

Nhân dòng Promoter và Terminator *Heat Shock Protein 18.2* từ *Arabidopsis Thaliana* làm nguyên liệu thiết kế vector biểu hiện gen ở thực vật

La Việt Hồng^{1,2,*}, Phạm Bích Ngọc¹, Chu Hoàng Hà¹

¹Viện Công nghệ Sinh học, 144 Xuân Thủy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

Nhận ngày 07 tháng 01 năm 2015

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 01 năm 2015; Chấp nhận đăng ngày 18 tháng 03 năm 2015

Tóm tắt: Promoter *HSP 18.2* và terminator *HSP 18.2* tham gia điều hòa hoạt động của protein sốc nhiệt *HSP 18.2*, hoạt động của promoter được cảm ứng bởi nhiệt độ. Nghiên cứu này trình bày các kết quả nhân dòng promoter và terminator *HSP 18.2* từ *Arabidopsis thaliana*. Promoter *HSP 18.2* phân lập được có chiều dài 720 bp và mang đầy đủ các yếu tố điều hòa cis của promoter điển hình: hộp CAAT (vị trí 39-42), 2 hộp GATA (vị trí 73-76 và 406-409) và hộp TATA (vị trí 643-649). Ngoài ra, promoter *HSP 18.2* thu được còn có sáu vùng cảm ứng với nhiệt độ: vị trí 482-495, 492-505, 502-515, 549-562, 559-572 và 600-613. Terminator *HSP 18.2* có chiều dài 250 bp, vị trí đuôi poly A là ở nucleotide 158. Hai trình tự này đã được đăng ký trên ngân hàng Gen với mã số lần lượt KM083119 và KP008108. Các trình tự này nguyên liệu rất tốt cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm thiết kế vector biểu hiện hiệu quả protein tái tổ hợp ở thực vật. Terminator *HSP 18.2* có chiều dài 250 bp mang poly A ở vị trí nucleotide 158. Hai trình tự này đã được đăng ký trên ngân hàng Gen với mã số lần lượt KM083119 và KP008108. Các trình tự này nguyên liệu rất tốt cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm thiết kế vector biểu hiện hiệu quả protein tái tổ hợp ở thực vật.

Từ khóa: *Arabidopsis*, biểu hiện, promoter, tái tổ hợp, terminator.

1. Mở đầu

Sử dụng thực vật như nhà máy sinh học để sản xuất các hợp chất cần thiết cho con người là một xu hướng phát triển tiềm năng của công nghệ sinh học. Các hợp chất được sản xuất trong thực vật như protein tái tổ hợp, vaccine, các hợp chất thứ cấp [1]. Thực vật được xem là hệ thống biểu hiện protein tái tổ hợp với nhiều ưu điểm so với hệ thống biểu hiện vi khuẩn, dòng tế bào động vật có vú, động vật chuyển

gen... thể hiện ở chi phí sản xuất thấp, khả năng mở rộng quy mô sản xuất cao, các hợp chất được tạo ra có mức độ an toàn cao, không bị ô nhiễm, ở thực vật có quá trình cải biến sau dịch mã cần thiết cho hoạt tính của nhiều hợp chất [2]. Tuy nhiên, một trong những nhược điểm của hệ thống biểu hiện thực vật đó là mức độ biểu hiện của gen thấp, mức độ tích lũy của sản phẩm đích không cao, do vậy các nghiên cứu hiện nay tập chung vào tăng mức độ biểu hiện của protein tái tổ hợp [3].

Sự biểu hiện của gen đích trong hệ thống thực vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố trong đó có promoter (gen khởi động) và terminator (yếu tố

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-973376668.
Email: laviethong@hpu2.edu.vn

kết thúc) được sử dụng. 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 đích, giúp xác định về thời gian, vị trí và mức độ biểu hiện của gen đích [2]. 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 [4]. Các yếu tố *cis* quan trọng nhất của promoter gồm hộp TATA, GAGA và CCAAT đảm bảo cho quá trình phiên mã diễn ra chuẩn xác. Promoter sốc nhiệt *HSP 18.2* (heat shock *protein promoter*) khởi động phiên mã của gen *HSP 18.2* của cây *Arabidopsis*, hoạt động của promoter này được cảm ứng bởi nhiệt độ. Nhiều nghiên cứu đã sử dụng promoter này để nghiên cứu phản ứng sốc nhiệt trên cây thuốc lá chuyển gen cho thấy hoạt động của gen β -glucuronidase được tăng cường khi cây gặp điều kiện sốc nhiệt [5-7]. Sự biểu hiện của gen đích cũng phụ thuộc vào trình tự đầu 3' không dịch mã và terminator. Các terminator khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến mức độ biểu hiện của gen [8,9]. Sử dụng *HSP 18.2* terminator làm tăng mức độ biểu hiện của miraculin tái tổ hợp cao hơn gấp 10 lần so với *NOS* terminator [10]. Các thể đột biến gen của nhiều loài thực vật và virus đã cho thấy terminator của thực vật gồm ba yếu tố chính: yếu tố ngược dòng xa (FUEs-Far Upstream Element), yếu tố ngược dòng gần (NUEs-Near Upstream Elements, có motif giống như AAUAAA) và vị trí polyadenyl hóa.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nhân dòng promoter và terminator *HSP 18.2* từ cây *Arabidopsis* nhằm tạo nguồn nguyên liệu di truyền để thiết kế các vector tăng cường biểu hiện protein tái tổ hợp trong thực vật.

2. Vật liệu và phương pháp

Vật liệu

Cây *Arabidopsis thaliana* kiểu dại (Col 0), vector nhân dòng pBT, chủng vi khuẩn nhân dòng *E.coli* DH5 α , 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.

Phương pháp

Thiết kế các cặp môi đặc hiệu để phân lập promoter và terminator *HSP 18.2*

Sử dụng phần mềm Bioedit [11] và các trình tự nucleotide trên ngân hàng gen quốc tế NCBI để thiết kế cặp môi đặc hiệu cho phân đoạn gen quan tâm. Để thuận lợi cho việc thiết kế vector chuyển gen sau này, chúng tôi đã gắn thêm vị trí cắt của enzym giới hạn *HindIII* trên môi xuôi và *BamHI* trên môi ngược ở đầu 5' của cặp môi nhân phân đoạn promoter *HSP 18.2* (*pHSP*). Tương tự, vị trí cắt của enzym giới hạn *SacI* và *EcoRI* được gắn vào môi xuôi và môi ngược ở đầu 5' của cặp môi nhân phân đoạn terminator *HSP 18.2* (*tHSP*) (Bảng 1).

Bảng 1. Trình tự nucleotide được sử dụng để thiết kế cặp môi, trình tự nucleotide của cặp môi và kích thước lý thuyết của phân đoạn gen promoter và terminator *HSP 18.2*

| Phân đoạn gen | Trình tự nucleotide được sử dụng | Kí hiệu môi | Trình tự cặp môi đặc hiệu | Kích thước gen lý thuyết (bp) |
|---|--|----------------------|---|-------------------------------|
| Promoter <i>HSP 18.2</i> (<i>pHSP 18.2</i>) | CP002688.1, AB006705.2, X17295.1 | pHSP_F pHSP_R | 5' <i>aagctt</i> ATGGTCATTTCT TCTGGTTC AAG 3' 5' <i>cctagg</i> TGTTCTGTTGCTT TTCGGGGAGACT 3' | 732 bp ^(*) |
| Terminator <i>HSP 18.2</i> (<i>tHSP 18.2</i>) | Theo trình tự <i>HSP 18.2</i> terminator của Nagaya S <i>et al</i> (2009) [12] | tHSP_F tHSP_R | 5' <i>gagctc</i> ATATGAAGATG AAGATGAAA 3' 5' <i>gaattc</i> CCTATCTTTAAT CATATTCC 3' | 262 bp ^(*) |

^(*) kích thước của promoter và terminator gồm cả trình tự nucleotide của enzym cắt giới hạn.

Tách chiết và tinh sạch DNA tổng số từ lá Arabidopsis

DNA genome được tách từ các mẫu lá *Arabidopsis* theo phương pháp CTAB. Xác định độ tinh sạch và nồng độ DNA tổng số bằng máy Nanodrop lite (Thermo scientific).

Phân lập promoter và terminator HSP 18.2 bằng kỹ thuật phản ứng chuỗi trùng hợp PCR

Promoter và terminator *HSP 18.2* được phân lập từ DNA tổng số tách từ lá *Arabidopsis* bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu. Thành phần phản ứng bao gồm: Master Mix (Promega, Hoa Kỳ) 2X: 12,5 μ l, mồi xuôi (50 ng/ μ l): 1 μ l; mồi ngược (50 ng/ μ l): 1 μ l, DNA (50 ng/ μ l): 1 μ l và nước đệm ion vô trùng: 9,5 μ l. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy Veriti 96 well thermal cycler (AB Applied Biosystems, Thermo scientific) với: 94 $^{\circ}$ C (3 phút); 30 chu kỳ: 94 $^{\circ}$ C (30 giây), 54 $^{\circ}$ C (1 phút), 72 $^{\circ}$ C (45 giây); 72 $^{\circ}$ 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 nucleotide của promoter và terminator HSP 18.2

Sản phẩm phản ứng PCR phân lập phân đoạn promoter và terminator *HSP 18.2* được tinh sạch bằng bộ kit AccuPrep[®] Gel Purification (Bioneer, Hàn Quốc). Sau đó, promoter và terminator *HSP 18.2* được ghép nối vào vector nhân dòng pBT. Vector nhân dòng pBT-pHSP (18.2) hoặc pBT-tHSP (18.2) được biến nạp vào chủng vi khuẩn *E. coli* chủng DH5 α bằng phương pháp sốc nhiệt và được cấy trải trên môi trường chọn lọc LB có bổ sung kháng sinh carbenicillin 50 mg/l, IPTG 100 μ M và X-gal 40 mg/l. Các khuẩn lạc sống sót trên môi trường chọn lọc được nuôi lắc trong 4 ml môi trường LB lỏng bổ sung kháng

sinh qua đêm ở 37 $^{\circ}$ C. Tách chiết plasmid bằng bộ kit QIAprep Spin Miniprep và kiểm tra sự có mặt của promoter và terminator *HSP 18.2* trong vector bằng phản ứng cắt enzym giới hạn. Trình tự nucleotide của promoter và terminator *HSP 18.2* được xác định bằng máy giải trình tự ABI PRISM[®] 3100 Avant Genetic Analyzer tại phòng Thí nghiệm trọng điểm và Công nghệ gen, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam.

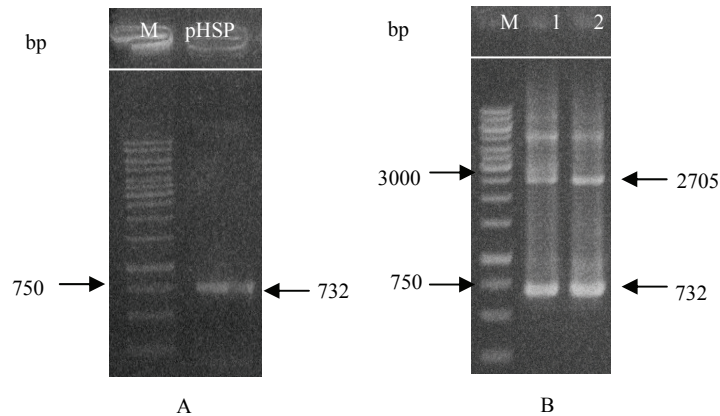
Phân tích trình tự nucleotide của promoter và terminator HSP 18.2

Phân tích mức độ tương đồng của promoter và terminator *HSP 18.2* nhân dòng được với trình tự nucleotide của promoter và terminator *HSP 18.2* đã công bố bằng chương trình BLAST của NCBI [13], xác định vùng tác động *cis* (hộp TATA, hộp CAAT, hộp GATA) của promoter *HSP 18.2* thông qua cơ sở dữ liệu phân tích chuyên dụng về promoter thực vật [14].

3. Kết quả và thảo luận

Phân lập và nhân dòng promoter HSP 18.2 từ Arabidopsis

Kết quả phân lập promoter *HSP 18.2* từ DNA cây *Arabidopsis* bằng kỹ thuật PCR và phản ứng cắt kiểm tra sản phẩm plasmid tái tổ hợp mang phân đoạn gen được thể hiện ở Hình 1A và Hình 1B. Phân tích cho thấy, trên Hình 1A xuất hiện một băng đặc hiệu có kích thước khoảng 732 bp, tương đương với kích thước lý thuyết của phân đoạn promoter *HSP 18.2* theo thiết kế lý thuyết, trên Hình 1B, cả đường chạy số 1 và 2 đều gồm 2 băng rõ nét, có kích thước lần lượt là 732 bp và 2700 bp tương đương với kích thước lý thuyết của promoter *HSP 18.2* và vector tách dòng pBT.

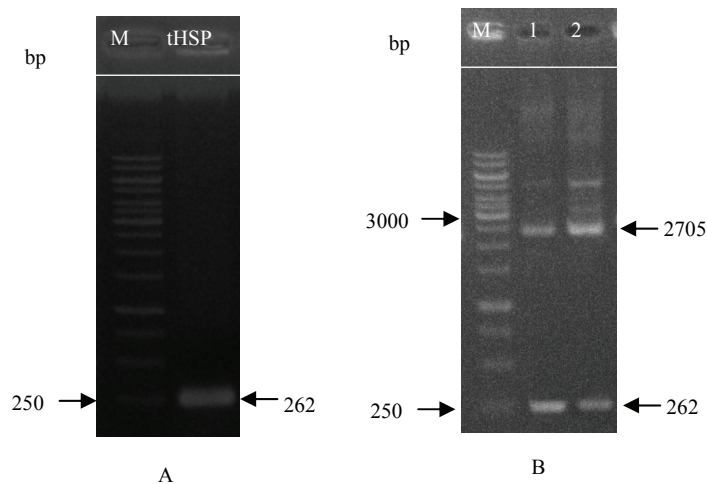


Hình 1. (A) Kết quả điện di sản phẩm PCR phân đoạn gen pHSP 18.2 bằng cặp mồi đặc hiệu từ cây *Arabidopsis* trên gel agarose 0,8% (w/v), (B) Kết quả di sản phẩm cắt bằng enzym cắt giới hạn phân đoạn pHSP từ vector nhân dòng pBT trên gel agarose 0,8% (w/v), M: thang DNA chuẩn DNA chuẩn 1 kb (Fermentas).

Phân lập và nhân dòng terminator HSP 18.2 từ Arabidopsis

Kết quả phân lập terminator *HSP 18.2* từ DNA cây *Arabidopsis* bằng kỹ thuật PCR và phản ứng cắt kiểm tra sản phẩm plasmid tái tổ hợp mang phân đoạn gen được thể hiện ở Hình 2A và Hình 2B. Trên Hình 2A, xuất hiện một băng đặc hiệu có kích thước khoảng 262 bp,

tương đương với kích thước của terminator *HSP18.2* thiết kế lý thuyết. Trên Hình 2B, ở đường chạy số 1, 2 đều xuất hiện hai băng có kích thước lần lượt là 262 bp và 2705 bp, kích thước này tương ứng với kích thước của terminator *HSP 18.2* và kích thước của vector tách dòng pBT.



Hình 2. (A) Kết quả điện di sản phẩm PCR phân đoạn gen tHSP 18.2 bằng cặp mồi đặc hiệu từ cây *Arabidopsis* trên gel agarose 0,8% (w/v), (B) Kết quả di sản phẩm cắt bằng enzym cắt giới hạn phân đoạn tHSP từ vector nhân dòng pBT trên gel agarose 0,8% (w/v), M: thang DNA chuẩn DNA chuẩn 1 kb (Fermentas).

Từ các kết quả trên, khẳng định chúng tôi đã phân lập và nhân dòng được promoter *HSP 18.2* và terminator *HSP 18.2* từ cây *Arabidopsis*. Để khẳng định chắc chắn promoter và terminator này, chúng tôi tiến hành so sánh trình tự và xác định các yếu tố đặc trưng.

So sánh trình tự nucleotide và phân tích các yếu tố cis đặc trưng của promoter HSP 18.2

Kết quả xác định trình tự nucleotide cho thấy, promoter *HSP 18.2* được nhân dòng từ *Arabidopsis* có kích thước tương ứng 720 bp

(không tính trình tự của enzym cắt giới hạn là 12 nucleotide), tương ứng với kích thước dự tính khi thiết kế mồi. Ngoài ra, đầu 5' và 3' của đoạn promoter *HSP 18.2* đã phân lập có mang trình tự nhận biết của cặp enzyme *HindIII* (*aagctt*) và *BamHI* (*ggatcc*). So sánh trình tự nucleotide của promoter *HSP 18.2* với các trình tự đã được công bố với các trình tự promoter *HSP 18.2* 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 nucleotide của promoter phân lập được với các trình tự gen/promoter *HSP 18.2* công bố trên ngân hàng gen quốc tế

| Mã số | Tên gen/promoter đã công bố | Mức độ so sánh | Mức độ tương đồng |
|------------|---|----------------|-------------------|
| CP002688.1 | <i>Arabidopsis thaliana</i> chromosome 5, complete sequence | 100% | 100% |
| AB006705.2 | <i>Arabidopsis thaliana</i> genomic DNA, chromosome 5, P1 clone:MTH12 | 100% | 100% |
| X17295.1 | <i>Arabidopsis HSP18.2</i> gene for 18.2kDa heat shock protein | 100% | 100% |

Qua bảng 2 có thể thấy, trình tự promoter *HSP 18.2* được nhân dòng có mức độ tương đồng nucleotide với trình tự promoter *HSP 18.2* đã được công bố trên ngân hàng Gen. Tiếp tục phân tích các yếu tố điều hòa cis của promoter

HSP 18.2 phân lập được bằng cách dùng cơ sở dữ liệu phân tích chuyên dụng PLACE (Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements). Kết quả phân tích được thể hiện ở Hình 3.



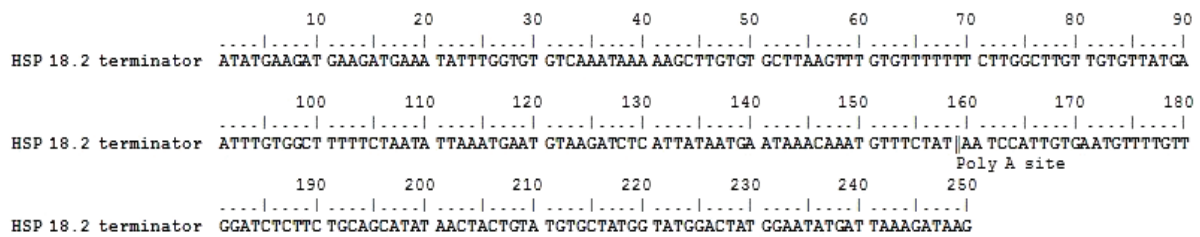
Hình 3. Phân tích trình tự nucleotide của promoter *HSP 18.2* từ *Arabidopsis*.

Phân tích Hình 3 cho thấy, promoter *HSP* 18.2 thu được có mang đầy đủ trình tự cis của một promoter điển hình gồm: hộp CAAT (vị trí 39→42), 2 hộp GATA (vị trí 73→76 và 406→409) và hộp TATA (vị trí 643→649 bp). Tiếp tục phân tích, so sánh trình tự promoter *HSP* 18.2 thu được với trình tự đã công bố trên Ngân hàng Gen Quốc tế, đã xác định được promoter *HSP* 18.2 thu được có đủ sáu yếu tố cảm ứng với nhiệt độ (Heat shock elements: HSE): từ vị trí 482→495, 492→505, 502→515, 549→562, 559→572 và 600→613 (tương ứng với các vị trí: -238→-225, -228→-215, -218→-205, -171→-158, -161→-148 và -120→-107 theo chiều 5'). Kết quả này khẳng định trình tự promoter *HSP* 18.2 phân lập được chính là promoter *HSP* 18.2 từ cây *Arabidopsis*. Ngoài

ra, đầu 5' và 3' của đoạn promoter *HSP* 18.2 đã phân lập có mang trình tự nhận biết của cặp enzyme *Hind*III (*aagctt*) và *Bam*HI (*ggatcc*). Trình tự của promoter *HSP* 18.2 được đăng ký trên ngân hàng gen, mã số KM083119.

So sánh trình tự nucleotide và phân tích các yếu tố đặc trưng của terminator HSP 18.2

Kết quả phân tích trình tự nucleotide của phân đoạn gen terminator *HSP* 18.2 cho thấy phân đoạn gen này chứa 250 bp, có độ tương đồng 100% với trình tự terminator *HSP* 18.2 đã công bố của Nagaya S và cộng sự (2010) [12]. Trên trình tự terminator *HSP* 18.2 này gồm toàn bộ đầu 3'UTR và poly A site, vị trí của poly A site là từ nucleodite 158 (Hình 4).



Hình 4. Phân tích trình tự nucleotide của terminator *HSP* 18.2 từ cây *Arabidopsis*.

Ngoài ra, terminator *HSP* 18.2 còn chứa hai vị trí cắt của enzym cắt giới hạn là *Sac*I (*gaattc*) và *Eco*RI (*gaattc*). Từ các kết quả trên, chúng tôi khẳng định đã phân lập thành công terminator *HSP* 18.2 của cây *Arabidopsis*, trình tự này được đăng ký trên ngân hàng gen quốc tế có mã số KP008108.

4. Kết luận

Nhân dòng thành công promoter và terminator *HSP* 18.2 từ cây *Arabidopsis thaliana* với mức độ chính xác, độ tương đồng cao với các trình tự đã công bố trên ngân hàng

Gen. Promoter *HSP* 18.2 thu được có kích thước 720 bp với đầy đủ các vùng tác động cis quan trọng của một promoter điển hình ở thực vật: hộp TATA, CAAT và GATA và promoter *HSP* 18.2 còn chứa 6 vùng cảm ứng với nhiệt độ. Trình tự này được đăng ký trên ngân hàng Gen mã số KM083119. Tiếp theo là trình tự terminator *HSP* 18.2 phân lập được có kích thước 250 bp, vị trí của poly (A) là ở nucleotide 158, được đăng ký trên ngân hàng Gen với mã số KP008108. Các trình tự này nguyên liệu tốt cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm thiết kế vector biểu hiện hiệu quả protein tái tổ hợp ở thực vật.

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] Sharma AK, Sharma MK (2009). Plants as bioreactors: Recent developments and emerging opportunities, *Biotechnol Adv* 27(6):811-832.
- [2] Desai PN, Shrivastava N, Padh H (2010). Production of heterologous proteins in plants: Strategies for optimal expression. *Biotechnol Adv* 28:427-435.
- [3] Streatfield SJ (2007). Approaches to achieve high-level heterologous protein production in plants. *Plant Biotechnol J* 5(1):2-15.
- [4] 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.
- [5] Lee KT, Chen SC, Chiang BL, Yamakawa T (2007). Heat-inducible production of β -glucuronidase in tobacco hairy root cultures. *Appl Microbiol Biotechnol* 73:1047-1053. DOI10.1007/s00253-006-0576-2
- [6] Moriwaki M, Yamakawa T, Washino T, Kodama T, Igarashi Y (1999b). Organ-specific expression of β -glucuronidase activity driven by the *Arabidopsis* heat shock promoter in heat-stressed transgenic *Nicotiana plumbaginifolia*. *Plant Cell Rep* 19:92-95.
- [7] Moriwaki M, Yamakawa T, Washino T, Kodama T, Igarashi Y (1999a). Delayed recovery of β -glucuronidase activity driven by an *Arabidopsis* heat shock promoter in heat-stressed transgenic *Nicotiana plumbaginifolia*. *Plant Cell Rep* 19:96-100.
- [8] Carswell S, Alwine JC (1989). Efficiency of utilization of the simian virus 40 late polyadenylation site: effects of upstream sequences. *Mol. Cell Biol* 9: 4248-4258.
- [9] Ingelbrecht IL, Herman LM, Dekeyser RA, Van Montagu MC, Depicker AG (1989). Different 3' end regions strongly influence the level of gene expression in plant cells. *Plant Cell* 1:671-680.
- [10] Hirai T, Kurokawa N, Duhita N, Hiwasa-Tanase K, Kato K, Ezura H (2011). The HSP terminator of *Arabidopsis thaliana* induces a high level of miraculin accumulation in transgenic tomatoes. *J Agric Food Chem* 59:9942-9949. doi:10.1021/jf202501e
- [11] Hall TA (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp* 41:95-98.
- [12] Nagaya S, Kawamura K, Shinmyo A, Kato K (2010). The HSP terminator of *Arabidopsis thaliana* increases gene expression in plant cells. *Plant Cell Physiol* 51:328-532. doi:10.1093/pcp/pcp188
- [13] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>
- [14] <http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE>

Cloning of *HSP 18.2* Promoter and Terminator from *Arabidopsis thaliana* for Construction of the Gene Expression Vector in Plant

La Việt Hồng^{1,2}, Phạm Bích Ngọc¹, Chu Hoàng Hà¹

¹*Institute of Biotechnology,*

²*Hanoi Pedagogical University N^o2*

Abstract: In *Arabidopsis*, promoter and terminator *HSP 18.2* regulated expression of heat shock protein 18.2 gene which were induced by high environmental temperature. This study presents results

of *HSP 18.2* promoter and terminator cloning and sequencing from the *Arabidopsis thaliana* for construction of vector to express target gene in plant. The data obtained showed that *HSP 18.2* promoter has 720 bp in length that carries a full range of *cis*-acting elements similar to a typical promoter such as CAAT box (39 to 42), two GATA boxes (73 to 76 and 406 to 409) and TATA box (643 to 649). Furthermore, This promoter contains six heat shock elements: 482 to 495, 492 to 505, 502 to 515, 549 to 562, 559 to 572 and 600 to 613. *HSP 18.2* terminator has 250 bp in length and poly A site of *HSP 18.2* terminator was identified at 158 nucleotide position. Sequence of *HSP 18.2* promoter and terminator were submitted in Genebank with the accession number KM083119 and KP008108. These sequences will contribute a fundamental basis for further researches in order to construct high expression vector carrying *HSP 18.2* promoter and terminator in transgenic plants.

Keywords: *Arabidopsis*, expression, promoter, recombinant, terminator.