

NHÂN DÒNG VÀ PHÂN TÍCH YẾU TỐ TÁC ĐỘNG *Cis* CỦA PROMOTER *E8* TỪ CÀ CHUA (*Lycopersicon esculentum* L.)

La Việt Hồng^{1*}, Lê Hoàng Đức², Lê Văn Sơn², Phạm Bích Ngọc², Chu Hoàng Hà²

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, *laviethong.sp2@gmail.com

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Promoter gồm một trình tự nucleotide phía đầu 5' của điểm khởi đầu phiên mã gen cấu trúc, đóng vai trò then chốt trong việc biểu hiện gen. Ở cà chua, promoter *E8* được điều khiển bởi ethylene và hoạt động của promoter này thúc đẩy hoạt động các gen liên quan đến quá trình chín của quả. Nghiên cứu này trình bày các kết quả về phân lập, nhân dòng và phân tích yếu tố điều hòa *cis* của promoter *E8* từ giống cà chua PT18 phục vụ cho nghiên cứu thiết kế vector biểu hiện gen ở quả cà chua. Promoter *E8* phân lập được có chiều dài 2203 bp và mang đầy đủ các yếu tố tác động *cis* của một promoter điển hình như hộp TATA, hộp CAAT, hộp GATA. Ngoài ra, promoter này còn chứa 2 vùng điều hòa biểu hiện đặc hiệu ở quả. Trình tự nucleotide của promoter *E8* phân lập được có độ tương đồng cao khi so sánh với các trình tự promoter *E8* khác đã được công bố và đăng ký trên Ngân hàng Gen quốc tế (mã số KJ561284). Đây là cơ sở rất tốt cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm thiết kế vector chuyển gen có mang promoter *E8* đặc hiệu ở quả mà chúng tôi đã nhân dòng thành công trong nghiên cứu này.

Từ khóa: Cà chua, hộp CAAT, hộp GATA, hộp TATA, promoter, yếu tố tác động *cis*.

MỞ ĐẦU

Promoter là một trình tự nucleotide phía đầu 5' của điểm khởi đầu phiên mã, đóng vai trò then chốt trong việc biểu hiện gen. Promoter có cấu trúc rất phức tạp và chứa nhiều yếu tố đặc trưng tham gia điều hòa sự biểu hiện gen ở mức phiên mã [10]. Các trình tự nucleotide nằm trên promoter đảm bảo vị trí nhận biết của protein điều hòa biểu hiện gen gọi là các yếu tố *cis* [1, 5]. Yếu tố *cis* quan trọng nhất là hộp TATA, giúp RNA polymerase gắn chính xác vào điểm khởi đầu phiên mã. Ngoài ra, hộp CAAT tham gia cung cấp thông tin vị trí gắn cho RNA polymerase [10]. Promoter đặc hiệu điều khiển sự biểu hiện các gen quan tâm ở các mô nhất định trong cơ thể thực vật hoặc ở các giai đoạn phát triển nhất định của cây. Tuy nhiên, sự biểu hiện đặc hiệu chỉ thường đạt được đối với các promoter được phân lập từ các đối tượng nghiên cứu có quan hệ họ hàng gần như cùng loài, chi hoặc họ. Điều này có thể là do tương tác của các yếu tố phiên mã đến sự điều hòa hoạt động của các promoter [10].

E8 là gen hoạt động ở mức cao trong suốt quá trình chín của quả, sự biểu hiện của gen này được điều khiển bởi ethylene ở mức độ phiên mã [4, 11, 12]. Promoter *E8* được chứng minh

bao gồm một số yếu tố tác động *cis* (*cis*-acting elements) đóng vai trò điều hòa sự biểu hiện của gen *E8* [2, 3, 4]. Bằng cách gây một loạt các đột biến mất đoạn trên promoter *E8*, Deikman et al. (1998) [4] đã tìm ra vị trí của yếu tố tác động *cis* phản ứng với ethylene nằm ở khoảng -2181 đến -1088 trong vùng biên đầu 5' của gen *E8*. Hai vùng khác, từ -1088 đến -863 và từ -409 đến -263, tuy không được xem là trình tự cảm ứng ethylene nhưng biểu hiện đặc hiệu trong suốt giai đoạn chín của quả. Promoter *E8* đã được sử dụng rộng rãi như một promoter đặc hiệu ở quả để cải thiện chất lượng quả cà chua hoặc biểu hiện các protein được phẩm tái tổ hợp trong cà chua chuyển gen [6, 7, 8].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập, nhân dòng và phân tích yếu tố tác động *cis* của promoter *E8* từ cây cà chua, đây là nguyên liệu để thiết kế các vector biểu hiện protein tái tổ hợp ở quả cà chua cũng như ở các loài thực vật khác.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu sử dụng là lá cà chua giống PT18 do Viện Rau quả Trung ương cung cấp. Vector nhân dòng pBT, hóa chất, thiết bị sử dụng trong phân tích sinh học phân tử do Phòng Công nghệ

tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học cung cấp.

Thiết kế các môi đặc hiệu để phân lập promoter E8

Trên cơ sở trình tự nucleotide của promoter E8 trên Ngân hàng Gen quốc tế mã số AF515784.1, cặp môi đặc hiệu được thiết kế để nhân đoạn promoter nghiên cứu bằng phần mềm Bioedit (version 7.0.5.3) [9].

Tách chiết và tinh sạch DNA tổng số từ lá cà chua

DNA tổng số được tách từ các mẫu lá cà chua theo phương pháp CTAB của Xin & Chen (2012) [13]. Xác định độ tinh sạch và nồng độ DNA tổng số bằng máy Nanodrop lite (Thermo scientific, Hoa Kỳ).

Phân lập promoter E8 bằng kỹ thuật phản ứng chuỗi trùng hợp PCR

Promoter E8 được phân lập từ DNA tổng số tách từ lá cà chua bằng kỹ thuật PCR với cặp môi đặc hiệu. Thành phần phản ứng bao gồm: Master Mix 2X (Promega, Hoa Kỳ): 12,5 µl, môi xuôi (50 ng/µl): 1 µl; môi ngược (50 ng/µl): 1 µl, DNA (50 ng/µl): 1 µl và nước khử ion vô trùng: 9,5 µl. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy Veriti 96 well thermal cycler (AB Applied Biosystems, Thermo scientific, Hoa Kỳ) với: 94°C (5 phút); 30 chu kỳ: 94°C (1 phút), 54°C (1 phút), 72°C (2 phút); 72°C (10 phút). Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8% (w/v).

Nhân dòng và xác định trình tự promoter E8

Sản phẩm phản ứng PCR khuếch đại promoter E8 được tinh sạch bằng bộ kit AccuPrep® Gel Purification (Bioneer, Hàn Quốc). Sau khi tinh sạch, promoter E8 được ghép nối vào vector nhân dòng pBT. Vector nhân dòng pBT-E8 được biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* chủng DH5α bằng phương pháp sốc nhiệt và được cấy trên môi trường chọn lọc LB có bổ sung kháng sinh carbenicillin 50 mg/l, IPTG 100 µM và X-gal 40 mg/l. Kiểm tra kết quả biến nạp vector pBT-E8 trong *E. coli* bằng phản ứng colony-PCR sử dụng cặp môi M13_F/R. Các khuẩn lạc mang vector pBT-E8 được nuôi lắc trong 4 ml môi trường LB lỏng bổ sung kháng sinh qua đêm ở 37°C. Tách chiết plasmid

bằng bộ kit QIAprep Spin Miniprep (Qiagen, Đức) và kiểm tra sự có mặt của E8 trong vector pBT-E8 bằng PCR sử dụng cặp môi M13_F/R. Trình tự nucleotide của promoter E8 được xác định bằng máy giải trình tự ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam.

Phân tích promoter E8

Phân tích mức độ tương đồng của promoter E8 phân lập được với trình tự nucleotide của promoter E8 đã công bố (mã số AF515784.1) bằng công cụ BLAST trên Ngân hàng Gen quốc tế [15], xác định yếu tố tác động *cis* (hộp TATA, hộp CAAT, hộp GATA, các vùng biểu hiện đặc hiệu ở quả) của promoter E8 thông qua cơ sở dữ liệu phân tích chuyên dụng về promoter thực vật [14, 15].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thiết kế các cặp môi đặc hiệu để khuếch đại promoter E8

Dựa vào trình tự nucleotide vùng biên đầu 5' của promoter E8 (AF515784.1), cặp môi đặc hiệu được thiết kế để nhân toàn bộ promoter E8 như mô tả ở hình 1.

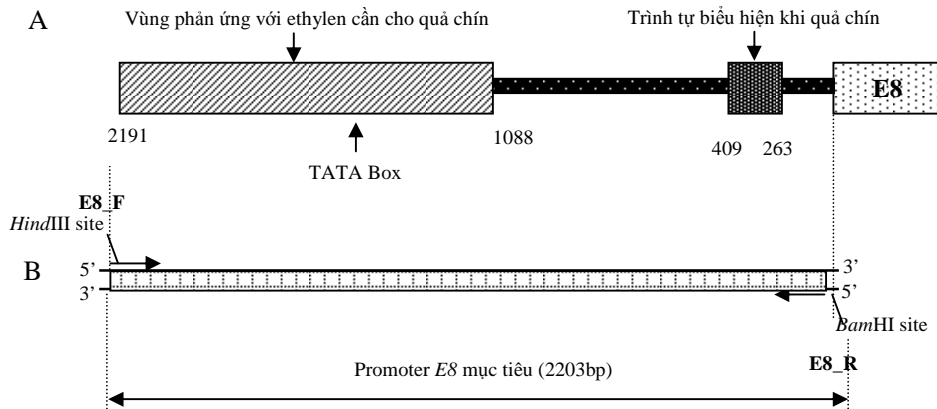
Môi xuôi (E8_F) có kích thước 29 nucleotide, nhiệt độ nóng chảy là 63,5°C và tỷ lệ GC là 31%, còn môi ngược (E8_R) có chiều dài 29 nucleotide nhiệt độ nóng chảy là 67,1°C và tỷ lệ GC là 41,4%. Theo tính toán lý thuyết, promoter E8 được nhân với cặp môi E8_F và E8_R sẽ có kích thước 2191 bp. Ngoài ra, để thuận lợi khi nối ghép đoạn promoter trên vào vector chuyên gen trong các thí nghiệm tiếp theo, trình tự nhận biết của cặp enzyme cắt giới hạn *HindIII* và *BamHI* được thiết kế bổ sung vào đầu 5' của môi E8_F và môi E8_R theo thứ tự tương ứng.

Phân lập promoter E8 bằng kỹ thuật PCR

Căn cứ vào nhiệt độ nóng chảy của môi được thiết kế, chúng tôi dự tính nhiệt độ gắn môi là ở nhiệt độ 58°C. Sử dụng cặp môi này thực hiện phản ứng khuếch đại promoter E8. Điện di kiểm tra sản phẩm được thể hiện ở hình 2. Phân tích kết quả cho thấy ở giếng 1 xuất hiện một băng DNA đặc hiệu và sắc nét, có kích

thước đúng như tính toán (khoảng 2,1 kb). Điều này khẳng định, promoter *E8* đã được khuếch

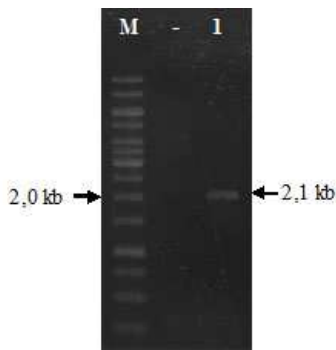
đại thành công bằng cặp mồi đặc hiệu và chu trình nhiệt phù hợp.



Hình 1. A. Sơ đồ promoter của gen *E8* (theo Deikman et al. 1998) [4] và vùng biên đầu 5' của promoter *E8* (AF515784.1); B. Sơ đồ promoter *E8* mục tiêu phân lập.

Bảng 1. Trình tự nucleotide của cặp mồi để khuếch đại promoter *E8*

Tên	Trình tự mồi	Kích thước
E8_HinIII_F	5'- <u>AAGCTT</u> CCCTAATGATATTGTTTCATGTA-3'	29 bp
E8_BamHI_R	5'- <u>GGATCC</u> CTTCTTTTGCCTGTGAATGATT-3'	29 bp

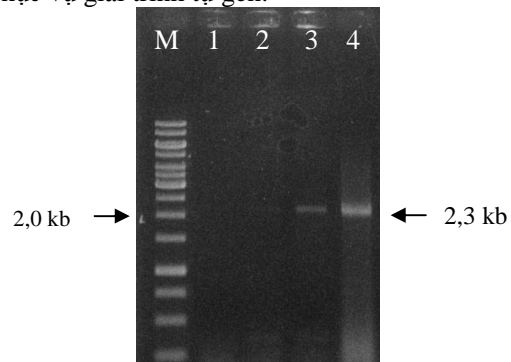


Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại promoter *E8* trên gel agarose 0,8% (w/v); M: thang DNA chuẩn 1 kb (Fermentas). (-): đối chứng âm, 1: sản phẩm PCR

Nhân dòng promoter *E8*

Sản phẩm phân lập promoter *E8* được ghép nối với vector pBT tạo vector tái tổ hợp pBT-*E8*, vector này được đồng hóa bằng chủng *E. coli* DH5 α . Trên môi trường chọn lọc, 4 khuẩn lạc trắng bất kỳ được chọn để kiểm tra sự có mặt của vector pBT-*E8*. Sản phẩm được kiểm tra trên gel agarose 0,8% được thể hiện ở hình 3. Phân tích cho thấy, tại đường chạy số 3

và 4 xuất hiện băng DNA có kích thước khoảng 2,3 kb tương ứng với kích thước của promoter *E8* (2,1 kb) và vector pBT do cặp mồi M13_F/R khuếch đại thêm (250 bp). Điều này, khẳng định promoter *E8* đã được đồng hóa thành công vào vector pBT. Hai dòng khuẩn lạc số 3 và 4 được chọn để làm nguyên liệu tách chiết plasmid phục vụ giải trình tự gen.



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm colony-PCR sử dụng cặp mồi M13_F/R trên gel agarose 0,8% (w/v) M. thang DNA chuẩn 1 kb (Fermentas); 1, 2, 3, 4: tương ứng với khuẩn lạc.

Phân tích trình tự nucleotide và các yếu tố điều hòa cis của promoter E8

Kết quả xác định trình tự nucleotide cho thấy, promoter E8 được nhân dòng từ giống cà chua PT18 có kích thước 2203 bp, tương ứng với kích thước dự tính khi thiết kế môi. So sánh

trình tự nucleotide của promoter E8 với các trình tự đã được công bố với các trình tự promoter E8 trên Ngân hàng Gen quốc tế bằng công cụ BLAST, chúng tôi thu được kết quả trình bày trên bảng 2.

Bảng 2. Kết quả so sánh trình tự promoter E8 phân lập được với các trình tự promoter E8 đã công bố

Mã số	Tên promoter/gen	Mức độ so sánh	Giá trị E	Mức độ tương đồng
AF515784.1	Lycopersicon esculentum ethylene-responsive fruit ripening gene and 5'UTR, partial sequence	99%	0,0	99%
DQ317599.1	Lycopersicon esculentum ethylene-responsive fruit ripening (E8) gene, promoter and 5' flanking region	97%	0,0	99%

Qua bảng 2 có thể thấy, trình tự nucleotide promoter E8 thu được có mức độ tương đồng cao với trình tự nucleotide của promoter E8 mã số AF515784.1 và DQ317599.1 là 99%. Tiếp

tục phân tích trình tự cis của promoter E8 thu được bằng cách dùng cơ sở dữ liệu phân tích chuyên dụng PLACE (Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements) (hình 4).

```

aagctttcctaataatgatattgttcatgtaattaagttttgtggaagtgagagagtccaat 60
HindIII
tttgataagaaaagaggtcagaaaacgtaataatTTTTAAAAGTCTAAATCTTCTACAAATA 120
agagcaaattttattttatttttaataccaataaatattaatggaggacaaattcaattcac 180
ttgggtgtgaaaataaacttaaaccaataaccaagaactaataaatcctgaagtggaatt 240
attaaggataaatgtacatagacaatgaagaaataataggttcgatgaattaataataat 300
taaggatgttacaaatcatcatgtgccaagtatatacacaatattctatgggatttataat 360
ttcgttacttcacttaacttttgcgtaataaaaacgaattatctgatattttataataaa 420
acagtttaagaaccatcatttttaacaacatagatatatttttctaatagttttaatt 480
gatacttttaaatcttttaaattttatgtttcttttagaaaataaaaattcaaaaatta 540
aatatattttacaaaactacaatcaaacacaacttcatatattaaaagcaaaatataatt 600
tgaaaatttcaagtgtcctaacaaataagacaagaggaaaatgtacgatgagagacataa 660
agagaactaataattgaggagtcctataatataataaaagtttattagtaaaacttaatt 720
attaaggactcctaaaatataatgataggagaaaatgaatggtgagagatattgaaaact 780
taataattaaggatttttaaaatataatggtaaaagataggcaaagtatccattatcccct 840
ttaacttgaagtctactaggcgcagtgtgaaagttgatTTTTTGTGTCACGTCATATAGCTAT 900
aacgtaaaaaaaagaaagtaaaatttttaatttttttaatatatgacataattttaaacga 960
aatataggacaaaatgtaaatgaatagtaaaggaaacaaagattaataacttactttgttaa 1020
gaatttaagataaaatttaaaatttaataagatcaactttacgtctagaaagaccctatctt 1080
agaaggaatttcagaaatcggccctttttcaaaaataacttttaaaataatgaattttaaa 1140
ttttaagaaataatttccaatgaataaatgacatgtagcattttacctaataatttcaac 1200
tattttaatccaatattaatttgtttattccaacaatagaaagtcttgtgcagacattt 1260
aatctgacttttccagtaactaaatattaattttctgaagattttcgggttttagtccaca 1320
gttttagtgagaagttttgctcaaaatTTTAGGTGAGAAGGTTTGATATTATCTTTTGT 1380
taaattaatttatctaggtgactattattttatttaagtagaaattcatatcattactttt 1440
gccaacttgtagtcataataggagtaggtgtatatgatgaaggaataaacaagttcagtg 1500
aagtgattaaaataaaatataatTTTAGGTGTACATCAATAAAAACTTAAAGTTTAGAA 1560
aggcaccgaataattttgcatagaagatattagtaaatTTATAAAAAATAAAGAAATGTA 1620
    
```

gttgtcaagttgtccttctttttttggataaaaaatagcagttggcttatgtcattctttt	1680
acaacctccatgcccacttgctc CAAT tgttgacacttaactaattagtttgattcatgtat	1740
CAAT box	
gaactactaaataatTTTTtaggactgactcaaatTTTTtatattatcatagtaaatattt	1800
atctaattTTTTtaggaccacttattactaaataataaattaactactactatattattggt	1860
gtgaaacaacaacgTTTTggttggtatgatgaaacgtacactatatacagtatgaaaaatt	1920
caaacgattagtagtataaattat attgaaaatttGATA TTTTTctattcttaatcagacgt	1980
GATA box	
attgggtttcatattttaaaggactaaacttagaagagaagtttgtttgaaactact	2040
tttgtctctttcttctgttcccatttctctcttagatttcaaaaagtgaactactttatctc	2100
tttctttggttcacattttattttattctatTATAAATatggcatcctcatattgagattt	2160
TATA box	
ttagaaat tatttctaattcattcacagtgcaaaaagaaggatcc	2203
BamHI	

Hình 4. Kết quả phân tích trình tự nucleotide của promoter *E8* từ giống cà chua PT18

Kết quả xác định trình tự *cis* của promoter *E8* được nhân dòng từ giống cà chua PT18 có mang đầy đủ trình tự *cis* của một promoter điển hình gồm (theo hướng 5' của promoter *E8*): hộp CAAT (vị trí 1702 đến 1705 bp), hộp GATA (vị trí 1954 đến vị trí 1957 bp) và hộp TATA (vị trí từ 2131 đến 2139 bp). Vị trí hộp TATA của promoter *E8* thu được tương đương với vị trí hộp TATA (từ 2127 đến 2135 bp) của promoter *E8* đã công bố (AF515784.1). Ở đầu 5' và 3' của promoter *E8* đã phân lập được có mang thêm trình tự nhận biết của cặp enzyme cắt giới hạn *Hind*III (AAGCTT) và *Bam*HI (GGATCC). Ngoài ra, promoter *E8* thu được còn có hai vùng biểu hiện đặc hiệu ở quả (vùng phản ứng với ethylen) được thể hiện ở hình 4 (in đậm, gạch chân): vùng 1 từ vị trí 1343 đến 1489 bp, vùng 2 từ vị trí 1943 đến 2168 bp, kết quả này cũng phù hợp với công bố trước đây của Deikman et al. (1992, 1998) [3, 4]. Kết quả này khẳng định trình tự promoter *E8* phân lập được chính là promoter *E8* của giống cà chua PT18. Trình tự nucleotide của promoter *E8* trong nghiên cứu này đã được đăng ký trên Ngân hàng Gen quốc tế với mã số KJ561284.

KẾT LUẬN

Nhân dòng thành công promoter *E8* từ giống cà chua PT18 với mức độ chính xác, độ tương đồng cao với trình tự nucleotide của promoter *E8* đã công bố có mã số AF515784.1 và DQ317599.1 trên Ngân hàng Gen quốc tế. Promoter *E8* thu được có đầy đủ các yếu tố tác

động *cis* quan trọng của một promoter điển hình ở thực vật: hộp TATA, CAAT và GATA. Đây là nguyên liệu rất tốt cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm thiết kế vector chuyển gen biểu hiện đặc hiệu ở quả cà chua cũng như ở các đối tượng thực vật khác.

Lời cảm ơn: Công trình được sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu sản xuất protein tái tổ hợp trong cây cà chua chuyển gen”, mã số VAST 02.01/13-14.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buchanan D. C., Klein P. E., Mullet J. E., 2004. Phylogenetic analysis of 5'-noncoding regions from the ABA-responsive *rab* 16/17 gene family of sorghum, maize and rice provides insight into the composition, organization and function of cis-regulatory modules. *Genetics.*, 168: 1639-1654.
2. Deikman J., Fischer R. L., 1988. Interaction of a DNA binding factor with the 5'-flanking region of an ethylene-responsive fruit ripening gene from tomato. *EMBO J.*, 7: 3315-3320.
3. Deikman J., Kline R., Fischer R. L., 1992. Organization of ripening and ethylene regulatory regions in a fruit-specific promoter from tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Physiol.*, 100: 2013-2017.
4. Deikman J., Xu R., Kneissl M. L., Ciardi J.

- A., Kim K. N., Pelah D., 1998. Separation of cis elements responsive to ethylene, fruit development, and ripening in the 5'-flanking region of the ripening-related E8 gene. *Plant Mol. Biol.*, 37: 1001-1011.
5. Etienne J., Brault D., Firmin S., 1998. "Cis" and "trans" regulator elements of transcription. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 48(10): 681-694.
 6. Garza R. D., Quinlivan E. P., Klaus S. M. J., Basset G. J. C., Gregory J. F., Hanson A. D., 2004. Folate biofortification in tomatoes by engineering the pteridine branch of folate synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 101: 13720-13725.
 7. Giovannoni J. J., DellaPenna D., Bennett A. B., Fischer R. L., 1989. Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic in (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide degradation but not fruit softening. *Plant Cell*, 1: 53-63.
 8. Good X., Kellogg J. A., Wagoner W., Langhoff D., Matsumura W., Bestwick R. K., 1994. Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase. *Plant Mol. Biol.*, 26: 781-790.
 9. Hall T. A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp.*, 41:95-98.
 10. Lê Thị Thu Hiền, Trần Thị Phương Liên, Nông Văn Hải, 2007. Tổng quan về promoter và ứng dụng trong công nghệ gen thực vật. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 5(1): 1-18.
 11. Kneissl M. L., Deikman J., 1996. The tomato E8 gene influences ethylene biosynthesis in fruit but not in flowers. *Plant Physiol.*, 112: 537-547
 12. Lincoln J. E., Cordes S., Read E., Fischer R. L., 1987. Regulation of gene expression by ethylene during *Lycopersicon esculentum* (tomato) fruit ripening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84: 2793-2797.
 13. Xin Z., Chen J., 2012. A high throughput DNA extraction method with high yield and quality. *Plant Methods*, 8:26.
 14. <http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE>.
 15. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>.

CLONING AND ANALYSING OF *Cis*-ACTING ELEMENTS IN THE *E8* PROMOTER FROM TOMATO (*Lycopersicon esculentum* L.)

La Viet Hong¹, Le Hoang Duc², Le Van Son²,
Pham Bich Ngoc², Chu Hoang Ha²

¹Hanoi Pedagogical University No.2

²Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Promoter is a sequence located at the 5' end upstream of the gene, that plays a key role in gene expression. In tomato, the *E8* gene is highly expressed during fruit ripening, and is controlled by *E8* promoter. *E8* promoter includes the *cis*-acting elements responding to ethylene or receiving independent signals of ethylene for fruit ripening. This study presents results of *E8* promoter cloning and sequencing from the tomato cultivar PT18 for construction of vector to express target gene in tomato. The obtained data showed that the *E8* promoter has 2203 bp in length and carries a full range of *cis*-acting elements similar to a typical promoter such as TATA box, box CAAT and GATA box. Furthermore, this promoter contains two fruit-ripening regulatory regions. Nucleotide sequences of *E8* promoter had high similarity when compared with other *E8* promoter sequences in Genebank. In addition, the nucleotide sequence of *E8* promoter was

submitted in Genbank with the accession number KJ561284. The results is the foundation that will contribute a fundamental basis for further researches in order to construct expression vector carrying *E8* promoter in gene transfer of plants.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*, CAAT box, cis-acting elements, GATA box, TATA box.

Ngày nhận bài: 27-1-2014