

в 7 случаях (5,5 % от общего числа проанализированных вариантов), то в модельной группе (табл. 6) – в 90 случаях (71,4 %).

Таблица 5

Анализ расщепления в потомствах от скрещивания трансгенных растений табака с одной инсерцией Т-ДНК (ген *uidA* в виде уникальной последовательности)

Растения	121,49		121,54		121,63		121,71		121,84		121,94	
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
121,9	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
121,49			3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
121,54					3:1	3:1	3:1	<3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
121,63							3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
							3:1	15:1	3:1	3:1	3:1	3:1
							3:1	3:1	3:1	3:1	3:1	3:1
121,71									3:1	3:1	3:1	3:1
									3:1	3:1	3:1	3:1
									3:1	3:1	3:1	3:1
121,84											3:1	3:1
											3:1	<3:1
											3:1	3:1

Примечание. В закрашенных ячейках представлены результаты скрещиваний растений, проявляющих отклонения от менделевского расщепления.

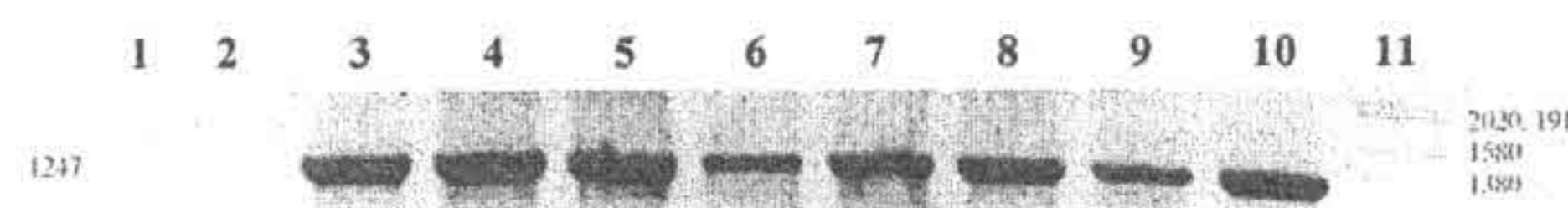


Рис. 5. ПЦР-анализ исходных трансгенных растений табака с прямым tandemным повтором гена *uidA* в структуре Т-ДНК.

1 – ПЦР без ДНК; 2 – отрицательный контроль, ДНК растения 121,9; 3 – ДНК плазмиды pBI-(Glu)2-D; 4–10 – ДНК растений № 121,22; 121,36; 121,40; 121,48; 121,53; 121,74; 121,83 соответственно; 11 – маркер молекулярной массы – λ /HindIII.

Таблица 6

Анализ расщепления в потомствах от скрещивания трансгенных растений табака с одной инсерцией Т-ДНК (ген *uidA* в виде tandemного повтора в прямой ориентации)

Растения	Схема Т-ДНК инсерции											
	16,36	16,40	16,48	16,53	16,74	16,83	16,22	16,36	16,40	16,48	16,53	16,74
16,22	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	3:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1
16,36	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1	<3:1 <3:1 <3:1
16,40	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1
16,48	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1
16,53	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1
16,74	3:1 3:1, 15:1	3:1 3:1, 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 15:1	15:1 15:1	15:1 3:1,15:1	15:1 3:1,15:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1	3:1 3:1 3:1

Примечание. В закрашенных ячейках представлены результаты скрещиваний растений, проявляющих отклонения от менделевского расщепления.

4. Экспрессия *nptII*-гена у трансгенных растений табака при инбридинге

Известно, что один и тот же ген может быть представлен в геноме растения несколькими состояниями (множественный аллелизм). В исследуемых нами моноинсерционных модельных линиях трансгенных растений табака T_0 -5 и T_0 -6 после ряда нескольких последовательных самоопылений произошло изменение исходного состояния *nptII*-гена среди потомков линии T_0 -5 (рис. 6). Такое изменение в терминах классической генетики следует рассматривать как мутацию, т.е. переход гена от «дикого типа» к мутантному. В данном случае «дикий тип» фенотипически проявлялся как Km^+ -устойчивость, а мутантный как Km^- -неустойчивость.

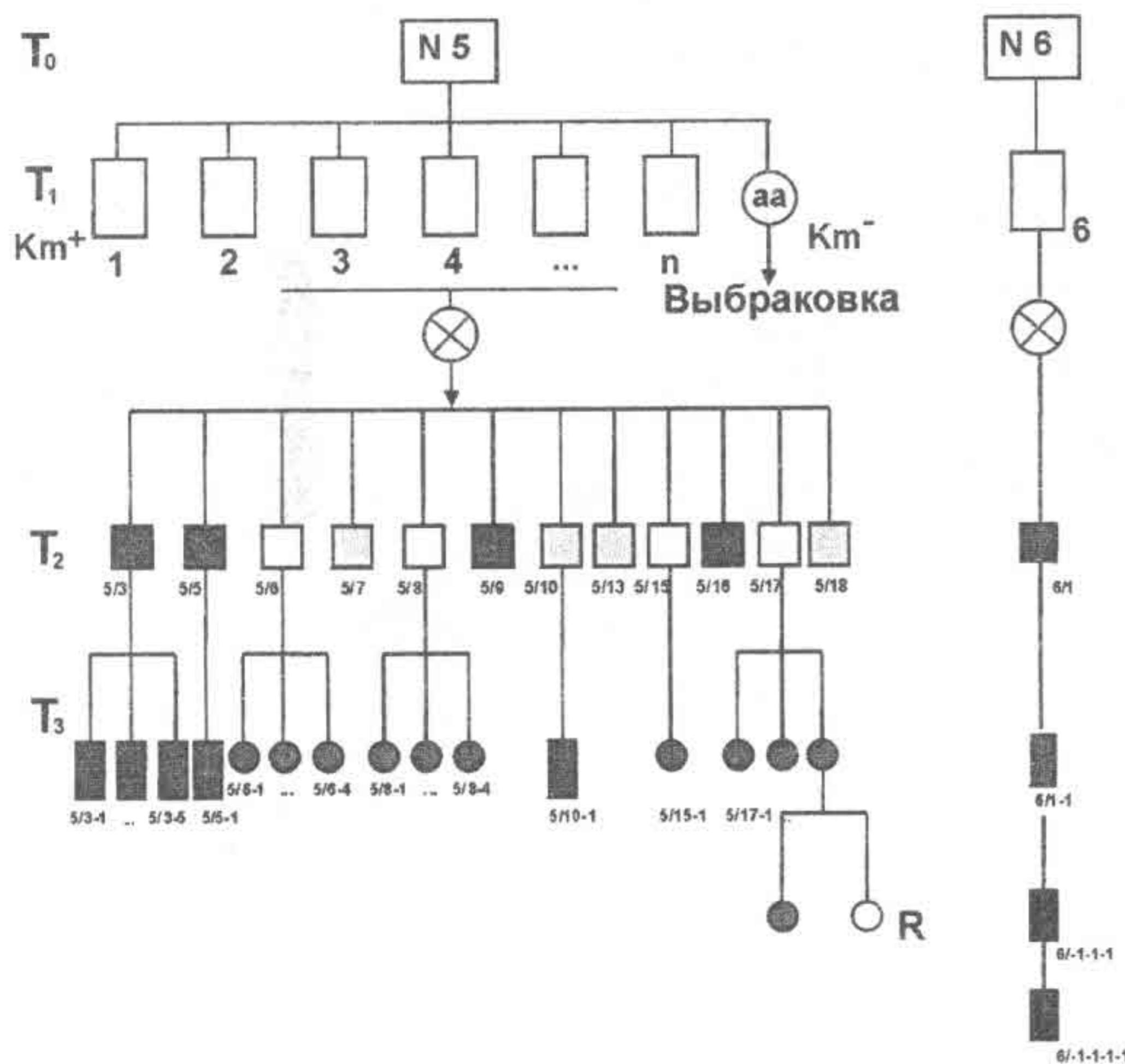


Рис. 6. Схема создания двух линий (T_0 -5 и T_0 -6) трансгенных растений табака. Аллельные состояния *nptII*-гена:

■ – активное; ● – инактивированное; ○ R – реактивированное.

Как видно из данных таблицы 7, у всех Km^+ - и Km^- -потомков линий T_0 -5 и T_0 -6 в геномной ДНК содержались фрагменты, соответствующие интегрированной экзогенной ДНК. Однако фермент неомицинфосфотрансфераза-II был активен и выявлялся NPTII-тестом только среди Km^+ -потомков.

Таблица 7

Анализ потомства от самоопыления трансгенных растений табака T_2 -5 и T_2 -6

№ растения	Соотношение Km -устойчивых и Km -неустойчивых потомков	NPTII	ПЦР
T_2 -6/5	3:1 (<i>npt</i> +/ -)	+	+
T_2 -6/7	3:1 (<i>npt</i> +/ -)	+	+
T_2 -6/6	Km -устойчивые (<i>npt</i> +/ <i>npt</i> +)	+	+
T_2 -6/18	Km -устойчивые (<i>npt</i> +/ <i>npt</i> +)	+	+
T_2 -5/3	Km -устойчивые (<i>npt</i> +/ <i>npt</i> +)	+	+
T_2 -5/18	3:1 (<i>npt</i> +/ -)	+	+
T_2 -5/6	Km -неустойчивые	-	+
T_2 -5/8	Km -неустойчивые	-	+
T_2 -5/15	Km -неустойчивые	-	+
T_2 -5/17	Km -неустойчивые	-	+

Среди потомков от нескольких поколений самоопылений линии T_0 -5 в условиях селективной среды по устойчивости к антибиотику канамицину *nptII*-ген проявлялся в трех аллельных состояниях: активном, инактивированном и реактивированном (рис. 6). Частота такой реверсии составила 1×10^{-4} . Все потомки растения T_0 -6 характеризовались сохранением стабильной экспрессии *nptII*-гена и моногенным типом его наследования в течение 5 поколений от самоопыления.

Активное состояние анализируемого гена фенотипически проявлялось как доминантный признак, тогда как инактивированное – как рецессивный, так как соотношение Km^+ - и Km^- -потомков от скрещивания трансгенных растений линии T_0 -5 с активным и инактивированным состояниями аллелей гена *nptII* соответствовало 3 : 1 для моногибридного типа расщепления. Аналогичные результаты, подтверждающие рецессивный характер мутации *nptII*-гена, установленные при анализе взаимодействия анализируемых аллелей в гомозиготе, получены нами и в случае взаимодействия аллелей в дигетерозиготе (по дигибридной схеме скрещиваний). Реактивированное состояние аллеля *nptII*-гена фенотипически проявлялось как доминантный признак по отношению

к инактивированному состоянию. Если рассматривать реактивированное состояние аллеля гена *nptII* как полную реверсию к дикому типу, то у гибридов F₂ от скрещивания растений с инактивированным и реактивированным состояниями аллелей анализируемого гена следовало ожидать расщепление 3K_m⁺:1K_m⁻. Такой тип соотношений K_m⁺- и K_m⁻-потомков, действительно, выявлялся среди анализируемых растений. Однако наряду с вышеупомянутым вариантом имели место и растения с полным восстановлением Km-устойчивого фенотипа, растения со значительной частью потомков с Km-устойчивым фенотипом, а также растения с мозаичным проявлением признака (0,2–15,6 %) (рис. 7). Появление таких классов растений среди потомков F₂ от скрещивания растений с инактивированным и реактивированным проявлением гена *nptII* наводит на мысль о возможности мутирования другого гена, маскирующего проявление исследуемой мутации.

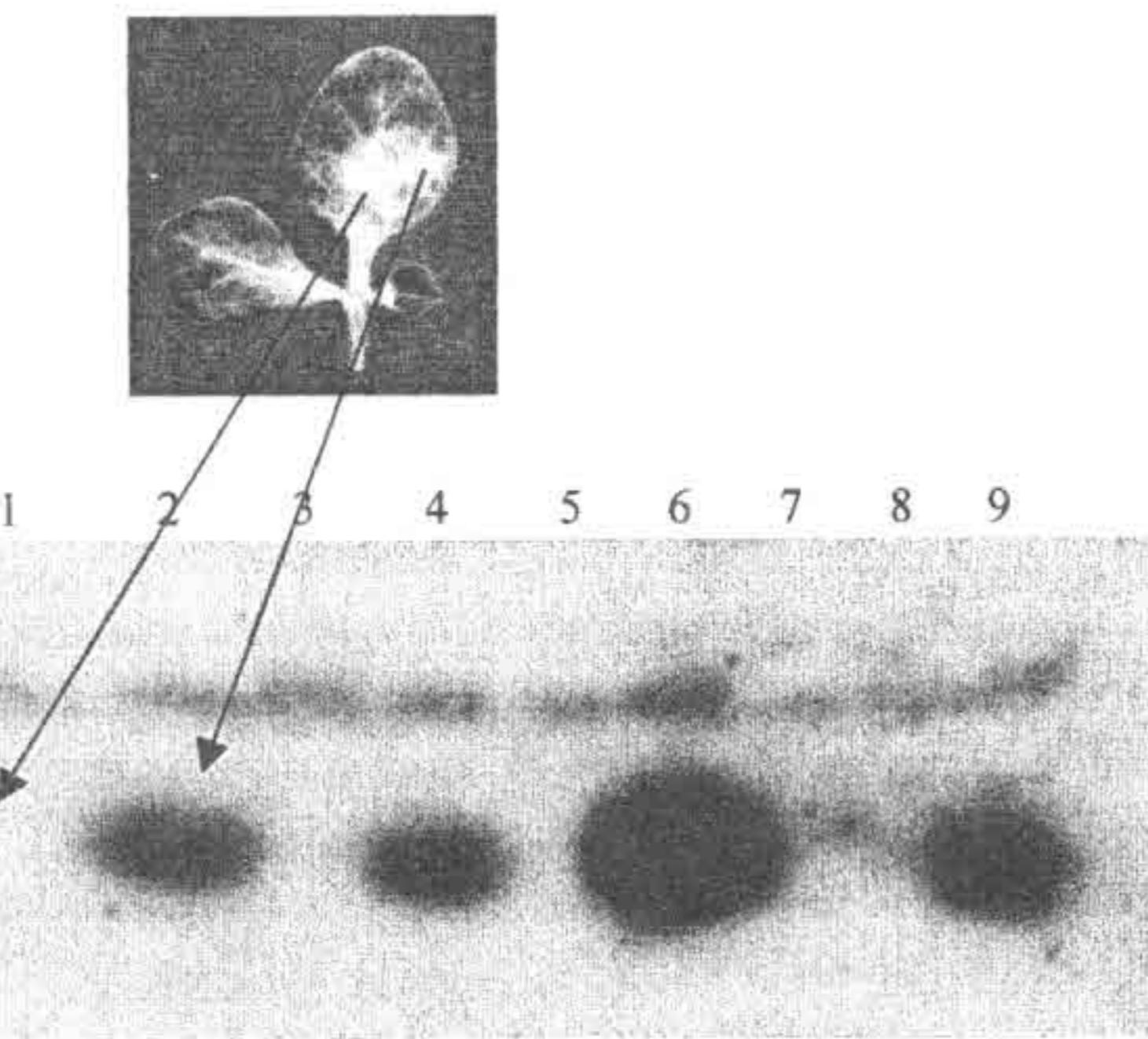


Рис. 7. Анализ активности фермента NPTII в белых и зеленых частях листовых пластинок у гибридных растений с мозаичным проявлением Km-устойчивого фенотипа, полученных от скрещивания трансгенных растений табака линии T₀-5 (с инактивированным состоянием аллеля гена *nptII*) и трансгенных растений линии T₀-6.

1–2 – экстракти из растения 21 × 6 из белой и зеленой зон соответственно; 3–4 – экстракти из растения 23 × 6 из белой и зеленой зон соответственно; 5–6 – экстракти из растения 19 × 6 из белой и зеленой зон соответственно; 7 – экстракт из нетрансгенного растения (отрицательный контроль); 8 – экстракт из трансгенного растения линии T₀-5 с инактивированным состоянием гена *nptII* (отрицательный контроль); 9 – экстракт из трансгенного растения линии T₀-5 с активным состоянием гена *nptII* (положительный контроль).

Для всех проанализированных образцов K_m⁻-растений число хромосом было равно 48 (2n = 48), что является основным числом хромосом для растений этого вида. Изменение концентраций канамицина в среде для культивирования K_m⁻-растений *in vitro* не оказывало влияния на проявление Km-неустойчивого фенотипа. Однако изменение экзогенного уровня фитогормонов в среде для культивирования листовых эксплантов привело к восстановлению Km-устойчивого фенотипа у части растений-регенерантов. Предположение о влиянии других гормональных факторов, возможное перемещение которых с общими потоками веществ в растении приведет к изменению экспрессии гена *nptII* и восстановлению Km-устойчивости, оказалось несостоятельным, что подтверждалось экспериментами с реципрокными прививками.

Изучение экспрессии собственных генов у трансгенных растений табака

1. Создание и анализ коллекции трансгенных растений табака с мутантным фенотипом

В связи с развитием работ по модификации генома растений методами генетической инженерии, а также с возрастающими масштабами использования трансгенных растений в коммерческих целях представляется чрезвычайно важным выяснение влияния чужеродной ДНК на экспрессию собственных генов растения, и в особенности выявление и анализ мутационных эффектов введенных в геном фрагментов рекомбинантной ДНК. Это позволит исследовать изменчивость у трансгенных растений, вызванную интеграцией в растительный геном Т-ДНК инсерций и, возможно, инсерций векторной рекомбинантной ДНК, а также получить новые данные о механизмах наблюдаемых процессов.

Среди 580 независимо полученных трансгенных растений табака (линия SR1) с частотой 5,5 % были выявлены отдельные трансформанты с измененным строением цветка: волнистым венчиком, увеличенным в диаметре рыльцем и удлиненным пестиком (лонгостилия) (табл. 8, рис. 8). У одних линий с мутантным фенотипом проявлялись все вышеперечисленные признаки, тогда как у других – один или два в различных сочетаниях. Среди контрольных растений такие отклонения в структуре цветка не регистрировались.

Таблица 8

Частота встречаемости растений с измененным строением цветка у трансгенных растений табака

Объект	Общее число проанализированных растений	Число растений с измененным строением цветка*
Нетрансгенные растения (контроль 1)	275	0
Регенеранты (контроль 2)	240	0
Трансгенные растения	580	32 (5,5 %)

* В скобках – доля растений в процентах от числа проанализированных.

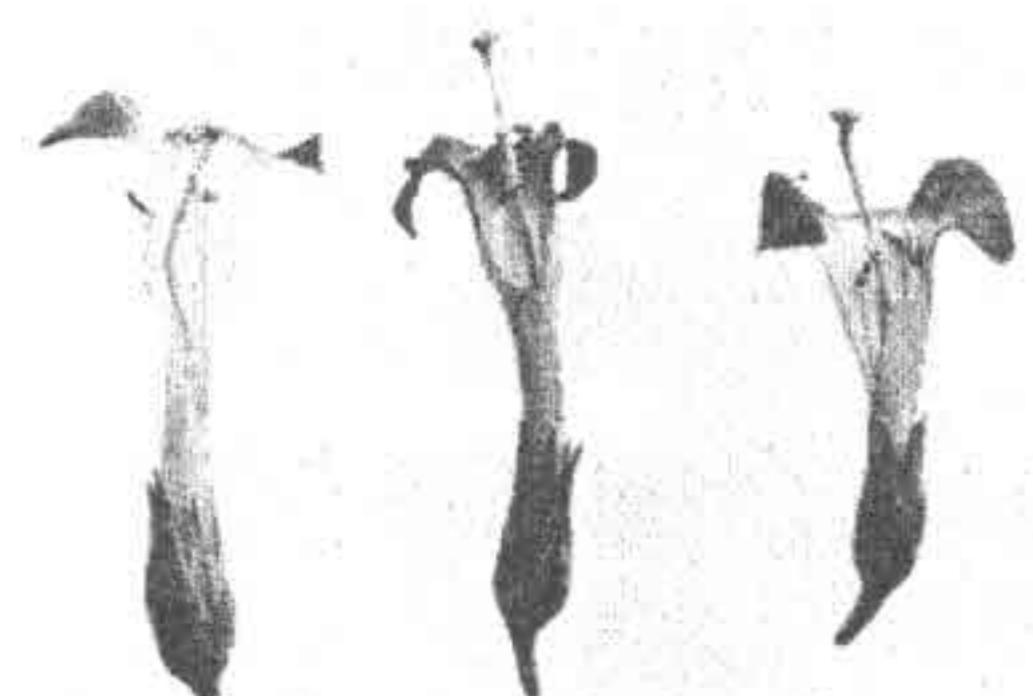


Рис. 8. Изменение структуры цветка у трансгенных растений табака IF4/11: удлиненный пестик (лонгостилия). Контроль – нетрансгенное растение (слева).

Так как создание трансгенных растений основано на технологиях переноса и интеграции в геном растения фрагментов экзогенной ДНК, то попадание инсерций Т-ДНК в функционально значимые районы растительного генома может приводить к нарушению проявления генов, локализованных в данной области. В таких случаях измененный признак наследуется сцепленно с устойчивостью к антибиотику (табл. 9).

Таблица 9

Анализ потомков от самоопыления трансгенных растений табака по Km-устойчивости и морфологическим признакам

Номера растений	Соотношение потомков по Km-устойчивости		Расщепление		χ^2 (d.f. = 1)	Оценка Km ⁺ -растений по морфологическим признакам
	Km ⁺	Km ⁻	фактическое	теоретическое		
IF4/11	124	34	3,6:1	3:1	1,021	Лонгостилия
Res66	88	23	3,8:1	3:1	1,083	Волнистый венчик

Примечание. d.f. – число степеней свободы; $\chi^2_{st0.05} = 3,841$.

2. Цитологический фенотип мутации у трансгенных растений табака с измененной структурой цветка

Изменение структуры цветка коррелировало со снижением fertильности пыльцевых зерен (рис. 9). У большей части анализируемых растений снижение мужской fertильности было обусловлено аномалиями в отдельных стадиях мейоза, у двух трансформантов – аномалиями в микроспоро- и микрогаметогенезе.

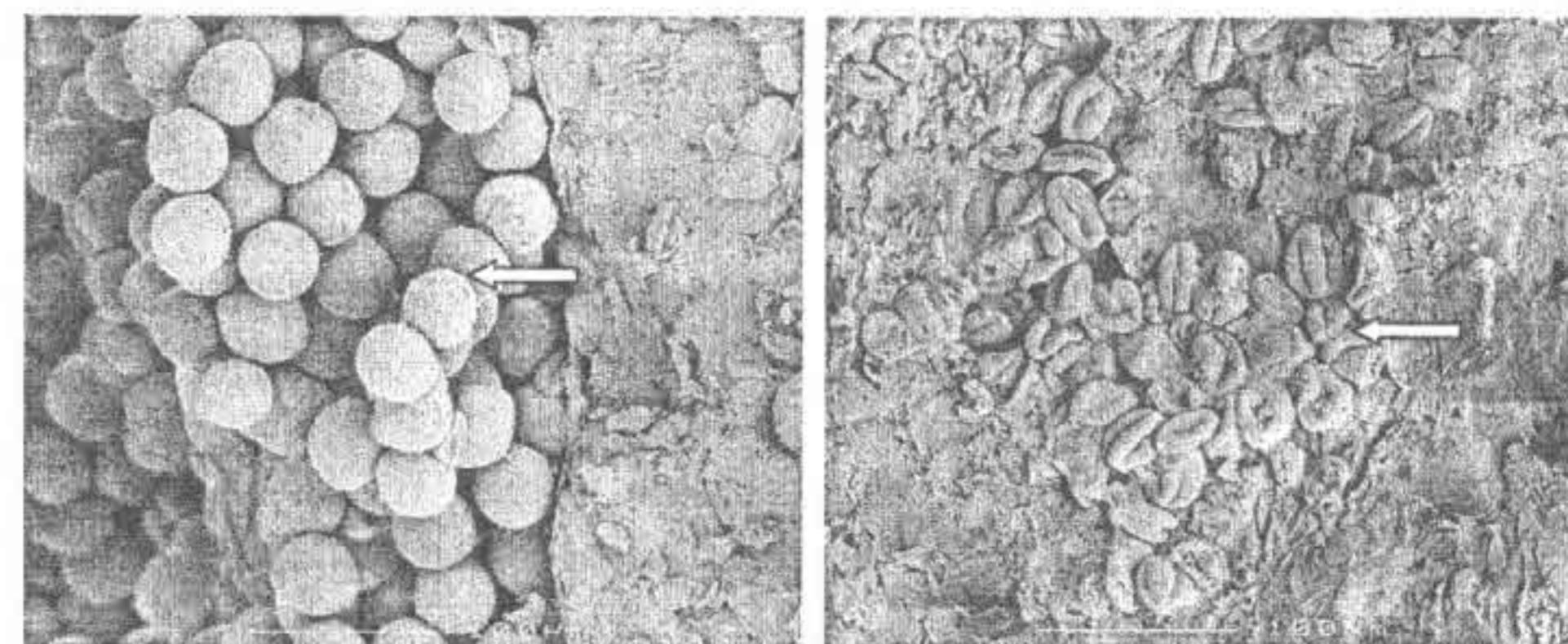


Рис. 9. Распределение пыльцы в пыльниках нетрансгенного (слева) и трансгенного Res79 (справа) растений табака.

Обобщенная картина цитологических нарушений при формировании материнских клеток пыльцы у трансгенных растений с измененной структурой цветка в целом включала следующие отклонения:

1. Цитомиксис в профазе I первого мейотического деления материнских клеток пыльцы и перфорацию клеточной мембрани с образованием цитомиктических каналов (рис. 10). Установлено, что первые цитомиктические перемещения хроматина из одного мейоцита в другой начинаются после последнего митотического деления до вступления клеток в мейоз.
2. Образование деформированных ядер в профазе II второго деления мейоза.
3. Нарушение ориентации веретен деления в метафазе II второго деления мейоза.
4. Образование полиад. Формирование пыльцевых зерен с пониженной fertильностью.

У растения IF4/11 перед стадией первого постмейотического деления разрушалось содержимое пыльцевых зерен, тогда как у растения Nu4/2 происходила массовая деградация уже сформированных пыльцевых зерен. Перечисленные выше нарушения микроспоро- и микрогаметогенеза приводили к формированию стерильных пыльцевых зерен.

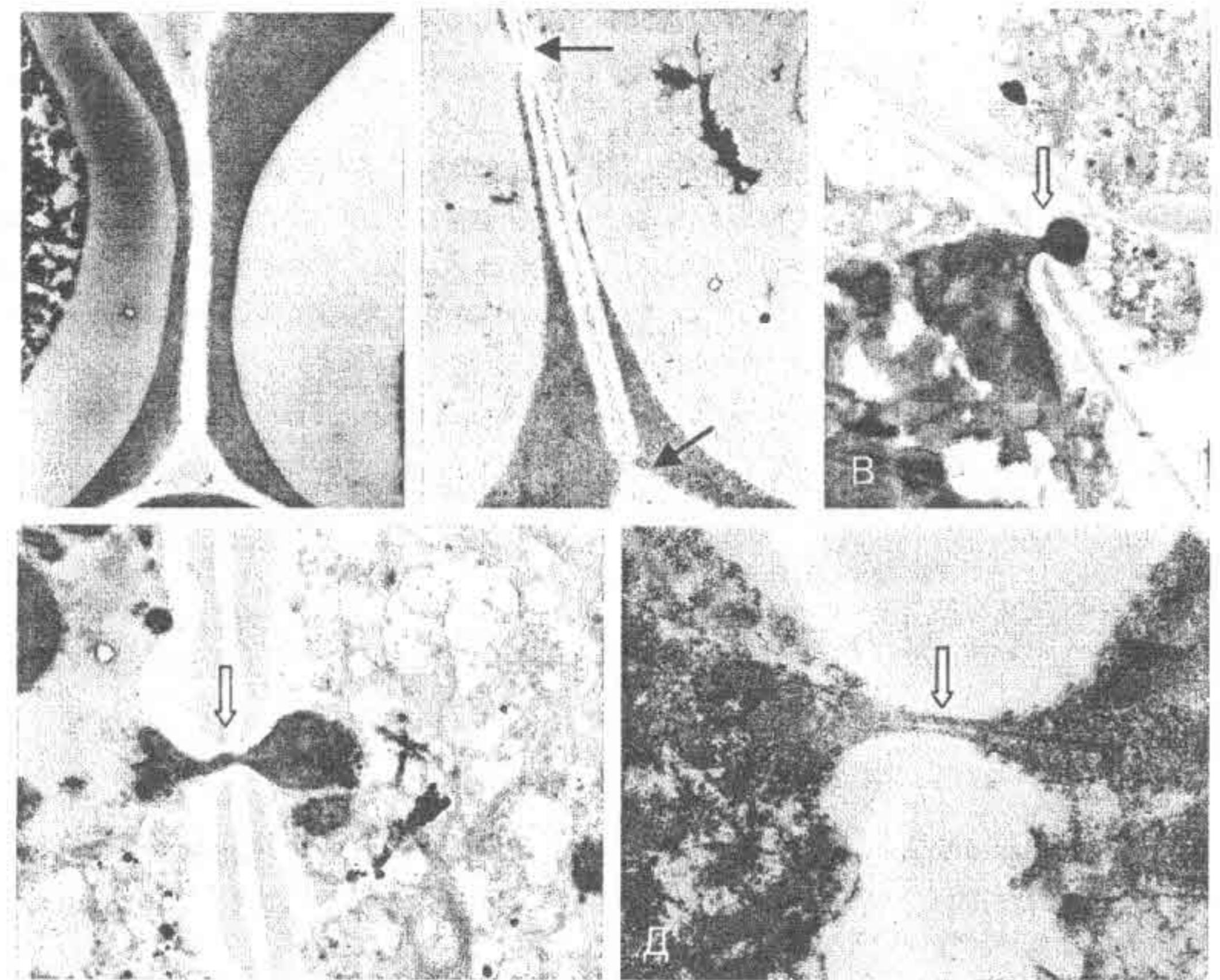


Рис. 10. Перфорация клеточной мембраны мейоцитов и цитомиксис у трансгенных растений табака линии Res79.
А – контроль, нетрансгенное растение табака; Б – перфорация клеточной мембраны (Res79); В, Г, Д – цитомиксис.

Большая часть трансформантов проявляла сцепленное наследование признаков *Km*-устойчивости и аномалий цветка, что свидетельствовало в пользу инсерционной природы наблюдаемых изменений, тогда как у другой части растений такое сцепление отсутствовало. Однако инсерционная природа наблюдаемых изменений в группе растений, не проявляющих сцепленного наследования *Km*-устойчивости и мутантного признака, не может быть исключена. Инсерционным элементом в этом случае могли быть фрагменты векторной ДНК, поскольку в геномных ДНК трансгенных растений с мутантным фенотипом выявлялись фрагменты, соответствующие векторной (агробактериальной) ДНК (рис. 11). Из трех потомков от самоопыления Res79 фрагменты векторной ДНК обнаруживались только у двух растений и отсутствовали у одного. Следовательно, векторная ДНК, подобно Т-ДНК, стабильно передавалась через митоз и мейоз как наследуемая часть генома растений.

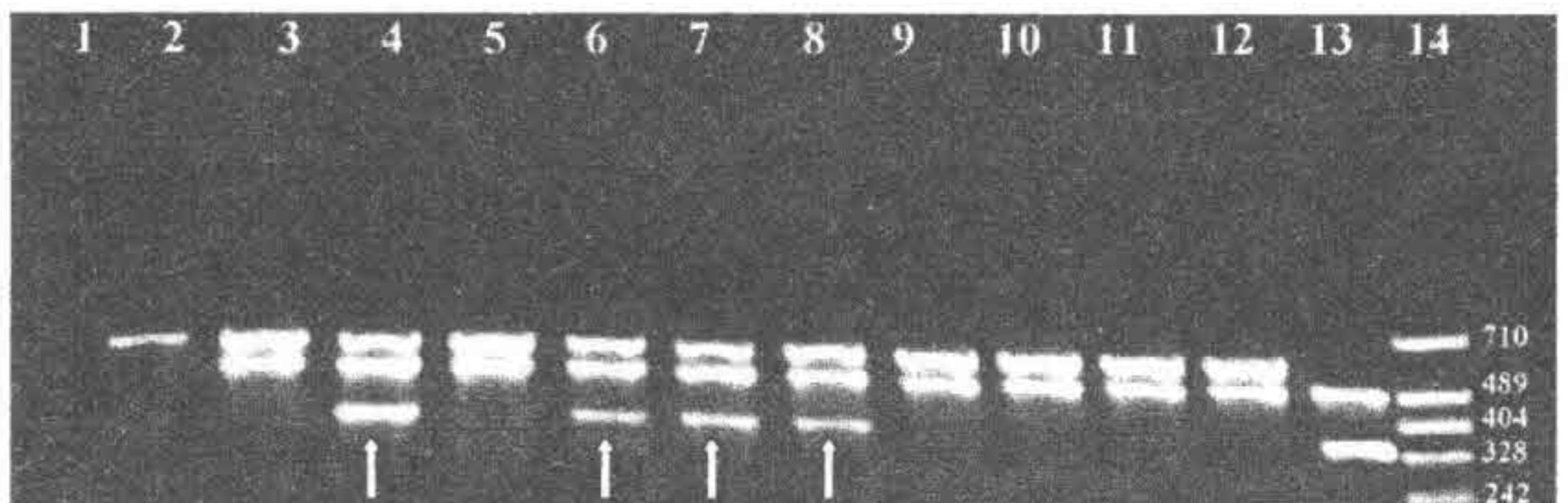


Рис. 11. Электрофоретический анализ продуктов ПЦР реакции с GP1/2 (верхний ряд), *npt1/2* (средний ряд), BD3/4 (нижний ряд) праймерами в 2,5 % агарозном геле.

1 – без матрицы; 2 – SR₁ (контроль); 3–12 – трансгенные растения с мутантным фенотипом; 13 – pBI 121; 14 – маркер молекулярных весов (pSKII(+)/*MspI*).

Среди 61 трансгенного растения табака (как с мутантным фенотипом, так и без него) в 33 % случаев в геномной ДНК нами выявлены фрагменты, соответствующие векторной ДНК. Среди них 9 растений несли полноразмерные копии вектора (15 %), 7 растений содержали фрагменты вектора, прилежащие к левому повтору (11 %) и 4 растения содержали последовательности, прилежащие к правому повтору (7 %). Полученные нами данные о высоком проценте растений с полноразмерными копиями векторной ДНК, интегрированными в ядерный геном, согласовывались с данными других исследователей (De Buck *et al.*, 2000).

3. Анализ районов встраивания Т-ДНК инсерций у трансгенных растений табака

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов растительной ДНК, flankирующих Т-ДНК-встройки у анализируемых трансгенных растений табака, выявил наличие гомологии с векторными ДНК для трансгенных растений табака с мутантным фенотипом (табл. 10).

Высокая степень гомологии выявлена для части нуклеотидной последовательности клона 121.83.3-1 с последовательностью ДНК табака, секвенированной ранее независимой группой исследователей (Iglesias *et al.*, 1997) в Австрии при исследовании районов растительной ДНК, прилежащих к Т-ДНК встройкам (рис. 12). Авторами было показано, что данная последовательность ДНК относится к области повторов средней копийности (Iglesias *et al.*, 1997). Не исключено, что область обнаруженной нами гомологии является коровой последова-

тельностью повтора, что свидетельствует о предпочтительности встраивания Т-ДНК в район данного семейства повторов.

Таблица 10

Результаты ПЦР анализа трансгенных растений табака с мутантным фенотипом

№ растения	Праймеры			
	GP1/2	Npt1/2	Bd1/2	Bd3/4
1	10,57	+	+	-
2	10,8	+	+	-
3	16,70	+	+	-
4	121,41	+	+	-
5	121,57	+	+	-
6	121,76	+	+	-
7	121,83	+	+	+
8	121,86	+	+	-
9	121,86 I ₁ (18)	+	+	-
10	121,89	+	+	-
11	121,92	+	+	-
12	Res36	+	+	-
13	Res60I ₁	+	+	-
14	Res61	+	+	-
15	Res66I ₁ (1)	+	+	+
16	Res66I ₁ (2)	+	+	+
17	Res66I ₂	+	+	-
18	Res73	+	+	-
19	Res79I ₁ (1)	+	+	+
20	Res79I ₁ (2)	+	+	-
21	Res79I ₁ (3)	+	+	+

Примечание. Темно-серым цветом выделены растения, у которых фрагменты геномной ДНК гибридизовались с двумя парами праймеров (Bd1/2 и Bd3/4); светло-серым – только с одним из этих праймеров.

Анализ областей растительной ДНК, прилежащих к правой границе у растения 121,57, выявил слабую гомологию с последовательностями ретротранспозонов *A. thaliana* и картофеля (Camirand, Brisson, 1990). Для растения 121,86 выявлена гомология с последовательностью X80829, соответствующей гену *PAR* (Takahashi *et al.*, 1989).

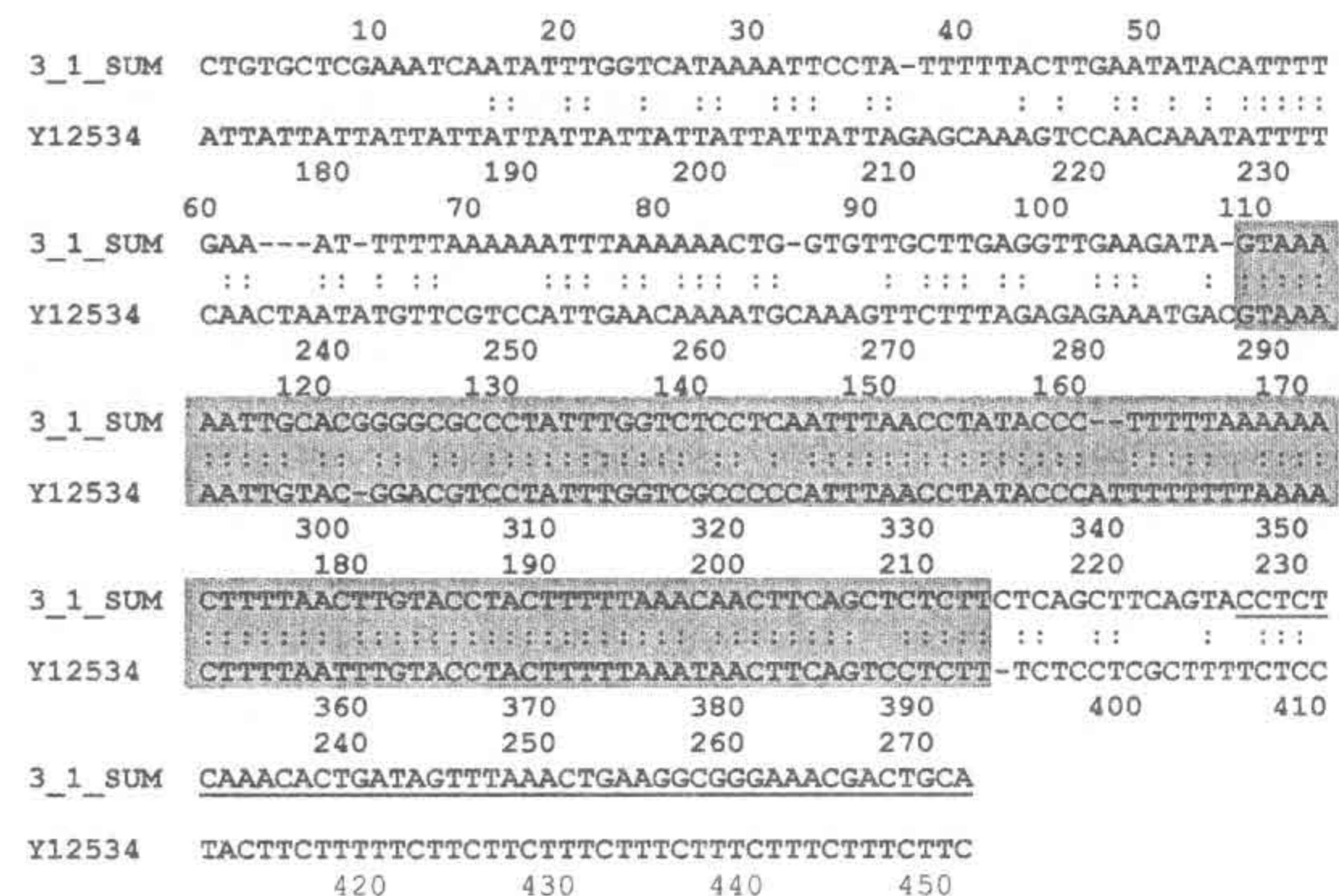


Рис. 12. Выравнивание нуклеотидных последовательностей клона 3_1 и последовательности Y12534. Подчеркиванием выделены последовательности Т-ДНК, закрашена область гомологии.

Содержание AT-пар нуклеотидов варьировало от 51 % до 74 % (табл. 11). Тенденция встраивания Т-ДНК инсерций в АТ-богатые районы у 16 проанализированных нами трансгенных растений табака не наблюдалась, поскольку общее АТ-содержание в геноме табака равно 64 % (Karlin, Mrazek, 1997). В целом в настоящее время общая картина особенностей распределения Т-ДНК инсерций в растительном геноме представляется довольно ясной только на примере *A. thaliana*. Однако она не отражает всех закономерностей интеграции Т-ДНК инсерций для других видов растений. Так, например, в отличие от генома *A. thaliana* геном табака характеризуется насыщенностью различными ретротранспозон-подобными элементами, что может оказаться на особенностях интеграции чужеродных последовательностей. Ожидаемое опубликование данных о секвенировании генома табака должно добавить информативности нашему анализу.

Таблица 11

Анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов растительной ДНК, flankирующих Т-ДНК встройки у трансгенных растений табака с мутантным фенотипом

Транс- генное растение	Районы растительной ДНК, прилежащие к Т-ДНК инсерции:					
	с левой стороны		с правой стороны			
	размер	гомология с последовательностями из "Gene Bank"	A/T, %	размер	гомология с последовательностями из "Gene Bank"	A/T, %
10,48	139	—	65	300	вектор	
16,70	224	—	58	171	D17456	52
121,41	130	—	74	133	—	51
121,57	163	—	66	212	Y08010	61
121,76	190	Z73149	53	211	—	71
121,83	223	—	70	103	Y12534	65
121,86	350	—	67	166	X80829, PAR ген	66
121,89		—		320	—	56
Res60	300	вектор		165	—	69
Res66	550	вектор		279	—	61
Res47	313	—	64	256	X59606	55
Res36	320	вектор		164	—	62
Res73	92	Z73149	70	200	вектор	
Res79	320	вектор			—	
Res92	538	X79006	68		—	
10,18	430	вектор		318	M77826; X14059; AB058958; AJ416574; X145934; AJ131837	70

Не совсем ясным остается вопрос об однотипности наблюдаемых изменений среди выделенных трансгенных растений табака, проявляющих мутантный фенотип. При создании исследуемой коллекции трансгенные растения отбирались только по признаку нарушения строения цветка и поэтому могли быть отобраны однотипные мутации, вызванные нарушением сложной цепи генов, принимающих участие в контроле таких процессов, как формирование цветка и, в частности, генеративных органов. Полученная нами коллекция трансгенных растений табака с мутантным фенотипом представляет уникальную модель для дальнейшего развития работ в направлении изучения мутационных эффектов гетерологичных генов у трансгенных растений.

Выводы

- Гетерологичные гены в новом окружении растительного генома различаются по уровню экспрессии среди независимо полученных трансгенных растений табака. Установлено, что при самоопылении исходных трансформантов большая часть трансгенов наследуется по mendelевскому расщеплению для моно- и дигибридных типов (73,5%). Отклонения от mendelевского расщепления свидетельствуют о нестабильности их экспрессии.
- Экспрессия гетерологичных генов может быть изменена при инбридинге. Впервые выявлено три аллельных состояния *nptII*-гена (активное, инактивированное и реактивированное) и установлены их аллельные взаимодействия. Активное состояние *nptII*-гена по отношению к инактивированному проявляется как доминантный признак. Реактивированное состояние аллеля обусловлено возможной мутацией другого гена растения.
- Нестабильный уровень экспрессии гетерологичных генов смоделирован введением дуплицированных повторенных фрагментов (в прямой и обратной ориентации) в состав Т-ДНК инсерций. Установлено, что инактивация гомологичных трансгенов с дуплицированными повторенными фрагментами (в прямой ориентации) существенно возрастает в геноме гибридных растений.
- Нестабильный уровень экспрессии гена *nptII* (мозаицизм по Km-устойчивости) у растения Nu21 связан со спонтанной встройкой в геном двух сцепленно наследуемых трансгенов, что подтверждает влияние дуплицированных фрагментов на стабильность экспрессии гетерологичных генов.
- Гетерологичные гены, а также фрагменты векторной ДНК при агробактериальной трансформации могут являться потенциальным источником мутационных изменений собственных генов растения. Создана коллекция трансгенных растений табака с измененным строением цветка и пониженным уровнем мужской fertильности.
- Впервые проведен детальный цитологический анализ мейоза у трансгенных растений табака с мутантным фенотипом, выявивший серию нарушений, связанных с образованием деформированных ядер в телофазе I и изменением ориентации веретен деления в метафазе II мейоза, перфорацией клеточной стенки с образованием цитомиктических каналов и перемещением по ним хроматина из одного мейоцита в другой, приводящих к образованию полиад и формированию пыльцевых зерен с пониженной fertильностью.
- Анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов растительных ДНК, flankирующих Т-ДНК встройки, в отдельных случаях выявил наличие гомологий с известными нуклеотидными последовательностями «Gene Bank». Тенденция встраивания Т-ДНК инсерций в AT-богатые районы нами не подтвердилась.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дейнеко Е.В., Ривкин М.И., Комарова М.Л., Вершинин А.В., Шумный В.К. Генетическая трансформация люцерны методом кокульттивирования листовых дисков // Докл. АН. 1991. Т. 19, № 6. С. 1473–1476.
2. Дейнеко Е.В., Ситникова В.В., Ривкин М.И. К вопросу о стабильности встраивания и наследования чужеродных генов в геноме трансгенных растений // Особенности реконструкции генома и популяций высших растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. С. 16–23.
3. Ривкин М.И., Дейнеко Е.В., Комарова М.Л., Кочетов А.В., Шумный В.К. Оценка вирусоустойчивости трансгенных растений табака, несущих ген бета-интерферона человека // Докл. АН. 1993. Т. 331. С. 652–654.
4. Дейнеко Е.В., Ривкин М.И., Шумный В.К. Использование методов генетической инженерии в селекционно-генетических программах по улучшению хозяйствственно ценных признаков растений // Особенности реконструкции генома и популяций высших растений. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. С. 5–15.
5. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Филипенко М.Л., Кочетов А.В., Шумный В.К. Изменение уровня экспрессии и наследование маркерного гена *nptII* в потомстве трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L. // Докл. АН. 1995. Т. 344, № 3. С. 407–411.
6. Rivkin M.I., Deineko E.V., Komarova M.L., Shumny V.K. Analysis of virus resistance of tobacco and alfalfa transgenic plants bearing human β -interferone gene // Biotechnol. and Biotechnolog. Equipment. 1995. N 1. P. 40–44.
7. Deineko E.V., Zagorskaya A.A., Filipenko M.L., Filipenko E.A., Novoselya T.V., Komarova M.L., Kochetov A.V., Shumny V.K. Instability of *nptII* gene expression in the progeny of transgenic tobacco plants // Biotechnol. and Biotechnolog. Equipment. 1996. N 3. P. 89–92.
8. Кочетов А.В., Шакирова Н.В., Лукашева В.В., Пилюгин М.В., Комарова М.Л., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Экспрессия бицистронов у трансгенных растений // Докл. АН. 1996. Т. 349, № 4. С. 549–582.
9. Кочетов А.В., Лукашева В.В., Пилюгин М.В., Комарова М.Л., Ривкин М.И., Дейнеко Е.В., МакКлин Ф., Шумный В.К. Оперонная организация транскрипционных единиц в клетках растений: экспрессия модельных бицистронов // Цитология и генетика. 1997. № 6. С. 17–28.
10. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Филипенко М.Л., Кочетов А.В., Шумный В.К. Нестабильность экспрессии гена *nptII* у трансгенных растений при инбридинге // Генетика. 1998. Т. 34, № 9. С. 1212–1219.
11. Дейнеко Е.В., Новоселя Т.В., Филипенко Е.А., Шумный В.К. Стабильность экспрессии и наследование гена *nptII* в популяции трансгенных растений табака // Докл. АН. 1999. Т. 369, № 3. С. 420–423.
12. Дейнеко Е.В., Сидорчук Ю.В., Загорская А.А., Новоселя Т.В., Филипенко Е.А., Шумный В.К. Аномалии строения цветков и мужская стерильность у трансгенных растений табака // Докл. АН. 1999. Т. 368, № 1. С. 135–138.
13. Новоселя Т.В., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Стабильность экспрессии гена *nptII* у трансгенных растений табака со множественными инсерциями // Генетика. 2000. Т. 36, № 3. С. 427–430.
14. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Новоселя Т.В., Филипенко Е.А., Шумный В.К. Нестабильность экспрессии чужеродных генов у трансгенных растений табака // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 3. С. 446–452.
15. Филипенко Е.А., Филипенко М.Л., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Анализ сайтов встраивания Т-ДНК у трансгенных растений табака с мутантным фенотипом // Докл. АН. 2000. Т. 370, № 2. С. 273–276.
16. Сидорчук Ю.В., Загорская А.А., Дейнеко Е.В., Шамина Н.В., Шумный В.К. Т-ДНК индуцированные аномалии цветков и мужская стерильность у трансгенных растений табака: морфометрический и цитологический анализ // Цитология и генетика. 2000. Т. 34, № 6. С. 3–8.
17. Шамина Н.В., Дорогова Н.В., Сидорчук Ю.В., Загорская А.А., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Нарушения мужского мейоза в трансгенной линии *res91* табака // Цитология. 2000. Т. 42, № 12. С. 1173–1178.
18. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Сидорчук Ю.В., Новоселя Т.В., Филипенко Е.А., Комарова М.Л., Шумный В.К. Особенности морфологических признаков и фертильности пыльцы у трансгенных растений табака // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 1. С. 73–78.
19. Shamina N.V., Dorogova N.V., Zagorskaya A.A., Deineko E.V., Shumny V.K. Abnormalities of meiotic division caused by T-DNA tagged mutation in tobacco (*Nicotiana tabacum*) // CBI. 2001. V. 25, N 4. P. 367–369.
20. Novoselya T.V., Deineko E.V., Filipenko E.A., Shumny V.K. Expression stability of marker gene *nptII* in transgenic plants *Nicotiana tabacum* L. with single T-DNA insertion // Biotechnol. and Biotechnolog. Equipment. 2001. V. 15, N 2. P. 3–7.
21. Загорская А.А., Дейнеко Е.В., Сидорчук Ю.В., Шумный В.К. Наследование признака измененного строения цветка и устойчивости к антибиотику канамицину у трансгенных растений табака // Генетика. 2001. Т. 37, № 6. С. 784–790.
22. Дейнеко Е.В., Новоселя Т.В., Загорская А.А., Филипенко Е.А., Пухначева Н.В., Шумный В.Л. Инактивирование чужеродных генов у трансгенных растений табака (обзор) // Изучение генома и генетическая трансформация растений. Новосибирск: Наука, 2001. С. 132–142.
23. Новоселя Т.В., Дейнеко Е.В. Моделирование нестабильности экспрессии *nptII*-гена у трансгенных растений табака // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 3. С. 437–443.
24. Сидорчук Ю.В., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Цитомиксис в материнских клетках пыльцы у трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) // Докл. АН. 2004. Т. 394, № 2. С. 282–285.