

Тема: «Биотехнология»

Подтемы:

1. Клеточная инженерия в селекции и семеноводстве садовых культур
2. Методы генной инженерии растений
3. Генетическая трансформация растений

Выполнили студенты 4 курса:
Богун Полина
Змеева Виктория
Вагнер Иван

Клеточная инженерия в селекции и семеноводстве садовых культур

? **Биотехнология** — дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии [5].

Основные разделы биотехнологии

- ? Клеточная инженерия – технологии основаны на возможности выращивания тканей и клеток *in vitro*, на слиянии соматических (неполовых) клеток или их протопластов.
- ? Генетическая инженерия – технологии основаны на получении гибридных молекул ДНК и введении их в клетки бактерий, растений и животных.
- ? Биологическая инженерия – технология основана на изучении биологических особенностей клеток и внедрении компьютерных методов контроля технологических режимов. [4]

Клеточная инженерия в селекции и семеноводстве садовых

культур

? Клеточная инженерия – это создание клеток нового типа на основе их гибридизации, реконструкции и культивирования. Клеточная инженерия включает реконструкцию жизнеспособной клетки из отдельных фрагментов разных клеток, объединение целых клеток, принадлежавших различным видам, с образованием клетки, несущей генетический материал обеих клеток, и другие операции. Клеточная инженерия используется для решения теоретических проблем в биотехнологии и является одним из основных её методов для создания новых форм растений и животных [1].

Культура клеток и тканей растений **in vitro** основана на трех принципах:

- ? необходимости изолирования экспланта от материнского растения;
- ? культивировании экспланта в регулируемых условиях, определяемых химическим составом питательной среды, а также физическими условиями;
- ? выполнении всех работ по культивированию клеток и тканей в стерильных условиях. [4]

- ? В 1922 г американец В. Роббинс и немец В. Котте независимо друг от друга показали возможность выращивания меристем кончиков корней томатов и кукурузы на синтетических питательных средах.
- ? Меристема, от греч. меристос – делимый, образовательная ткань растений, долго сохраняющая способность к делению клеток
- ? С этого момента начались массовые исследования, и к 1959 г. насчитывалось уже 142 вида высших растений, выращиваемых в стерильных условиях на специально подобранной культуральной среде.
- ? В 1955 г. Ф. Скуг и С. Миллер открыли новый класс фитогормонов – цитокинины. При их совместном действии с другими фитогормонами – ауксинами – появилась возможность стимулировать деление клеток, поддерживать рост каллусной ткани, индуцировать морфогенез в контролируемых условиях.
- ? В 1960 г. Коккинг (Великобритания) разработал метод получения изолированных протопластов. Это послужило толчком к получению соматических гибридов, введению в протопласты вирусных РНК, клеточных органелл, клеток прокариот. В это же время Дж. Морел и Р.Г. Бутенко предложили метод клонального микроразмножения, который сразу широко стал использоваться на практике. Под руководством Р.Г. Бутенко в 1969 г. была разработана технология культивирования одиночной клетки при помощи вспомогательной ткани. [3]

? Метод получения растений из одной клетки основан на способности тканей растений к неорганическому росту на специальных искусственных средах, содержащих питательные вещества и регуляторы роста. При культивировании тканей растений на таких средах многие клетки оказываются способными к неограниченному размножению, образуя слои (массу) недифференцированных клеток, получивших название каллуса. Если каллус разделить на отдельные клетки и продолжить культивирование изолированных клеток на питательных средах, то из отдельных (одиночных) клеток могут развиваться настоящие растения. Способность одиночных соматических клеток растений развиваться в настоящее (целое) растение, называют тотипотентностью [2]



126. Получение растения методом культуры тканей.

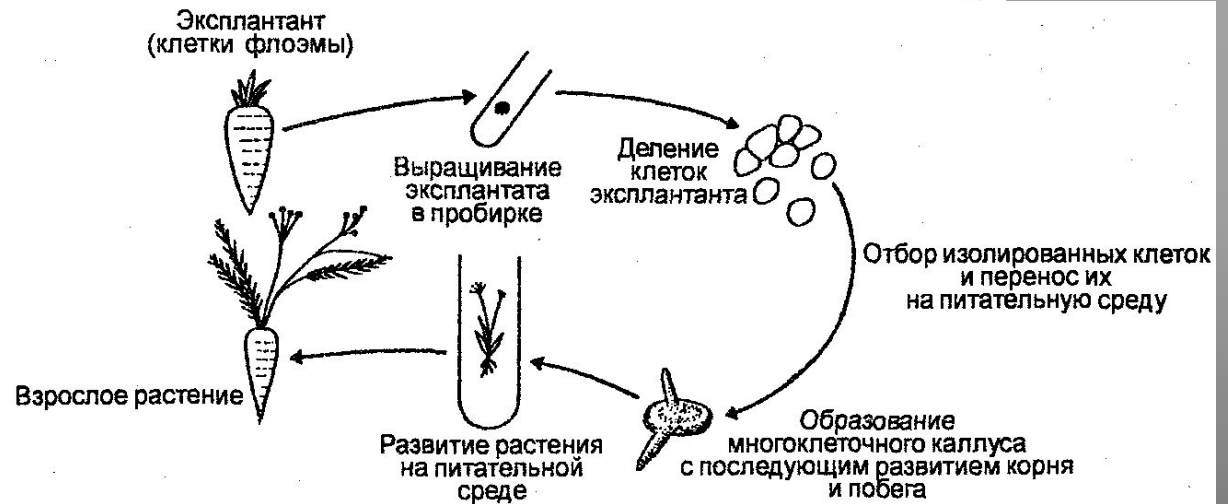


Рис. 230

Развитие растения моркови из отдельной клетки

Задачи клеточной инженерии

- ? Получение и применение культурных клеток животных, человека, растений и бактерий для культивирования вирусов, с целью создания вакцин, сывороток, диагностических препаратов.
- ? Культивирование культур клеток для получения биологически активных веществ.
- ? Получение моноклональных антител для использования в медицине и ветеринарии.
- ? Генно – инженерные манипуляции с клетками для получения новых форм, новых культур клеток, биопрепаратов [1].

- ? Растения, развившиеся из одной клетки, характеризуются генетической нестабильностью, что связано с мутациями их хромосом. Поскольку генетическая нестабильность дает разнообразные формы растений, они очень полезны в качестве исходного материала для селекции.
- ? Растения можно получить и из протопластов растительных клеток, под которыми понимают клетки, у которых искусственно с помощью гидролитических ферментов (пектиназы и целлюлазы) удалена клеточная стенка. Обычно протопласты получают из клеток листьев, корней, лепестков, прорастающей пыльцы, плодов и других структур растений. Способность протопластов давать начало растениям выявлена у очень большого количества видов. [2]

- ? Получение растений из одной клетки или протопласта называют клональным микроразмножением.
- ? Главнейшее преимущество этого метода состоит в том, что он позволяет резко сократить сроки размножения многих видов растений, а также очень быстро воспроизвести одно и то же растение в сотнях тысяч экземпляров, что имеет исключительно важное значение в селекционной работе и в получении посадочного материала, незараженного возбудителями болезней. [2]

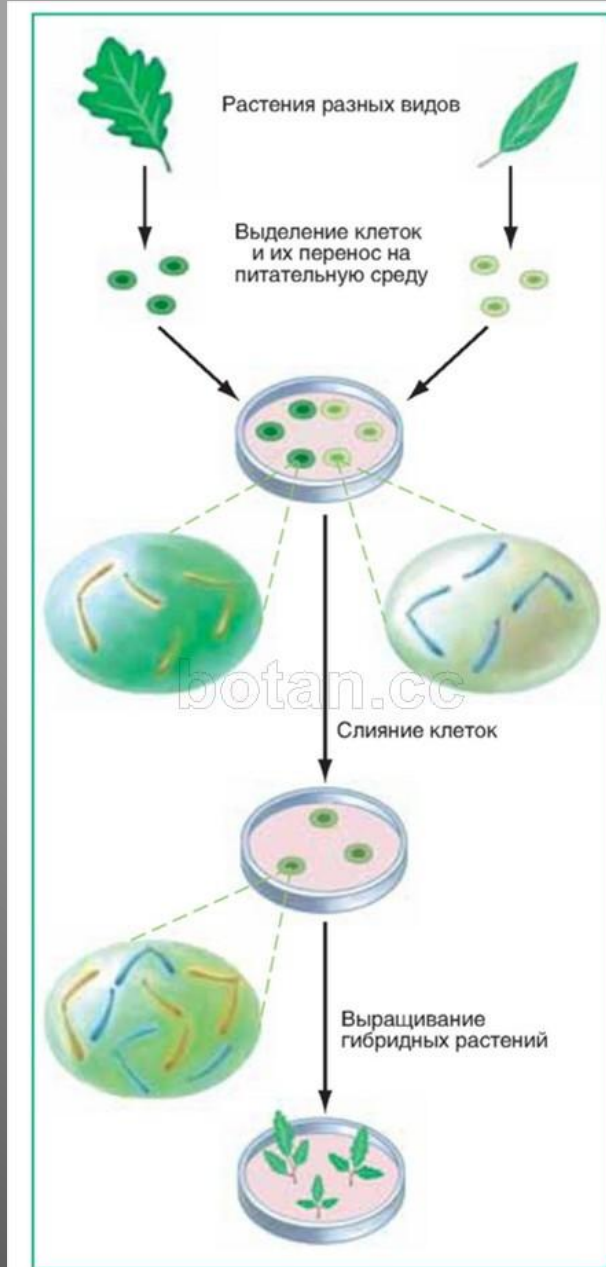
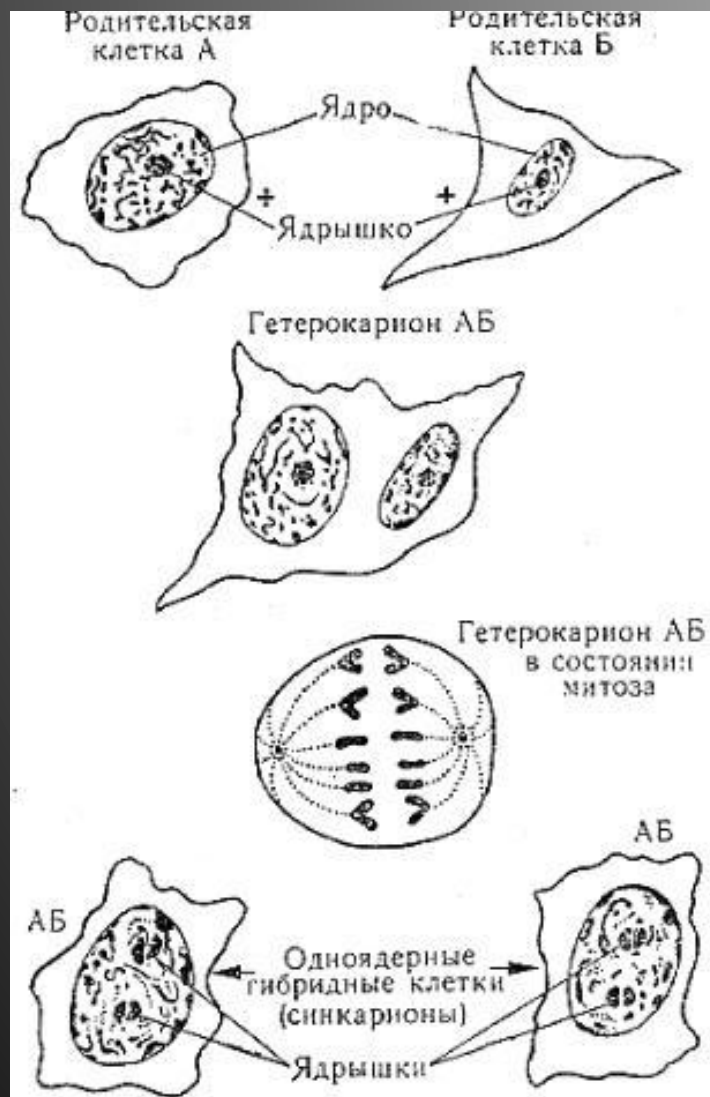


Рис. 122. Схема получения межвидовых гибридов растений путем соматической гибридизации

Методы генной инженерии растений

Цели:

- Понятие генной инженерии
- Задачи, которые необходимо решить для конструирования растений
- Схема получения генетически модифицированных растений
- Направления генной инженерии растений
- Примеры генной инженерии

Понятие генной инженерии

Генетическая инженерия - конструирование in vitro функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК), или иначе - создание искусственных генетических программ (Баев А. А.).

По Э. С. Пирузян **генетическая инженерия** - система экспериментальных приемов, позволяющих конструировать лабораторным путем (в пробирке) искусственные генетические структуры в виде так называемых рекомбинантных или гибридных молекул ДНК.

Цель прикладной генетической инженерии заключается в конструировании таких рекомбинантных молекул ДНК, которые при внедрении в генетический аппарат придавали бы организму свойства, полезные для человека.

Процедуры генетической инженерии сводятся к тому, что из набора фрагментов ДНК, содержащих нужный ген, собирают гибридную структуру, которую затем вводят в клетку. Введенная генетическая информация экспрессируется, что приводит к синтезу нового продукта. Таким образом, вводя в клетку новую генетическую информацию в виде гибридных молекул ДНК, можно получить измененный организм.

Растения имеют одно очень важное преимущество перед животными, а именно возможна их регенерация *in vitro* из недифференцированных соматических тканей с получением нормальных, фертильных (способных завязывать семена) растений.



Площади посевов трансгенных культур



Страны, выращивающие трансгенные растения.

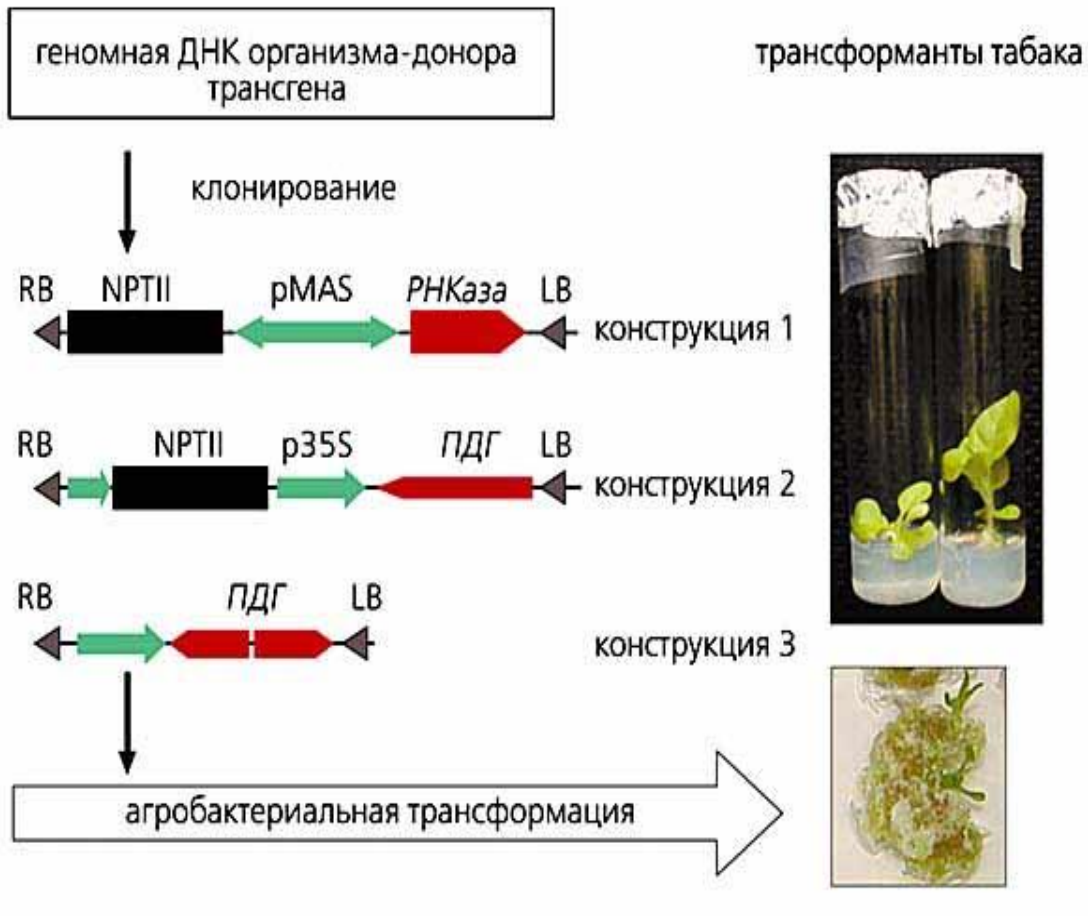
Практически всю площадь посевов трансгенных культур занимают генетически модифицированные сорта четырех растений: сои (62%), кукурузы (24%), хлопчатника (9%) и рапса (4%). Уже созданы сорта трансгенного картофеля, помидоров, риса, табака, свеклы и других культур

Задачи, которые необходимо решить для конструирования растений

- ✓ выделить конкретный ген
- ✓ разработать методы, обеспечивающие включение его в наследственный аппарат растительной клетки
- ✓ регенерировать из единичных клеток нормальное растение с измененным генотипом

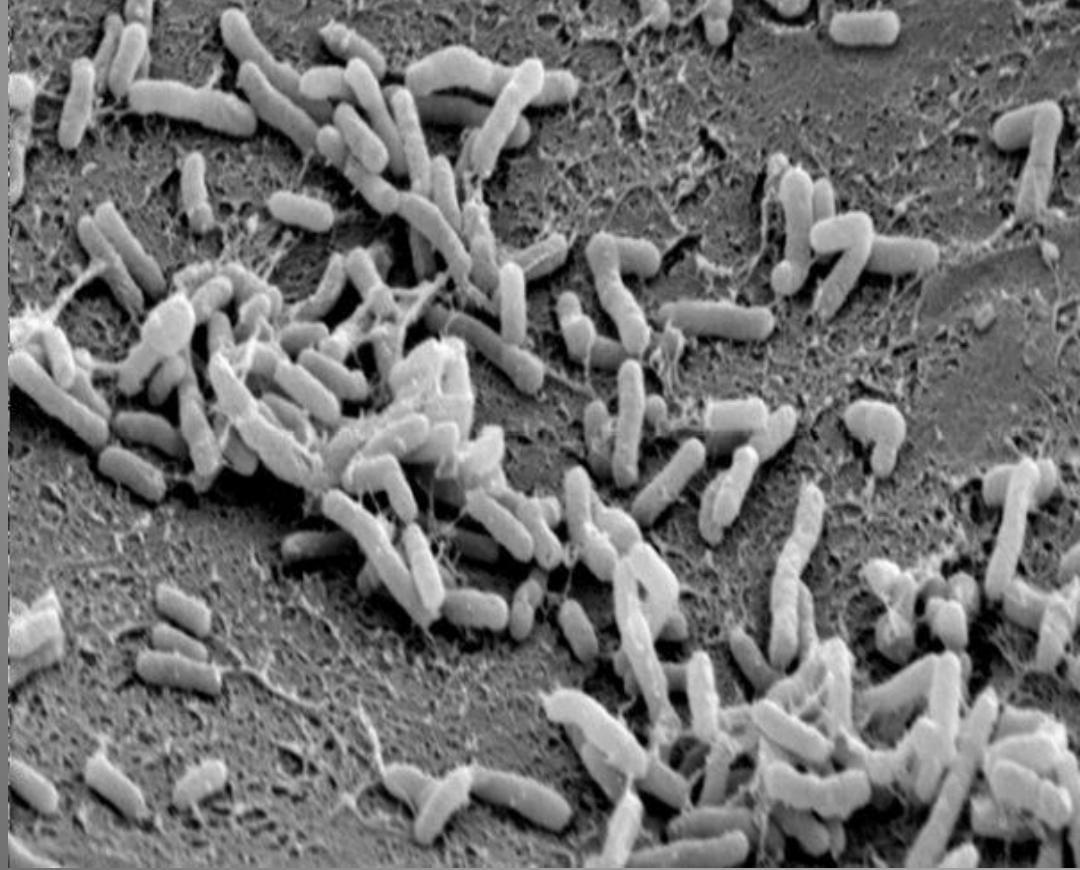
Таким образом, методология генетической инженерии в отношении растений направлена на коренное изменение методов традиционной селекции, с тем чтобы желаемые признаки растений можно было получать путем прямого введения в них соответствующих генов вместо длительной работы по скрещиваниям.

Схема получения генетически модифицированных растений



На первом этапе осуществляется выделение трансгена из геномной ДНК организма-донора. Возможно два основных варианта генетических конструкций: содержащих белок-кодирующие трансгены (конструкция 1) или участки генов, расположенные в антисмысловой ориентации (конструкции 2 и 3). Обозначения: RB, LB - повторы, маркирующие участок ДНК в векторе, который переносится в геном растений ферментами агробактерии; NPTII - ген, экспрессия которого позволяет растениям-трансформантам расти на антибиотике канамицине; RNKаза - ген панкреатической рибонуклеазы быка; PDГ - участки гена пролиндегидрогеназы арабидопсиса, размещенные в антисмысловой ориентации; pMAS, p35S - промоторы, управляющие экспрессией трансгенов.

На следующем этапе необходимо определить способ трансгеноза. Для двудольных растений наиболее эффективным способом генетической трансформации считается перенос генетического материала с помощью природного “генного инженера” - почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*.



Специфические белковые комплексы агробактерий вырезают генетическую конструкцию, переносят ее из бактерии в клетку растений и встраивают в геномную ДНК.

Заключительный этап всех подобных экспериментов - испытания созданных генными инженерами растений.

Есть еще один вариант создания генетически модифицированных растений, при котором генетическая конструкция не содержит трансгенов, кодирующих белок. В этом случае используется феномен так называемого генетического сайленсинга (от англ. *silencing* - глушение), который используется, когда нужно отключить или снизить активность одного из собственных генов растения. В основе этого метода лежит открытие фундаментального явления РНК-интерференции (подавления экспрессии генов с помощью двуцепочечной РНК), за которое была присуждена Нобелевская премия.

Направления генной инженерии растений

- Растения с высокой урожайностью
- Растения, устойчивые к низким температурам
- Растения, устойчивые к насекомым-вредителям
- Растения, устойчивые к гербицидам
- Растения, устойчивые к вирусам
- Растения - азотфиксаторы

Примеры генной инженерии

Борющиеся с загрязнениями растения.

Ученые Вашингтонского университета работают над созданием тополей, которые могут очищать загрязненные места при помощи впитывания через корневую систему загрязняющих веществ, содержащихся в подземных водах. После этого растения разлагают загрязнители на безвредные побочные продукты, которые впитываются корнями, стволом и листьями или высвобождаются в воздух.



Различные виды растений модифицированы для получения токсина **Bacillus thuringiensis**. Этот бактериальный токсин *Bt* ядовит для ряда насекомых, вредителей сельского хозяйства, но безвреден для человека



Вскоре люди смогут получать вакцину от гепатита Б и холеры, просто укусив банан. Когда измененная форма вируса вводится в молодое банановое дерево, его генетический материал быстро становится постоянной частью клеток растения. С ростом дерева его клетки производят вирусные белки, но не инфекционную часть вируса. Когда люди съедают кусок генетически созданного банана, заполненного вирусными белками, их иммунная система создает антитела для борьбы с болезнью; то же происходит и с обычной вакциной.



Список литературы

1. <http://biofile.ru/bio/16217.html>
2. http://referatwork.ru/category/genetika/view/22972_kletochnaya_inzheneriya_u_rasteniy
3. <https://refdb.ru/look/2389273-p5.html>
4. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларусь. наука, 2012. – 489 с.
5. <https://ru.wikipedia.org>
6. <http://megabook.ru/>
7. Природа, №6, 2007 г. Кочетов А.В. Генная инженерия и растения
8. Сорковский образовательный журнал, том 6, №10, 2000г. Лутова Л.А. Генетическая инженерия растений: свершения и надежды
9. <http://facepla.net/the-news/1582-gmo27.html>