

ОТРИМАННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ КЛІТИН ШЛЯХОМ *AGROBACTERIUM*-  
ОПОСЕРЕДКОВАНОГО ПЕРЕНЕСЕННЯ ГЕНІВ

Волч І.Р., Ткачук Н.І.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України"

[gorbatyuk.irina.90@gmail.com](mailto:gorbatyuk.irina.90@gmail.com)

*Agrobacterium tumefaciens* — вид грам-негативних облигатно аеробних паличковидних ґрунтових бактерій. На відміну від своїх родичів — ризобій, — що є симбіонтами рослин, ця бактерія є відомим патогеном багатьох видів рослин, викликаючи хворобу корончастих галлів (типу рослинної пухлини). Через велике число видів рослин, які вона вражає (наприклад, виноград, хрін, цукровий буряк, ревінь), є важливою загрозою для сільського господарства. Крім того, вона може бути опортуністичним патогеном деяких тварин, зокрема людини. Головний фактором патогенності є здатність цієї бактерії трансформувати клітини рослини-хазяїна за допомогою спеціальної плазміди. Через цю властивість *Agrobacterium tumefaciens* широко використовується в генній інженерії для трансформації рослин.

Спосіб введення чужорідної ДНК за допомогою агробактерій базується на використанні природних векторів, таких як Ті-плазміда *A. tumefaciens* і Rі-плазміда *A. rhizogene* та має суттєві переваги над іншими методами генетичної трансформації. Його застосування дозволяє використовувати генетичні конструкції відносно великого розміру та призводить до мінімальних порушень у кодуючих послідовностях генів, що переносяться.

Трансформація за допомогою агробактерій, зокрема рослинних клітин — досить складний і тривалий процес, який передбачає участь, як бактеріальних генетичних детермінант, так і клітин господаря. До перших відносять: Т-ДНК, яка переноситься в рослинну клітину; область вірулентності (регіон *vir*), що є головним «вмикачем» трансформації; три хромосомні локуси вірулентності бактерій, які необхідні для процесу передачі (*chvA*, *chvB* та *pscA*). Область Т-ДНК

оточена крайовими повторами у 25 п.н., між ними вбудовують ген інтересу та маркерний ген. Область *vir* включає вісім оперонів (*virA*, *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virF*, *virG* та *virH*), які кодують білки для процесингу та передачі Т-ДНК.

Основною умовою для успішного перенесення генетичного матеріалу є наявність низькомолекулярної сполуки ацетосирінгону, що виступає сигнальною речовиною для *Agrobacterium* та індукує експресію області *vir*, активуючи передачу Т-ДНК.

Перенесення генів з *Agrobacterium* у рослинні клітини включає п'ять основних етапів: індукцію системи вірулентності бактерій, утворення Т-ДНК комплексу, передачу Т-ДНК у ядро клітини-господаря, інтеграцію Т-ДНК в геном рослини та експресію генів Т-ДНК. Область Т-ДНК разом із трансгеном, може стабільно інтегруватися в геном рослини, використовуючи один із механізмів: інтеграція одноланцюгової ДНК на основі мікрогомології, або інтеграція дволанцюгової ДНК у подвійні розриви ДНК.

Розробка ефективних протоколів *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації – складне завдання, яке вимагає розуміння впливу всіх чинників на перенесення Т-ДНК у клітини, з яких в подальшому буде регеноеровано цілий рослинний організм.

Загалом системи генетичної трансформації рослин повинні відповідати таким вимогам:

- забезпечувати стабільну інтеграцію чужорідної ДНК у геном господаря без структурних ушкоджень принесеної ДНК;
- забезпечити стабільність нового генотипу впродовж багатьох генерацій;
- в ідеалі, забезпечити тканино-специфічну регуляцію та онтогенез-специфічну регуляцію перенесеного гена.