Павлова, Т. В. Матвеева,
Л. А. Лутова

УДК 575.87

Кафедра генетики
и биотехнологии Санкт-
Петербургского государственного
университета

ROL-ГЕНЫ *AGROBACTERIUM RHIZOGENES*

ВВЕДЕНИЕ

✿ В обзоре обобщена информация о *rol*-генах, входящих в состав Т-ДНК *Ri*-плазмид *Agrobacterium rhizogenes*. Обсуждается структура каждого из *rol*-генов и их регуляторных последовательностей, а также возможные функции, которые могут выполнять *rol*-гены, будучи перенесенными в растение.

✿ **Ключевые слова:** *rol*-гены; Т-ДНК; растения; *Agrobacterium rhizogenes*.

Бактерии *Agrobacterium rhizogenes* являются причиной заболевания «бородатый корень» (Riker et al., 1930). В пределах *Ri*-плазмиды содержится район Т-ДНК, который способен интегрироваться в растительный геном. Экспрессия генов, содержащихся в Т-ДНК, нарушает нормальное функционирование растительного организма (в частности, влияет на гормональный баланс: изменяется содержание разных классов гормонов, их метаболизм и чувствительность к ним) и характеризуется определенными морфологическими изменениями. Т-ДНК *Ri*-плазмид агропинового типа состоит из двух копий: левой TL-ДНК и правой TR-ДНК (De Paolis et al., 1985), каждая из копий переносится независимо. В левой части Т-ДНК было выявлено 18 открытых рамок считывания (OPC1 — OPC18) (Slightom et al., 1986). При помощи инсерционного и делеционного мутагенеза было показано, что для развития заболевания «бородатый корень» критично присутствие четырех *rol*-генов (от англ. «root locus»): *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD* (White et al., 1983). Эти гены соответствуют рамкам считывания OPC10, OPC11, OPC12 и OPC15. Важно отметить, что в норме у пораженного растения привнесенные последовательности Т-ДНК не наследуются в следующих поколениях. Однако известно несколько примеров, когда перенос Т-ДНК в геном растения являлся эволюционным событием при формировании таксономической единицы. У некоторых представителей рода *Nicotiana* и *Linaria* были выявлены последовательности, гомологичные агробактериальным *rol*-генам (White et al., 1983; Matveeva et al., 2012). Т-ДНК-подобные последовательности смогли закрепиться в геномах разных растительных видов и родов, причем для части видов было показано, что данные последовательности сохранились в практически не измененном виде. Поскольку данные мотивы не были элиминированы, то можно предположить, что они сыграли некую роль для растений, придали конкурентные преимущества. Чтобы понять, какой могла быть эта роль, рассмотрим подробнее функцию каждого из генов, участвующих в индукции и поддержании «бородатых корней». Изучение функции вышеперечисленных генов проводили у трансгенных растений, которые содержали или всю вставку Т-ДНК, или отдельные *rol*-гены.

ГЕН *rolA*

Ген *rolA* обнаружен во всех известных *Ri*-плаزمидях, причем его N-конец высоко консервативен у разных штаммов, в то время как С-конец значительно варьирует. Предположительно, это белок с небольшой молекулярной массой (11,4 кДа) и высокой изоэлектрической точкой (11,2). Такие особенности позволяют предположить, что RolA может взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами и может быть вовлечен в регуляцию экспрессии генов у растений (Levesque et al., 1988).

Конститутивная экспрессия *rolA* у *Nicotiana tabacum* приводит к формированию и низкорослых, кустистых растений, с темно-зелеными морщинистыми листьями, у которых часто нарушена морфология цветка, которые

Поступила в редакцию 21.10.2012
Принята к публикации 10.01.2012

характеризуются компактным соцветием. В культуре тканей (на листовых дисках) *rolA* вызывает корнеобразование (Schmulling et al., 1988; Sinkar et al., 1988; Carneiro, Vilaine, 1993; Serino et al., 1994). Транскрипты *rolA* выявляются в стеблях (в клетках флоэмы), и в меньшей степени в корнях и листьях (Carneiro, Vilaine, 1993). Работа гена *rolA* ингибирует рост растяжением клеток паренхимы в проводящих пучках, что приводит к укорочению междоузлий и формированию морщинистых листьев (Guivarch et al., 1996). Экспрессия *rolA* приводит к уменьшению содержания некоторых гормонов (ауксинов, цитокининов, гиббереллинов, этилена и абсцизовой кислоты) (Dehio et al., 1993).

Делеционный анализ промоторной области показал наличие трех функциональных доменов (А, В, С: –638...–477 п.о., –473...–366 п.о. и –366...–200, соответственно) (Guivarch et al., 1996). Последовательное удаление каждого из доменов приводило к уменьшению содержания транскрипта в листьях вплоть до отсутствия. Таким образом, все три домена работают кооперативно при регуляции экспрессии *rolA*. У трансгенных растений, содержащих в промоторе только домен А, экспрессия *rolA* была выявлена в листьях и не обнаружена в стебле и корнях, тогда как делеция этого домена приводила к накоплению транскрипта в стеблях и корнях и к отсутствию в листьях. Молекулярная природа этого эффекта пока неизвестна. В пределах домена А обнаружен мотив, который состоит из последовательностей, обнаруженных у некоторых ауксин-регулируемых и свето-индуцируемых генов (GT-2 связывающий сайт (Dehesh et al., 1990) и DUE-NDE elements (distal upstream element и Ndel element) (MacClure et al., 1989). Возможно, эти последовательности участвуют в активации/репрессии транскрипции *rolA*. Также предполагается, что домен А ингибирует функционирование доменов В и С. Совместная работа доменов В и С приводила к развитию морщинистых листьев и укороченных междоузлий, а наличие только домена С определяло карликовый фенотип с нормальными листьями. Было показано, что белок RolA влияет на формирование проводящих пучков, что приводит к укорочению междоузлий. Кроме того, локальная экспрессия *rolA* в проводящих пучках стебля приводит к уменьшению размеров прилежащих клеток паренхимы. По-видимому, этот эффект достигается благодаря тому, что белок RolA может взаимодействовать с неким диффундирующим фактором, и таким образом оказывать влияние на соседние ткани (Guivarch et al., 1996). Использование слитных конструкций *rolA::GUS* позволило определить локализацию белка в плазматической мембране, однако в самом белке не было выявлено каких-либо мотивов для его закрепления. Вероятно, *rolA* не интегрирующий белок, ассоциированный с мембраной (Vilaine et al., 1998).

При изучении структуры гена *rolA* из разных штаммов в 5'-некодирующей области был выявлен интрон (длинной 85 п.о.) (Magrelli et al., 1994). Причем у трансгенных

растений арабидопсиса, полученных с использованием штамма, у которого был нарушен процесс вырезания интрона (мутации в любом из нуклеотидов AG в точке сплайсинга), не наблюдалось морфологических изменений, к которым обычно приводит экспрессия гена *rolA* (Spena, Langenkemper, 1997). Последовательность интрона высоко консервативна среди изученных штаммов агробактерий. В пределах этого интрона была выявлена область, характерная для бактериального промотора (63 п.о.). Следовательно, *rolA* может работать как в бактериальных клетках (у агробактерий, свободно живущих ризобий, и бактериоидов в клубеньках), так и в растительных клетках, в этом случае бактериальный промотор вырезается вместе с интроном. По-видимому, сам интрон также выполняет функцию регуляторного элемента, разграничивающего экспрессию *rolA* у бактерий и у трансгенных растений (Pandolfini et al., 2000). Важно отметить, что *rolA* — это единственный ген в пределах Т-ДНК *A. rhizogenes*, который содержит интрон.

In vitro было показано, что наличие функциональной последовательности *rolA* не является обязательным для роста и жизнедеятельности агробактерий. Возможно, этот ген экспрессируется, когда бактериальная культура находится в стационарной фазе или при высокой плотности клеток (Pandolfini et al., 2000). Однако точная функция белка пока неизвестна.

ГЕН *rolB*

Долгое время считалось, что именно *rolB* играет ключевую роль в корнеобразовании (Nilsson, Olsson, 1997), поскольку трансформация растений всеми остальными онкогенами при инактивированном *rolB*, не приводила к фенотипу «бородатый корень», а трансформация только геном *rolB* вызывала обильное формирование быстро растущих, ветвящихся, аgravитропных корней (Altamura, 2004). Однако роль гена *rolB* не ограничивается только формированием корней, так как в литературе описаны примеры с другими морфологическими изменениями, к которым приводит трансформация растения векторами, содержащими ген *rolB*. Например, экспрессия гена *rolB* вызывает формирование эктопических цветковых меристем как в культуре тканей (Altamura et al., 1994), так и на уровне целого растения (Koltunow et al., 2001). Экспрессия *rolB* была выявлена во всех типах меристем, в проводящей системе (во флоэме, ксилеме и перицикле) (Altamura et al., 1991). Кроме того, его экспрессия индуцирует развитие партенокарпических плодов, что было показано на трансгенных томатах, полученных с использованием конструкций с тканеспецифическими промоторами (Carmi et al., 2003), вызывает задержку развития пыльников и тычинок (фенокопию таких изменений можно получить добавлением экзогенного ауксина) (Cecchetti et al., 2004), влияет на дифференциацию ксилемы, изменяя соотношение

пролиферирующих клеток прокамбия и дифференцированных клеток во время развития тычинок (Cecchetti et al., 2004). В экспериментах на изолированных тканях, полученных из стеблей и цветоножек растений и трансформированных геном *rolB*, было показано, что, возможно, *rolB* влияет на формирование различных типов меристем, а конкретный последующий тип дифференцировки определяется гормональным балансом исходной ткани (Altamura et al., 1994).

Кроме того, *rolB* (также как и *rolC*) является мощным индуктором изменения вторичного метаболизма у трансгенных растений (Shkryl et al., 2008). В экспериментах с *Rubia cordifolia* было показано, что в трансгенных каллусах *rolB* (штамма A4) активирует экспрессию PR-генов (от англ. pathogenesis-related genes), в том числе генов, кодирующих пероксидазы 3-го класса (Veremeichik et al., 2012) и ферменты синтеза фитоалексинов (Bulgakov et al., 2003). Также *rolB* может приводить к нарушению баланса кальция в клетках трансгенного каллуса (Bulgakov et al., 2003).

Молекулярный механизм, приводящий к такому широкому спектру изменений, пока не выяснен. Предполагается, что экспрессия гена *rolB* индуцируется ауксином. Так, через 6–9 часов после добавления ауксина в культуральную среду, в протопластах табака начинается активный синтез транскриптов *rolB*, а через 12–18 часов происходит 300-кратное увеличение их числа. Промотор гена *rolB* представляет собой комплекс из пяти доменов: А, В, С, В и Е, которые взаимодействуют с различными растительными регуляторными факторами и моделируют работу гена в зависимости от типа ткани, гормональных сигналов и стадии развития. В корне наличие всех пяти доменов в промоторе приводит к экспрессии гена в корневом чехлике, в протодерме, в меристемах кортекса и проводящей системе, т. е. в тех клетках, из которых могут формироваться различные ткани корня. Делеция домена А подавляет экспрессию в корневом чехлике и протодерме, делеция доменов В и Е блокирует работу гена во всех меристематических клетках, а домен D необходим для экспрессии в меристеме кортекса. Домен С требуется для экспрессии во внутренних меристемах и одновременно подавляет экспрессию в протодерме (Sarope et al., 1994). Наиболее интересным является домен В (–341...–306), который играет ключевую роль в регуляции транскрипции гена *rolB*. Если этот домен делетирован, то *rolB* не экспрессируется в меристемах и не индуцируется ауксином. Последовательность АСТТТА (–312...–307) в пределах домена В высоко консервативна у разных штаммов агробактерий. Она необходима для тканеспецифичной экспрессии *rolB* и является цис-регуляторным элементом для индукции экспрессии гена ауксином (Baumann et al., 1999). У *Nicotiana tabacum* транскрипционный фактор NtBBF1 (*Nicotiana tabacum rolB* domain B Factor 1) содержит единичный цинковый палец и относится к семейству белков, содержащих Dof-

домен (DNA binding with one finger). Это семейство специфических транскрипционных факторов, выполняющих функции активаторов и репрессоров во многих биологических процессах только у растений (Yanagisawa, 2004) и имеющих сродство к регуляторным последовательностям в промоторной области *rolB*. NtBBF1 способен связываться с доменом В и изменять экспрессию *rolB*, причем их паттерны экспрессии взаимосвязаны. Таким образом, растительные транскрипционные факторы могут участвовать в регуляции экспрессии агробактериальных онкогенов у трансгенных растений.

Еще один растительный транскрипционный фактор может влиять на работу гена *rolB*. RBF1 (Rol Binding Factor) способен специфически взаимодействовать с последовательностью, расположенной на расстоянии –553...–530 от старт-кодона, и регулировать экспрессию в немеристематических клетках корня. Сайт связывания RBF1 частично перекрывается с доменом А промотора, что может указывать на взаимосвязь между связыванием RBF1 и высоким уровнем транскрипционной активности *rolB* в клетках корня (Filetici et al., 1997). Интересно отметить, что последовательность сайта связывания RBF1 (TACGTITA) полностью комплементарна октомеру ATGCAAAT. Такие октомеры характерны для промоторов генов животных, и, в частности, необходимы для регуляции транскрипции генов иммуноглобулинов (Singh et al., 1986).

На сегодняшний день нет единого представления о клеточной функции и о локализации генного продукта *rolB*. У разных штаммов выявлены отличающиеся последовательности этого гена, и белок был детектирован в разных клеточных частях.

Ген *rolB* штамма pRiA4 кодирует тирозин-фосфатазу, которая локализуется в плазматической мембране, и, вероятно, участвует в проведении ауксинового сигнала (Filippini et al., 1996). В пределах белковой последовательности *rolB* штамма pRiA4 обнаружен мотив CX5R, который необходим для проявления фосфатазной активности (Lemcke, Schmulling, 1998a). Данный мотив этого гена отсутствует у остальных изученных штаммов агробактерий. Таким образом, либо только *rolB* штамма pRiA4 является тирозин-фосфатазой, либо у белков *rolB* других штаммов присутствует другой функциональный мотив, либо тирозин-фосфатазная активность не единственная и не основная активность этого белка в растительной клетке.

У трансгенных табаков белок RolB штамма pRiA1724 локализован в ядерной мембране, и способен взаимодействовать с белком Nt14-3-3ωII. Причем ни у *rolB*, ни у Nt14-3-3ωII нет сигналов ядерной локализации, вероятно, они оба взаимодействуют с какими-либо челночными белками для транспорта в ядро. Возможно, в том случае продукт гена *rolB* играет роль транскрипционного коактиватора или посредника (вторичного мессенджера) (Moriuchi et al., 2004). Инте-

ресно отметить, что у млекопитающих тирозиновые фосфатазы и белок 14-3-3 участвуют в онкогенезе, клеточном росте, дифференциации и апоптозе (Dougherty, Morrison, 2004).

На уровне клетки, по-видимому, *rolB* изменяет чувствительность к ауксину (Maurel et al., 1994). В трансгенных протопластах табака антитела к ауксин-связывающим белкам блокируют ауксиновый ответ, причем, чем выше уровень экспрессии *rolB*, тем большая концентрация антител требуется. Возможно, что *rolB* либо стимулирует наработку ауксин-связывающих белков, либо увеличивает их активность (Venis et al., 1992). Ауксин и транскрипционный фактор NtBBF1 участвуют в регуляции экспрессии *rolB*. Продукт гена *rolB* изменяет рецепцию ауксинового сигнала и увеличивает чувствительность клеток к ауксину, что приводит к заложению новых меристем. Дальнейшая судьба меристематических клеток зависит как от локального гормонального баланса, так и от общего физиологического состояния.

ГЕН *rolB_{TR}*

Штамм pRiA4 несет две копии Т-ДНК (левая TL-DNA и правая TR-DNA) (Huffman et al., 1984), которые содержат разный набор генов и могут независимо переноситься в геном растения в процессе агроинфекции. Bouchez и Camilleri выявили в пределах правой Т-ДНК открытую рамку считывания, гомологичную гену *rolB* из левой копии Т-ДНК, у которых на 52 % сходны нуклеотидные последовательности и на 40,6 % — аминокислотные. Однако в 5' и 3' областях сходства между *rolB* и *rolB_{TR}* не обнаружено (Bouchez, Camilleri, 1990). В аминокислотной последовательности выявлен гидрофобный район (с 163 по 172 аминокислотный остаток), который имеет высокий уровень сходства (порядка 70 %) с трансмембранными мотивами других белков. Возможно белковый продукт гена *rolB_{TR}* при помощи этого участка заякоривается в плазмолемме. Мотива CX₅R, характерного для *rolB* из левой копии Т-ДНК, в пределах *rolB_{TR}* не обнаружено.

На N-конце белка выявлено 14 дополнительных аминокислот, которые у *rolB* отсутствуют. Возможно, биологическая активность белка *rolB_{TR}* зависит от этой последовательности, так как, если этот фрагмент делетирован, то у трансгенных растений не наблюдается характерный для *rolB_{TR}* фенотип.

Экспрессия *rolB_{TR}* в табаке под конститутивным промотором приводит к задержке роста и формированию боковых отростков в основании побега, листья слегка морщинистые, сильно отклоняющиеся от стебля. Растения, экспрессирующие *rolB_{TR}*, фенотипически отличаются от растений, экспрессирующих ген *rolB*. Можно предположить, что *rolB_{TR}* не является функциональным гомологом *rolB* (Lemke, Schmulling, 1998a).

ГЕН *rolC*

Ген *rolC* присутствует во всех изученных штаммах *A. rhizogenes* и является самым консервативным из всех *rol*-генов (Dandekar et al., 2008). У трансгенных растений морфологические эффекты *rolC* зависят от того, под каким промотором работает ген. Если *rolC* регулируется собственным промотором, то растения-трансформанты низкие, междоузлия укорочены, апикальное доминирование снижено, листья ланцетовидные, сморщенные по краям, цветки маленькие, фертильность пыльцы снижена и переход к стадии цветения происходит раньше, чем в контроле. Наблюдается общая ювенилизация растения (Schmulling et al., 1988; Oono et al., 1990). Сам по себе *rolC* слабо способствует корнеобразованию, а в сочетании с *rolA* и *rolB* активно его индуцирует (Schmulling et al., 1988; Palazón et al., 1998). В случае, если *rolC* работает под конститутивным промотором, растение-трансформант имеет более выраженный фенотип (в частности, пыльца становится стерильной) (Schmulling et al., 1988).

Экспрессия *rolC* орган-специфична, максимальна в корнях и уменьшается в ряду: корни — стебель — цветки — листья. На тканевом уровне *rolC* экспрессируется во флоэме (во всех органах) (Schmulling et al., 1988; Sugaya et al., 1989; Guivarch et al., 1996), транскрипты *rolC* были выявлены в железистых клетках табака (Hu et al., 2003).

На сегодняшний день нет точных представлений о биохимической активности белкового продукта *rolC*. Estruch с соавторами показали, что наработанный в гетерологичной системе белок RolC штамма pRiA4, обладает β-глюколитической активностью и способен высвобождать активные цитокинины из конъюгатов с N- и O-глюкозидами. Причем RolC был способен расщеплять N-глюкозиды, устойчивые к другим клеточным глюкозидазам. Также авторами было показано, что у *rolC*-трансформантов (*rolC* под конститутивным промотором) повышено содержание свободных цитокининов (Estruch et al., 1991a). Однако попытки других авторов измерить уровень свободных цитокининов дали противоречивые результаты. Например, в экспериментах Nilsson было выявлено, что нарушен баланс сразу нескольких классов гормонов: содержание гиббереллинов (в частности, GA19) повышено, а цитокининов, наоборот, — снижено (Nilsson et al., 1993). Faiss показал (с использованием тетрациклин-индуцибельного промотора), что не все глюкозиды являются потенциальными субстратами для белка RolC: только O- и N3-могут расщепляться, а N7- и N9- — нет. Кроме того, в трансгенных тканях табака был обнаружен только один тип глюкозидов — O-глюкозиды. Концентрации свободных цитокининов и конъюгатов в экспериментальных растениях не отличались от контрольных, а культура трансгенных тканей была способна расщеплять экзогенные O- и N3-конъюгаты (Faiss et al., 1996).

Белок RolC локализован цитоплазме (Estruch et al., 1991b), а глюкозид-связанные цитокинины — в вакуолях. Вероятно, RolC успевал расщепить экзогенные глюкозиды до того, как они оказывались секвестрированы в вакуолях. Авторы склонны считать, что фенотип *rolC*-трансгенных растений в целом зависит вовсе не от способности белка RolC высвобождать цитокинины из конъюгатов. По-видимому, RolC не прямо влияет на гормональный баланс, а косвенно воздействует на программы развития благодаря потенциальной способности расщеплять олигосахара (Faiss et al., 1996). Позже в лаборатории Оттена было показано, что *rolC*-трансформанты способны активно накапливать крахмал. Растения, трансформированные *rolC* под дексаметазон-индуцибельным промотором, помимо ювенильного фенотипа, демонстрировали энации (вдоль центральной жилки листа) и локальные хлорозы. Локальная индукция экспрессии *rolC* стимулирует накопление крахмала в зрелых тканях листа (при окрашивании йодом показано, что крахмал накапливается в местах хлорозов). Если *rolC* может воздействовать на зрелые ткани листа, то вероятно, может оказывать влияние на какие-либо «листо-специфические» процессы (например, на такие, как фотосинтез) и, как следствие, опосредованно влиять на процессы развития и в корнях. При агротрансформации активное всасывание сахарозы может стимулировать закладку и рост корней (Mohajjel-Shoja et al., 2011). В промоторной области *rolC* находится цис-регуляторный элемент, активируемый сахарозой (расположен в районе –135...–94 от точки инициации транскрипции). Во флоэме высокое содержание сахарозы обеспечивается благодаря току продуктов фотосинтеза. Таким образом, сахароза может выступать в качестве сигнальной молекулы, индуцирующей работу *rolC* в проводящей системе (Yokoyma et al., 1994). Одновременно сахароза может являться субстратом для белка RolC, а продукты метаболизма сахарозы могут идти на «строительство» новых органов. Вероятно, такая положительная обратная связь обеспечивает эффективную пролиферацию клеток и заложение корней (Nilsson, Olsson, 1997). Кроме того, в промоторе *rolC* обнаружены myb-response elements (AACG/TG) (Hu et al., 2003) и C-related elements (CCGAC) (Jaglo et al., 2001). Myb белки — это транскрипционные факторы, участвующие в адаптации организма к условиям стресса (Ganesan et al., 2012). C-related elements также участвуют в ответе растений на стресс (в частности, на холод и засуху) (Jaglo et al., 2001). Не исключено, что эти последовательности также вносят вклад в развитие характерного *rolC*-фенотипа.

Карликовый фенотип *rolC*-трансформантов Schmulling с соавторами попытались объяснить нарушением баланса других классов гормонов (не цитокининов). Например, у табака и картофеля снижено содержание гиббереллина GA1, а добавление в среду GA3 восстанавливает нормальную длину междоузлий, но никак не влияет

на стерильность пыльцы. Гибберелловая кислота влияет на рост клеток растяжением, но не участвует в микроспорогенезе (Schmulling et al., 1993). Накопление GA19 свидетельствует в пользу того, что продукт гена *rolC* блокирует превращение GA19 в GA20. У трансгенных растений также снижено содержание абсцизовой кислоты примерно на 50 % по сравнению с контролем. Это согласуется с общей ювенилизацией растения при трансформации *rolC* (Nilsson et al., 1993). Помимо того, что *rolC* изменяет содержание разных классов гормонов, он также влияет на чувствительность к ним. Например, трансформанты обладают повышенной устойчивостью к ауксину и абсцизовой кислоте, и напротив, чувствительны к цитокининам и предшественникам этилена (Schmulling et al., 1993).

ГЕН *rolD*

Ген *rolD* в отличие от других *rol*-генов, выявлен не у всех штаммов *A. rhizogenes*. При трансформации табаков было показано, что основным эффектом *rolD* является усиленная закладка пазушных генеративных почек, более раннее и обильное цветение по сравнению с контролем. Из-за раннего перехода к генеративной фазе развития у растений наблюдается уменьшенное количество закладываемых вегетативных почек и узлов, что приводит к ранней термации побега и высота трансгенных растений меньше, чем контрольных. У цветков наблюдается явление гетеростилии, однако семена, полученные от самоопыления, жизнеспособны (Maigo et al., 1996). В культуре тканей (на тонких клеточных слоях) *rolD* также вызывал обильное формирование цветковых меристем, даже в тех условиях, когда в норме должны формироваться корни, т.е. можно предположить, что *rolD* подавляет развитие корней. На уровне целого растения табака никакого значительного влияния на корневую систему обнаружено не было (Maigo et al., 1996). Сходные данные были получены на томате (Bettini et al., 2003) и на арабидопсисе (Falasca et al., 2010). Таким образом, основной эффект *rolD* — это постэмбриональное формирование меристем, в частности пазушных почек. Эти меристемы появляются раньше, являются более многочисленными, по сравнению с контролем, и образуют соцветия, что приводит к формированию сильно ветвящихся побегов. Причем закладывается почек значительно больше, чем развивается побегов. То, что не все почки дают побеги, возможно, связано с тем, что формирующиеся побеги конкурируют за пространство и питательные вещества (Falasca et al., 2010).

При попытке выяснить влияет ли *rolD* на основные гены, регулирующие процессы ветвления у растений, было показано, что *rolD* негативно регулирует экспрессию гена *CYP79F1/SUPERSHOOT/BUSHY (SPS)*. *SPS* вовлечен в биосинтез глюкозинолатов (Tantikanjana et al., 2004). Глюкозинолаты — это вторичные метаболиты, вы-

полняющие защитные функции у растений, а некоторые их метаболиты обладают цитостатическими свойствами (Yan, Chen, 2007). В норме *SPS* подавляет заложение боковых побегов. Нарушения синтеза глюкозинолатов приводят к нарушению гормонального баланса растения, в частности, *sps* мутанты характеризуются повышенным уровнем цитокинина, что приводит к обильному кущению (Tantikanjana et al., 2004). При трансформации растений геном *rolD*, снижается уровень экспрессии гена *SPS*, поэтому *rolD*-трансформанты обладают сходным фенотипом с *sps*-мутантами.

У трансгенных растений экспрессия *rolD* не является тканеспецифичной, но связана со стадиями развития. *rolD* работает во всех растущих и дифференцирующихся тканях, кроме апикальных меристем, на всех стадиях развития от эмбриона до взрослого растения. В органах с детерминированным ростом, таких как семядоли, листья и части цветка, уровень экспрессии зависит от возраста ткани: максимум приходится на взрослые ткани и падает с их старением (Trovato et al., 1997). Вероятнее всего, что *rolD* играет роль на более поздних стадиях развития меристем, возможно, участвует в их детерминации (Altamura, 2004).

Анализ нуклеотидной последовательности показал, что *rolD* имеет гомологию с последовательностью орнитин циклодеаминазы. Экспериментальные данные подтвердили, что данный белок обладает биохимической активностью, которая обеспечивает НАД⁺-зависимое превращение L-орнитина в L-пролин (Trovato et al., 2001). Орнитин циклодеаминаза принадлежит к семейству μ -кристаллинов. Сам белок состоит из нескольких гомодимерных субъединиц, каждая из которых имеет два функциональных домена (субстрат-связывающий и динуклеотид-связывающий — для связывания кофактора) (Goodman et al., 2004). Орнитин циклодеаминаза была обнаружена у *A. tumefaciens*, где она участвует в катаболизме опинов, синтезированных из аргинина в клетках опухолей. Причем орнитин циклодеаминаза закодирована за пределами Т-ДНК, т. е. в той части Тi-плазмиды, которая не переносится в геном растения при агротрансформации (Sans et al., 1988; Schindler et al., 1989). Интересно отметить, что у близкородственного вида *A. rhizogenes* последовательность орнитин циклодеаминазы входит в состав Т-ДНК и самой бактерией не используется для катаболизма опинов, но у нее появились характерные эукариотические цис-регуляторные мотивы, благодаря которым ген орнитин циклодеаминазы может экспрессироваться только в растительных клетках. Также как и у *rolB*, у *rolD* ауксин-регулируемый промотор: в его пределах обнаружен Dof-домен (Altamura, 2004). У растений нет аналогов орнитин циклодеаминазы, а пролин синтезируется преимущественно из глутамата (Mattioli et al., 2009). Гормональный баланс оказывает влияние на процессы роста и развития растений, в частности, соотношение ауксинов и цитокининов влияет на ветвление побегов

(Shimizu-Sato et al., 2009). Milazzo с соавторами показали взаимосвязь между балансом ауксинов и цитокининов и содержанием пролина (Milazzo et al., 1999). Таким образом, у *rolD*-трансформантов активное развитие боковых меристем, ветвление и раннее цветение может быть связано с повышенным содержанием пролина и смещением гормонального баланса в сторону цитокинина. В органах цветка содержание пролина обычно повышено по сравнению с вегетативными органами. Отличия могут достигать 60-кратной величины (Schwacke et al., 1999). Проллин необходим для синтеза гидроксипролин-богатых гликопротеинов. Эти гликопротеины входят в состав клеточной стенки и участвуют в регуляции деления клеток и роста растяжением (Trovato et al., 2001). В условиях стресса растительные клетки накапливают различные осмо- и криопротекторы, в том числе пролин. Повышенное содержание пролина у *rolD*-трансформантов может играть адаптивную роль в неблагоприятных условиях. Например, Bettini с соавторами было показано, что томаты, несущие *rolD*, имеют повышенный уровень экспрессии PR-генов и более устойчивы к патогену *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* по сравнению с контрольными растениями (Bettini et al., 2003).

Как было упомянуто ранее, в пределах левой части Т-ДНК содержится 18 рамок считывания. За развитие фенотипа «бородатый корень» отвечают четыре основных гена: *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*. Остальные гены сами по себе не способны вызывать данного заболевания, но предполагается их участие в патогенезе и поддержании опухолевого фенотипа. Биохимические функции достоверно не известны, однако ведутся работы по их изучению. Предполагается, что ORF3p вовлечен во вторичный метаболизм и/или транспорт гормонов, участвует в подавлении дедифференциации клеток «бородатого корня» (Lemke, Schmulling, 1998b). ORF8, по-видимому, участвует в транспорте сахаров, а его экспрессия индуцируется ауксином (Ouarts et al., 2004). Экспериментальные данные позволяют предположить, что ORF13 участвует в биосинтезе ауксина, однако на уровне нуклеотидной последовательности не обнаружено сходства ни с одним из генов, участвующим в цепи синтеза ауксина. Ген ORF13 экспрессируется в ответ на поранение. ORF13 стимулирует каллусогенез, но препятствует дифференцировке клеток (Hansen et al., 1997). ORF13a располагается между ORF13 и ORF14, его транскрипты были выявлены в проводящей системе листа. Предполагается, что его генный продукт обладает активностью транскрипционного фактора и может напрямую взаимодействовать с ДНК, т. к. в его структуре обнаружен мотив SPXX (характерный для связывания с ДНК) (Hansen et al., 1994). ORF14 сам по себе не вызывает никаких морфологических эффектов, будучи перенесенным в геном растения с остальными генами Т-ДНК, не препятствует корнеобразованию (Aoki, Syono, 1999).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансформация растений штаммами *A. rhizogenes* вызывает неопластический рост и дифференцировку тканей, что приводит к обильному корнеобразованию, снижению апикального доминирования, задержке роста, нарушению морфологии листьев и цветков и т.д. Суммарно, эти изменения называются синдромом «борода-того корня». За развитие этого заболевания отвечают *rol*-гены, входящие в Т-ДНК. Каждый из них вносит свой вклад в нарушение нормального хода программ развития растения. Наиболее полно описаны только морфологические изменения, вызываемые *rol*-генами по отдельности в сочетании друг с другом. Однако еще нет полного представления о структуре каждого из генов, биохимических функциях, о регуляции их активности. Кодированные последовательности *rol*-генов бактериальные, а промоторы и цис-регуляторные элементы имеют эукариотическое происхождение, что позволяет транскрипционной машине растения регулировать работу *rol*-генов. По-видимому, в ходе эволюции растения «приспосабливались» к взаимодействию с агробактериями. А тот факт, что в геномах некоторых видов закрепились Т-ДНК-подобные мотивы, говорит о том, что Т-ДНК могла быть полезной (или, как минимум, нейтральной) для растения. Существует несколько гипотез. Например, согласно «фитогормональной» гипотезе в определенный момент времени в ходе эволюции скачкообразное изменение гормонального баланса растений (связанное с захватом Т-ДНК и ее передачей в половых поколениях) привело к повышению адаптационного потенциала трансформированных растений. Такой сценарий мог разворачиваться, например, при резком изменении водного баланса или при обеднении почв, а также при переходе в другие экологические ниши. Также существуют гипотезы, напрямую не связанные с *rol*-генами, объясняющие закрепление Т-ДНК в геноме растений. Детальные исследования структуры, функции и биохимической активности *rol*-генов помогут прояснить тонкое регулирование процессов взаимодействия агробактерий и растений и функционирования Т-ДНК в растительном геноме.

Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высоко интегрированного биосферного «интерфейса».

ЛИТЕРАТУРА

- Altamura M.M., Archillett T., Capone I., Costantino P., 1991. Histological analysis of the expression of *Agrobacterium rhizogenes* *rolB*-GUS gene fusions in transgenic tobacco // New Phytol. Vol. 118. P. 69–78.
- Altamura M.M., Capitani F., Gazza L. et al., 1994. The plant oncogene *rolB* stimulates the formation of flower and root meristemoids in tobacco thin cell layers // New Phytol. Vol. 126. P. 283–293.
- Altamura M.M., 2004. *Agrobacterium rhizogenes* *rolB* and *rolD* genes: Regulation and involvement in plant development // Plant Cell Tiss. Org. Cult. Vol. 77. P. 89–101.
- Aoki S., Syono K., 1999. Synergistic function of *rolB*, *rolC*, ORF13 and ORF14 of TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* in hairy root induction in *Nicotiana tabacum* // Plant Cell Physiol. Vol. 40. P. 252–256.
- Baumann K., De Paolis A., Costantino P., Gualberti G., 1999. The DNA binding site of the Dof protein NtBBF1 is essential for tissue-specific and auxin-regulated expression of the *rolB* oncogene in plants // The Plant Cell. Vol. 11. P. 323–333.
- Bouchez D., Camilleri C., 1990. Identification of a putative *rolB* gene on the TRDNA of the *Agrobacterium rhizogenes* A4 Ri plasmid // Plant Mol. Biol. Vol. 14. P. 617–619.
- Bettini P., Michelotti S., Bindi D. et al., 2003. Pleiotropic effect of the insertion of the *Agrobacterium rhizogenes* *rolD* gene in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Theor. Appl. Genet. Vol. 107. P. 831–836.
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P. et al., 2003. Effects of Ca (2+) channel blockers and protein kinase/phosphatase inhibitors on growth and anthraquinone production in *Rubia cordifolia* callus cultures transformed by the *rolB* and *rolC* genes // Planta. Vol. 217. P. 349–355.
- Carmi N., Salts Y., Dedicova B. et al., 2003. Induction of parthenocarpy in tomato via specific expression of the *rolB* gene in the ovary // Planta. Vol. 217. P. 726–735.
- Carneiro M., Vilaine F., 1993. Differential expression of the *rolA* plant oncogene and its effect on tobacco development // The Plant J. Vol. 3. P. 785–792.
- Capone I., Frugis G., Costantino P., Cardarelli M., 1994. Expression in different populations of cells of the root meristem is controlled by different domains of the *rolB* promoter // Plant Mol. Biol. Vol. 25. P. 681–691.
- Cecchetti V., Pomponi M., Altamura M.M. et al., 2004. Expression of *rolB* in tobacco flowers affects the coordinated processes of anther dehiscence and style elongation // Plant J. Vol. 38. P. 512–525.
- Costantino P., Capone I., Cardarelli M. et al., 1994. Bacterial plant oncogenes: the *rol* genes saga // Genetica. Vol. 94. P. 203–211.
- Dandekar A.M., De Buck S., Depicker A. et al., 2008. *Agrobacterium*: From biology to biotechnology/edited Tzfira T., Citovsky V. NY.: Springer, 720 p.
- De Paolis A., Mauro M.L., Pomponi M. et al., 1985. Localization of agropine-synthesizing functions in the TR region of the root-inducing plasmid of *Agrobacterium rhizogenes* 1855. // Plasmid. Vol. 13. P. 1–7.

16. Dehesh K., Bruce W.B., Quail P.H., 1990. A transacting factor that binds to a GT-motif in a phytochrome gene promoter // Science. Vol. 250. P. 1397–1399.
17. Dehio C., Grossmann K., Schell J., Schmülling T., 1993. Phenotype and hormonal status of transgenic tobacco plants overexpressing the rolA gene of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // Plant Mol. Biol. Vol. 23. P. 1199–1210.
18. Dougherty M.K., Morrison D.K., 2004. Unlocking the code of 14–3–3 // J. Cell Sci. Vol. 117. P. 1875–1884.
19. Estruch J.J., Chriqui D., Grossmann K. et al., 1991a. The plant oncogene rolC is responsible for the release of cytokinins from glucoside conjugates // The EMBO Journal. Vol. 10. P. 2889–2895.
20. Estruch J.J., Parets-Soler A., Schmülling T., Spena A., 1991b. Cytosolic localization in transgenic plants of the rolC peptide from *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Mol. Biol. Vol. 17. P. 547–550.
21. Faiss M., Strnad M., Redig P. et al., 1996. Chemically induced expression of the rolC-encoded beta-glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: rolC does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta // The Plant J. Vol. 10. P. 33–46.
22. Falasca G., Altamura M.M., D'Angeli S. et al., 2010. The rolD oncogene promotes axillary bud and adventitious root meristems in *Arabidopsis* // Plant Physiol. Biochem. Vol. 48. P. 797–804.
23. Filetici P., Moretti F., Camilloni G., Mauro M. L., 1997. Specific interaction between a *Nicotiana tabacum* nuclear protein and the *Agrobacterium rhizogenes* rolB promoter // Journal Plant Physiol. Vol. 151. P. 159–165.
24. Filippini F., Rossi V., Marin O., 1996. A plant oncogene as a phosphatase // Nature. Vol. 379. P. 499–500.
25. Ganesan G., Sankararamasubramanian H.M., Harikrishnan M. et al., 2012. MYB transcription factor from the grey mangrove is induced by stress and confers NaCl tolerance in tobacco // Journal Exp. Bot. Vol. 63. P. 4549–4561.
26. Goodman J.L., Wang S., Alam S. et al., 2004. Ornithine cyclodeaminase: structure, mechanism of action, and implications for the mu-crystallin family // Biochemistry. Vol. 43. P. 13883–13891.
27. Guivarch, A., Spena, A., Noin, M. et al., 1996. The pleiotropic effects induced by the rolC gene in transgenic plants are caused by expression restricted to protophloem and companion cells // Transgen. Res. Vol. 5. P. 3–11.
28. Hansen G., Vaubert D., Clérot D. et al., 1994. A new open reading frame, encoding a putative regulatory protein, in *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // C.R. Acad. Sci. III. Vol. 317. P. 49–53.
29. Hansen G., Vaubert D., Clérot D., Brevet J., 1997. Wound-inducible and organ-specific expression of ORF13 from *Agrobacterium rhizogenes* 8196 T-DNA in transgenic tobacco plants // Mol. Gen. Genet. Vol. 254. P. 337–343.
30. Huffman G.A., White F.F., Gordon M.P., Nester G.W., 1984. Hairy root inducing plasmid: physical map and homology to tumorinducing plasmids // J. Bact. Vol. 157. P. 269–276.
31. Hu Y., Chen B., Ni T. et al., 2003. Promoter of the rolC gene of *Agrobacterium rhizogenes* can be strongly regulated in glandular cell of transgenic tobacco // Mol. Biotechnol. Vol. 24. P. 121–125.
32. Jaglo K.R., Kleff S., Amundsen K.L. et al., 2001. Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other // Plant Physiol. Vol. 127. P. 910–917.
33. Koltunow A.M., Johnson S.D., Lynch M. et al., 2001. Expression of rolB in apomictic *Hieracium piloselloides* Vill. Causes ectopic meristems in planta and changes in ovule formation, where apomixis initiates at higher frequency // Planta. Vol. 214. P. 196–205.
34. Lemcke K., Schmülling T., 1998a. A putative rolB gene homologue of the *Agrobacterium rhizogenes* TR-DNA has different morphogenetic activity in tobacco than rolB // Plant Mol. Biol. Vol. 36. P. 803–808.
35. Lemcke K., Schmülling T., 1998b. Gain of function assays identify non-rol genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA that alter plant morphogenesis or hormone sensitivity // Plant J. Vol. 15. P. 423–33.
36. Levesque H., Delepelaire P., Rouzé P. et al., 1988. Common evolutionary origin of the central portions of the Ri TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* and the Ti T-DNAs of *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Mol. Biol. Vol. 11. P. 731–744.
37. Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A. et al., 2012. Horizontal gene transfer from *Agrobacterium* to the plant *Linaria* in nature // MPML. in press.
38. Mattioli R., Costantino P., Trovato M., 2009. Proline accumulation in plants. Not only stress // Plant Signal Behav. Vol. 4. P. 1016–1018.
39. MacClure B.A., Hagen G., Brown C.S. et al., 1989. Transcription, organization, and sequence of an auxin-regulated gene cluster in soybean // The Plant Cell. Vol. 1. P. 229–239.
40. Magrelli A., Langenkemper K., Dehio C. et al., 1994. Splicing of the rolA transcript of *Agrobacterium rhizogenes* in *Arabidopsis* // Science. Vol. 266. P. 1986–1988.
41. Maurel C., Leblanc N., Barbier-Brygoo H. et al., 1994. Alterations of auxin perception in rolB-transformed tobacco protoplasts. Time course of rolB mRNA expression and increase in auxin sensitivity reveal multiple control by auxin // Plant Physiol. Vol. 105. P. 1209–1215.

42. Mauro M.L., Trovato M., De Paolis A. et al., 1996. The plant oncogene rolD stimulates flowering in transgenic tobacco plants // *Developmental Biology*. Vol. 180. P. 693–700.
43. Milazzo M.C., Zheng Z., Kellett G. et al., 1999. Stimulation of benzyladenine-induced in vitro shoot organogenesis and endogenous proline in melon (*Cucumis melo* L.) by fish protein hydrolysates in combination with proline analogues // *J. Agric. Food Chem.* Vol. 47. P. 1771–1775.
44. Mohajjel-Shoja H., Clément B., Perot J. et al., 2011. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *trtC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other plast genes // *MPMI* Vol. 24. P. 44–53.
45. Moriuchi H., Okamoto C., Nishihama R. et al., 2004. Nuclear localization and interaction of *RolB* with plant 14-3-3 proteins correlates with induction of adventitious roots by the oncogene *rolB* // *Plant J.* Vol. 38. P. 260–275.
46. Nilsson O., Moritz T., Imbault N. et al., 1993. Hormonal characterization of transgenic tobacco plants expressing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA // *Plant Physiol.* Vol. 102. P. 363–371.
47. Nilsson O., Olssen O., 1997. Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes rol* genes in the formation of hairy roots // *Physiol. Plant.* Vol. 100. P. 463–473.
48. Ouarts A., Clérot D., Meyer A.D. et al., 2004. The T-DNAORF8 of the cucumopine-type *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is involved in auxin response in transgenic tobacco // *Plant Science*. Vol. 166. P. 557–567.
49. Oono Y., Kanaya K., Uchimiya H., 1990. Early flowering in transgenic tobacco plants possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid // *Japanese Journal of Genetics*. 1990. Vol. 65. P. 7–16
50. Palazón J., Cusidó R.M., Roig C., Piñol M.T., 1998. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants // *Plant Cell Rep.* Vol. 17. P. 384–390.
51. Pandolfini T., Storlazzi A., Calabria E. et al., 2000. The spliceosomal intron of the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* is a prokaryotic promoter // *Molecular Microbiology*. Vol. 35. P. 1326–1334.
52. Riker A.J., Banfield W.M., Wright W.H. et al., 1930. Studies on infectious hairy root of nursery apple trees // *J. Agr. Res.* Vol. 41. P. 507–540.
53. Sans N., Schindler U., Schröder J., 1988. Ornithine cyclodeaminase from Ti plasmid C58: DNA sequence, enzyme properties and regulation of activity by arginine // *Eur. J. Biochem.* Vol. 173. P. 123–130.
54. Shimizu-Sato S., Tanaka M., Mori H., 2009. Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching // *Plant Mol. Biol.* Vol. 69. P. 429–435.
55. Schindler U., Sans N., Schröder J., 1989. Ornithine cyclodeaminase from octopine Ti plasmid Ach5: identification, DNA sequence, enzyme properties, and comparison with gene and enzyme from nopaline Ti plasmid C58 // *Journal Bacteriology*. Vol. 171. P. 847–854.
56. Schmulling T., Schell J., Spena A., 1988. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development // *The EMBO J.* Vol. 7. P. 2621–2629.
57. Schmulling T., Fladung M., Grossmann K., Schell J., 1993. Hormonal content and sensitivity of transgenic tobacco and potato plants expressing single *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // *The Plant J.* Vol. 3. P. 371–382.
58. Schwacke R., Grallath S., Breitzkreuz K.E. et al., 1999. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and gamma-amino butyric acid in tomato pollen // *Plant Cell*. Vol. 11. P. 377–392.
59. Serino G., Clerot D., Brevet J. et al., 1994. *Rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* cucumopine strain: sequence, effects and pattern of expression // *Plant Mol. Biol.* Vol. 26. P. 415–422.
60. Singh H., Sen R., Baltimore D., Sharp P.A., 1986. A nuclear factor that binds to a conserved sequence motif in transcriptional control elements of immunoglobulin genes // *Nature*. Vol. 319. P. 154–158.
61. Sinkar V.P., Pythoud F., White F.F. et al., 1988. *rolA* locus of the Ri plasmid directs developmental abnormalities in transgenic tobacco plants // *Genes Dev.* Vol. 2. P. 688–697.
62. Slightom J.L., Durand-Tardif M., Jouanin L., Tepfer D., 1986. Nucleotide sequence analysis of TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* agropine type plasmid. Identification of open reading frames // *J. Biol. Chem.* Vol. 261. P. 108–121.
63. Spena A., Langenkemper K., 1997. Mutational analysis of the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* in tobacco: function of the *rolA* pre-mRNA intron and *rolA* proteins defective in their biological activity // *Genet. Res.* Vol. 69. P. 11–15.
64. Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P. et al., 2008. Individual and combined effects of the *rolA*, B, and C genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli // *Biotechnol. Bioeng.* Vol. 100. P. 118–125.
65. Sugaya S., Hayakawa V., Handa T., Uchimiya H., 1989. Cell-specific expression of the *rolC* gene of the TL-DNA of Ri plasmid in transgenic tobacco plants // *Plant Cell Physiol.* Vol. 30. P. 649–653.
66. Tantikanjana T., Mikkelsen M.D., Hussain M. et al., 2004. Functional Analysis of the Tandem-Duplicated P450 Genes *SPS/BUS/CYP79F1* and *CYP79F2* in glucosinolate biosynthesis and plant development by Ds transposition-generated double mutants // *Plant Physiol.* Vol. 135. P. 840–848.

67. *Trovato M., Mauro M.L., Costantino P., Altamura M.M.*, 1997. The *rolD* gene from *Agrobacterium rhizogenes* is developmentally regulated in transgenic tobacco // *Protoplasma*. Vol. 197. P. 111–120.
68. *Trovato M., Maras B., Linhares F., Costantino P.*, 2001. The plant oncogene *rolD* encodes a functional ornithine cyclodeaminase // *Proc. Natd. Acad. Sci. USA*. Vol. 98. P. 13449–13453.
69. *Venis M.A., Napier R.M., Barbier-Brygoo H. et al.*, 1992. Antibodies to a peptide from the maize auxin-binding protein have auxin agonist activity // *Proc. Natd. Acad. Sci. USA*. Vol. 89. P. 7208–7212.
70. *Veremeichik G.N., Shkryl Y.N., Bulgakov V.P. et al.*, 2012. Molecular cloning and characterization of seven class III peroxidases induced by overexpression of the agrobacterial *rolB* gene in *Rubia cordifolia* transgenic callus cultures // *Plant Cell Rep.* Vol. 31. P.10009–10019.
71. *Vilaine F., Rembur J., Chriqui D., Tepfer M.*, 1998. Modified development in transgenic tobacco plants expressing a *rolA*:: GUS translational fusion and subcellular localization of the fusion protein // *MPMI*. Vol. 11. P. 855–859.
72. *White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A. et al.*, 1983. Sequence homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genome of uninfected plants. // *Nature*. Vol. 301. P. 348–350.
73. *Yan X., Chen S.*, 2007. Regulation of plant glucosinolate metabolism // *Planta*. Vol. 226. P. 1343–1352.
74. *Yanagisawa S.*, 2004. Dof domain proteins: plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants // *Plant Cell Physiol.* Vol. 45. P. 386–391.
75. *Yokoyama R., Hirose T., Fujii N. et al.*, 1994. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants // *Mol. Gen. Genet.* Vol. 244. P. 15–22.

ROL-GENES OF AGROBACTERIUM RHIZOGENES

Pavlova O.A., Matveyeva T.V., Lutova L.A.

✿ **SUMMARY:** The review summarizes the information about *rol*-genes, which constitute a part of the T-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* Ri-plasmid. Structure of each of the *rol*-genes, their regulatory sequences, and the possible roles of *rol*-genes when they are being transferred into the plant are discussed.

✿ **KEY WORDS:** *rol*-genes; T-DNA; plants; *Agrobacterium rhizogenes*.

✿ Информация об авторах

Павлова Ольга Андреевна — аспирант. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: olgunja_@mail.ru.

Матвеева Татьяна Валерьевна — к. б. н., с. н. с. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: olgunja_@mail.ru.

Лугова Людмила Алексеевна — д. б. н., профессор. Кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: olgunja_@mail.ru.

Pavlova Olga Andreyevna — Postgraduate student. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: olgunja_@mail.ru.

Matveyeva Tatyana Valeryevna — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: olgunja_@mail.ru.

Lutova Lyudmila Alekseyevna — Doctor of Biological Sciences, Professor. Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia. E-mail: olgunja_@mail.ru.