

## К курсу «Биотехнология растений»

### Дополнительная литература

Власов В.В., Мадведев С. П., Закиян С.М.  
**«Редакторы геномов». От «цинковых пальцев» до CRISPR**  
Наука из первых рук. 2014. Том 56. № 2.

Л.А. Першина  
ХРОМОСОМНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИЙ –  
НАПРАВЛЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, Том 18, № 1.

Л.А. Першина, Н.В. Трубачеева  
Межвидовая несовместимость при отдаленной гибридизации растений и возможности ее преодоления // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2016, том. 20(4) С. 416-425.

Л.А. Першина  
О роли отдаленной гибридизации и полиплоидии в эволюции растений. Вестник ВОГИС. 2009. Т.13. № 2. С. 336-344.

## Основные биологические системы, используемые в биотехнологии

- Микроорганизмы
- Низшие грибы
- Водоросли
- Соматические клетки млекопитающих
- Растения, культура изолированных клеток, тканей и органов растений

## **Отрасли народного хозяйства, потребности которых обеспечиваются биотехнологией**

- **Сельское хозяйство**
- **Производство химических веществ**
- **Контроль за состоянием окружающей среды**
- **Производство биотоплива**
- **Пищевая промышленность**
- **Материаловедение**
- **Медицина**

# ФИТОГОРМОНЫ

**Фитогормоны** – это химические соединения, которые вырабатываются в микроколичествах в одной части растения, транспортируются в другие части, где, функционируя в клетках-мишенях, проявляют регулирующее действие на процессы роста и развития.

## **ПЕРЕДАЧА И ТРАНСФОРМАЦИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛА**

- 1) Транспорт фитогормона.
- 2) Образование гормон-рецепторного комплекса.
- 3) Активированный гормон-рецепторный комплекс связывается с ядерными мембранами и перемещается в ядро.
- 4) Взаимодействие гормон-рецепторного комплекса с регуляторными последовательностями структурных генов, что приводит к увеличению транскрипционной активности.
- 5) Отделение гормон-рецепторного комплекса от хроматина. Под действием ферментов происходит диссоциация на гормон и рецептор.

# **ФИТОГОРМОНЫ**

## **СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ**

- 1) Ауксины**
- 2) Гиббереллины**
- 3) Цитокинины**

## **ИНГИБИТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ**

- 1) Абсцизовая кислота**
- 2) Этилен**

### **Гормоноподобные вещества**

- Брассиностероиды**
- Полиамины**
- Салициловая кислота**
- Жасмоновая кислота**

## **Практическое использование гиббереллинов**

(Пример: препарат 'Гибберсиб' - на основе штамма *Fusarium moniliforme*; в состав входят гиббереллины А3, А7, изо-А3, изо-А7)

--- Снимают период покоя семян, клубней, стимулируя их быстрое прорастание;

--- У озимых злаков обработка гиббереллинами заменяет яровизацию (физиологическая реакция растений на охлаждение, вызванная адаптацией к сезонным изменениям умеренного климата. Для цветения и образования семян эти растения должны быть подвергнуты воздействию низких положительных температур 2—10 °С).

--- Для увеличения размера ягод винограда, например, бессемянных кишмишных сортов с мелкими ягодами;

--- Для повышения устойчивости к абиотическим стрессам (засолению, затоплению); устойчивости к грибным патогенам.

Результат – повышение урожайности овощных и плодовых культур.

# Культура in vitro для получения биологически активных соединений

Биологически активные соединения  
(вторичные продукты биосинтеза,  
вторичные метаболиты) – вещества,  
способные оказывать влияние на  
биологические процессы в организме.

**Метаболиты** – продукты обмена веществ

**Первичный метаболизм** – дыхание, фотосинтез, синтез ДНК, РНК, белков, липидов.

**Первичные метаболиты** – низкомолекулярные соединения, необходимые для жизнедеятельности клетки. К ним относятся нуклеотиды, аминокислоты, сахара, органические кислоты, витамины. Первичные метаболиты присутствуют в любой клетке растения.

**Вторичный метаболизм** – синтез вторичных метаболитов.

**Вторичные метаболиты** – низкомолекулярные вещества, не требующиеся для выживания клеток. Вторичные метаболиты – вещества, не участвующие в первичном метаболизме.



Известно около 45 000 вторичных метаболитов.  
За их синтез отвечает 15 – 25% генов.

Основные группы вторичных метаболитов:

**Фенольные соединения** (около 8 000 фенолов, у всех растений, но они различны у растений разных видов)

**Алкалоиды** (около 10 000 алкалоидов. У 20% растений)

*Функции* алкалоидов:

регулируют рост растений (ИУК), защищают растения от поедания животными.

**Изопреноиды** ( $C_5H_8$  – изопрен)

**Фенольные соединения** вещества ароматической природы, содержащие один или более гидроксильных групп у бензольного кольца/

Около 8 000 фенолов, у всех растений, но они различны у растений разных видов.

**Антоцианы** – главные в окраске цветков, плодов, придают цвет от розового до черно-фиолетового.

**Катехины** содержатся в листьях чайного куста, обладают Р-витаминной активностью.

**Таннины** – полимеры фенольных соединений (**ядовиты**)

**Лигнин** – полимер фенольной природы (одревеснение тканей блокирует распространение патогена).

**Производные фенола** - предохраняют растения от УФ-облучения.

**Использование:** в медицине для стерилизации, лекарства (салициловая кислота), в промышленности как красители

## **Алкалоиды (азотсодержащие вещества)**

Ооколо 10 000 алкалоидов. Синтез - от 10 до 25 % растений (Маковые, Пасленовые, Бобовые, хинное дерево.

**Функции** алкалоидов:

регулируют рост растений (ИУК), защищают растения от поедания животными.

**Алкалоиды** - накопление в семенах, при прорастании деградия алкалоидов, простые азотистые вещества усваиваются проростками.

**Использование:**

в качестве лекарств: кодеин (от кашля), морфин (болеутоляющее), кофеин (при нервных и сердечно-сосудистых заболеваниях), хинин (от малярии). Атропин, пилокарпин, стрихнин, эфедрин **ядовиты**, но в малых дозах могут применяться как лекарства.

## Изопреноиды (терпеноиды)

(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> – изопрен)      Общая формула (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>.

**Изопрен** обеспечивает растениям **повышенную устойчивость к перегреванию**, защищать растения от разрушающего воздействия озона и активных форм кислорода (В высоких концентрациях в отношении животных **изопрен** проявляет анестетические свойства с последующим параличом и летальным исходом; на человека оказывает наркотическое действие)

### **Функции:**

- защищают растения от бактерий, насекомых и животных; некоторые из них участвуют в закрытии ран и защищают от насекомых; каротиноиды участвуют в световой фазе фотосинтеза, и защищают хлорофилл от фотоокисления; **гормоны** (цитокинины, гиббереллины, абсцизовая кислота, брассиностероиды).

**Использование.** Лекарства (камфора, ментол, сердечные гликозиды), витамин А. Основные компоненты эфирных масел (в парфюмерии, для репелентов).

- **Сердечные гликозиды** (сложные органические соединения типа эфиров, влияют на сердечно-сосудистую систему):

- *наперстянка* (дигоксин, дигитоксин и др. ),
- *горецвет* (адонизид, настой травы горецвета),
- *строфант* (строфантин К),
- *ландыш* (коргликон, настойка ландыша)

- **Горечи** - безазотистые органические соединения с очень горьким вкусом. Выделены из многих растений (особенно богаты растения семейства сложноцветных)  
- Например, для возбуждения аппетита.

- *полынь, корни одуванчика*

- **Сапонины** (от лат. sapo - мыло) - это растительные гликозиды, при взаимодействии с водой образуют плотную пену, эмульгируют жир и обладают гемолитическим действием (разрушают эритроциты).

- **В пищевой промышленности** (солодка - для производства пива и шипучих напитков, мочения яблок и брусники, в производстве халвы).

- **В текстильной промышленности** (для фиксации красок).

- **В медицине** (при сухом кашле - первоцвет, солодка, синюха).

Производство серпентина на основе суспензионных культур частично дифференцированных клеток меристемы *Catharatus roseus* оказалось эффективным и экономически оправданным лишь после того, как были получены субклоны, способные накапливать за 10-ти суточный цикл выращивания до 25 г сухого вещества на 1 литр суспензионной культуры.

Технология получения в культуре так называемых «бородатых» корней, где по условиям роста в скоплении клеток возникают субпопуляции с повышенной дифференцировкой. Эти популяции являются самыми продуктивными по биологически активным веществам.

## *Примеры лекарственных веществ, полученные на основе каллусных культур*

- Стевиозид - естественный подсластитель и заменитель сахара, успешно используется вместо искусственных подслащивающих веществ. Исходное растение - *Stevia rebaudiana Bertoni*.
- Арглабин – противоопухолевое соединение. Исходное растение - *Artemisia glabella Kar. et Kir*. Входит в состав одноименного препарата.  
--- Лаппаконитин - дитерпеновый алкалоид , антиаритмическое средство. Исходное растение - *Aconitum septentrionale Koelle*. Входит в состав препарата Аллапинин



## Преимущества перед обычными способами размножения:

- Получение генетически однородного материала;
- Высокий коэффициент размножения, в том числе трудно размножаемых культур (*пальмы*);
- Сокращение периода селекционного процесса;
- Освобождение растений от вирусов;
- Проведение работ в течение всего года;
- Возможность длительного хранения размноженного материала при пониженной температуре;
- Возможность автоматизации процессов клонирования, в том числе в биореакторах.



***Получение оздоровленного картофеля***

***и его***

***клональное микроразмножение***

**Болезни картофеля:**

Вызываются бактериями, вирусами, актиномицетами, плесневыми грибами

# Факторы, требующие быстрого реагирования в картофелеводстве:

## Производственные проблемы

- Высокая насыщенность и быстрое распространение вредителей и болезней;
- Выпуск новых высокопродуктивных сортов;
- Необходимость использования семян высоких полевых поколений по приемлемой цене;
- Организация системы сертификации с контролем качества семенного картофеля.

## Экономические проблемы

- Высокая стоимость импортируемых семян;
- Проблема стабильного обеспечения потребителей в необходимом количестве и ассортименте посадочного материала;
- Экономическая зависимость от поставщиков

## Размножение картофеля

- 1) Клональное микроразмножение из апикальных меристем (**работа с требуемым сортом и генотипом**);
- 2) Использование пробирочных растений, свободных от патогенов, в качестве материнских растений для микрочеренкования. Для эффективного размножения необходимо 150-200 пробирочных растений. (**работа с сортами, которые реализует фирма по получению пробирочных растений**)
- 3) Получение микроклубней.

## Ключевыми моментами этой технологии отличающей ее от других является:

- Процесс выращивания мини-клубней полностью компьютеризирован и просчитан программой для поддержания оптимальных параметров жизнедеятельности растений на протяжении всего производственного цикла;
- Выполнение 6 (шести) производственных циклов за 1 год;
- Использование 150-200 растений оригинатора сорта *in vitro* (пробирочное растение) в течение одного года в;
- Метод черенкования, который позволяет из одного растения получить более 10 новых растений, причем через 3 недели эту операцию можно повторить и так в течение одного года;
- Получение мини-клубней с нулевым уровнем патогенов за 50-55 дней после посадки черенков;
- Возможность вести производство мини-клубней в любых климатических зонах и независимо от внешних природных условий;
- Малая потребность в производственных площадях и коммуникациях;
- Малая потребность в обслуживающем персонале;
- Возможность быстро размножить сорт картофеля, пользующийся наивысшим спросом;
- Условия производства мини-клубней приближены к естественным, что позволяет размножать их сразу в поле с получением стабильных всходов и хорошего урожая;
- За четыре года получить супер-суперэлиту с низкой себестоимостью.

# **Соматоклональная изменчивость**

## **Условия *in vitro* - стресс для культивируемых клеток**

В результате культивирования *in vitro* индуцируется клеточная, цитогенетическая и генетическая гетерогенность клеточных культур и развивающихся из клеток растений.

Причины:

- 1) Клеточная гетерогенность исходных эксплантов, обусловленная полисоматией (миксоплоидией);
- 2) Индуцирование изменчивости со стороны компонентов культуральной среды, особенно фитогормонов.

**Larkin, Scowcroft, 1981:**

**Сомаклон** (*сома* – тело), – растение-регенерант.

**Сомаклональная изменчивость** – проявление *генетической* и *эпигенетической изменчивости* у растений, регенерировавших в результате культивирования *in vitro*.

**Сомаклональный вариант** – сомаклон с генетической или эпигенетической изменчивостью.

Обозначения:

R – растение-регенерант

R1, R2, R3 ... - самоопыленные поколения регенерантов

SC – сомаклон (= растение-регенерант)

SC1, SC2, SC3 ... - самоопыленные поколения соматклонов

SV - соматклональный вариант

***Механизмы, которые могут приводить к соматклональной изменчивости***

- 1) Грубые кариологические нарушения:** а) изменения числа хромосом – полиплоидия, анеуплоидия; б) транслокации, делеции, инверсии, дупликации.
- 2) Точковые мутации.**
- 3) Соматический (митотический) кроссинговер и обмен сестринских хроматид.**
- 4) Изменчивость цитоплазматических геномов – хлоропластного и митохондриального.**
- 5) Амплификация и редукция геномов.**
- 6) Активация мобильных элементов.**
- 7) Эпигенетическая изменчивость**





**Протоклоны** – растения, развившиеся из протопластов (клеток, лишенных клеточных стенок).

**Протоклональная изменчивость** – в результате культивирования протопластов .

-- **Спектр изменчивость у протоклонов выражен сильнее, чем у соматклонов.**

-- **Регенеранты, индуцируемые через соматический эмбриогенез или органогенез *из каллуса* характеризуется большей изменчивостью, чем регенеранты, развивающиеся в результате прямого эмбриогенеза и органогенеза.**

-- **увеличение длительности культивирования приводит к увеличению частоты соматклональной изменчивости.**

**ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ**

**АНДРОГЕННЫХ  
ГАПЛОИДОВ**

**И ГИНОГЕННЫХ  
ГАПЛОИДОВ**

*Гаплоиды* – это организмы, которые в соматических клетках содержат гапетическое число хромосом.

**Примеры:**

*H. vulgare* - культурный ячмень  $n=7$ ;  $(2n=14)$

*T. aestivum* – мягкая пшеница  $n=21$ ;  $2n=42$

---

### *Значение гаплоидов для генетики и селекции*

**Каждый ген у гаплоида представлен единственным аллелем, и рецессивные аллели у таких растений проявляются наряду с доминантными. Фенотип гаплоидов полностью отражает их генотип, поэтому среди таких растений удобно отбирать формы с ценными мутациями.**

## Дигамплоидные растения - мощный инструмент для селекции и для научных исследований растений

- различные комбинации генов и редких аллелей могут быть зафиксированы в гомозиготном состоянии в одном поколении без проведения многочисленных беккроссов;
- благоприятные агротехнические характеристики могут быть использованы непосредственно в гетерозисной селекции для получения новых гибридных комбинаций;
- для исследований, включая мутагенез, где рецессивные мутации могут быть легко обнаружены без маскирующих эффектов доминирования;
- дигампоиды могут быть использованы для непосредственного получения растений, гомозиготных по трансгену, а также для картирования генов.

## **Факторы, влияющие на андрогенез *in vitro***

- 1) Стадия развития микроспор;**
- 2) Генотип растения;**
- 3) Условия выращивания растений-доноров;**
- 4) Возраст растения-донора;**
- 5) Холодовая предобработка пыльников;**
- 6) Температура культивирования пыльников и  
изолированных микроспор;**
- 7) Состав культуральной среды;**
- 8) Условия культивирования андрогенных эмбриоидов.**

**РОЛЬ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И  
ПОЛИПЛОИДИИ  
В ЭВОЛЮЦИИ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ  
(ЦВЕТКОВЫХ) РАСТЕНИЙ**

• *Отдаленная гибридизация и полиплоидизация – пусковые механизмы эволюции покрытосеменных растений*

• *Роль активной и пассивной антропогенной деятельности в образовании отдаленных гибридов и полиплоидов*

• *Интрогрессивная гибридизация – инструмент переноса генов между разными таксономическими группами покрытосеменных растений*



## Отдаленная гибридизация –

скрещивание между особями разных таксономических групп:

--*межвидовая гибридизация* – скрещивания между особями разных видов одного рода.

--*межродовая гибридизация* – скрещивания между особями разных родов.

-- *межподтрибная - ...*

Внутривидовая гибридизация – скрещивания между особями одного вида.

## Полиплоидия –

увеличение числа наборов хромосом в клетках организма, кратное гаплоидному (одинарному) числу хромосом

**Автополиплоидизация** – кратное увеличение числа наборов хромосом одного и того же вида

**Аллополиплоидия** — кратное увеличение количества хромосом у гибридных организмов.

Возникает при межвидовой и межродовой гибридизации.

# Пути видообразования с участием отдаленных гибридов и полиплоидов

1. Видообразование на основе **автополиплоидов**, т. е. полиплоидов, имеющих кратное увеличение числа наборов хромосом одного вида.
2. Видообразование на основе **аллополиплоидов**, т. е. гибридных организмов, у которых произошло удвоение числа хромосом. В том случае, если родительские хромосомы аллополиплоидов содержат и гомологичные, и гомеологичные участки, то их относят к **сегментным аллополиплоидам**.
3. **Гомоплоидное гибридное видообразование** – развитие новых видов без увеличения числа хромосом у исходных гибридов.

# **Механизмы несовместимости при отдаленных скрещиваниях и возможности их преодоления**

# Типы несовместимости при отдаленных скрещиваниях

## 1) ПРЕЗИГОТИЧЕСКАЯ НЕСОВМЕСТИМОСТЬ

Неспособность к скрещиванию

Проявляется до оплодотворения

## 2) ПОСТЗИГОТИЧЕСКАЯ НЕСОВМЕСТИМОСТЬ

Скрещивание происходит, но не развиваются гибридные семена;  
слабое развитие, нежизнеспособность гибридов  $F_1$ ,  
стерильность гибридов  $F_1$   
или более поздних поколений гибридов.

**Направления биотехнологии,  
ориентированные на увеличение генетического разнообразия культурных  
растений за счет интрогрессии чужеродных генов и связанные с  
использованием методов культивирования *in vitro***

**Хромосомная инженерия**

**Клеточная инженерия**

**Генетическая (генная) инженерия**

---

**ГЕНОМНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ**



**Редактирование  
геномов**

# Определение хромосомной инженерии растений

**Хромосомная инженерия растений** – манипулирование с помощью различных методов с целыми наборами хромосом, отдельными хромосомами или их сегментами с целью проведения научных исследований или улучшения хозяйственно-ценных признаков у возделываемых растений

*Shlegel, 2010. Dictionary of Plant Breeding*

**Основные методы хромосомной инженерии, основанной на  
интрогрессивной гибридизации**

- **Отдаленная гибридизация**
- **Радиационный мутагенез**
- **Методы культивирования *in vitro***
- **Методы цитогенетического анализа**
- **Методы молекулярного анализа**



## *Необходимость увеличения генетического разнообразия культурных растений*

- ◀ Длительная селекция на **высокую продуктивность и качество** привела к **обеднению генофонда** культурных растений, по сравнению с дикорастущими, по генам, контролирующим признаки **устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам**.
- ◀ Выращивание на больших площадях восприимчивых и генетически близкородственных сортов ускоряет эволюцию патогенов.
- ◀ **Изменения климата, воздействие техногенных и антропогенных факторов** приводят к изменениям условий выращивания культур, что требует **необходимость создания сортов, устойчивых** ко многим абиотическим стрессам: засухе, затоплению, высоким и низким температурам, засолению и т. п.

## Генофонды мягкой пшеницы

### ----Первичный

(Геномы имеют общее происхождение. Конъюгация хромосом скрещиваемых видов). *T. turgidum* ...

### ----Вторичный (Полиплоидные виды, один геном общий)

*T. timopheevii*

### ----Третичный (Филогенетически более отдаленные). Рожь, Ячмень, Пырей

## **Культура протопластов**

**Факторы, влияющие на пролиферацию клеток,  
полученных из протопластов:**

- Видовая специфичность и физиологическое состояние исходной ткани растения,
- Способ и условия выделения протопластов,
- Плотность посева протопластов,
- Состав питательной среды.

**Протоклональная изменчивость – изменчивость,  
проявляющаяся у растений, регенерировавших в  
результате культивирования протопластов.**

# КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИЙ

---

**Клеточная инженерия** (*соматическая гибридизация, парасексуальная гибридизация*)

**направлена на конструирование клеток и генотипов растений нового типа на основе:**

**а) слияния протопластов (клеток, лишенных клеточных стенок);**

**б) введения в протопласты различных клеточных органелл (ядер, митохондрий, хлоропластов).**

**Соматический гибрид** - продукт слияния и цитоплазмы, и ядра  
обоих протопластов.

***Симметричные гибриды*** – с сохранением ядерного и органельных  
геномов обоих родителей.

***Ассиметричные гибриды*** – несет ядерный геном и органельный  
одного из родителей и несколько хромосом или органелл другого.

**Ассиметричный соматический** гибрид мягкой пшеницы с  
отдельными хромосомами пырея.




**Цибрид** (цитоплазматический гибрид) - растение-регенерант, содержащее цитоплазму обоих родителей и ядро одного из них.

**Цибриды** получают, облучая перед слиянием один из протопластов  $\gamma$ -лучами для разрушения ядра.

Выявление **цибридов** проводится по генам – маркерам ядерного и цитоплазматических (мт- и хп) геномов.

Интерес представляют **цибриды** растений, несущие цитоплазматические **гены устойчивости к различным патогенам и стрессорным факторам от дикорастущих видов или цитоплазматические гены мужской стерильности.**

## Соматическая гибридизация цитрусовых

- Получение тетраплоидов - 4x 
- Получение 3x - при разноплоидных скрещиваний (4x × 2x)  
(эмбриокультура)
- ↓  
Передача ЦМС гибридам, для получения
- ↓  
**Бескосточковые плоды**
- Улучшение корневой системы подвоя.
- Улучшение вкуса плодов.

## Соматическая гибридизация

--- Межвидовая, межродовая капустных

--- Межвидовая подсолнечника

--- Межвидовая мяты

---Ассиметричные гибриды мягкая

Triticum aestivum (+) Agropyron elongatum

--- Мягкая пшеница (+) райграсс

---*Solanum nigrum* (+) *S. tuberosum*

---

### Клеточные линии

**Межсемейственные:** Картофель + табак, табак + бобы,  
арабидопсис + турнепс,

### Гибридные клетки

**Междарственные:** человек + бобы, человек + табак

# ОСНОВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МОДИФИКАЦИЯ ГЕНОМА РАСТЕНИЙ

--**Трансгенез (трансгеноз)** – процесс введение чужеродного гена (=трансгена) в геном организма.

--**Цисгенезис (интрагенезис)** – введение гена одного и того же вида или близко родственных видов.

--(*Графтин*: в качестве подвоя – трансгенное растение, привоя – не трансгенное)

---

--**Редактирование генома**

Систем редактирования генома:

---Нуклеазы цинковых пальцев (ZFN),

---Эффекторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции (TALEN),

--- CRISPR/Cas9

**Для получения ГМО – генетически модифицированных организмов**

# ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ

## РАСТЕНИЙ

*Генетическая трансформация* — процесс переноса рекомбинантной ДНК и ее интеграции в геном клетки с целью модификации генома.

*Генетическая трансформация* – это одна из задач генетической инженерии (генной инженерии).

**Трансформанты = трансгенные растения**

Трансфекция – то же самое что и трансформация, но в применении к клеткам ЖИВОТНЫХ

**Генетическая инженерия (генная инженерия) — это**

**совокупность методов и технологий, направленных на:**

- 1) выделение генов из организмов (клеток),**
- 2) получение функционально активных генетических структур в виде рекомбинантных ДНК,**
- 3) введение их в другие организмы,**
- 4) создание условий для экспрессии интегрированных генов.**

# Векторы

**Ti-плазмиды**

**Ri-плазмиды**

**Вирусы**

# ***Методы трансформации растений***



- **Кокультивирование агробактерии**, имеющей реконструированную плазмиду, с реципиентами

Прямой перенос рекомбинантной ДНК  
Биолистическая трансформация

## **Другие метода трансформации**

- Электропорация (прямой перенос ДНК в протопласты, зародыши, каллусные культуры )**
- Микроинъекции ДНК в протопласты**
- Использование микролазеров**
- Введение ДНК через срез рыльца в яйцеклетку после оплодотворения**
- Агроинфильтрация (в листья с помощью вакуумного шприца) для транзientной трансформации**

## Генетическая трансформация растений направлена на создание растений

- а) устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам
- б) с улучшенными технологическими и питательными свойствами
- в) производящих вакцины



*Чужеродные белки* способны синтезироваться в клетках **трансгенных** (доставка трансгена в ядро) и **транспластомных** (доставка трансгена в хлоропластный геном) растений в их природной, иммунологически активной форме.

## Проблемы трансгенеза

- Перенос и встраивание нескольких копий трансгена
- Случайное встраивание трансгена в геном реципиента
- Замолкание трансгенов
- Уменьшение наработки продукта трансгена
- Проблемы получения трансгенных **гексаплоидов** для коммерческих целей