

# • Генетическая трансформация растений

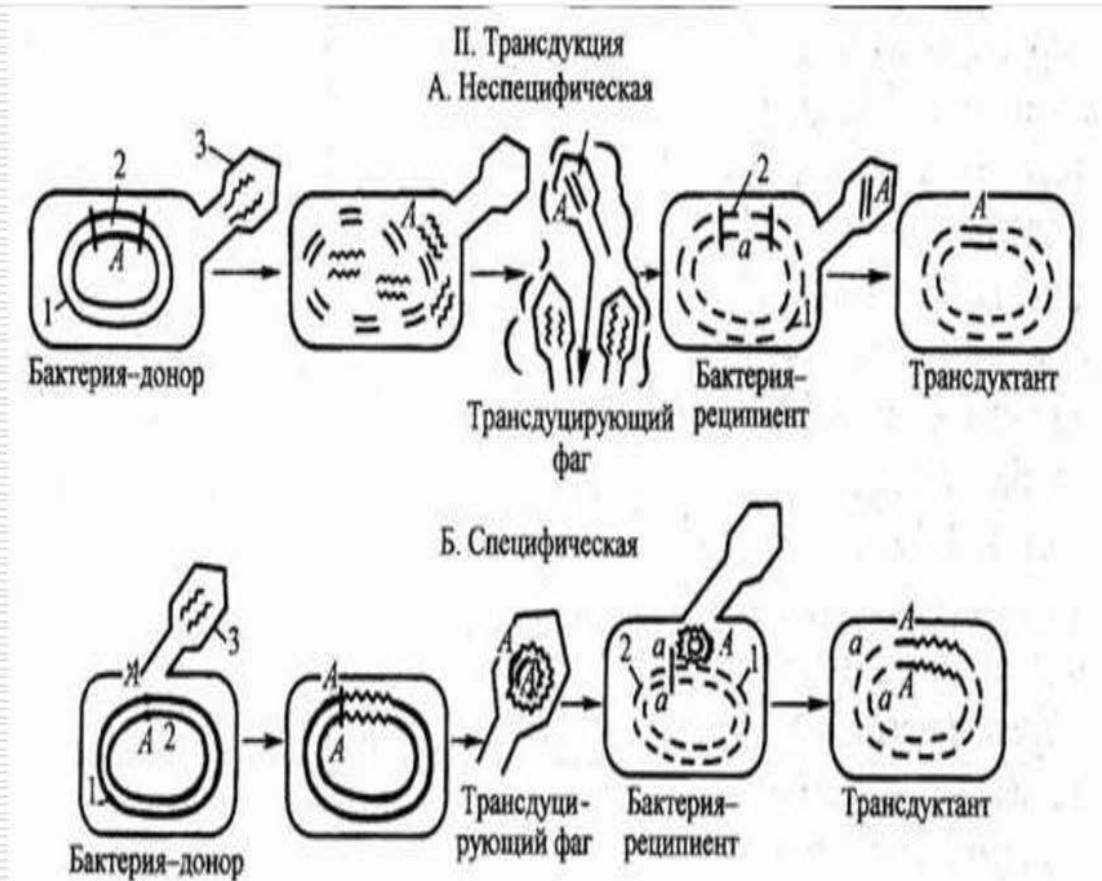
- Центральным компонентом генно-инженерной технологии является набор приемов для переноса генов из одной биологической системы в другую.
- Несмотря на сравнительно небольшой срок исследований в этом направлении, уже созданы универсальные системы, позволяющие:
  - - клонировать гены микроорганизмов, животных и растений,
  - - встраивать их в способную к переносу конструкцию
  - - и эффективно вводить ее в клетки растений.
- Наиболее важные проблемы, для решения которых осуществляется генетическая трансформация растений:
  - - повышение устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам,
  - - улучшение качеств запасных белков зерна,
  - - повышение эффективности азотфиксации
  - - расширение круга культурных растений, способных к симбиотической фиксации азота,

- **Трансдукция** (лат. **transductio** перемещение) — явление переноса генетического материала из одной бактериальной клетки в другую с помощью **бактериофагов**.

- Трансдукция, при которой фаг переносит (трансдуцирует) любой участок генома бактерии, плазмиды или профага- общая (полная), или неспецифическая

- **Специфическая, или локализованная,** трансдукция, напр. осуществляемой фагом А, - могут быть трансдуцированы лишь участки генома бактериальной клетки, прилегающие к сайту (участку) интеграции профага.

## Схема трансдукции

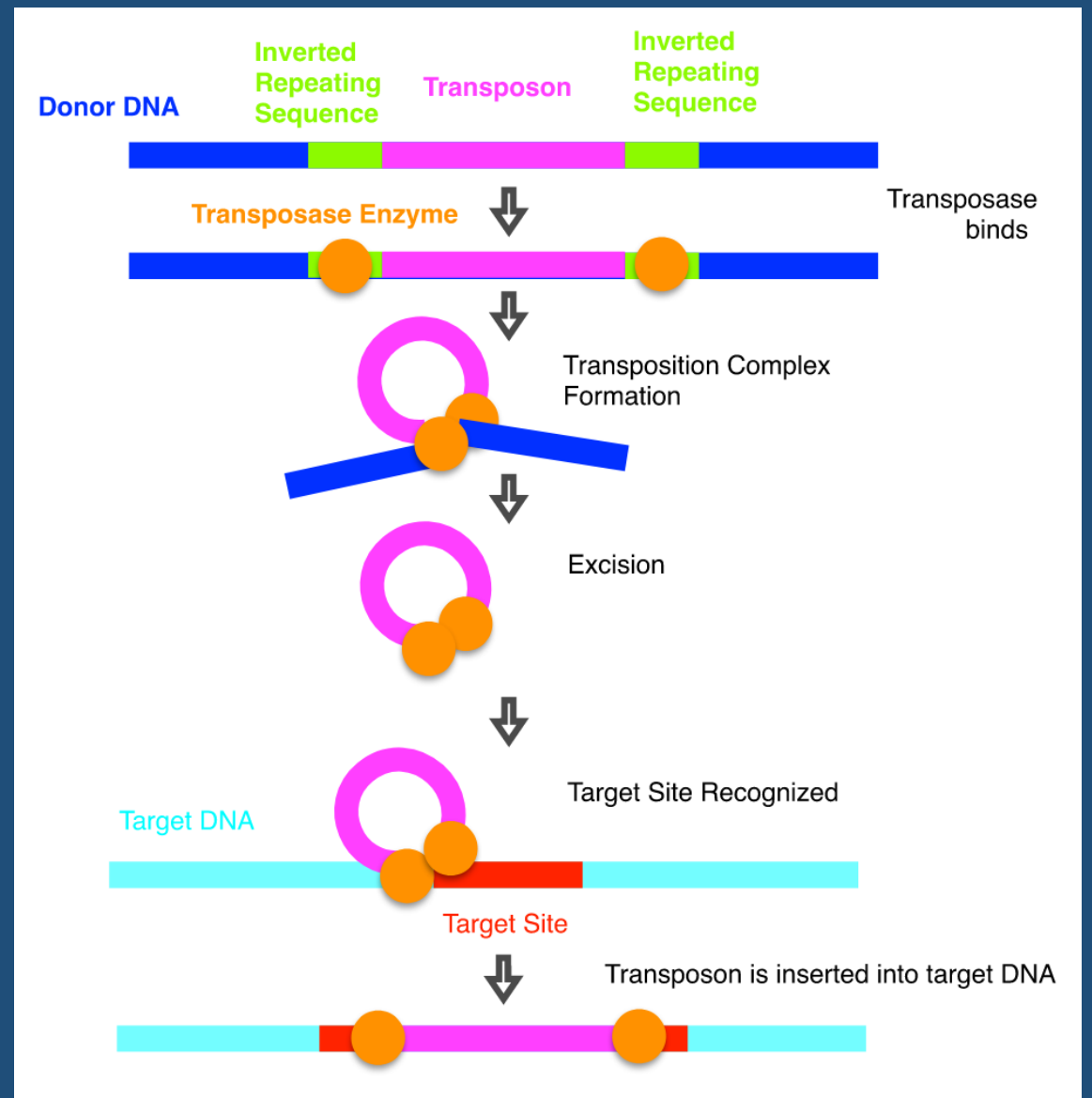
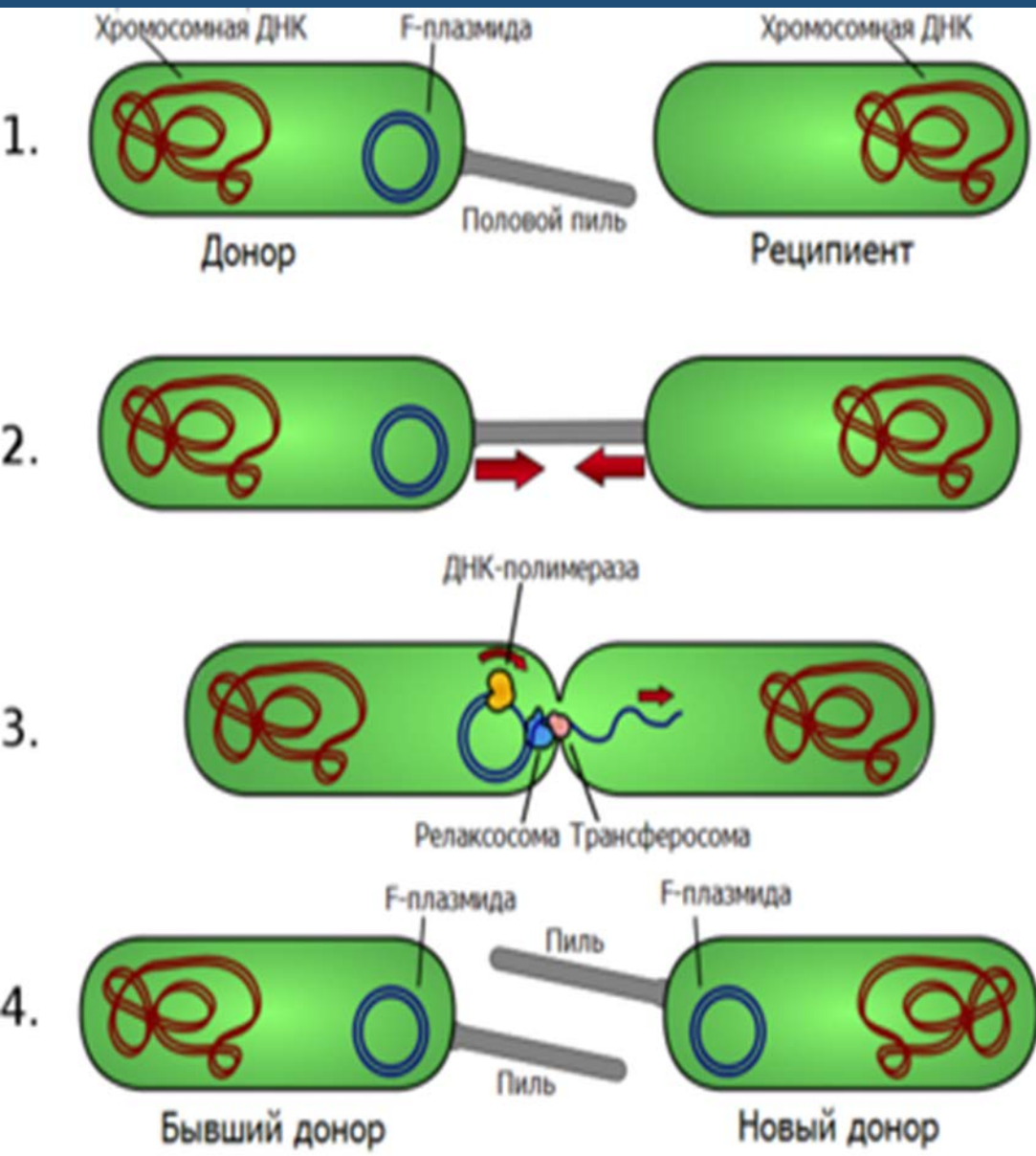


- При **специфической трансдукции** способностью переносить часть генетического материала клетки-донора обладают только те препараты фага, которые получены в результате индуцирования лизогенных культур

- Помимо того, что включение фрагмента бактериальной хромосомы происходит только при индуцировании профага, **трансдуцируется только тот фрагмент хромосомы, к-рый расположен рядом с местом внедрения профага.**

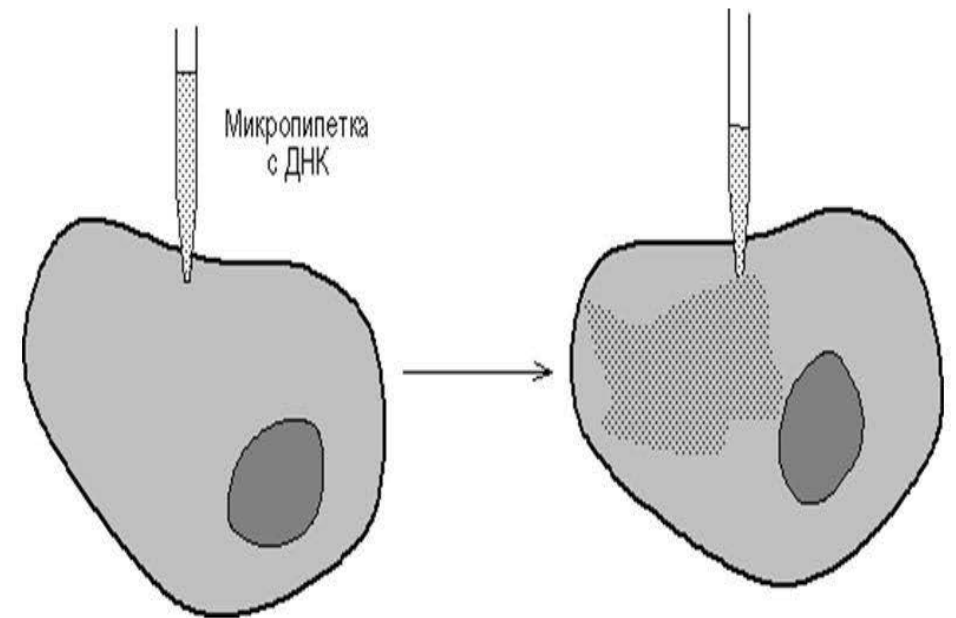
- - **Конъюгация** – однонаправленный перенос части генетического материала при непосредственном контакте двух бактериальных клеток;

- - **Транспозиция** – перемещение определенных генетических элементов (транспозонов) из одного места на хромосоме в другое.

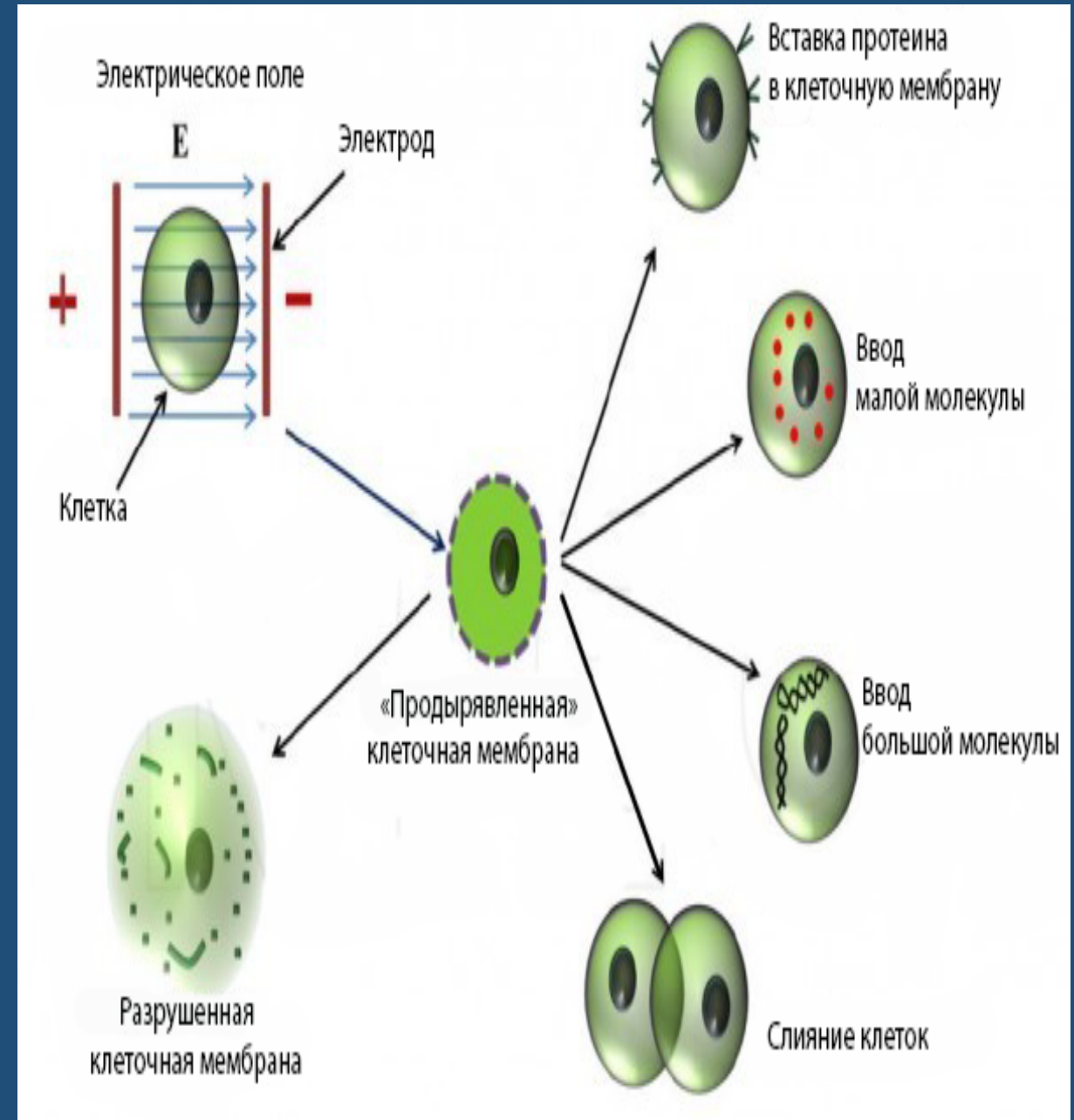


- **Выбор метода зависит:**
  - - от типа клеток-хозяев
  - типа использованного вектора,
  - от личных предпочтений и возможностей экспериментатора.
- **Наиболее часто используются следующие методы:**
  - 1. **Микроинъекция.** При помощи тончайшей стеклянной трубочки и микроманипулятора в ядро клетки можно ввести векторную ДНК с включенным в нее трансгеном.
  - Число молекул ДНК, вводимых за одну инъекцию, может составлять от 100 до 300 000.

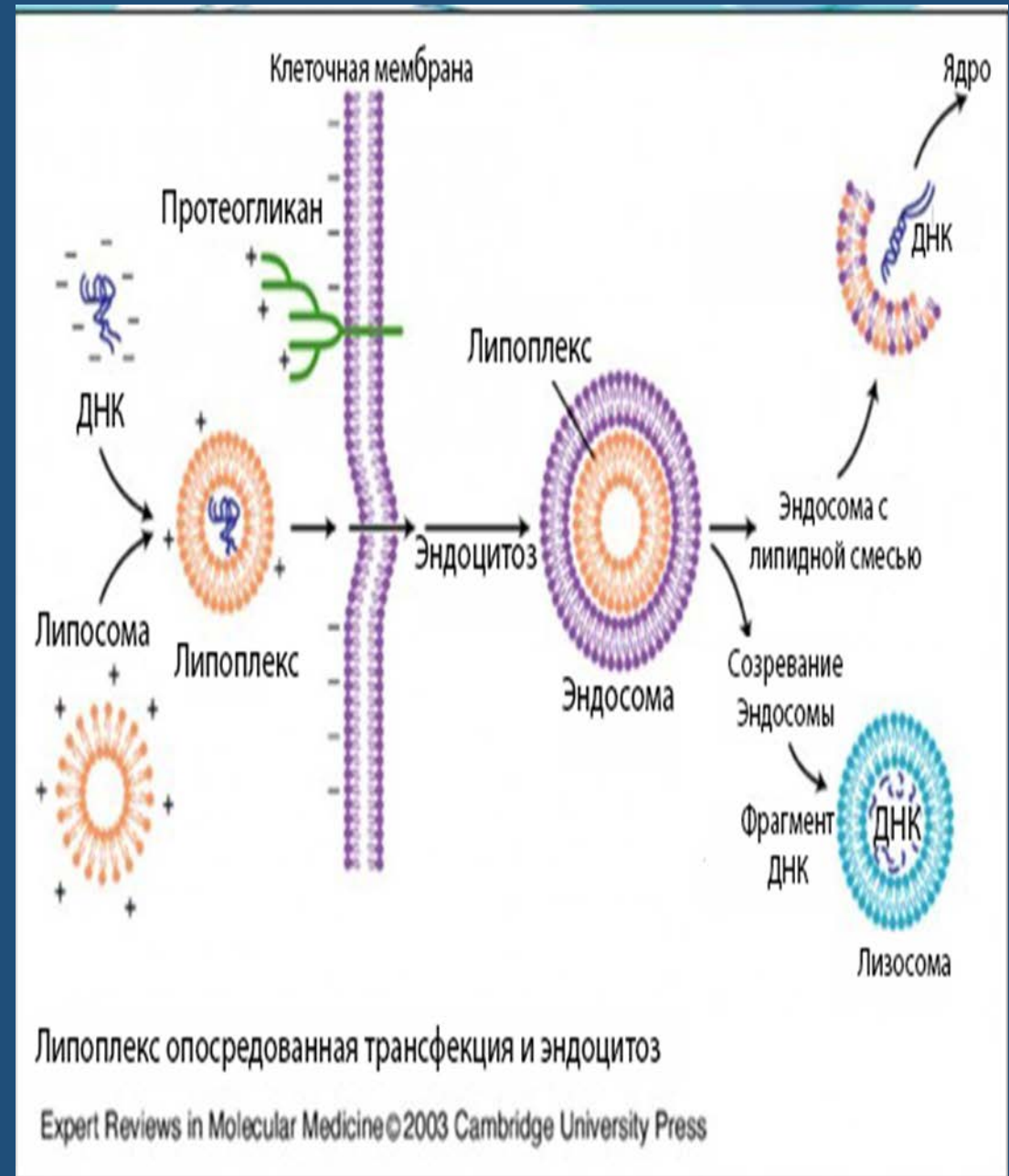
## Микроинъекция ДНК в ткани



- 2. **Электропорация.** Под действием импульсов электрического тока высокого напряжения обратимо увеличивается проницаемость мембран.
- В результате, через образующиеся в мембране микропоры, ДНК из окружающей среды проникает в клетку.



- 3. **Трансфекция.** Вектор обрабатывают ионами кальция и **наноконплексы ионов и вектора проникают в клетку путем пиноцитоза.**
- **Метод применяют для внедрения трансгенов в эукариотические клетки.**
- 4. **Упаковка в липосомы.**
- **Липосомы** — сферические образования, покрытые фосфолипидами и содержащие внутри вектор, способные проникать в клетку вследствие их растворения в липидах плазмалеммы.



- 5. **Бомбардирование микрочастицами.** Это один из самых эффективных методов трансформации растений.
- Для внедрения используют незрелые зародыши семян, которые бомбардируют частицами золота или вольфрама, на которые наносится покрытие из вектора.
- Этими частицами заряжают **«генные пушки»**, после выстрелов из которых частицы проникают в клетки.





## Инфекция вирусом.

- Метод является природно-инфекционным способом заражения клетки-хозяина. Основан на особенностях механизма размножения ретровирусов.

- В заключении проводят идентификацию клеток, содержащих рекомбинантную ДНК, и их отбор или селекцию.

- В основном осуществляется на селективной среде по маркерным генам. Наиболее широко в качестве маркера используются гены устойчивости к антибиотикам.

- Если в векторной молекуле содержится ген устойчивости к какому-либо антибиотику то соответственно трансформированные клетки будут устойчивы только к этому антибиотику. По этому признаку их отбирают.

- *Agrobacterium tumefaciens* или по-русски агробактерия опухолеобразующая.

- При заражении растения такими бактериями в месте их внедрения (обычно это нижняя часть стебля) в результате усиленного деления растительных клеток образуется опухоль, называемая корончатый галл.

**Agrobacterium tumefaciens**

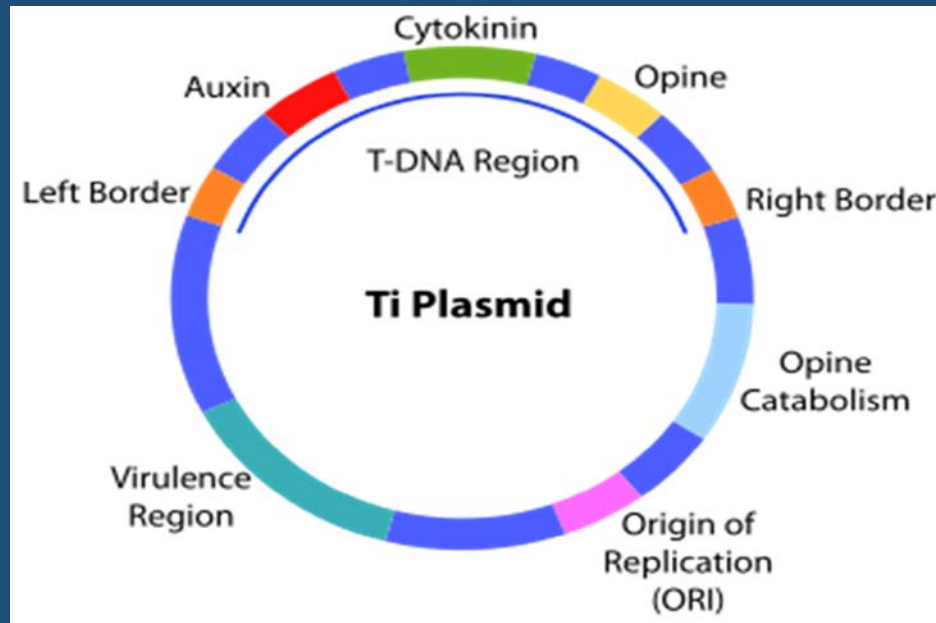
**Хромосомы  
клеток опухоли**

**Дополнительные  
участки ДНК**

**Участок Тi-плазмиды  
из клеток бактерий**

**Клетки  
растений**

**Т-ДНК**



# Схема конструирования вектора на основе Ti-плазмиды

