

Генная инженерия
растений

Генная инженерия

Генетическая инженерия (генная инженерия) — совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы.

Этапы получения трансгенных организмов

- Выделение гена
- Включение гена в вектор
- Доставка вектора в клетку
- Выращивание организма

Агробактерии

Агробактерии - род грамотрицательных аэробных бактерий. 4 вида; обитают в почве, главным образом в ризосфере. Способны вызывать образование галлов (опухолей) у многих растений.

В генной инженерии используются:

- ❑ *Agrobacterium tumefaciens* (Ti-плазмиды)
- ❑ *Agrobacterium rhizogenes* (Ri-плазмиды)



Агробактериальная трансформация

- Прикрепление бактерий к клеткам растений (β -глюкан и O-антигенная цепь \leftrightarrow рецепторы из белка и пектина)
 - Специфическая адгезия растений
 - Образование целлюлозных фибрилл
 - Формирование сети фибрилл
- Передача ДНК от бактерий в растительную клетку
 - Повреждение клеточной стенки (пектолитические ферменты)
 - Передача ДНК
 - Включение сегмента T-ДНК в ядерную ДНК растительной клетки

T-ДНК

- Существуют нопалиновый и октопиновый виды Ti-плазмид.
- Состоит из локусов онкогенности (onc) и генов, кодирующих октопинсинтетазу (ocs) или нопалинсинтетазу (nos).
- Мутации в различных генах приводят к изменениям в различных частях растения.
- Интеграция – неспецифическая в активно транскрибирующиеся участки ДНК.

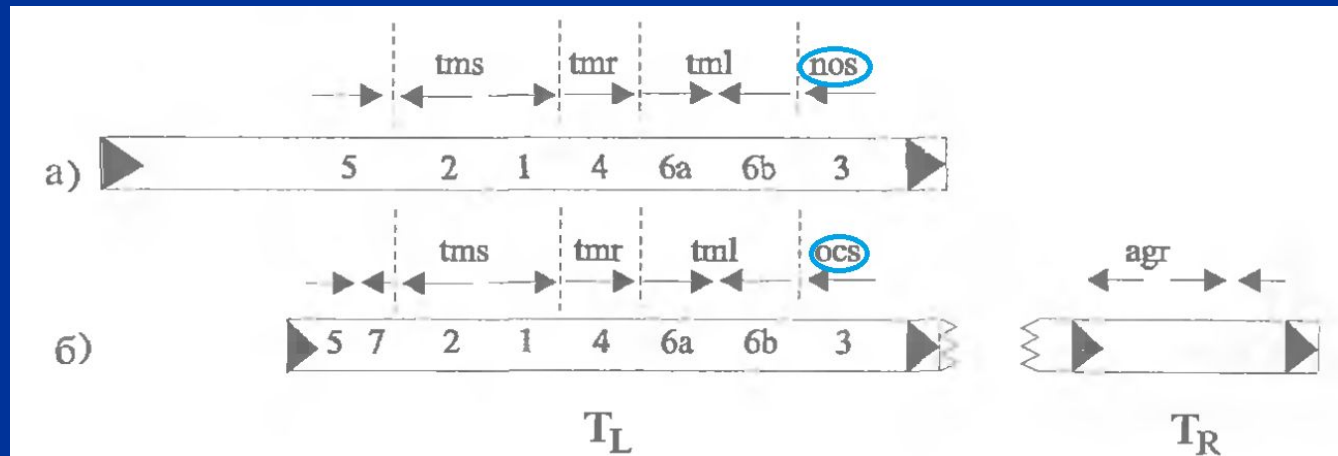


Рис. 12.1. Генетические карты и характер транскрипции T-ДНК Ti-плазмид *A. tumefaciens*:

a — T-ДНК **нопалиновой** плазмиды pTiC58; *б* — T_L-ДНК и T_R-ДНК **октопиновой** плазмиды pTiAch5. Стрелками указаны направления считывания генов. Знаки ► в дуплексе обозначают прямые концевые повторы T-ДНК. Цифрами обозначены гены

СХЕМА ПОЛУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОГО РАСТЕНИЯ ХЛОПЧАТНИКА

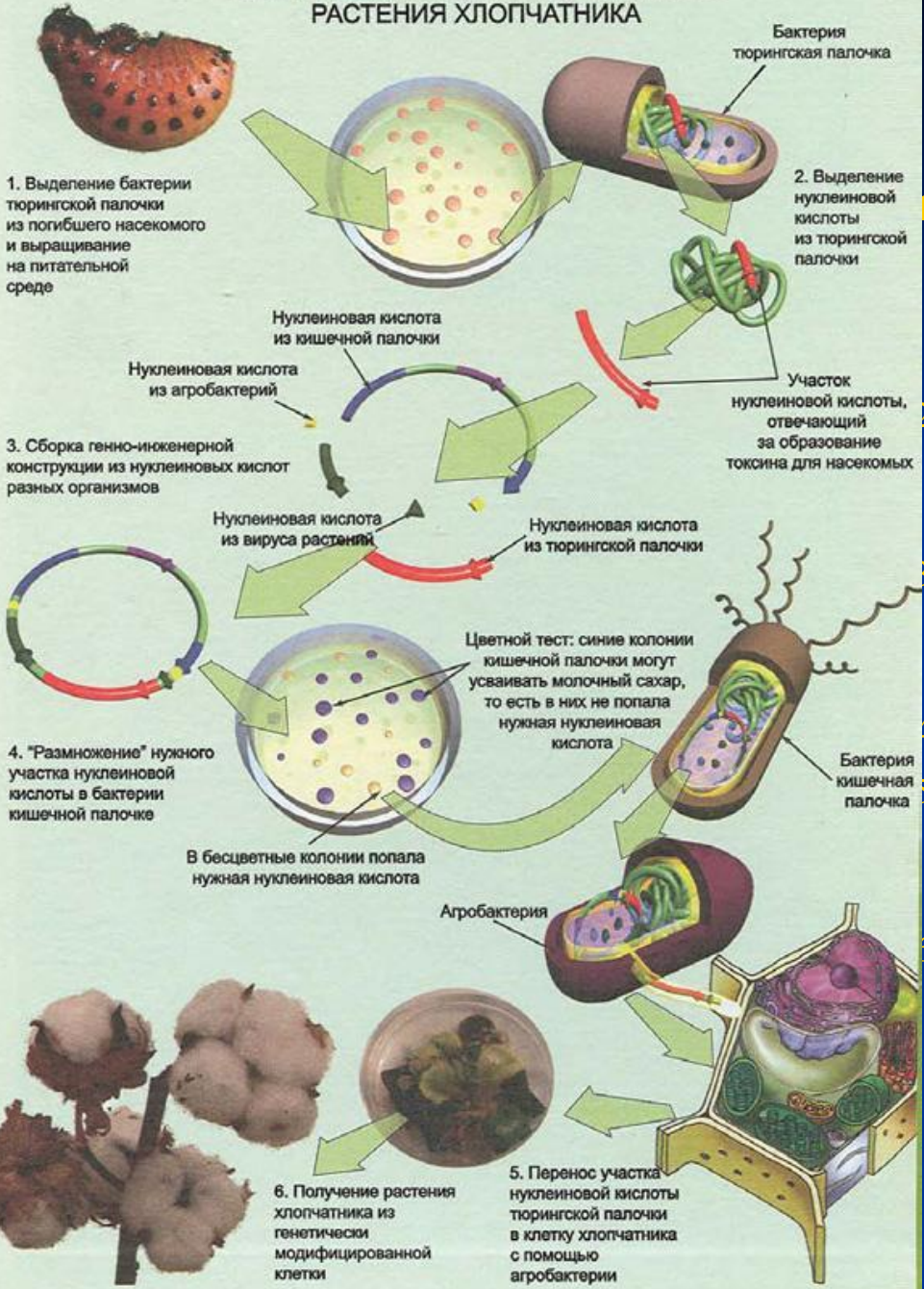


Схема получения ГМО

1) Выделение болезнетворной бактерии из погибшего насекомого и выращивание на питательной среде

2) Выделение участка нуклеиновой кислоты, отвечающей за образование токсина

3) Сборка генно-инженерной конструкции из нуклеиновых кислот разных организмов

4) Клонирование вектора в *E. coli*

5) Перенос вектора в клетку растения с помощью агробактерии

6) Получение растения из генетически модифицированной клетки.

Второй метод – создание системы бинарных векторов.

Бинарные векторы

На разных плазмидах находятся:

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

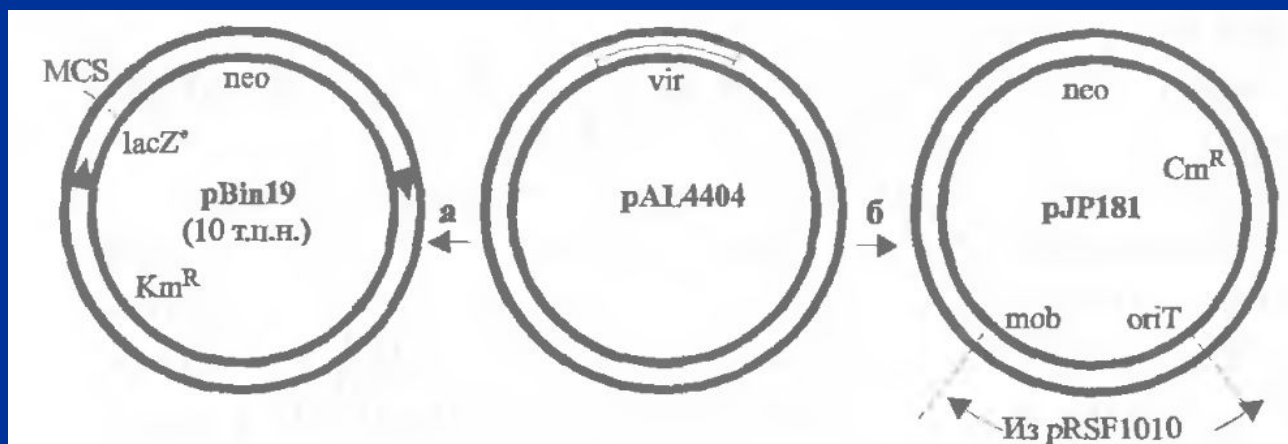


Рис. 12.3. Системы бинарных векторов с Т-ДНК (а) и без Т-ДНК (б). *vir*-Функция плазмиды-помощника *pAL4404* обеспечивает перенос в растения модифицированной Т-ДНК вектора *pBin19* (а) и всей плазмиды *pJP181* (б).

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

Селективные маркеры

ДНК-маркер – полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК, для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов, особей, пород, сортов, линий.

Пример селективного маркера растений:

- ❑ Неомицинофосфотрансфераза – устойчивость к канамицину.

Вирусные векторы

- ❑ Компактность
- ❑ Мало несущественных генов

Используемые вирусы:

- ❑ Каулимовирусы (двудольные растения)
- ❑ Геминивирусы (одно- и двудольные растения)

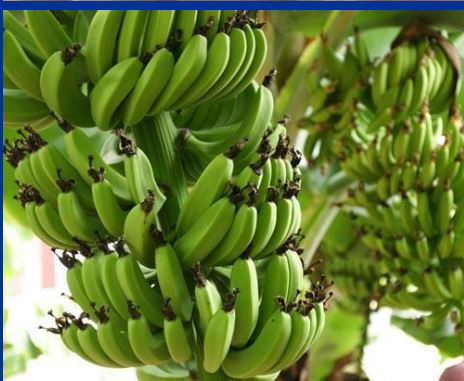
Агроинфекция – внесение в растение вирусной ДНК с помощью агробактерий.

Подавление экспрессии генов (сайленсинг)

- на уровне транскрипции (модификация гистонов)
- на посттранскрипционном уровне (деградация мРНК соответствующих генов путем РНК-интерференции)

Основные направления генной инженерии растений

- ❑ Организмы с новыми свойствами
- ❑ Организмы, устойчивые к вредителям
- ❑ Производители белков и других веществ



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%