

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени В. Н. КАРАЗИНА

**В. Ф. Тимошенко**  
**В. В. Жмурко**  
**В. В. Тимошенко**

# **ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИЙ**

Учебное пособие

Харьков – 2013

УДК 601:631.52 (057.8)  
ББК 28.54я73  
Т 41

**Рецензенты:**

зав. кафедрой экологии и биотехнологии Харьковского национального аграрного университета им. В. В. Докучаева, член-кор. УААН, доктор с.-х. наук, профессор **В. К. Пузик**;  
доктор биол. наук, профессор каф. генетики Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина **Л. А. Атраментова**.

*Утверждено к печати решением Ученого совета  
Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина  
(протокол № 14 от 27.12.2010 г.)*

**Тимошенко В. Ф.**

Т 41

Генная инженерия растений : учебное пособие для студентов пятого курса биологического факультета / В. Ф. Тимошенко, В. В. Жмурко, В. В. Тимошенко. – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2013. – 108 с.

В учебном пособии «Генная инженерия растений» изложены методы генетического конструирования растений путем соматической гибридизации растительных клеток, слияния субклеточных структур, введения микроорганизмов в растительные клетки, а также трансформация растений с использованием векторов. Освещены способы использования векторов в генной инженерии растений и молекулярные методы доказательства трансгенности растений. Пособие предназначено для студентов – биологов вузов. Может быть полезно для специалистов, работающих в области генетической инженерии растений.

**УДК 601:631.52 (057.8)**  
**ББК 28.54я73**

© Харьковский национальный университет  
имени В. Н. Каразина, 2013  
© Тимошенко В. Ф., Жмурко В. В.,  
Тимошенко В. В., 2013  
© Дончик И. Н., макет обложки, 2013

---

Навчальне видання

**Тимошенко** Володимир Федорович, **Жмурко** Василь Васильович  
**Тимошенко** Вячеслав Володимирович

**ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ РОСЛИН**

(Рос. мовою)

Відповідальний за випуск *В. Ю. Джамеев*  
Коректор *Л. С. Стешенко*  
Комп'ютерне верстання *О. С. Чистякова*  
Макет обкладинки *І. М. Дончик*

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 4,5. Тираж 300 пр. Зам. № 229/12.

Видавець і виготовлювач  
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,  
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.09

Видавництво ХНУ імені В. Н. Каразіна  
Тел. 705-24-32

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение</b>	3
<b>Глава 1. Клеточная инженерия</b>	5
Культура изолированных протопластов и конструирование растительной клетки	6
Слияние субпротопластов	9
Модификация клеток при поглощении протопластами изолированных клеточных органелл	10
Генетическая изменчивость растительных клеток в связи с манипуляциями <i>in vitro</i>	11
Селекция мутантов	12
Сохранение вариантных клеточных линий	15
Селекция продуктов гибридизации	15
Методы анализа гибридов	17
Судьба родительских геномов после гибридизации	18
Межсемейственные гибриды клеток высших растений	19
Использование соматической гибридизации близкородственных видов	21
Искусственные ассоциации с микроорганизмами	22
<b>Глава 2. Трансформация растений с использованием векторов</b>	25
Векторы генной инженерии растений	28
Плазмиды агробактерий как векторы для трансформации	37
Препаративное выделение плазмид из <i>E. coli</i> в больших объемах	42
Введение чужеродных генов в хлоропластную ДНК	43
Обработка ДНК ферментами рестрикции и лигирование	44
Введение рекомбинантных плазмид в бактериальные клетки	45
Основные методы трансформации растительных клеток с помощью агробактериальных векторов	45
Трансформация с помощью онкогенных штаммов дикого типа <i>A. tumefaciens</i> и <i>A. rhizogenes</i>	48
Трансформация больших гетерогенных эксплантатов с помощью неонкогенных Ti-плазмидных векторов	49
Прямая регенерация трансформированных растений:	
трансформация листовых дисков табака	51
Поддержание и размножение трансформированных побегов	54
Регенерация трансформированных растений через стадию каллуса: трансформация эксплантатов проростков льна	55
Получение стерильных проростков льна и регенерация из эксплантатов побегов льна	56

Трансформация гипокотилей, регенерация из трансформированного каллуса, селекция, размножение и укоренение трансформированных побегов	57
Выделение мезофильных протопластов табака	60
Трансформация протопластов путем совместного культивирования с агробактериями	62
Трансформация растительных протопластов изолированной векторной ДНК	66
Трансфекция протопластов с помощью полиэтиленгликоля	67
Трансформация растительных клеток путем микроинъекций	68
Трансформация протопластов с помощью электропорации	73
Бомбардировка микрочастицами	76
<b>Глава 3. Доказательство трансгенности растений</b>	<b>80</b>
Описание эксперимента	81
Анализ хромосомной ДНК методом дот-гибридизации	82
Анализ растительной ДНК по Саузерну	87
<b>Глава 4. Достижения генной инженерии в решении практических вопросов</b>	<b>92</b>
Выведение растений, устойчивых к насекомым-вредителям	93
Устойчивость к вирусам	94
Растения, устойчивые к грибам и бактериям	95
Растения, устойчивые к неблагоприятным климатическим условиям среды	96
Созревание плодов	97
Изменение пищевой ценности растений	98
Растения как биореакторы	99
Изменение окраски цветов	100
Изменение внешнего вида плодов	100
Растения, устойчивые к гербицидам	101
<b>Предметный указатель</b>	<b>104</b>
<b>Литература</b>	<b>106</b>