

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГІЧНІ ОСНОВИ  
ТЕРМІНАТОРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ.  
I. СОРТОСПЕЦИФІЧНІ ГЕНЕТИЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ  
ОБМЕЖЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ**

Котик Б.В., Галкін О.Ю., Горчаков В.Ю.

*Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»,  
03056, Україна, Київ, просп. Перемоги, 37*

alexft@mail.ua

Термінаторні технології (genetic use restriction technology, GURT), які використовують трансгенез з метою пригнічення фертильності на генетичному рівні, є цікавим інструментом у біотехнології рослин. В оглядовій статті розкрито молекулярно-генетичні основи технології, що обмежують використання на рівні сортів (V-GURT). V-GURT можуть бути представлені трьома різними механізмами: по-перше, термінаторний ген опосередковано активується в результаті дії екзогенного індуктора, по-друге, термінаторний ген є конститутивним (опосередковано інактивується в результаті дії екзогенного індуктора), по-третє, механізми, дія яких заснована на присутності трансгенів, які пригнічують ріст та фертильність дорослих рослин або спричиняють летальність зародків насіння. Можливість практичного застосування GURT залишається дискусійним питанням, оскільки торкається проблем біоетики та біобезпеки.

*Ключові слова: термінаторні технології, трансгенез, біотехнологія рослин, біобезпека.*

Котик Б.В., Галкин А.Ю., Горчаков В.Ю. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТЕРМИНАТОРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ. I. СОРТОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ / Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», 03056, Украина, Киев, просп. Победы, 37.

Терминаторные технологии (genetic use restriction technology, GURT), использующие трансгенез с целью подавления фертильности на генетическом уровне, является интересным инструментом в биотехнологии растений. В обзорной статье раскрыты молекулярно-генетические основы технологий, ограничивающих использование на уровне сортов (V-GURT). V-GURT могут быть представлены тремя различными механизмами: во-первых, терминаторный ген опосредованно активируется в результате действия экзогенного индуктора, во-вторых, терминаторный ген является конститутивным (опосредованно инактивируется в результате действия экзогенного индуктора), в-третьих, механизмы, действие которых основаны на присутствии трансгенов, подавляющих рост и фертильность взрослых растений или вызывают летальность зародышей семян. Возможность практического применения GURT остается дискуссионным вопросом, поскольку затрагивает проблемы биоэтики и биобезопасности.

*Ключевые слова: терминаторные технологии, трансгенез, биотехнология растений, биобезопасность.*

Kotyk B.V., Galkin A.Yu., Gorchakov V.Yu. MOLECULAR BIOLOGICAL BASES OF TERMINATOR TECHNOLOGY. I. VARIETY-LEVEL GENETIC USE RESTRICTION TECHNOLOGIES / National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute", 03056, Ukraine, Kyiv, Peremohy av., 37

Terminator technology (genetic use restriction technology, GURT) is technology that uses transgenesis for the purpose of suppression of fertility at the genetic level (the ability to form seed varieties of crops or produce second generation offspring animals). The aim is to protect the seed producers or prevent unwanted leakage genes. There are two types of GURT.

Terminator technologies that restrict the use of at grades or variety-specific genetic use restriction technologies (V-GURT, variety-specific GURT) – genetic use restriction technologies, which will be triggered at a variety (with all its attributes) as a result of entering into the variety of plants these genetic changes that prevent the formation of more than two generations, and therefore limit the opportunity for farmers growing varieties need annual purchase of seeds.

Genetic technologies that restrict the use of signs at or trait-specific genetic use restriction technologies (T-GURT, trait-specific GURT) – an alternative form integrated into the genome of protection mechanism (genetic protection); genetic technologies that restrict the use of concrete (specific) signs. In this case only means of technology protected transgenic trait – added genetic engineers economically valuable feature – and it can be activated at the request of the farmer or final user.

It was developed several variants of T-GURT and V-GURT with certain differences at the genetic mechanisms. But all genetic constructions GURT have one basic scheme of construction, the same basic

elements. They include: repressor gene that responds to external stimuli (subjected to external regulation); recombinase gene (gene-activating signs), the expression of which is blocked by repressor; target gene.

Regarding inductors (external inducing impacts), most of which are supposed to be chemical nature, they must meet the following requirements: inductor should be subject to biodegradation; inductor must be non-toxic to ecosystems; can be directly applied both in the field and in terms of facilities (industrial, laboratory) for seed treatment; high capacity for absorption surface plants or seeds; catalytic effect of inductor must be specific for a particular (target) genetic system; inductor high activity, inducible genetic system should be sensitive to low doses of inducer. Both types of technologies (V-GURT and T-GURT) can be applied to any species and have no restrictions on existing methods of genetic transformation.

For V-GURT was offered three different mechanisms of reproduction limitations plants that differ functioning features: terminator mediated gene is activated as a result of exogenous inducer; terminator gene is constitutive (inactivated indirectly as a result of exogenous inducer). Other mechanisms, which are based on the presence of transgenes that inhibit growth and fertility of adult plants or seeds germs cause mortality.

The second type includes a mechanism that has the opposite principle of operation. The gene encoding the protein terminator (cytotoxic) properties is constitutively active in tissues seed, that seed of such a gene must be sterile under normal conditions. But terminator gene regulatory region contains the operator – sequence sensitive to the effects of repressor protein. The latter is the product of a gene regulator that is controlled inducible promoter. In the presence of the chemical inducer-regulator gene is active, synthesized repressor protein that binds to the regulatory area terminator inactivates the gene and its expression. In the absence of an exogenous chemical inducer repressor protein is not expressed, and terminator gene is functionally active all the time.

The third type refers all other mechanisms whose operation is the result of inhibition of growth and fertility of adult plants or seeds germs causing mortality. One such mechanism was designed to regulate the development and reproduction of plant species that are vegetative propagated plants, which form tubers, root vegetables, and ornamental plants. Another possible use of this mechanism is extension of storage plants and their vegetative parts through inhibition of the growth process. Another mechanism that belongs to the third type is selective termination of transgenic plants. The essence of the strategy is that the natural plant resistance to certain chemicals may be blocked as a result of RNA interference products introduced transgene (used method of RNA interference). Transgenic plants are unstable to the action of these chemicals and their growth at any time be interrupted by chemical treatment.

*Key words: terminator technology, transgenesis, plant biotechnology, biosafety.*

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Термінаторні технології (genetic use restriction technology, GURT) – технології, які використовують трансгенез з метою пригнічення фертильності на генетичному рівні, тобто здатності утворювати насіння сортами культурних рослин або давати нащадків іншим поколінням тварин [1,2]. Метою є захист виробників насіння або запобігання небажаному витоку генів. Розрізняють два типи GURT.

Термінаторні технології, що обмежують використання на рівні сортів, або сортоспецифічні генетичні технології обмеження використання (V-GURT, variety-specific GURT) – генетичні технології обмеження використання, які спрацьовують на рівні сорту (з усіма його ознаками) в результаті внесення в цей сорт рослини таких генетичних змін, які перешкоджають формуванню більше, ніж двох поколінь, і тому обмежують для фермерів можливість вирощування сорту необхідністю щорічного придбання насіння [3, 4].

Генетичні технології, що обмежують використання на рівні ознаки, або ознакоспецифічні генетичні технології обмеження використання (T-GURT, trait-specific GURT) – це альтернативна форма інтегрованого в геном механізму захисту (генетичного захисту); генетичні технології, що обмежують використання конкретних (специфічних) ознак. У такому випадку засобами технології захищена тільки трансгенна ознака – додана генними інженерами господарсько цінна ознака, – і вона може бути активована за бажанням фермера / кінцевого споживача [3, 4].

Було розроблено декілька варіантів T-GURT та V-GURT з певними відмінностями на рівні генетичних механізмів. Але всі генетичні конструкції GURT мають одну принципову схему побудови, однакові основні елементи. Вони містять: ген-репресор, який реагує на зовнішні

впливи (піддається зовнішній регуляції); ген рекомбінази (ген-активатор ознаки), експресія якого блокується репресором; цільовий ген.

Індуктори (зовнішніх індукуючих впливів), більшість яких, як передбачається, матимуть хімічну природу, повинні відповідати таким вимогам: індуктор повинен підлягати біодеградації; індуктор має бути нетоксичним для екосистем; може бути безпосередньо застосований і в польових умовах, і в умовах приміщень (виробничих, лабораторних) для обробки насіння; висока здатність до абсорбції поверхнею рослин або насіння; каталітична дія індуктора повинна бути специфічною щодо конкретної (цільової) генетичної системи; висока активність індуктора: індукцибельна генетична система повинна бути чутливою до малих доз індуктора [1,2].

Обидва типи технологій – V-GURT та T-GURT – можуть бути застосовані до будь-яких видів рослин і не мають обмежень щодо існуючих способів генетичної трансформації.

Метою роботи був аналіз молекулярно-біологічних та молекулярно-генетичних механізмів функціонування сортоспецифічних генетичних технологій обмеження використання.

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ V-GURT

Для V-GURT були запропоновані три механізми обмеження репродукції рослин, які розрізняються особливостями функціонування: термінаторний ген опосередковано активується в результаті дії екзогенного індуктора; термінаторний ген є конститутивним (опосередковано інактивується в результаті дії екзогенного індуктора); інші механізми, дія яких заснована на присутності трансгенів, які пригнічують ріст та фертильність дорослих рослин або спричиняють летальність зародків насіння [5].

Генетична конструкція, яка відповідає першому механізму функціонування V-GURT, містить 3 основні елементи (3 гени) [6-8].

I. Ген, який кодує білок з цитотоксичними властивостями (термінаторний або летальний ген) під контролем промотору пізнього ембріогенезу (*LEA – promoter, late embryogenesis abundant promoter*). Подібні промотори активні тільки впродовж певних стадій розвитку рослини або в специфічних умовах оточуючого середовища (наприклад, підвищена температура), і мають назву транзйентно активних промоторів. Промотор *LEA* з'єднаний зі спейсерною (блокуючою) ДНК-послідовністю, яка фланкована специфічними сайтами ексцизиї (*lox – послідовностями*). Розміщення блокуючої послідовності між промотором та послідовністю структурного (термінаторного) гена запобігає його активації (експресії) і тим самим дозволяє регулювати активність усієї системи захисту технологій.

Цитотоксичний білок – це білок інактивації рибосом (*ribosome inactivating protein, RIP*), також відомий як сапорін (є припущення, що зазначений білок походить з рослини *Saponaria officinalis*, мильнянки лікарської). Сапорін є цитотоксином, який проявляє активність у малих концентраціях та інгібує біосинтез білка в клітинах рослин. Він є нетоксичним для інших організмів, за винятком рослин. Гени під контролем *LEA*-промотору транскрибуються (активуються) лише в період пізнього ембріогенезу, коли насіння проростає [6].

II. Ген сайт-специфічної рекомбінази фага *PI* під контролем конститутивного промотора *CaMV 35S (Cauliflower mosaic virus 35S promoter)* містить один або більше *tet*-операторів. *Tet*-оператори – послідовності нуклеотидів, які проявляють специфічність до зв'язування з білком *tet*-репресором і взаємодіють із ним, перешкоджаючи експресії гена рекомбінази. Подібні промотори, модифіковані репресор-регульованими операторними послідовностями, відомі як репресибельні промотори. Цей ген кодує білок *Cre (Cre-рекомбіназу)*, який робить розрізи по специфічних сайтах ексцизиї, що фланкують блокуючу послідовність термінаторного гена [6-8].

III. Ген білка-репресора *Tn10 – tet* контролюється конститутивним промотором і кодує *tet*-білок, який зв'язується з *tet*-оператором гена рекомбінази, перешкоджаючи експресії гену рекомбінази (репресує ген рекомбінази).

Гени були інтегровані в геноми окремих трансгенних ліній – засновників, які згодом внаслідок перехресного запилення дали нащадків з геномом, що містив повний набір трьох трансгенів [7,8].

Механізм функціонування даної генетичної конструкції наступний. Присутність зовнішнього індуктора дезактивує білок-репресор і цим перешкоджає його зв'язуванню з оператором, у результаті оперон розблоковується. Як зовнішні індуктори передбачалося використання агрохімікатів чи антибіотиків (наприклад, тетрациклін) [6-8].

Перед продажем насіння споживачам (які переважно представлені фермерами) виробники обробляють його індуктором, який інгібує функцію репресора, зв'язуючись і змінюючи конформацію останнього, що своєю чергою призводить до активації транскрипції гена *Cre*-рекомбінази. Продукована *Cre*-рекомбіназа розпізнає блокуючу *Cre*-последовність, фланковану сайтами ексцизиї *lox*. Під дією рекомбінази відбувається ексцизія блокуючої ділянки та сплайсинг за *lox*-сайтами. Таким чином, ген білка інактивації рибосом опиняється під безпосереднім контролем *LEA*-промотора. *Cre/lox*-система досить часто використовується в генетичних конструкціях для тканиноспецифічної активації трансгенів [6-8].

Гени під контролем *LEA*-промотора транскрибуються тільки на стадіях пізнього ембріогенезу, коли насіння накопичує значну кількість запасних білків та ліпідів, втрачає вологу, готуючись до періоду. У період пізнього ембріогенезу білок, що інактивує рибосоми (продукт термінаторного гена), починає експресуватися, призводячи до незворотного переривання розвитку усіх зародків насіння та їх загибелі.

Таким чином, насіння, придбане фермерами (і попередньо оброблене індуктором), здатне прорости в польових умовах і дати покоління рослин із звичайним циклом розвитку. Але насіння вищезазначеного покоління рослин буде стерильним і тому непридатним для наступних посадок [6,8]. Насіння буде абсолютно повноцінним з фізіологічної точки зору та за споживчими якостями в результаті інтактності ендосперму. Єдиною відмінністю буде відсутність життєздатного зародка. Тому насіння зернових культур, таких як пшениця, може використовуватись за звичайними схемами переробки для задоволення продовольчих потреб, насіння технічних культур, таких як бавовна, – для отримання волокон [7].

У спрощеній моделі ген рекомбінази поставлений безпосередньо під контроль індукційного промотору [7]. Були запропоновані різні модифікації конструкції такого типу. Як альтернатива хімічним індукторам були запропоновані температурний та осмотичний шок як тригери активації термінаторних генів. Інший варіант – аномальний рівень рослинних гормонів виконував функцію цитотоксичного фактора, який призводив до пошкодження клітин зародків [9]. Перелік потенційних індукторів містить: етанол, гормони (наприклад, дексаметазон), саліцилову кислоту, пестициди та метали (наприклад, мідь) [6].

До II типу відносять механізм, який має зворотний принцип функціонування. Ген, що кодує білок із термінаторними (цитотоксичними) властивостями, є конститутивно активним у тканинах насіння, тобто насіння з таким геном має бути стерильним за звичайних умов. Але регуляторна ділянка термінаторного гена містить оператор – последовність, чутливу до впливу білка-репресора. Останній є продуктом гена-регулятора, який знаходиться під контролем індукційного промотора. У присутності хімічного індуктора ген-регулятор стає активним, синтезується білок-репресор, який зв'язується з регуляторною ділянкою термінаторного гена та інактивує його експресію. За відсутності екзогенного хімічного індуктора репресорний білок не експресується, і термінаторний ген залишається весь час функціонально активним. Тому селекціонери повинні обробляти насіння кожного покоління

рослин для збереження його фертильності, припиняючи обробку індуктором у випадку продажу насіння (при бажанні забезпечити стерильність насіння). Такий тип механізму був реалізований у трансгенних рослинах тютюну шляхом введення відповідної генетичної конструкції (але рослини комерціалізовані не були) [6].

Ще одна технологія функціонує за подібним принципом з тією особливістю, що вона була спеціально розроблена для контролю витоку трансгенів. Її назва – відновлюваний блок функції (*recoverable block of function, RBF*). Сутність технології полягає в можливості відновлення заблокованої функції (функції росту та розвитку) шляхом зняття блоку під дією індукторів.

Генетична конструкція містить так звану блокуючу послідовність під контролем промотору сульфгідрильної ендопептидази (*SH-EP-promoter*); блокуюча послідовність кодує фермент барназу (рибонуклеазу). Блокуюча послідовність зв'язана з геном інтересу та відновлювальною послідовністю під контролем промотора теплового шоку (*HS-promoter*). Відновлювальна послідовність кодує барстар – білок-інактиватор барнази. Усі зазначені гени містяться в одній вставці. Експресія барнази в тканинах ембріонів та паростків спричиняє загибель клітин або перешкоджає статевому розмноженню трансгенних рослин (шляхом блокування синтезу мРНК і проростання) у природному середовищі. Експресія відновлювальної послідовності (барстар – гена) індукується штучними зовнішніми впливами, такими як тепловий шок (дослідження проводили на проростаючому насінні тютюну, яке прогрівали тривалий час при 40 С в умовах теплиці) або обробка хімічними речовинами. Відновлення заблокованої функції проявлялось у «реконструюванні» життєздатного/фертильного фенотипу [10, 11].

Зазначений механізм індукваного розблокування функції не реалізується за звичайних (природних) умов, тому будь-яке насіння, яке утвориться в результаті гібридизації між дикими родичами та генетично модифікованими сільськогосподарськими культурами, що містять відновлювальний блок функції (RBF), не зможе прорости через дію блокуючої послідовності [10, 11].

До III типу відносять усі інші механізми, результатом функціонування яких є пригнічення росту та фертильності дорослих рослин або спричинення летальності зародків насіння. Один з таких механізмів був розроблений з метою регулювання розвитку та репродукції видів рослин, які вегетативно розмножуються – рослин, що утворюють бульби, коренеплоди, та декоративних рослин. Інший можливий варіант застосування цього механізму – подовження терміну зберігання рослин та їхніх вегетативних частин завдяки пригніченню ростових процесів. Генетична конструкція, що забезпечує його реалізацію, містить конститутивно функціонуючий ген, продукт якого уповільнює вегетативний ріст та розвиток рослин, перешкоджає дозріванню насіння (для рослин, які розмножуються насінням). Зазначений ген, що постійно експресується за замовчуванням та інгібує вегетативний ріст рослин, може бути супресований шляхом активації другого гена при обробці хімічними індукторами. Тобто застосування зовнішніх індукторів опосередковано репресує активність першого гена і забезпечує можливість розвитку рослин [6].

Інший механізм, який відносять до III типу, – селективна термінація трансгенних рослин. Сутність стратегії полягає в тому, що природна стійкість рослин до певних хімічних сполук може бути заблокована в результаті інтерференції з РНК-продуктами введених трансгенів (використовується метод м-РНК-інтерференції). Трансгенні рослини стають нестійкими до дії зазначених хімічних сполук, і їх ріст в будь-який момент може бути перерваний шляхом хімічної обробки [12]. Стратегія передбачає взаємодію продуктів трансгенезу на рівні м-РНК, без утворення білків.

Розроблена касета для трансформації (так звана касета РНК-інтерференції) містила ген стійкості до пестициду гліфосату – ген енолпірувіл-шикимат-3-фосфат-синтази (*EPSPS*). Також у касету були вбудовані інвертовані повторювані послідовності гена *CYP81A6*

цитохрому *P450*, який кодує фермент, що відповідає за деградацію бентазону в рослинах рису [20]. В іншому варіанті в касету були інтегровані інвертовані повторювані послідовності гена *CYP81A9* кукурудзи, який кодує фермент деградації нікосульфурону [13]. Інвертовані послідовності були поставлені під контроль конститутивного *CaMV 35S* промотору. Під час випробувань усі трансгенні рослини, стійкі до гліфосату, були селективно та ефективно знищені шляхом обприскування бентазоном або нікосульфуроном, відповідно [12,13]. Одна з модифікацій касети РНК-інтерференції містила додатково ген інсектицидного *Vt*-білка *CryIAb*. Як зазначають автори цих розробок, призначення подібних вбудованих у геном рослини механізмів захисту – попередження витоку трансгенів [6].

Репресивна система летальності насіння була запропонована Scherthner із співавторами [14]. Зазначена система летальності насіння заснована на одночасному введенні в одні й ті самі локуси гомологічних хромосом гена летальності насіння, пов'язаного з новою ознакою (*SL-NT* – *seed lethal gene linked to a novel trait*), та гена-репресора (*R*). Ген-репресор є доміантним відносно до гена летальності, оскільки він стримує прояв летального алеля. Нащадки від схрещування батьківських ліній будуть давати життєздатне насіння за наявності в генотипі двох алелів *SL-NT/R*. У результаті ауткросингу два алелі будуть відокремлені, і коли гамети, що несуть алель *SL-NT*, потраплять у не ГМ-рослини, за відсутності *R* елемента (алелі супресора) ген летальності насіння активується в ембріонах насіння і, таким чином, будь-яке насіння, що отримало нову ознаку, не проросте. Ця стратегія отримання рослин зі стерильним насінням відрізняється від інших розглянутих стратегій V-GURT тим, що не передбачає використання зовнішнього індуктора [6, 14].

### УЗАГАЛЬНЕННЯ

В огляді літератури було розглянуто молекулярно-біологічні основи термінаторних технологій (GURT), які базуються на сортоспецифічних генетичних механізмах обмеження використання (V-GURT). За результатом аналізу даних літератури було встановлено, що V-GURT можуть бути представлені трьома різними механізмами. Перший реалізується у випадку, коли термінаторний ген опосередковано активується в результаті дії екзогенного індуктора. Другий передбачає наявність конститутивного термінаторного гена, який опосередковано інактивується в результаті дії екзогенного індуктора. Третя група молекулярних механізмів заснована на присутності трансгенів, які пригнічують ріст та фертильність дорослих рослин або спричиняють летальність зародків насіння. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на аналіз молекулярних механізмів генетичних технологій, що обмежують використання на рівні ознаки (ознакоспецифічні генетичні технології обмеження використання), а також на оцінку GURT з позицій біоетики та біобезпеки.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Sang Y. Gene use restriction technologies for transgenic plant bioconfinement / Y. Sang, R.J. Millwood, C.N. Stewart // *Plant Biotechnol. J.* – 2013. – Vol. 11. – P. 649-658.
2. Hills M.J. Genetic use restriction technologies (GURTs): strategies to impede transgene movement / M.J. Hills, L. Hall, P.G. Arnison, A.G. Good // *Trends in Plant Science.* – 2007. – Vol. 12(4). – P. 177-183.
3. The implications of the new technology for the control of plant gene expression for the conservation and sustainable use of biological diversity: report of the Subsidiary Body on Scientific, Technical and Technological Advice of the Convention on Biological Diversity. – Montreal, 1999. – 58 p.
4. International Seed Federation. Genetic Use Restriction Technologies. – Bangalore : 2003. Режим доступу: <http://www.worldseed.org/isf/biotechnology.html>

5. The impact of “terminator” technology / [Visser B., Meer I., Louwaars N. et al.] // *Biotechnol. Development Monitor.* – 2001. – Vol. 48. – P. 9-12.
6. Lombardo L. Genetic use restriction technologies: a review / L. Lombardo // *Plant Biotechnol. J.* – 2014. – Vol. 12(8). – P. 995-1005.
7. US Patent № 5723765. Oliver M.J., Quisenberry J.E., Trolinder N., Keim D.L. (1998). Control of plant gene expression. – Appl. : 07.06.1995; Publ. : 03.03.1998. – Publ. № US5723765 A.
8. 8. Goeschl T. The development impact of genetic use restriction technologies: a forecast based on the hybrid crop experience / T. Goeschl, T. Swanson // *Environment Development Economics.* – Vol. 8. – P. 149-165.
9. Daniell H. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops / H. Daniell // *Nat. Biotechnol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 581-586.
10. Gleba Y. Design of safe and biologically contained transgenic plants: tools and technologies for controlled transgene flow and expression / Y. Gleba, S. Marillonnet, V. Klimyuk // *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* – 2004. – Vol. 21. – P. 325-367.
11. Kuvshinov V. Double recoverable block of function – a molecular control of transgene flow with enhanced reliability / V. Kuvshinov, A. Anisimov, B. Yahya, A. Kanerva // *Environ. Biosafety Res.* – 2005. – Vol. 4(2). – P. 103-112.
12. Lin C. A built-in strategy for containment of transgenic plants: creation of selectively terminable transgenic rice / C. Lin, J. Fang, X. Xu, T. Zhao, J. Cheng, J. Tu, G. Ye, Z. Shen // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3(3). – P. e1818.
13. Li J. A built-in strategy to mitigate transgene spreading from genetically modified corn / J. Li, H. Yu, F. Zhang, C. Lin, J. Gao, J. Fang, X. Ding, Z. Shen, X. Xu // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8(12). – P. e81645.
14. Scherthner J.P. Control of seed germination in transgenic plants based on the segregation of a two-component genetic system / J.P. Scherthner, S.F. Fabijanski, P.G. Arnison, M. Racicot, L.S. Robert // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100(11). – P. 6855-6859.