

BIOTECHNOLOGY OF PLANTS

Yu. Yu. GLEBA

Large-scale cultivation of transgenic plant varieties with resistances to insects, herbicides and viruses signalizes a new era in agricultural production. Genetically engineered plants will not only allow to feed growing world human population, they will become the main source of inexpensive medicines and materials.

Появление на полях трансгенных сортов растений, устойчивых к насекомым, гербицидам и вирусам, знаменует новую эру в сельскохозяйственном производстве. Созданные генными инженерами растения смогут не только прокормить увеличивающееся население планеты, но и станут основным источником дешевых лекарств и материалов.

© Глеба Ю.Ю., 1998

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Ю. Ю. ГЛЕБА

Киевский университет им. Т.Г. Шевченко

Еще десять лет тому назад сложность живой клетки представлялась настолько труднопостижимой, что для анализа требовалась концепция черного ящика, заимствованная из информатики. Сегодня же мы имеем полные последовательности геномов более десятка микроорганизмов и генома дрожжей. Секвенирование геномов человека и растения арабидопсис ведется полным ходом и будет завершено соответственно в 2005 и 2000 годах. Мы также знаем, что для создания полноценной "современной" клетки требуется всего лишь 256 генов (или около того). Темнота черного ящика стала значительно более проницаемой, и многие ученые объявили, что биология вступила в постгеномную эру.

Прогресс коснулся не только аналитической "инвентаризационной" биологии, занимающейся каталогизацией деталей, из которых состоит живое. Налицо также развитие наших способностей конструировать живое. Среди последних достижений инженерной, или конструктивной, биологии следует упомянуть успешное клонирование млекопитающих (овцы, свиньи, коровы), создание первых искусственных хромосом человека, создание трансгеномных мышей, содержащих и экспрессирующих мегабазный локус иммуноглобулинов человека, и т.д.

На наших глазах современная биология превратилась в науку, которая дала начало технологиям, преобразившим производство. Биотехнологии стали реальной производительной силой. В 1996 году биотехнологические компании произвели продуктов на сумму в 12,4 млрд долл. (на 28% больше, чем в предыдущем году, и эта тенденция быстрого роста сохранится в ближайшее десятилетие). Львиную долю продуктов, созданных на основе современных биотехнологий (генетической инженерии), составили фармацевтические белки (более 7 млрд долл.), прежде всего инсулин, альфа-интерферон, антиген вируса гепатита В, эритропоэтин, фактор стимулирования гранулоцитов. Биотехнология растений заметно отставала вплоть до последнего времени, однако за последние два года наблюдается быстрый выброс на рынок трансгенных растений с новыми полезными признаками. Трансгенные растения в США в 1996 году занимали площадь в 3 млн акров (1 акр = 0,404 га), в 1997 году эта площадь увеличилась примерно до 13–15 млн акров, а в 1998 году составит не менее 60 млн акров. Поскольку основные трансгенные формы кукурузы, сои, хлопчатника с устойчивостью к гербицидам и насекомым хорошо себя зарекомендовали, есть все основания ожидать, что площадь под генноминженерными растениями в будущем, 1999 году увеличится в 2,5–3 раза.

Ниже приведены данные о предполагаемой доле (в %) трансгенных форм растений в сельском хозяйстве США в 1997 году ("Wall Street Journal", апрель 1997 года):

Кукуруза	6
Соя	12
Хлопчатник	15
Томаты	<1

Стоящий перед биотехнологией социальный заказ становится все более настоятельным. За это столетие население Земли увеличилось с 1,5 до 5,5 млрд, предполагается, что к 2020 году эта цифра вырастет до 8 млрд. Питание и медицинское обслуживание такого количества населения представляют собой наиболее важную проблему, стоящую перед человечеством.

Решение проблемы увеличения производства продуктов питания старыми методами уже невозможно. Хотя производство сельскохозяйственных продуктов за последние сорок лет увеличилось в 2,5 раза (в равной степени благодаря селекции и улучшению сельскохозяйственных методов), дальнейшее значительное улучшение представляется маловероятным. Кроме того, существующие сельскохозяйственные технологии не являются возобновляемыми: в течение всего лишь двадцати последних лет мы потеряли более 15% почвенного слоя, а используемые источники энергии (нефть) также небезграничны. Наконец, большая часть пригодных к возделыванию почв уже вовлечена в сельскохозяйственное производство.

Ситуация с медицинским обслуживанием не менее драматична. Несмотря на огромные достижения современной медицины, производимые сегодня лекарственные препараты столь дороги, что три четверти населения Земли сейчас полностью полагаются на традиционные донаучные методы лечения, прежде всего на неочищенные препараты растительного происхождения. В развитых странах лекарственные средства на 25% состоят из природных веществ, выделенных из растений. Открытия последних лет (противоопухолевые препараты: таксол, подофилотоксин) свидетельствуют, что растения еще долго будут оставаться источником новых полезных биологически активных веществ (БАВ) и что способности растительной клетки к синтезу сложных БАВ все еще значительно превосходят синтетические способности инженера-химика.

МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ РАСТЕНИЙ

Отсчет истории генетической инженерии растений принято вести с 1982 года, когда впервые были получены генетически трансформированные растения [30]. Метод трансформации основывался на природной способности бактерии *Agrobacterium*

tumefaciens генетически модифицировать растения. Реконструированные штаммы *Agrobacterium*, содержащие неонкогенные варианты Ti-плазмид и обладающие повышенной вирулентностью, стали основой одного из наиболее популярных методов трансформации. Первоначально трансформация применялась для генетической инженерии двудольных, однако работы последних лет [5, 14] свидетельствуют, что этот метод эффективен и в отношении кукурузы, риса, пшеницы.

Другим широко распространенным методом трансформации является технология, основанная на обстреле ткани микрочастицами золота (или других тяжелых металлов), покрытыми раствором ДНК [15]. Все выращиваемые ныне коммерческие трансгенные сорта получены с помощью названных выше двух методов. Современный арсенал методов трансформации, однако, довольно обширен и включает такие подходы, как введение ДНК в голые клетки (протопласты), электропорация клеток, микроинъекции ДНК в клетки, прокалывание клеток путем встраивания их в суспензии микроигл, опосредованная вирусами инфекция и т.д. [1, 9, 10, 17].

УСТОЙЧИВОСТЬ К ГЕРБИЦИДАМ

Генетически измененные растения с устойчивостью к различным классам гербицидов в настоящее время являются наиболее успешным биотехнологическим продуктом. Классическая сельскохозяйственная химия стремилась к созданию гербицидов селективного типа, которые бы угнетали рост возможно большего числа видов сорняков, не подавляя при этом роста культурных сортов. Несмотря на прогресс в 1960–1970-х годах в создании чрезвычайно эффективных гербицидов (сульфонил мочевины, имидазолиноны и др.), которые используются в низких концентрациях (менее 100 г/га и даже 10 г/га), чрезвычайно малотоксичны для животных и человека и весьма селективны, за последние двадцать лет качественно новых химических препаратов не появилось.

Биотехнология позволила совершить качественный прыжок, так как оказалось возможным генетически изменять устойчивость растений к тем или иным гербицидам либо путем введения генов, кодирующих белки, нечувствительные к данному классу гербицидов, либо за счет введения генов, обеспечивающих ускоренный метаболизм гербицида в растении. К настоящему времени клонированы гены, кодирующие нечувствительные к действию гербицидов ферменты-мишени, что дало возможность получать трансгенные растения, устойчивые к таким гербицидам, как глифосат (коммерческое название Roundup) [6, 14] и хлорсульфоновым и имидазолиноновым гербицидам [18, 20]. Изолированы также гены, которые кодируют ферменты деградации некоторых гербицидов, что позволило получать трансгенные растения, устойчивые к фосфитрицину (коммерческое название BASTA) [7],

2,4 D [3], далапону [4]. В 1997 году устойчивая к Roundup соя, распространяемая компанией “Asgrow”, была признана в США сельскохозяйственным продуктом года.

УСТОЙЧИВОСТЬ К НАСЕКОМЫМ

Интересный подход, обеспечивающий устойчивость растений к насекомым, предложила генетическая инженерия растений. Уже довольно давно известна бактерия *Bacillus thuringiensis*, продуцирующая белок, являющийся очень токсичным для многих видов насекомых, в то же время безопасный для млекопитающих. Белок (дельта-эндотоксин, CRY-белок) продуцируется различными штаммами *B. thuringiensis*. Это прототоксин, который протеолитически расщепляется в кишечнике насекомых, образуя активизированный токсин. Активизированный белок специфично связывается с рецепторами в средней кишке насекомых, что приводит к образованию пор и лизису клеток кишечного эпителия. Взаимодействие токсина с рецепторами строго специфично, что усложняет подбор комбинации токсин–насекомое. В природе найдено большое количество штаммов *B. thuringiensis*, чьи токсины действуют только на определенные виды насекомых. Препаратаы *B. thuringiensis* в течение десятилетий использовали для контроля насекомых на полях.

Безопасность токсина и его составных белков для человека и других млекопитающих полностью доказана. Оказалось, что встраивание гена этого белка в геном растений дает возможность получить трансгенные растения, не поедаемые насекомыми [27]. В то же время практическое применение генноинженерных методов по созданию растений, устойчивых к конкретным насекомым-вредителям, потребовало большой работы по подбору необходимых штаммов *B. thuringiensis* и созданию генноинженерных конструкций, которые дают наибольший эффект для конкретных классов насекомых. Кроме видоспецифичности по действию на насекомых встраивание прокариотических генов дельта-токсинов в геном растений даже под контролем сильных эукариотических промоторов не привело к высокому уровню экспрессии. Предположительно такое явление возникло в связи с тем, что эти бактериальные гены содержат значительно больше адениновых и тиминовых нуклеотидных оснований, чем растительная ДНК. Эта проблема была решена путем создания модифицированных генов, где из природного гена вырезали и добавляли те или иные фрагменты с сохранением доменов, кодирующих активные части дельта-токсина. Так, например, с помощью таких подходов был получен картофель, устойчивый к колорадскому жуку [23]. В настоящее время так называемые Bt-растения (от *B. thuringiensis*) хлопка [22] и кукурузы [16] занимают основную долю в общем объеме генетически модифицированных растений этих культур, которые выращивают на полях США.

БЕЛКИ

Растения являются безусловно наиболее дешевым продуцентом белков. Стоимость белка, полученного путем сельскохозяйственного культивирования сои или кукурузы, составляет менее 1 долл./кг. Кроме того, использование в настоящее время микробных клеток в закрытых системах (ферментах) и особенно культивируемых клеток животных в качестве продуцентов фармацевтических белков обходится в сотни и тысячи раз дороже. К сожалению, львиную долю стоимости производства зачастую составляет не наращивание клеток, а последующая очистка белка. Стоимость очистки тем выше, чем ниже концентрация белка в клетках. Это особенно важно в случае фармацевтических белков, требующих высокой степени чистоты. Поэтому исследования последних лет имели целью, с одной стороны, показать возможность получения биологически эквивалентных форм того или иного белка в трансгенных растениях, а с другой – повысить содержание белка и облегчить и удешевить его последующую очистку.

К настоящему времени уже показано, что растения могут производить белки животного происхождения. Так, встраивание в геном растений *Arabidopsis thaliana* и *Brassica napus* химерного гена, состоящего из части гена запасного 2S-белка арабидопсиса и кодирующей части для нейропептида – энкефалина, приводило к синтезу химерного белка до 200 нг на 1 г семени. Два структурных белковых домена были связаны последовательностью, узнаваемой трипсином, что давало возможность в дальнейшем легко изолировать чистый энкефалин [28]. В другом эксперименте удалось после скрещивания трансгенных растений, в одном из которых был встроен ген гамма-субъединицы, а во втором – ген каппа-субъединицы иммуноглобулина, получить у потомства экспрессию обеих цепей. В результате растение формировало антитела, составляющие до 1,3% суммарного белка листьев [13]. Также было показано, что в растениях табака могут собираться полностью функциональные секреторные моноклональные иммуноглобулины [19]. Секреторные иммуноглобулины обычно выделяются в ротовую полость и желудок человека и животных и служат первым барьером на пути кишечных инфекций. В упомянутой выше работе получили продукцию в растениях моноклональных антител, которые были специфичны для *Streptococcus mutans* – бактерий, вызывающих зубной кариес. Предполагается, что на основе таких моноклональных антител, продуцируемых трансгенными растениями, удастся создать действительно анткариесную зубную пасту.

Из других белков животного происхождения, которые представляют интерес для медицины, показана продукция в растениях человеческого β -интерферона [8]. Разработаны также подходы, позволяющие получать бактериальные антигены в растениях и использовать их в качестве вакцин [12]. Получен картофель, экспрессирующий олигомеры нетоксичной

субъединицы В-токсина холеры. Эти трансгенные растения могут быть использованы для получения дешевой вакцины против такого заболевания, как холера. Причем в случае холеры иммунизация вполне эффективно происходит при пероральном приеме вакцины [2].

ЖИРЫ

Генетическая инженерия метаболизма жиров уже привела к новым коммерческим продуктам. Важнейшим сырьем для получения разного рода химических веществ являются жирные кислоты – основной компонент растительного масла. По своей структуре это углеродные цепи, которые обладают различными физико-химическими свойствами в зависимости от своей длины и степени насыщения углеродных связей. В 1995 году была закончена экспериментальная проверка и получено разрешение от федеральных властей США на выращивание и коммерческое использование трансгенных растений рапса с измененным составом растительного масла, включающего вместе с обычными 16- и 18-членными жирными кислотами также и до 45% 12-членной жирной кислоты – лаурата. Это вещество широко используется для производства стиральных порошков, шампуней, косметики.

Экспериментальная работа заключалась в том, что был клонирован ген специфической тиоэстеразы из растения *Umbellularia californica*, где содержание лаурата в жире семян достигало 70%. Структурная часть гена этого фермента под контролем промотора-терминатора гена белка, специфического для ранней стадии семяобразования, была встроена в геном рапса и арабидопсиса, что и привело к увеличению содержания лаурата в масле этих растений [29].

Из других проектов, связанных с изменением состава жирных кислот, можно упомянуть работы, ставящие целью повышение или снижение содержания ненасыщенных жирных кислот в растительном масле. Интересными представляются эксперименты с петрозелиновой кислотой – изомером олеиновой кислоты, где двойная связь находится за шестым углеродным членом. Эта жирная кислота входит в состав масла кориандра и определяет его более высокую температуру плавления (33°C), в то время как при наличии олеиновой кислоты температура плавления составляет только 12°C . Предполагается, что после переноса генов, определяющих синтез петрозелиновой кислоты, в растения – продуценты растительного масла удастся производить диетический маргарин, содержащий ненасыщенную жирную кислоту. Кроме того, из петрозелиновой кислоты очень легко получать лаурат путем окисления озона [21, 26].

Дальнейшее изучение специфики биохимического синтеза жирных кислот, по-видимому, приведет к возможности управлять этим синтезом с целью получения жирных кислот различной длины и различной степени насыщения, что позволит значи-

тельно изменить производство детергентов, косметики, кондитерских изделий, затвердителей, смазочных материалов, лекарств, полимеров, дизельного топлива и многоного другого, что связано с использованием углеводородного сырья.

ПОЛИСАХАРИДЫ И ДРУГИЕ САХАРА

Растения являются важнейшим источником сахара и продуктов на их основе. Среди наиболее важных для нас продуктов следует упомянуть целлюлозу, крахмал, а также пищевые моно- и дисахариды. Проводится работа по созданию трансгенных растений картофеля и других крахмалнакапливающих культур, в которых это вещество будет находиться в основном в виде амилопектина, то есть разветвленной форме крахмала, или же в основном только в виде амилозы, то есть линейных форм крахмала. Раствор амилопектина в воде более жидкий и прозрачный, чем у амилозы, которая при взаимодействии с водой образует ригидный гель. Так, например, крахмал, состоящий в основном из амилопектина, по-видимому, будет иметь спрос на рынке производителей различных питательных смесей, где сейчас в качестве наполнителя используется модифицированный крахмал [24].

ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ТЕХНИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ

Современная биотехнология в состоянии манипулировать многими важными признаками, которые можно разделить на две группы. Одни из них важны для собственно сельскохозяйственного производства. К ним можно отнести повышение общей продуктивности растений за счет регулирования синтеза фитогормонов или дополнительного снабжения кислородом растительных клеток, а также признаки, обеспечивающие устойчивость к разного рода вредителям (насекомые, грибы, бактерии, вирусы, нематоды) или же к абиотическим факторам (засуха, засоленность, оксидативный стресс). К этой же группе можно отнести устойчивость к разного рода гербицидам, создание форм растений с мужской стерильностью, возможность гораздо дольше сберегать выращенный урожай.

К признакам, которые влияют на качество получаемой продукции, относится возможность манипулирования молекулярным весом жирных кислот. Растения будут производить биодеградирующий пластик, по цене сопоставимый с полиэтиленом, получаемым из нефти. Открылась возможность получения крахмала с заданными физико-химическими свойствами. Аминокислотный состав у растительных запасных белков становится более сбалансированным и легкоусвояемым для млекопитающих. Растения также становятся продуцентами вакцин, фармакологических белков и антител, что позволяет значительно удешевить лечение разных заболеваний, в том числе и онкологических.

Получены и испытываются трансгенные растения хлопка с уже окрашенным волокном. В будущем натуральное хлопковое волокно будет крепче, не будет ни мяться, ни садиться и будет иметь различную окраску без применения химических красителей. Необходимо отметить, что рынок для продуктов с новыми качествами более значителен, чем рынок продуктов с улучшенными чисто сельскохозяйственными признаками, хотя в настоящее время именно признаки первой группы, такие, как устойчивость к гербицидам и насекомым, получили первый коммерческий успех на полях США.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПЛАСТИД

Во многих случаях генетической модификации будут подвергаться не ядерные геномы, а геномы пластид [25] или митохондрий. Такие системы уже сегодня позволяют значительно увеличить содержание продукта в трансгенном материале. Управляемая активность генов (за счет использования индуцибельных генетических систем, когда активность гена включается добавлением небольших молекул типа тетраклина, стероидов, тяжелых металлов и т.д.), селективная экспрессия трансгена в определенных тканях, а также направления компартментализации продукта действия гена (в эндоплазматическом ретикулуме, вакуолях, пластидах, митохондриях, секреция в окружающую среду) — все эти направления улучшения генноинженерных растений активно исследуются. Наконец, нелишне упомянуть систему экспрессии в растениях чужеродной генетической информации, опосредованной вирусами. Разработанная усилиями компании "Biosource" (США) технология позволяет быстро и в больших количествах нарабатывать в растениях белки и небольшие молекулы за счет инфицирования растений генетически модифицированными вирусами, содержащими встроенные чужеродные гены тех или иных белков/ферментов. За этой системой большое будущее, так как она позволяет изменить биосинтетические процессы в растениях без длительных и дорогостоящих манипуляций с растительным геномом.

СИСТЕМЫ И ИНСТРУМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ БУДУЩЕГО

Применяемые в настоящее время методы и технологии генетического конструирования весьма несовершенны. Например, существующие методы трансформации растений малоэффективны, видо- и сортоспецифичны, приводят к случайному встраиванию чужеродной ДНК в геном реципиента, накладывают ограничения на количество переносимой информации и т.д.

Перенос трансгенов из одного сорта в другой требует многократных возвратных скрещиваний и, главное, не является генетически чистой процедурой, поскольку вместе с чужеродной ДНК в процессе случайной рекомбинации происходит перенос

различных кусков ДНК сорта-донора. Трансгены в сегодняшних коммерческих сортах постоянно включены (экспрессируются) и, как правило, работают во всех органах и тканях растения. Поскольку эффективной процедуры встраивания трансгенов в заранее заданный участок генома не существует, манипулирование даже несколькими независимыми признаками и их координированный переброс в сотни сортов превращаются в логистический кошмар для селекционных компаний.

Очевидно поэтому, что любой прогресс биотехнологии растений будет зависеть от разработки генетических систем и инструментов, которые позволяют более эффективно управлять трансгенами. Ситуация аналогична той, которая наблюдается в компьютерной индустрии, где помимо увеличения объемов обрабатываемой информации и улучшения самих компьютеров нужны еще операционные системы управления информацией типа микрософтовских "окон".

Для чистого вшивания/вырезания трансгенной ДНК в растительный геном все больше применяют заимствованные из микробной генетики системы гомологичной рекомбинации, такие, как системы Cre-lox (от англ. Control of recombination and locus of crossover) и Flp-frt. Будущее, очевидно, будет за управляемым переносом генов от сорта к сорту, основанным на применении предварительно подготовленного растительного материала, который уже содержит в нужных хромосомах/местах участки гомологии, необходимые для гомологичного встраивания трансгена. Помимо интегративных систем экспрессии будут опробованы автономно реплицирующиеся векторы. Особый интерес представляют искусственные хромосомы растений, которые теоретически не накладывают никаких ограничений на объем вносимой чужеродной информации.

ПОИСКИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ НОВЫЕ ПОЛЕЗНЫЕ ПРИЗНАКИ

Ситуация в этой области меняется радикальным образом, прежде всего благодаря существованию публичных и коммерческих баз данных, содержащих информацию о большинстве генов бактерий, дрожжей, человека и растений, а также вследствие разработки методов, позволяющих одновременно анализировать экспрессию большого количества генов с очень высокой пропускной способностью. Применяемые на практике методы можно разделить на две категории.

К первой категории относятся методы, позволяющие вести экспрессионное профилирование, такие, как субтракционная гибридизация, электронное сравнение EST-библиотек, полученных из различных тканей либо при различных физиологических/генетических параметрах, серийный анализ экспрессии генов SAGE, а также "генные чипы" типа изготавливаемых компаниями "Affymetrix", "Synteni", "Hyseq". Эти методы позволяют

быстро установить корреляцию между тем или иным фенотипическим признаком (болезнь, устойчивость к болезни, новое содержание/качество тех или иных практически важных молекул и т.д.) и активностью конкретных генов.

Второй подход, называемый позиционным клонированием, заключается в создании за счет инсерционного мутагенеза (Т-ДНК-опосредованные либо транспозоновые инсерции) мутантов с нарушениями в интересующем нас признаке или свойстве, с последующим клонированием соответствующего гена как такового, который заведомо содержит известную последовательность (инсерция).

Как можно заметить, названные выше методы не предполагают никаких изначальных сведений о генах, контролирующих тот или иной признак. Отсутствие рационального компонента в данном случае является положительным обстоятельством, поскольку поиск не ограничен нашими сегодняшними (по определению, неполными) представлениями о природе и генетическом контроле конкретного интересующего нас признака.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мельников П.В., Пастернак Т.П., Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Микроинъекция ДНК в клетки высших растений // Докл. АН УССР. 1985. № 10. С. 69–71.
2. Arakawa T., Chong D.K.X., Merritt J.L., Langridge W.H.R. Expression of Cholera Toxin B Subunit Oligomers in Transgenic Potato Plants // Transgenic Res. 1997. Vol. 6. P. 403–414.
3. Bayley C., Trolinder N., Ray C. et al. Engineering 2,4 D Resistance into Cotton // Theor. Appl. Genet. 1992. Vol. 83. P. 645–649.
4. Buchanan-Wollaston V., Snape A., Cannon F. A Plant Selectable Marker Gene Based on the Detoxication of the Herbicide Dalapon // Plant Cell. 1992. Vol. 11. P. 627–632.
5. Chan M.T., Chang H.H., Ho S.L. et al. Agrobacterium-mediated Production of Transgenic Rice Plants Expressing a Chimeric Alpha-Amylase Promoter Beta-Glucuronidase Gene // Plant Mol. Biol. 1993. Vol. 22. P. 491–506.
6. Comai L., Facciotti D., Hiatt W. et al. Expression in Plants of a Mutant Salmonella Gene from Salmonella Typhimurium Confers Tolerance to Glyposate // Nature. 1985. Vol. 317. P. 741–744.
7. De Block M., Botterman J., Vandewiele M. et al. Engineering Herbicide Resistance in Plants by Expression of a Detoxifying Enzyme // EMBO J. 1987. Vol. 6. P. 2513–2518.
8. Edelbaum O., Ilan N., Grafi G. et al. Two Antiviral Proteins from Tobacco: Purification and Characterization by Monoclonal Antibodies to Human b-Interferon // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 588–592.
9. Frame B.R., Drayton P.P., Bragnall S.V. et al. Production of Fertile Transgenic Maize Plants by Silicon Carbide Whisker-Mediated Transformation // Plant J. 1994. Vol. 6. P. 941–948.
10. Fromm M.E., Morrish F., Armstrong C. et al. Inheritance and Expression of Chimeric Genes in the Progeny of Transgenic Maize Plants // Biotechnology. 1990. Vol. 8. P. 833–844.
11. Gioppa-della G., Bacur S.C., Taylor M.L. et al. Targeting Herbicide-Resistant Enzyme from Escherichia coli to Chloroplasts of Higher Plants // Jbid. 1987. Vol. 5. P. 579–584.
12. Haq T.A., Mason M.S., Clements J.D., Arntzen C.J. Oral Immunization with a Recombinant Bacterial Antigen Produced in Transgenic Plants // Science. 1995. Vol. 268. P. 714–716.
13. Hiatt A., Cafferkey R., Bowdish K. Production of Antibodies in Transgenic Plants // Nature. 1989. Vol. 342. P. 76–78.
14. Ishida Y., Saito H., Ohta S. et al. High Efficiency Transformation of Maize (*Zea mays* L) Mediated by Agrobacterium *tumefaciens* // Nature Biotechnol. 1996. Vol. 14. P. 745–750.
15. Klein T.M., Wolf E.D., Wu R., Sanford J.C. High Velocity Microprojectiles for Delivering Nucleic Acids into Living Cells // Nature. 1987. Vol. 327. P. 70–73.
16. Koziel M.G., Beland G.L., Bowman C. et al. Field Performance of Elite Transgenic Maize Plants Expressing an Insecticidal Protein Derived from *Bacillus thuringiensis* // Biotechnology. 1993. Vol. 11. P. 194–200.
17. Krens E.A., Molendijk L., Wullems G.I., Schilperoort R.A. In vitro Transformation of Plant Protoplasts with Ti-Plasmid DNA // Nature. 1982. Vol. 296. P. 72–74.
18. Li Z., Hayashimoto A., Murai N. A Sulfonylurea Herbicide Resistance Gene from *Arabidopsis thaliana* as a New Selectable Marker for Production of Fertile Transgenic Plants // Plant Physiol. 1992. Vol. 100. P. 662–668.
19. Ma J.K.-C., Hiatt A., Hein M. et al. Generation and Assembly of Secretory Antibodies in Plants // Science. 1995. Vol. 268. P. 716–719.
20. Mazur B.J., Chui C.F., Smith J.K. Isolation and Characterization of Plant Genes Coding for Acetylactate Synthase, the Target Enzyme for Two Classes of Herbicides // Plant Physiol. 1987. Vol. 85. P. 1110–1117.
21. Ohlrogge J.B. Design of New Plant Products: Engineering of Fatty Acid Metabolism // Jbid. 1994. Vol. 104. P. 821–826.
22. Perlak F.G., Deaton R.W., Armstrong T.A. et al. Insect Resistant Cotton Plants // Biotechnology. 1990. Vol. 8. P. 939–943.
23. Perlak F.G., Stone T.B., Muskopf Y.M. et al. Genetically Improved Potatoes: Protection from Damage by Colorado Potato beetles // Plant Mol. Biol. 1993. Vol. 22. P. 313–321.
24. Shewmaker C.K., Stalker D.M. Modifying Starch Biosynthesis with Transgenes in Potatoes // Plant Physiol. 1992. Vol. 100. P. 1083–1086.
25. Stitt M., Svab Z., Hajdukiewich P., Maliga P. Stable Transformation of Plastids in Higher Plants // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 8526–8530.
26. Topfer R., Martini N., Schell J. Modification of Plant Lipid Synthesis // Science. 1995. Vol. 268. P. 681–686.
27. Vacek M., Reynaerts A., Hotte H. et al. Transgenic Plants Protected from Insect Attack // Nature. 1987. Vol. 328. P. 33–37.
28. Vandekerckhove J., Van Damme J., Van Lijsebettens Boterman J. et al. Enkephalins Produced in Transgenic Plants Using Modified 2S seed Storage Proteins // Biotechnology. 1989. Vol. 7. P. 929–932.
29. Voelker T.A., Worrell A.C., Anderson L. et al. Fatty Acid Biosynthesis Redirected to the Medium Chains in Transgenic Oilseed Plants // Science. 1992. Vol. 257. P. 72–74.
30. Zambryski P., Joos H., Genetello C. et al. Ti-Plasmid Vector for the Introduction of DNA into Plant Cell without Alteration of Their Normal Regeneration Capacity // EMBO J. 1983. Vol. 2. P. 2143–2150.

* * *

Юрий Юрьевич Глеба, профессор Киевского университета и университета Ратгерс (штат Нью-Джерси, США), академик Национальной академии наук Украины, академик Европейской академии наук и ряда европейских академий наук, член Правления Международной Соросовской Программы Образования в области точных наук, директор отдела биотехнологии растений компании "Американский цианамид". Основные научные интересы в области генетической инженерии растений и биотехнологии. Автор более 200 научных работ.