

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

СУХАНИЦКИЙ

Станислав Владиславович

СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К ГЛИФОСАТУ РАСТЕНИЙ *BRASSICA*
***NAPUS L.* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ *aroA* И**
thiO

АННОТАЦИЯ

к дипломной работе

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,

Заведующий НИЛ трансгенных растений

кафедры молекулярной биологии

Е.В. Кулик

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 70 страниц, 6 таблиц, 39 рисунков, 66 источника, из них 8 русскоязычных и 58 англоязычных.

Название работы: Создание устойчивых к глифосату растений *brassica napus* L. с использованием бактериальных генов *aroA* и *thiO*.

Объект исследования: растения *Brassica napus*.

Цель исследования: получение трансгенных растений рапса с генами *thiO* и *aroA* при помощи агробактериальной трансформации.

Методы исследования: полимеразная цепная реакция, кальциевая трансформация, электрофорез в агарозном геле, выделение плазмидной ДНК из клеток бактерий, выделение геномной ДНК из клеток растений, агробактериальная трансформация клеток растений с использованием семядольных листьев в качестве эксплантов.

В результате работы было получено трансгенное растение *Brassica napus* с использованием *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404, содержащего бинарного вектор pZH 513, содержащего бактериальные гены *aroA* *Dickeya dadanti* и *thiO* *Bacillus subtilis* и плазмиды pSOUP, служащей в качестве плазмиды-помощника для эффективной трансформации растений. Созданное растение обладало устойчивостью к гербициду глифосату в концентрации 10 мг/л, добавленному в МС-среду. Доказана трансгенная природа полученного растения методом полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами к целевым бактериальным генам *aroA* и *thiO*.

Ключевые слова: *Brassica napus* L., агробактериальная трансформация, трансгенные растения, глифосат, шикиматный путь.

ABSTRACT

Thesis, 70 pages, 6 tables, 39 figures, 66 sources, 8 of them in Russian and 58 in English

Definition: Creating a glyphosate-tolerant *Brassica napus* L. plants using *aroA* and *thiO* bacterial genes.

The object of study: *Brassica napus* L.

Purpose: Genetic modification of transgenic *Brassica napus* L. with bacterial genes *aroA* and *thiO*, with agrobacterium-mediated transformation.

Methods: Polymerase chain reaction, calcium transformation, agarose gel electrophoresis, isolation of plasmid DNA, isolation of plant DNA, microbial cultivation methods, plant cells cultivation methods.

In this work was obtained transgenic plant of *Brassica napus* with agrobacterium-mediated transformation. For agrobacterium-mediated transformation were used cells of *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 with binary vector pZH 513, containing bacterial genes *aroA* *Dickeya dadanti* and *thiO* *Bacillus subtilis*, and pSOUP plasmid as helper plasmid for efficient plant transformation. Created plant have resistance to the herbicide glyphosate in a concentration of 10 mg/L, which is added to the MS-media. Proved transgenic nature of obtained plants with the help of polymerase chain reaction with specific primers to target genes *aroA* and *thiO*.

Keywords: *Brassica napus* L., agrobacterium-mediated transformation, transgenic plants, glyphosate, shikimate pathway.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 70 старонкі, 6 табліц, 39 малюнкаў, 66 крыніц, 8 з ніх рускамоўных і 58 англамоўных.

Назва: Стварэнне устойлівых да гліфасату раслін *Brassica napus* L. з выкарыстаннем бактэрыяльных генаў *aroA* і *thiO*.

Аб'ект даследавання: *Brassica napus* L.

Мэта працы: Атрыманне трансгенных раслін *Brassica napus* L. з бактэрыяльнымі генамі *thiO* і *aroA* з выкарыстаннем аграбактэрыяльнай трансфармацыі.

Метады даследвання: палімеразная ланцуговая рэакцыя, кальцыевая трансфармацыя, электрофарэз у агарозным гелі, вылучэнне плазміднай ДНК з клетак бактэрыі, вылучэнне ДНК з клетак раслін, метады вядзення культуры бактэрыяльных клетак, метады вядзення культуры клетак раслін.

У выніку працы была атрымана трансгенная расліна *Brassica napus* L. з выкарыстаннем *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404, які змяшчае бінарны вектар pZH 513, з бактэрыяльнымі генамі *aroA Dickeya dadanti* і *thiO Bacillus subtilis* і плазміды pSOUP, якая служыць у якасці плазміды-дапаможніка для эфектыўнай трансфармацыі раслін. Створаная расліна валодае устойлівасцю да гербіцыду гліфасату ў канцэнтрацыі 10 мг/л, дададзенай ў МС-асяроду. Даказана трансгенная прырода атрыманай расліны метадам палімеразнай ланцуговай рэакцыі са спецыфічнымі праймерамі да мэтавых бактэрыяльных генаў *aroA* і *thiO*.

Ключавыя словы: *Brassica napus* L., аграбактэрыяльная трансфармацыя, трансгенныя расліны, шікіматны шлях.