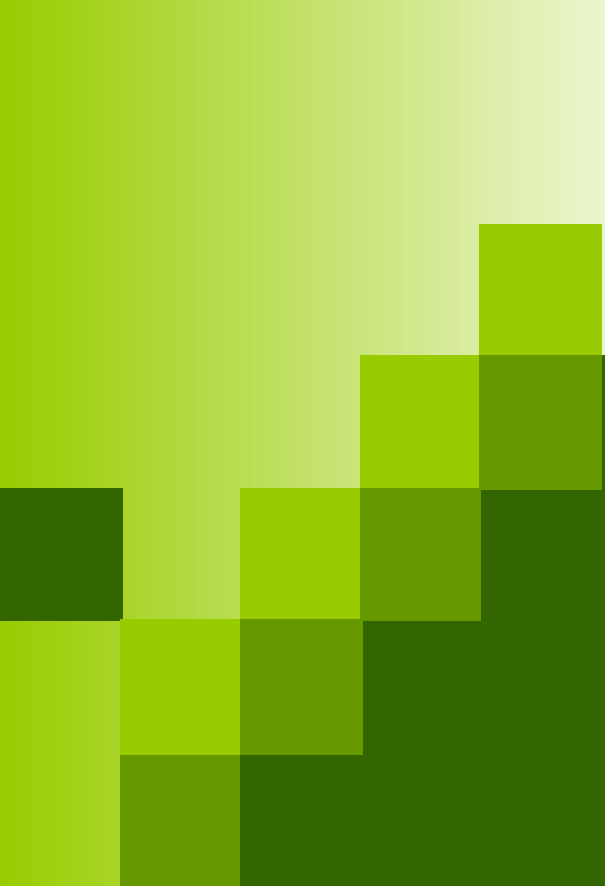




Генная инженерия растений

Введение генов в клетки растений - основные способы:

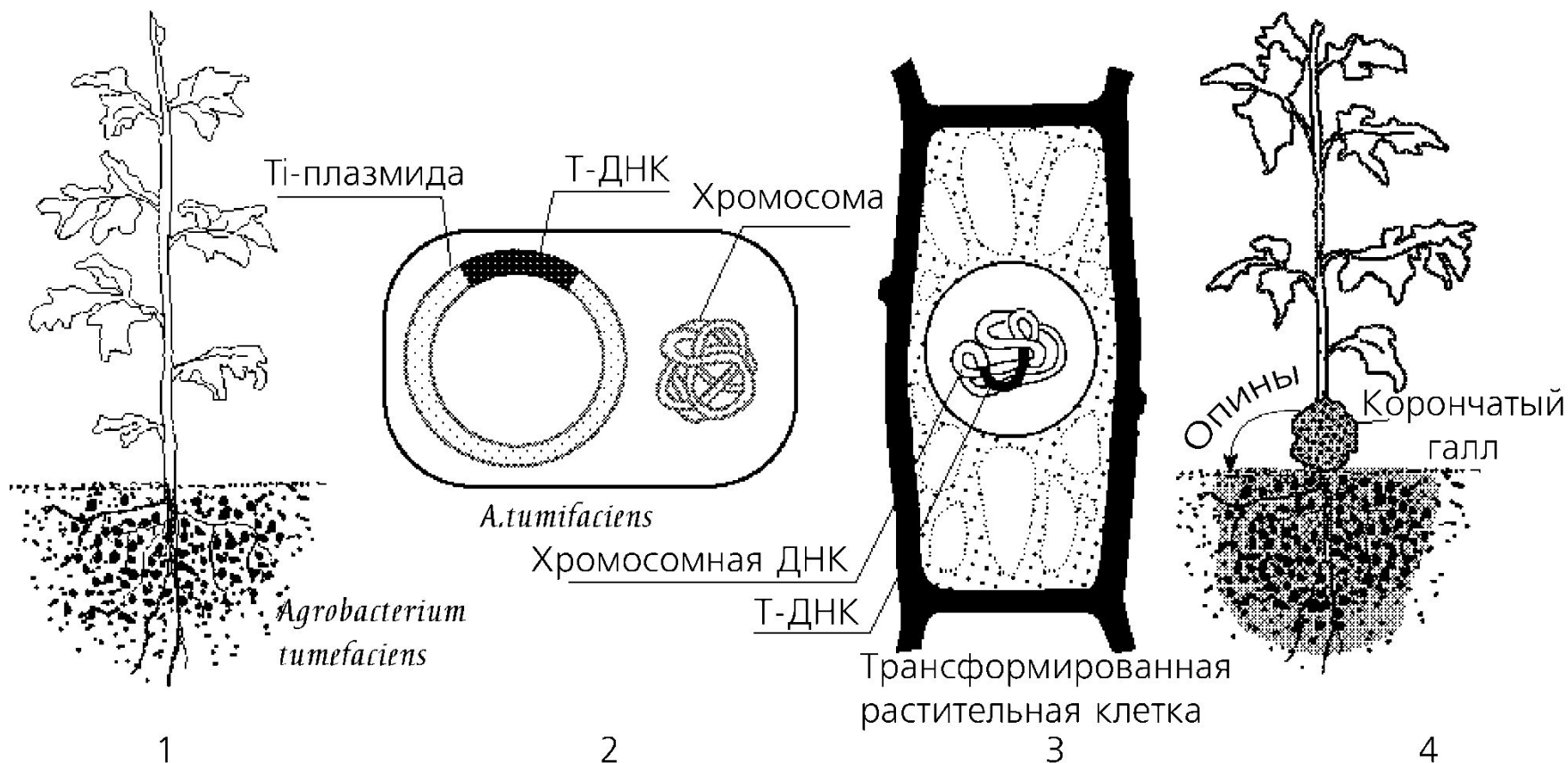
- С помощью *Agrobacterium tumefaciens*
- прямой физический перенос ДНК в клетку:
 - бомбардировка микрочастицами
 - электропорация;
 - обработка полиэтиленгликолем;
 - перенос ДНК в составе липосом



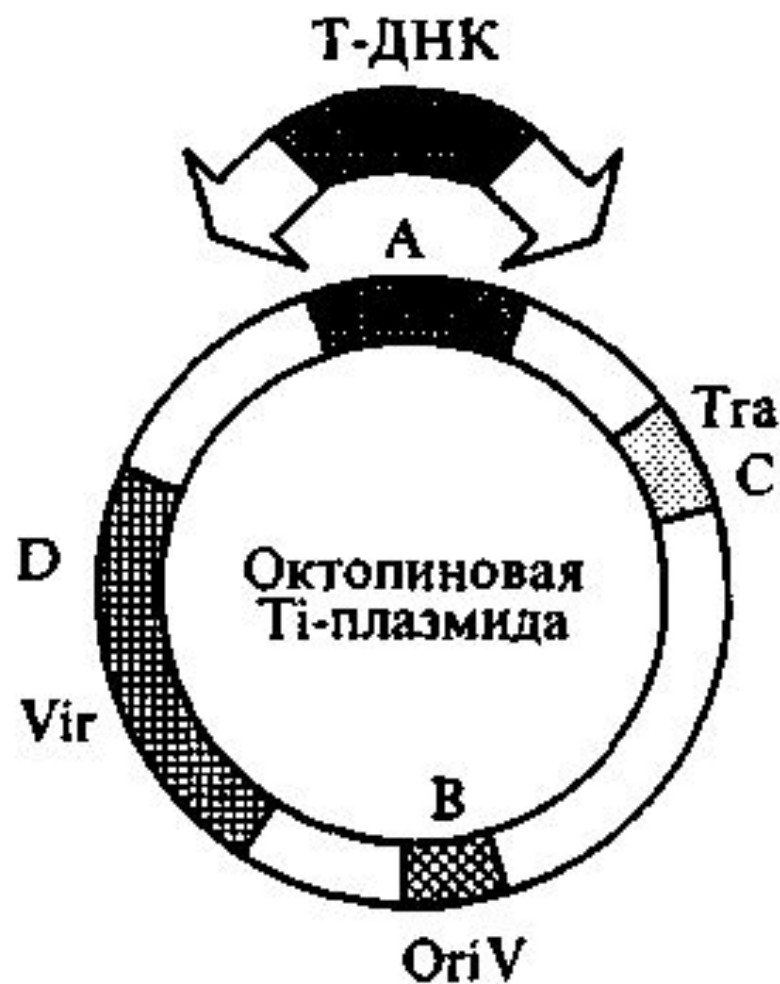
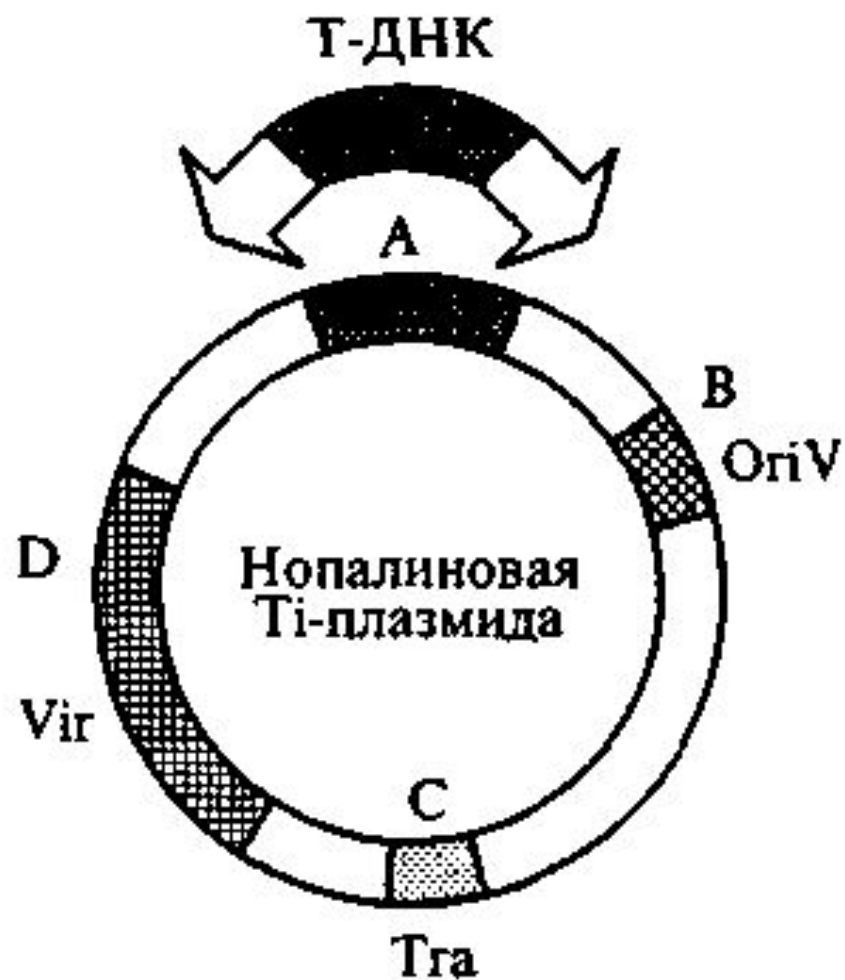
Корончатый галл - *A. tumefaciens* – Ti-плазмида
Бородатый корень - *A. rhizogenes* - Ri-плазмида

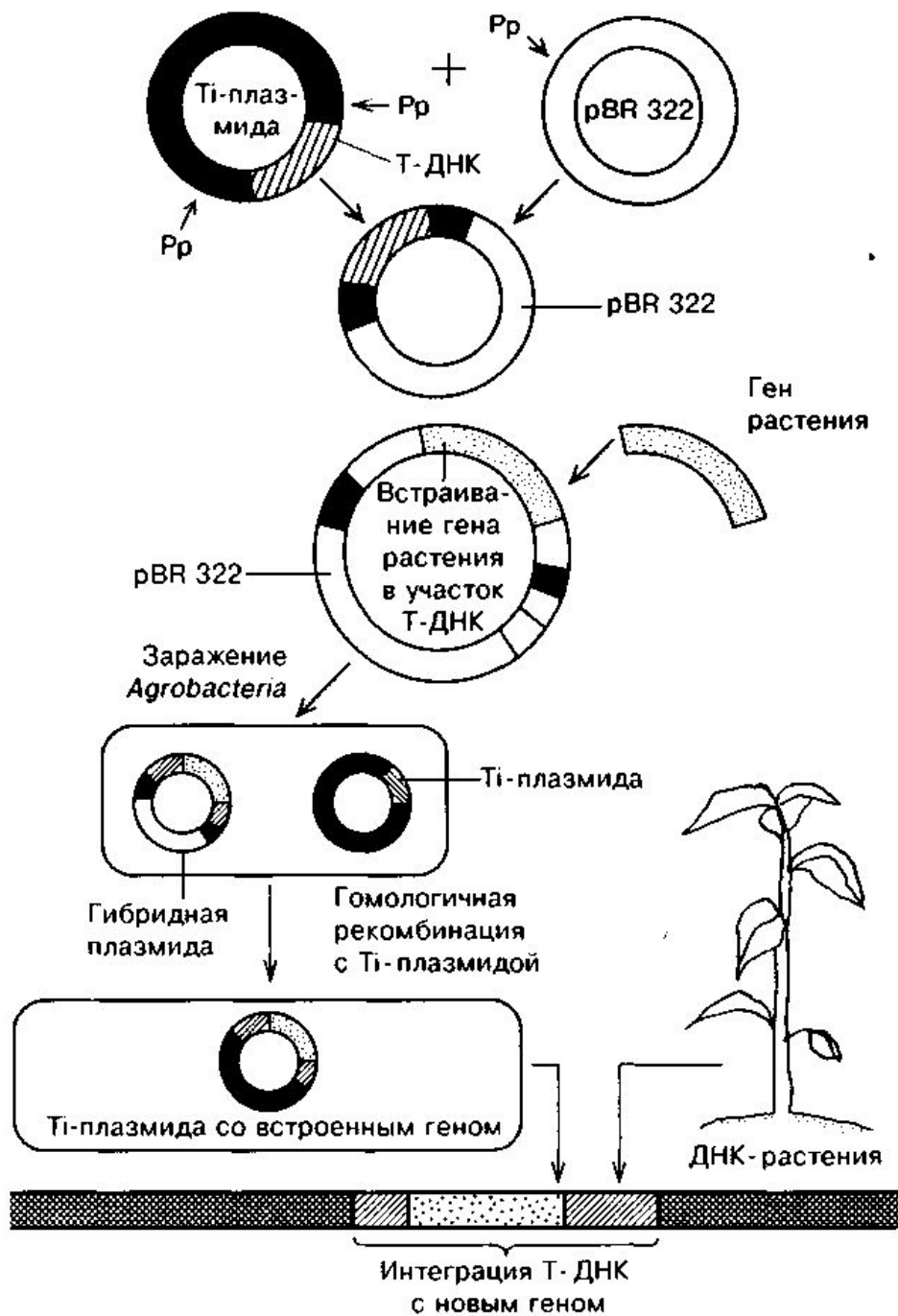


Генетическая трансформация растения *A. tumefaciens*



Структура Тi-плазмид нопалинового и октопинового типа





Метод «промежуточных векторов»

Бинарные векторы

На разных плазмидах находятся:

- ❑ *vir*-область
- ❑ Т-ДНК (а) или F-плазмида (б)

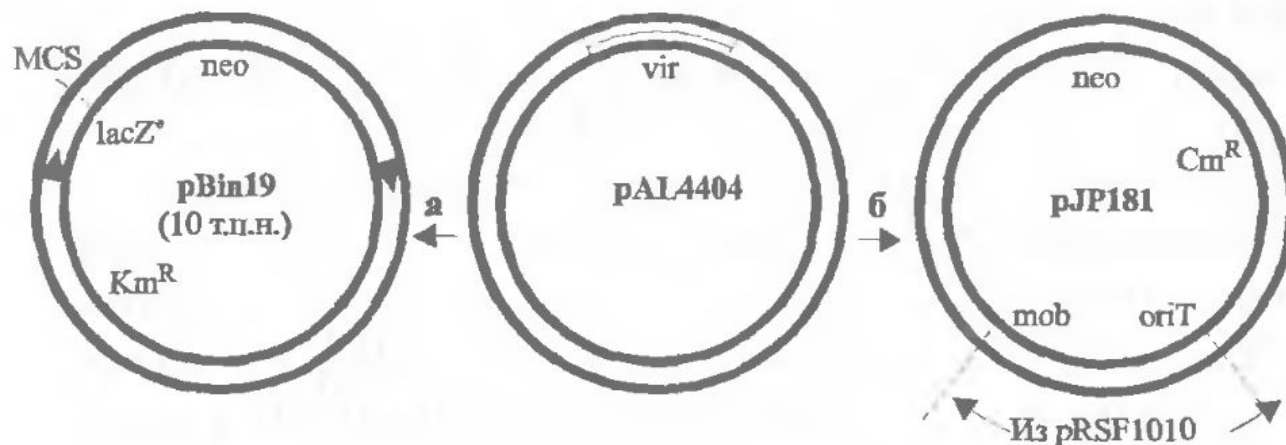
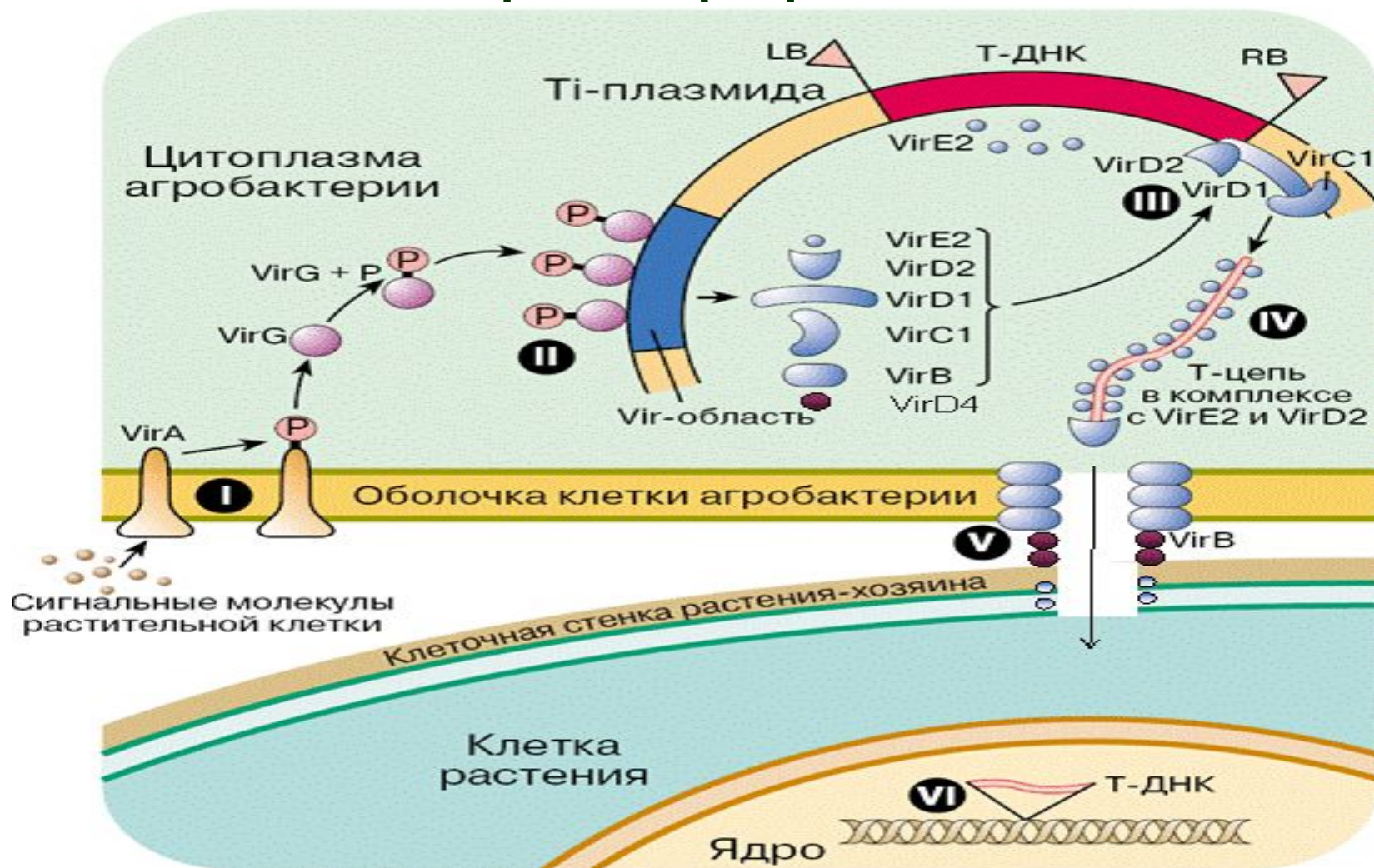


Рис. 12.3. Системы бинарных векторов с Т-ДНК (а) и без Т-ДНК (б). *vir*-Функция плазмиды-помощника pAL4404 обеспечивает перенос в растения модифицированной Т-ДНК вектора pBin19 (а) и всей плазмиды pJP181 (б).

Знаки ► в дуплексе обозначают прямые концевые повторы Т-ДНК;
MCS — полилинкер плазмиды pUC19

Основные этапы агробактериальной трансформации



Введение Ti-плазмид в растительную клетку

- инокуляция сконструированных штаммов в поврежденные области растения.
- трансформация протопластов путем кокультивирования их с агробактериями.
- трансформация протопластов путем кокультивированием их с Ti-плазмидами

Примеры использования селективных маркеров в векторах для трансформации растений

Селективный маркер	Субстраты (селективные агенты)	Чувствитель- ность ткани контрольного растения, мкг/мл
Ген неомицинфосфо- трансферазы II (<i>nptII</i>)	Неомицин	50-250
	Канамицин ¹	5-35
	G-418	3-10
Ген гигромицинфосфо- трансферазы (<i>hpt</i>)	Гигромицин-В	3-10
Ген устойчивости к блеомицину (<i>Ble</i>)	Блеомицин	1-5
Ген дигидрофолат- редуктазы (<i>dhfr</i>)	Метотрексат ¹	0,01-0,5
	Триметоприм	8-16

Продукция трансформированными растениями белков человека для терапевтического применения

Заболевания, синдромы	Растение-хозяин	Белки	Уровень экспрессии	Год опубликования
Анемия	Табак	Эритропоэтин	< 0,01 % СРБ ¹	1997
Передозировка наркотиков	Арабидопсис (резушка)	Энкефалины	0,10 % белка семян	1997
Цирроз печени, ожоги, хирургические травмы	Табак	Сывороточный альбумин	0,02 % СРБ	1997
Кровопотеря	Табак	α -, β -глобин	0,05 % белка семян	1997
Гиперкоагуляция	Табак	Протеин С	< 0,01 % СРБ	1999
	Рапс	Гирудин (ингибитор тромбина)	0,30 % белка семян	1999
Вялое заживление ран	Табак	Эпидермальный фактор роста	< 0,01 % СРБ	1999
Гепатиты А и В	Рис, репа	α -Интерферон	Нет данных	1999
	Табак	β -Интерферон	< 0,01 % СВ ²	
Нарушение синтеза коллагена	Табак	Гомотримерный коллаген	< 0,01 % СВ	1999
Нейтропения	Табак	Гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующий фактор	Нет данных	2000
Недостаток гормона роста	Табак	Соматотропин	< 0,01% СРБ	2000
Пузырный фиброз, заболевания печени, кровотечения	Рис	α 1-Антитрипсин	Нет данных	2000
Предупреждение отторжения трансплантата	Кукуруза	Апротинин (ингибитор трипсина)	Нет данных	2000
Бактериальные инфекции	Картофель	Лактоферрин	0,10% СРБ	2000



Вирусные векторы

- ❑ Компактность
 - ❑ Мало несуществственных генов
- Используемые вирусы:
- ❑ Вирус табачной мозаики
 - ❑ Вирус мозаики коровьего гороха

Агроинфекция – внесение в растение вирусной ДНК с помощью агробактерий.

Опасность ГМО



- ☐ Недоразвитость
- ☐ Бесплодие
- ☐ Рак
- ☐ Мутации
- ☐ Детская смертность
- ☐ Аллергия
- ☐ Нарушение иммунитета и обмена веществ

Из ГМО могут производиться: E101; E101A; E150; E153 ; E160a; E160b; E160d; E234; E235; E270; E300; E301 - E304; E306 - E309; E320; E321; E322; E325 - E327; E330; E415; E459; E460 - E469; E470; E471; E472a; E472b; E473; E475; E476, E479b; E481; E570; E620 - E633; E626 - E629; E630 - E633; E951; E953; E957; E965.

Используют ГМО: Kelloggs, Nestle, Heinz Foods, Coca-Cola, McDonalds, Danon, Similac, Cadbury, Mars, PepsiCo.

Страна	% от мировой площади ГМО
США	59%
Аргентина	20%
Канада	6%
Бразилия	6%
Китай	5%
Парагвай	2%
Индия	1%
ЮАР	1%