

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН *PnEXPA3* ТОПОЛЯ ЧЕРНОГО

© 2013 г. Б. Р. Кулуев, М. Г. Сафиуллина, А. В. Князев, А. В. Чемерис

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,

450054 Уфа, ул. Проспект Октября, д. 71

E-mail: kuluev@bk.ru

Поступила в редакцию 13.02.12 г.

Окончательный вариант получен 26.03.12 г.

Получены трансгенные растения табака, сверхэкспрессирующие ген *PnEXPA3*, кодирующего α -экспансин тополя черного (*Populus nigra*). Трансгенные растения характеризовались увеличением размеров клеток эпидермиса и мезофилла листьев, однако величина листьев оставалась в пределах нормы. Сверхэкспрессия гена *PnEXPA3* стимулировала лишь рост стебля в длину, остальные морфологические параметры трансгенных растений остались практически неизменными.

Ключевые слова: экспансины, клеточное растяжение, величина органов, *PnEXPA3*, сверхэкспрессия, трансгенные растения, *Nicotiana tabacum*, *Populus nigra*.

DOI: 10.7868/S047514501303004X

ВВЕДЕНИЕ

Клеточное растяжение в растениях сопровождается поглощением воды центральной вакуолей и стимулируется подкислением клеточной стенки (Rayle, Cleland, 1992). Исследование процессов “кислого роста” привело к открытию новой группы белков экспансинов, опосредующих рН-зависимое растяжение клеточных стенок (McQueen-Mason et al., 1992). Экспансины делятся на четыре семейства: экспансины А (EXPA), или α -экспансины; экспансины В (EXPB), или β -экспансины; экспансин-подобные белки А (EXLA); экспансин-подобные белки В (EXLB) (Sampedro, Cosgrove, 2005). Экспансины – эволюционно консервативные белки и в целом, аминокислотные последовательности разных α -экспансинов идентичны на 60–90% (Cosgrove, 1998). Показано, что экспансины не обладают ферментативной активностью, но принимают участие в разрыве нековалентных связей между целлюлозными микрофибриллами и гликановыми поперечными мостиками (см. обзор Шаровой, 2007). Действуют они в матриксе, судя по всему, совместно с трансгликозилазами, катализирующими процессы переноса и удлинения гликановых цепей и эндоглюканазами, обладающими способностью разрывать цепи гемицеллю-

лоз (Fry et al., 1992). Благодаря способности ослаблять жесткость клеточной стенки экспансины принимают участие во всех ростовых процессах растений (Azeez et al., 2010; Park et al., 2010), причем экспрессия экспансинов регулируется почти всеми известными фитогормонами (Lee et al., 2001). В каждом растении присутствуют большое количество разнообразных экспансинов, но лишь у немногих растений они идентифицированы и определены их функции. Например, в арабидопсисе было обнаружено 26 генов α -экспансинов и пять β -экспансинов, в геноме риса – 26 генов α - и 14 генов β -экспансинов (Cosgrove et al., 1997).

Особый интерес представляет изучение экспансинов древесных растений, так как они могут быть применены в лесной биотехнологии для создания новых пород деревьев с увеличенным размером ствола. Из древесных растений одним из первых был секвенирован геном тополя *Populus trichocarpa*, поэтому поиск и изучение экспансинов у этого растения не представляет трудностей. Древесина формируется в процессе вторичного роста в результате активности клеток камбия. В камбиальной зоне гибридной осины (*Populus tremula* L. \times *P. tremuloides* Michx.) наибольший уровень экспрессии был характерен для трех генов α -экспан-

синов (*PttEXPA1*, *PttEXPA2* и *PttEXPA8*) и одного β -экспансина (*PttEXPB1*) (Gray-Mitsumune et al., 2004), при этом в количественном отношении больше всего было мРНК гена *PttEXPA1*, что говорит об активном участии данного экспансина в процессах вторичного роста у древесных растений. В древесине напряжения наибольший уровень экспрессии был характерен для экспансина *PttEXPA5* (Gray-Mitsumune et al., 2004). В молодых листьях обнаруживалась экспрессия генов *PttEXPA2*, *PttEXPA3*, *PttEXPA4* и *PttEXPA6*, причем больше всего было мРНК гена *PttEXPA3*.

Одним из эффективных методов изучения экспансинов является получение трансгенных форм с повышенным или пониженным уровнем экспрессии целевых генов и проведение морфофизиологического анализа опытных растений в сравнении с контрольными (Cho, Cosgrove, 2000). К тому же манипуляция с уровнем экспрессии различных экспансинов может стать одним из эффективных методов получения трансгенных растений с увеличенными размерами органов. Действительно, трансгенные по гену *AtEXPA10* растения арабидопсиса характеризовались увеличением длины черешков и площади листовой пластинки (Cho, Cosgrove, 2000). Эктопическая экспрессия гена *PttEXPA1* способствовала увеличению размеров междоузлий и площади листьев у трансгенной осины (Gray-Mitsumune et al., 2008). В литературе имеются также сведения о негативном влиянии сверхэкспрессии экспансинов на рост растений (Гао и др., 2010).

В данной работе описываются эксперименты по выделению гена *PnEXPA3* тополя черного (*Populus nigra*) и получения на основе этого гена трансгенных растений табака с целью изучения влияния его эктопической экспрессии на величину органов и размеры отдельных клеток. Исходя из литературных данных (Gray-Mitsumune et al., 2004), предполагалось, что трансгенные по гену *PnEXPA3* растения табака будут, в первую очередь, отличаться увеличенными размерами листьев.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Бактериальные клетки, штаммы, плазмиды, генно-инженерные манипуляции

В работе использованы бактерии *E. coli* штамма XL1-Blue и *A. tumefaciens* штамма AGL0. Из плазмид использовали T-вектор pKRX и бинарные векторы pCambia 1301 и pCambia 1305.1 с геном

устойчивости к гигромицину и репортерным геном *GUS* (CAMBIA, Австралия). Геномную ДНК табака выделяли методом солевой экстракции. Тотальную РНК выделяли тризолом фирмы Invitrogen (США). ОТ-ПЦР осуществляли при помощи MuLV-обратной транскриптазы (Fermentas, Литва). Плазмидную ДНК выделяли методом щелочного лизиса бактериальных колоний используя наборы фирмы Цитокин (Россия). Качество и количество выделенных препаратов определяли аналитическим электрофорезом в 1% агарозном геле. Агарозный гель-электрофорез проводили в приборах модели Sub-Cell GT WIDE MINI (Bio-Rad, США). Ген *PnEXPA3* выделили из тотальной ДНК табака при помощи праймеров PnEXPF AATCTTCCTGAAAATGGCTC и PnEXPR ACG-GTCCCTAACGAACTGG. Для ОТ-ПЦР гена *PnEXPA3* использовали праймеры GTGCGT-GAATGACCCGAAATGG и CTGTGAACCTTAT-GCCTCCTCTCC. Для получения ампликонов с “тупыми” концами использовали Pfu ДНК-полимеразу (Сибэнзим, Россия), для “затупления” липких концов после рестрикции или амплификации использовали T4-ДНК-полимеразу (Сибэнзим, Россия). Для поиска целевых клонов при лигировании в векторе pCambia 1301 использовали праймер 35SCambF: AGAGGACCTAACAGAACTCG в паре с праймером 1301R TGCTCTAGCATTCGCCATTC. Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе “ABI PRISM 310 Genetic Analyzer” (Applied Biosystems, США). Электропорацию компетентных клеток *A. tumefaciens* проводили при помощи электропоратора фирмы Bio-Rad модели Micropulser. Поиск гомологичных генов осуществляли при помощи программы MegAlign пакета Lasergene (DNASTAR, США) и программы MegaBlast, доступной через сайт <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Получение трансгенных растений табака, морфологическая характеристика и условия выращивания растений

Трансгенные формы табака (*Nicotiana tabacum* L. Petit Havana SR-1) получали методом агробактериальной трансформации листовых дисков (Кулуев и др., 2012). Первичные трансгенные T₀-побеги отбирали на селективной среде (соли среды МС с добавлением 1 мг/л 6-БАП, 0.1 мг/л НУК), содержащей 25 мг/л гигромицина (Нуг). Качественную оценку активности репортерного

гена *GUS* в листьях T_0 -побегов определяли гистохимически, используя субстрат X-Gluc (натриевая соль 5-бром-4-хлор-3-индоллил-бета-D-глюкуроновой кислоты). Все полученные T_0 *GUS*+ побеги каждого варианта укореняли в присутствии 25 мг/л Нуг, затем переносили в почвенную смесь, акклиматизировали к условиям почвы, доводили до цветения, самоопыляли и получали семена (T_1 потомство). Для контроля наследования трансгенов и определения количества вставок, часть T_1 семян каждой полученной линии проращивали на среде МС с добавлением гигромицина в климатической камере Binder (Германия). Через 3 недели производили подсчет устойчивых и неустойчивых к селективному агенту семян, определяли расщепление при наследовании гена селективного маркера и выделяли для дальнейшей работы линии с одной интегрированной копией трансгенов.

Растения трансгенных линий и контрольные растения культивировали в вегетационных сосудах объемом 450 мл, заполненных универсальным грунтом ("Гера", Россия) на открытой светоплощадке при температуре 25–27°C с фотопериодом 16/8 часов (свет/темнота) и освещенностью около 10 клк. Наблюдение за растениями поколения T_1 осуществляли начиная от стадии появления корешков до получения семян, что занимало от 4 до 6-ти месяцев. Замеры величины листьев производили только после пересадки в почву, через каждые 30, 45 дней и в период цветения, в итоге было осуществлено 3 замера. По каждому варианту (линия трансгенных растений) было отобрано по 5 растений, измеряли по три самых крупных нижних листа в длину, начиная от начала листовой пластины, по центральной жилке до самого кончика. Затем вычисляли среднее значение длины листа для каждого растения. Измерения длины стебля и цветков проводили в период цветения. Определяли площадь 3-х самых крупных нижних листьев и вычисляли среднее значение. Для изучения влияния конститутивной экспрессии целевого гена на размер и количество клеток, проводили измерения площади клеток нижнего эпидермиса листьев одного возраста. Эпидермис снимали с основания и середины листа. Определяли среднее число клеток, приходящихся на один лист и на 1 мм² листовой поверхности. Измерения проводили при помощи универсального флуоресцентного микроскопа модели Axio Imager M1 (Carl Zeiss, Германия) с использованием оригинального программного

обеспечения. Для оценки размеров клеток мезофилла листа делали его гистологические срезы в трех участках при помощи микротомы-криостата МК-25.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Аmplификация гена PnEXPA3 и получение генно-инженерных конструкций целевого гена в векторах pCambia 1301 и pCambia 1305.1

Для подбора праймеров и амплификации гена *PnEXPA3* тополя черного была использована нуклеотидная последовательность под номером AY435101.1 из генома осины *Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx. Участок ДНК, содержащий ген *PnEXPA3*, был амплифицирован из геномной ДНК тополя и его размер составил около 1500 п.н. (рис. 1а). Ампликон был клонирован в фагмидном T-векторе pKRX, а затем секвенирован. Анализ нуклеотидных последовательностей показал, что выделенная нами копия целевого гена полностью совпадает с теоретически ожидаемым и не содержит замен нуклеотидов. Ген *PnEXPA3* был выщеплен из вектора pKRX по сайту *Bse*PI, а липкие концы затуплены T4-ДНК-полимеразой. После этого по сайту рестрикции *Sma*I было осуществлено ненаправленное клонирование целевого гена в бинарных векторах pCambia 1301 и pCambia 1305.1 под контролем 35S промотора. Причем в векторе pCambia 1305.1 целевой ген был клонирован вместо репортерного гена *GUS*, а в векторе pCambia 1301 была использована специальная 35S кассета и все маркерные гены были сохранены (Кулуев и др., 2012). Поиск клонов со смысловой ориентацией целевых генов осуществляли при помощи комбинации праймеров 35SCambF, 1301R, PnEXPF и PnEXPR. Из целевых генно-инженерных конструкций нарабатывались специфичные ампликоны при ПЦР только в случае сочетания следующих пар праймеров: 35SCambF/PnEXPR, PnEXPF/1301R, 35SCambF/1301R, а при сочетании пар 35SCambF/PnEXPF, PnEXPR/1301R амплификация проходила лишь в случае антисмысловой ориентации гена *PnEXPA3*. После полной проверки, полученные бинарные векторы с геном *PnEXPA3* под контролем 35S промотора были введены в клетки *A. tumefaciens*. Агробактериальные клоны, содержащие векторы pCambia 1301 и pCambia 1305.1 с целевым геном в сенс-ориентации, были использованы для экспериментов по

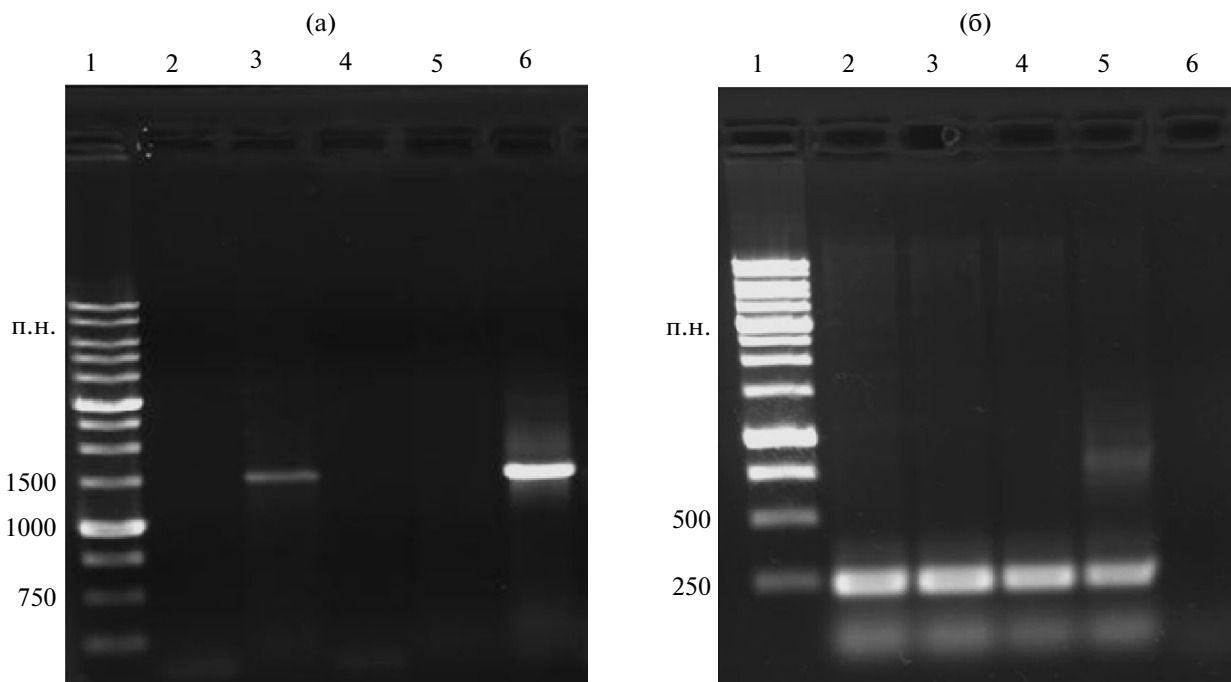


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР и ОТ-ПЦР гена *PnEXPA3*: а – результаты ПЦР участка ДНК тополя черного, содержащего ген *PnEXPA3*. 1 – Маркеры молекулярной массы 250 п.н.–10000 п.н. (Сибэнзим, Россия); 3 и 6 – ампликоны полноразмерного гена *PnEXPA3* размером около 1500 п.н.; б – результаты ОТ-ПЦР гена *PnEXPA3*. 1 – Маркеры молекулярной массы 250 п.н.–10000 п.н. (Сибэнзим, Россия); 2–5 – ампликоны к ДНК гена *PnEXPA3* из трансгенных растений линий №№ 4, 5, 7 и 9 соответственно. 6 – Минус-контроль (ОТ-ПЦР гена *PnEXPA3* из контрольных растений табака).

трансформации листовых дисков табака и получения трансгенных растений.

Получение трансгенных растений табака, сверхэкспрессирующих ген PnEXPA3

В ходе агробактериальной трансформации листовых дисков табака целевыми генно-инженерными конструкциями с вектором pCambia 1301 и геном *PnEXPA3* были получены лишь 3 линии трансгенных растений, однако из-за отсутствия расщепления при выращивании сеянцев на среде с гигромицином эти растения в дальнейших экспериментах не использовались. При помощи вектора pCambia 1305.1 с целевым геном было получено 16 первичных трансгенных побегов, из них укоренились на селективной среде и были акклиматизированы к условиям почвы 9 растений. Из этих растений табака была выделена геномная ДНК и проведен ПЦР-анализ на наличие гена *PnEXPA3* и 35S промотора. Было показано, что все 9 растений содержат в своем геноме как целевой ген, так и 35S промотор. Классическое расщепление 3 : 1 и высокий уровень экспрессии целевого гена были показаны для четырех линий растений с номерами 4, 5,

7 и 9 (рис. 1б). Из растений этих 4-х линий были отобраны семена с целью получения второго поколения проростков и проведения морфологического анализа.

Морфологическая характеристика трансгенных растений табака, сверхэкспрессирующих ген PnEXPA3

Семена четырех линий трансгенных растений второго поколения были высеяны на селективную среду, далее по 5 растений этих отобранных линий были пересажены на почву для проведения дальнейших экспериментов по их морфологической характеристике. В качестве контроля использовали линию трансгенных растений, содержащих Т-ДНК бинарного вектора без целевого гена (pCambia 1301).

По длине листьев трансгенные и контрольные растения практически не различались ни через 30 и 45 дней после пересадки на почву, ни в период цветения (таблица). По площади листьев трансгенные растения также не превышали контрольные растения (таблица). В то же время по высоте стебля опытные растения были заметно выше кон-

Морфологические параметры контрольной группы, содержащей Т-ДНК бинарного вектора и трансгенных растений табака поколения T₁, сверхэкспрессирующих ген *PnEXPA3* тополя черного

Параметр	Линия контрольных растений pCambia 1301	Линии трансгенных растений, сверхэкспрессирующих ген <i>PnEXPA3</i>		
		pCambia 1305.1 <i>PnEXPA3</i> № 5	pCambia 1305.1 <i>PnEXPA3</i> № 7	pCambia 1305.1 <i>PnEXPA3</i> № 9
<i>Длина листьев, см</i>				
30 дней	4.6 ± 0.4	6.2 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.7 ± 0.3
45 дней	11.3 ± 0.8	11.4 ± 0.3	10.1 ± 0.5	9.1 ± 0.3
В период цветения	17.3 ± 0.2	16.4 ± 0.9	18.2 ± 0.4	16.0 ± 0.5
<i>Площадь трех самых крупных листьев, см²</i>	147.0 ± 3.0	134.5 ± 7.8	146.0 ± 5.1	136.5 ± 5.0
<i>Высота стебля, см</i>	81.0 ± 3.0	99.5 ± 1.2	96.8 ± 0.9	102.3 ± 4.1
<i>Длина цветка, см</i>	4.49 ± 0.01	4.55 ± 0.11	4.45 ± 0.05	4.45 ± 0.06
Площадь клеток эпидермиса листьев, мкм ²	15514 ± 770	24857 ± 1491	25227 ± 725	26941 ± 1808
Число клеток эпидермиса листьев на 1 мм ²	66.2 ± 3.6	41.0 ± 2.6	40.1 ± 0.9	36.5 ± 3.5
Время цветения, дней после акклиматизации	107.8 ± 2.4	110.5 ± 1.2	117.7 ± 4.2	103.0 ± 1.8

трольных, и разница составляла у линии № 5 – 23%, у линии № 7 – 20%, а у линии № 9 – 26%. По длине цветка различий между опытными и контрольными растениями обнаружено не было (таблица). По форме листьев, стебля и цветков опытные и контрольные растения также не различались.

Для выяснения влияния экспрессии гена *PnEXPA3* на величину клеток, нами были проведены микроскопические исследования клеток эпидермиса листьев контрольных и опытных растений. Трансгенные по гену *PnEXPA3* растения, в отличие от контрольных растений, характеризовались увеличенными размерами клеток эпидермиса листьев (рис. 2). При этом у линии № 5 клетки были больше на 60%, у линии № 7 на 62%, а у линии № 9 на 74% крупнее, чем у контрольных растений (таблица). Из полученных

данных видно, что, несмотря на существенное увеличение размеров клеток у опытных растений, пропорционального увеличения размеров органов не происходило (рис. 3).

Выявленные различия в размерах клеток эпидермиса сохранялись и при измерении площади клеток мезофилла листьев. Например, клетки мезофилла листьев по сравнению с контролем были увеличены в среднем на 30–40%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ген *PnEXPA3* по схожести нуклеотидных последовательностей относится к подгруппе С α-экспансинов (Gray-Mitsumune et al., 2004). Наряду с данным геном в эту подгруппу входят ряд экспансинов арабидопсиса, табака и томатов, из которых изучен лишь ген *AtEXPA10 A. thaliana*. Сверхэкс-

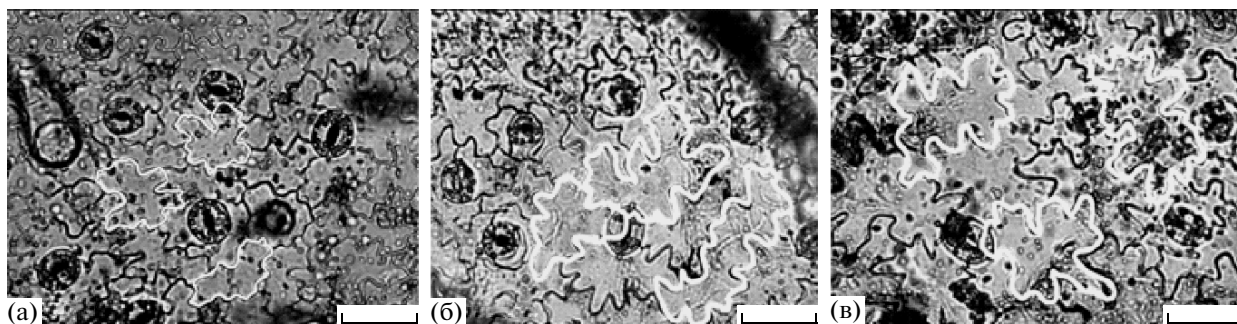


Рис. 2. Сравнение клеток нижнего эпидермиса контрольных и трансгенных растений табака: а – клетки эпидермиса листьев контрольных растений табака, увеличение 200×; б, в – клетки эпидермиса листьев трансгенных по гену *PnEXPA3* растений табака, увеличение 200×. Шкала 50 мкм.

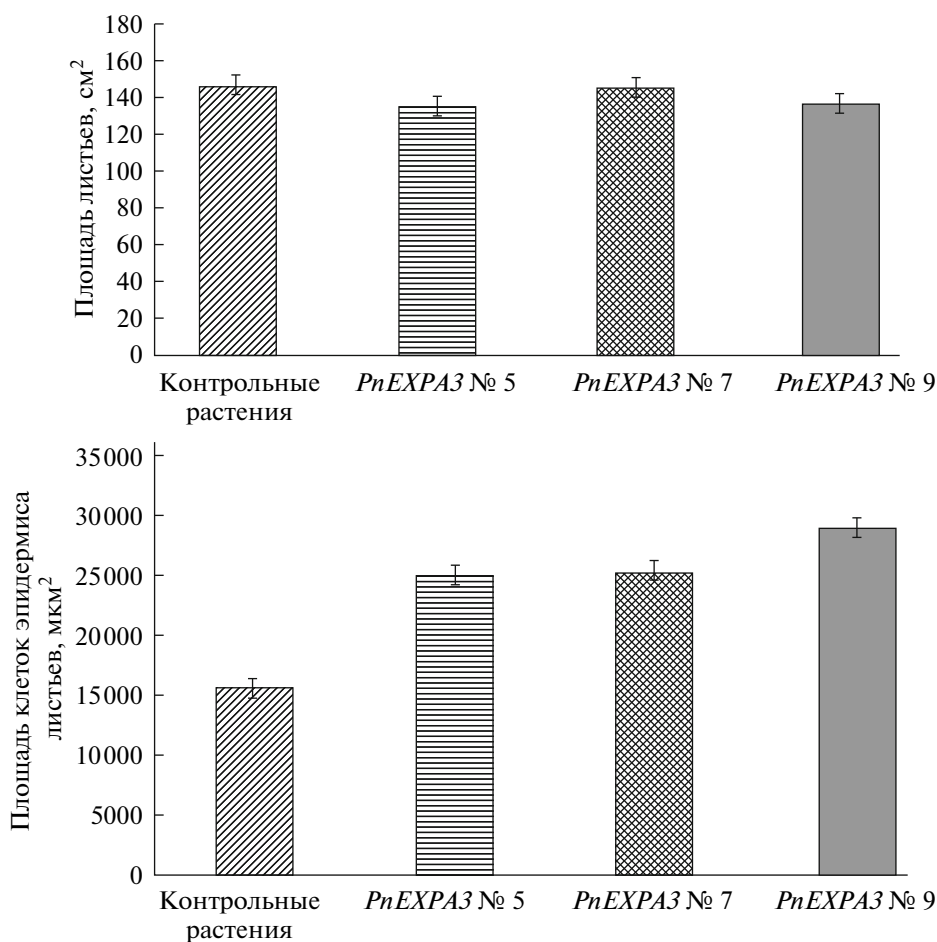


Рис. 3. Сравнительный анализ площади листьев и размеров клеток нижнего эпидермиса листьев контрольных и трансгенных по гену *PnEXPA3* растений табака.

прессия гена *AtEXPA10* стимулирует рост листьев (Cho, Cosgrove, 2000), а уровень экспрессии гена *PttEXPA3* наиболее высокий в листьях (Gray-Mitsumune et al., 2004). Ранее нами были получены трансгенные по гену *AtEXPA10* растения табака, при этом они отличились увеличением размеров листьев на 30–40% (Кулуев и др., 2012). Поэтому изначально предполагалось, что эктопическая экспрессия гена *PnEXPA3* в трансгенных растениях табака будет в первую очередь стимулировать рост листьев. Однако вопреки ожиданиям, по размерам листьев трансгенные и контрольные растения практически не отличались. Интересно отметить, что стебли у трансгенных по гену *PnEXPA3* растений табака были больше, чем у контрольных растений и сравнимы с трансгенными по генам *AtEXPA10* и *PnEXPA1* растениями табака (Кулуев и др., 2012). Отсюда можно сделать вывод о том, что эктопическая экспрессия гена *PnEXPA3* в первую очередь стимулирует именно рост стебля в длину, а на рост листьев практически не влияет.

Все полученные трансгенные растения отличались увеличением размеров клеток эпидермиса и паренхимы листьев. В среднем величина клеток увеличивалась на 60%, при этом размеры листьев у анализируемых растений оставались в пределах нормы.

Результаты наших исследований показывают, что ген *PnEXPA3* может быть применен для создания трансгенных растений с увеличенными размерами стебля, что может иметь практическое значение в лесной биотехнологии. Применение этого гена для увеличения размеров остальных органов ограничивается компенсаторным механизмом в растениях, направленным на поддержание гомеостаза. Для преодоления этих трудностей необходимо вместо конститутивных использование тканеспецифичных и индуцибельных промоторов, а также, наряду со сверхэкспрессией экспансинов, одновременно стимулировать транскрипцию и биосинтез транскрипционных факторов, регулирующих клеточное деление.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ моп-а № 12-04-31292.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гао К., Лю К., Лю И.Т. Специфическая роль АТЕХР1 при росте и адаптации растений *Arabidopsis* к стрессу // Физиология растений. 2010. Т. 57. № 2. С. 245–253.
- Кулуев Б.Р., Князев А.В., Лебедев Я.П. и др. Морфофизиологическая характеристика трансгенных растений табака, экспрессирующих гены экспансинов *AtEXPA10* арабидопсиса и *PnEXPA1* тополя // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 1. С. 108–117.
- Шарова Е.И. Экспансины — белки, размягчающие клеточные стенки в процессе роста и морфогенеза растений // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 6. С. 805–819.
- Azeez A., Sane A.P., Tripathi S.K. et al. The gladiolus *GgEXPA1* is a GA-responsive alpha-expansin gene expressed ubiquitously during expansion of all floral tissues and leaves but repressed during organ senescence // Postharvest Biology and Technology. 2010. V. 58. P. 48–56.
- Cho H.T., Cosgrove D.J. Altered expression of expansin modulates leaf growth and pedicel abscission in *Arabidopsis thaliana* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 9783–9788.
- Cosgrove D.J., Bedinger P.A., Durachko D.M. Group I allergens of grass pollen as cell wall loosening agents // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 6559–6564.
- Cosgrove D.J. Cell wall loosening by expansins // Plant Physiol. 1998. V. 118. P. 333–339.
- Fry S.C., Smith R.C., Renwick K.F. et al. Xyloglucan endotransglycosylase, a new wall-loosening enzyme activity from plants // Biochem. J. 1992. V. 282. P. 821–828.
- Gray-Mitsumune M., Mellerovicz E.J., Abe H. et al. Expansins abundant in secondary xylem belong to subgroup A of the α -expansin gene family // Plant Physiol. 2004. V. 135. P. 1552–1564.
- Gray-Mitsumune M., Blomquist K., McQueen-Mason S. et al. Ectopic expression of a wood-abundant expansin PttEXPA1 promotes cell expansion in primary and secondary tissues in aspen // Plant Biotechnol. J. 2008. V. 6. P. 62–72.
- Lee Y., Choi D., Kende H. Expansins: over-expanding numbers and functions // Curr. Opin. Plant Biol. 2001. V. 4. P. 527–532.
- McQueen-Mason S., Durachko D., Cosgrove D.J. Two endogenous proteins that induce cell wall extension // Plant Cell. 1999. V. 4. P. 1425–1433.
- Park C.H., Kim T.W., Son S.H. et al. Brassinosteroids control *AtEXPA5* gene expression in *Arabidopsis thaliana* // Phytochemistry. 2010. V. 71. P. 380–387.
- Rayle D., Cleland R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well // Plant Physiol. 1992. V. 99. P. 1271–1274.
- Sampedro J., Cosgrove D.J. The expansin superfamily // Genome Biol. 2005. V. 6. P. 242.1–242.11.

Morphological Analysis of Transgenic Tobacco Plants Expressing the *PnEXPA3* Gene of Black Poplar (*Populus nigra*)

B. R. Kuluev, M. G. Safiullina, A. V. Knyazev, and A. V. Chemeris

Institute of Biochemistry and Genetics, Scientific Center of Ufa, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia
e-mail: kuluev@bk.ru

Abstract—Transgenic tobacco plants overexpressing the *PnEXPA3* gene of black poplar (*Populus nigra*), which encodes α -expansin, were obtained. The transgenic plants were characterized by increased size of epidermic and mesophyll cells of leaves. However, the size of leaves remained normal. Overexpression of the *PnEXPA3* gene provided stimulatory effect only on the stem length. Other morphological traits of the transgenic plants remained unchanged.

Keywords: expansins, cell stretching, organ size, *PnEXPA3*, overexpression, transgenic plants, *Nicotiana tabacum*, *Populus nigra*.