Содержание

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение... 5

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ... 15

1.1. Стабильность экспрессии и наследование чужеродных генов у трансгенных растений... 15

1.1.1. Клонирование генов для переноса их в геном растений... 15

1.1.2. Создание генетических конструкций... 16

1.1.3. Перенос созданных генетических конструкций в геном растений... 18

1.1.3.1. Агробактериальная трансформация: генетическая карта Ti-плазмиды и Т-ДНК... 19

1Л .3.2. Общая схема переноса Т-ДНК в клетки растений... 20

1.1.3.3. Перенос векторных последовательностей в процессе

агробактериальной трансформации... 24

1.1.4. Оценка трансгенных растений по стабильности экспрессии перенесенных генов и отбор отдельных трансформантов для дальнейшей селекционной доработки... 26 -

1.1.4.1. Наследование трансгенов у трансгенных растений... 261

1.1.4.2. Вариабельность экспрессии перенесенных генов... 27

1.2. Изменение экспрессии перенесенных генов в новом окружении генома растений: эффект замолкания... 30\*

1.2.1. Частота инактивирования трансгенов у независимо полученных трансгенных растений... 30

1.2.2. Возможные причины инактивирования трансгенов... 31

1.2.3. Молекулярные механизмы инактивации трансгенов... 37

1.2.4. Генетический контроль инактивации/реактивации трансгенов 40

1.3. Изменение проявления1 собственных генов у трансгенных растений: Т-ДНК-индуцированные мутации... 42

1.3.1. Возможные причины возникновения Т-ДНК индуцированных мутаций... 42

1.3.2. Примеры Т-ДНК индуцированных мутаций у трансгенных растений... 45

1.3.3. Перспективы использования инсерционного мутагенеза... 53

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ... 55

2.1. Создание исходного материала... 55

2.2. Подтверждение трансгенной природы растений-трансформантов 59

2.3. Анализ стабильности экспрессии маркерного гена nptll на селективных средах с антибиотиком канамицином... 60

2.4. Анализ фрагментов векторной ДНК у трансгенных растений... 62

2.5. Создание коллекции трансгенных растений табака с мутантным фенотипом... 64

2.6. Анализ цитологического фенотипа трансгенных растений, характеризующихся измененной структурой цветка и пониженным уровнем мужской фертильности... 65

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ... 67

3.1. Анализ популяции трансгенных растений табака по стабильности

экспрессии маркерного гена nptll... 67

3.1.1. Анализ трансгенных растений табака сорта «Gatersleben» по стабильности экспрессии nptll-гена... 67

3.1.2. Анализ трансгенных растений табака линии SR1 по стабильности экспрессии nptll-геш... 69

3.1.3. Анализ инактивированного состояния гена nptll у трансгенных растений То-10, Nu22 и 615... 72

3.1.4. Анализ стабильности экспрессии и наследование гена nptll у трансгенных растений табака (линия SR1) с одной инсер-цией Т-ДНК на геном... 73

3.1.5. Анализ стабильности экспрессии гена nptll у трансгенных растений табака (линия SR1) со множественными инсер-циями Т-ДНК на геном... 78

3.1.6. Анализ стабильности экспрессии гена nptll у трансгенных растений табака с отклонениями от менделевского расщепления... 81

3.2. Анализ стабильности экспрессии гена nptll у трансгенных растений табака при инбридинге... 89

3.2.1. Наследование гена nptll у трансгенных растений линий То-5 иТ0-6... 89

3.2.2. Анализ нестабильности экспрессии гена nptll у растений линий То-5 и То-6... 96\*

3.2.3. Анализ взаимодействия аллелей гена nptll у трансгенных растений линии То-5... 108

3.3. Моделирование нестабильной экспрессии чужеродных генов у трансгенных растений... 119

3.4. Т-ДНК-индуцированные мутации у трансгенных растений табака 127

3.4.1. Создание и анализ коллекции трансгенных растений табака

с мутантным фенотипом... 127

3.4.2. Анализ цитологических нарушений мейоза у трансгенных растений табака линии Res79... 144

4

3.4.3. Интеграция векторной ДНК в геном трансгенных растений табака... 156

3.4.3.1. Анализ трансгенных растений табака с мутантным фенотипом на наличие в геноме векторной ДНК... 156

3.4.3.2. Анализ трансгенных растений табака, не проявляющих мутантного фенотипа, на наличие в геноме векторной ДНК... 159

3.4.4. Анализ районов встраивания Т-ДНК инсерций у трансгенных растений табака с мутантным фенотипом... 161

Заключение... 165

Выводы... 172

Список литературы... 174

Приложение... 192