

## ДНК-ТЕХНОЛОГИИ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В.И. ГЛАЗКО

**Представлен обзор данных о некоторых ключевых проблемах развития агроэкосистем и использования ДНК-технологий для их преодоления, а также о результатах применения ДНК-технологий в растениеводстве и животноводстве. Обсуждаются новые подходы к ускорению селекции, экспериментальные разработки по улучшению качества сельскохозяйственной продукции.**

В ходе традиционной селекции на повышение выхода конечной продукции или ее качества часто происходит отбор вариантов генов, связанных со снижением устойчивости культурных растений и животных к действию биотических и абиотических стрессов. В растениеводстве этот процесс ускорился после перехода на получение родительских гомозиготных линий и производство гибридных семян. Другим современным фактором, снижающим продуктивность агроэкосистем, является внедрение интенсивных технологий земледелия, приводящих к изменениям структур и химического состава, а также микробиоты почв. Очевидно, что все нарастающая нестабильность растениеводства (как производства), его увеличивающаяся зависимость от действия факторов стресса (включая вредителей и болезни), органически связана с природой самих окультуренных растений и технологий их выращивания. Чем больше трансформируются агроэкоценозы под влиянием человека, тем большее значение приобретает селекция, направленная на уменьшение зависимости культурных растений от действия неблагоприятных факторов окружающей среды. Одним из путей ускорения селекционного процесса является создание генетически модифицированных организмов (ГМО), несущих искусственно встроенные гены, продукты которых способствуют повышению устойчивости растений к действию таких факторов.

ДНК-технологии — совокупность приемов, методов и технологий, в том числе технологий получения рекомбинантных рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот, по выделению генов из организма, осуществлению манипуляций с генами и введению их в другие организмы. Термин «генная инженерия» ввел в научный оборот нобелевский лауреат Э. Тэтум еще в 1963 г., он же четко определил ее задачи. Возникновение ДНК-технологии условно относят к 1972 г., когда была создана первая рекомбинантная молекула ДНК (П. Берг и др., США, [5]). Основная цель разработки ДНК-технологий — путем генетического реконструирования геномов получить как можно большее разнообразие организмов, которые можно было бы использовать не только для производства качественно новых продуктов, но и для переработки различных органических и неорганических веществ. Человечество с надеждой ожидает создание таких клеточных культур и биореакторов, с помощью которых можно будет производить ценные лекарственные препараты для устранения ряда наследственных, онкологических, сердечно-сосудистых и других заболеваний, очистки и улучшения экологического состояния окружающей среды. Особенно перспективным представляется возможность получения новых высокопродуктивных форм организмов с улучшенными показателями качества продукции.

Разведению генетически модифицированных (ГМ) сортов основных сельскохозяйственных культур исполнилось 10 лет. Общая площадь под ними достигла 100 млн га, и в девятый раз ее годовой прирост превысил 10% (ни один сектор мирового рынка по динамике роста не может сравниться с сельскохозяйственной биотехнологией, ставшей основой нового растениеводства — [www.argenbio.com](http://www.argenbio.com), [www.ncfar.org](http://www.ncfar.org)).

По данным Международного центра применения сельскохозяйственных биотехнологий (International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications — ISAAA), предполагается, что за следующие 10 лет произойдет удвоение мировой продукции ГМ сортов; от 2005 г. к 2015 г. количество стран, использующих такие сорта, увеличится от 21 до 40; количество фермеров — от 8,5 до 20 млн; площадь земли, занятой под ГМ сорта, увеличится от 100 до 200 млн га. Как ожидается, наибольший рост использования ГМ сортов будет наблюдаться в ведущих развивающихся странах Азии — Китае и Индии, а также Пакистане и Вьетнаме. Важно подчеркнуть, что удвоение продукции растениеводства, связанное с использованием ГМ сортов, будет реализовываться без увеличения площадей, занятых под выращивание сельскохозяйственных видов, что приведет к увеличению сохранности экобиоценозов. Другой вклад в увеличение устойчивости экосистем при использовании ГМ сортов обусловлен существенным снижением внесения пестицидов, что будет способствовать уменьшению уровней загрязнения ими почв и воды [5].

ДНК-технологии позволяют исследовать и направленно изменять материал наследственности на разных уровнях его организации — геном, хромосомном, геномном, популяционногенетическом. Именно благодаря развитию ДНК-технологий становится все более очевидным определенное единообразие стабильности и изменчивости материала наследственности как на уровне отдельной нуклеотидной последовательности, так

и в совокупности организмов, образующих общий генофонд. Необходимо подчеркнуть, что все методы ДНК-технологий, связанные с созданием новых генных конструкций и новых организмов, основаны на экспериментальном воспроизведении процессов, реально существующих в живой природе. То есть разработки ДНК-технологий основаны на приемах, уже реализованных в процессе эволюции живых организмов и лежащих в основе изменчивости, наследственности и отбора.

По-видимому, в современной биологии, во всем диапазоне ее областей, от физиологии клетки до механизмов высшей нервной деятельности не осталось ни одной, в которой бы не нашли своего применения ДНК-технологии, биоинформатика, протеомика, метаболомика.

Можно выделить три основных типа ДНК-технологий, используемых в настоящее время:

- введение в организм чужеродных генов как полученных из генома других организмов, так и синтезированных искусственно для изменения его свойств и признаков;

- избирательная активация гена, «адресное» разрушение гена, «антисмысловая» блокировка гена или производимой им РНК, позволяющая вывести из строя любой ген внутри живой клетки;

- направленное изменение гена («адресный» мутагенез *in vivo*, генная инженерия *in vitro* — *ex vivo*).

Наиболее распространенный и коммерчески реализованный в настоящее время тип генного воздействия — введение в организм чужеродных генов. Создание трансгенного организма осуществляется в несколько этапов: получение генетического материала (фрагментов ДНК — генов), включение фрагмента чужеродной ДНК в вектор, перенос генов в клетку, закрепление их в ней, идентификация (скрининг и селекция) клеток, которые приобрели желаемые гены. Возможны три направления введения генов — в клетки бактерий и дрожжей, в соматические клетки (растений, жи-

вотных, человека) и в зародышевые клетки.

В результате развития ДНК-технологий произошло развитие целой области работ, посвященных парасексуальной генетике — термин, определяющий исследования, основанные на введении генетического материала в клетку или в целый организм неполовым путем и создании условий для его последующей передачи по наследству.

Получены экспериментальные данные о возможности обмена генетической информацией как между отдельными генами внутри одного организма, разными организмами одного и того же вида, так и между организмами разных таксономических групп. Обычно у высших организмов такой «горизонтальный» перенос генетической информации является крайне редким событием, но у микроорганизмов он достаточно распространен, что и используется практически во всех методах ДНК-технологий. Гены, появившиеся в геноме в результате единичного события горизонтального переноса, обычно будут расположены в непосредственной близости друг от друга, во всяком случае пока их положение на хромосоме не изменится в результате следующих рекомбинационных событий. «Вертикальная» передача генетического материала (т.е. от поколения к поколению) является основной у всех живых организмов, но не исключительно единственной. В некоторых группах видов ортологичные гены присутствуют у отдельных представителей несвязанных эволюционных ветвей и отсутствуют у остальных микроорганизмов той же группы, например, ген холинкиназы у *H. influenzae*, микоплазм и дрожжей. Это может указывать на «горизонтальный» перенос эукариотических генов в бактериальный геном (холинкиназа участвует в биосинтезе липополисахаридов и может быть существенной для патогенности микроорганизмов). Другой пример — наличие глутаредоксинподобного мембранного белка у неродственных *H. influenzae*, *Synechocystis* и *S. Cerevisiae* [3].

Для создания организмов с новыми свойствами существует несколько путей. Один из них — модификация генов, кодирующих ферменты того или иного метаболического пути. Используя ДНК-технологии, в частности рекомбинантные ДНК, можно направленно изменять метаболизм организмов, вводя в них новые гены или модифицируя уже существующие. В результате генетических манипуляций организм приобретает новые метаболические пути, например, способность к синтезу нового фермента, что можно использовать для получения *in vivo* низкомолекулярных соединений — витаминов, аминокислот, красителей, антибиотиков, предшественников различных биополимеров и т.д. Такой организм становится «фабрикой» или биореактором по производству полезных метаболитов. Такие подходы широко и достаточно давно используют в работах с микроорганизмами. Можно создавать рекомбинантные микроорганизмы, способные синтезировать самые разные низкомолекулярные соединения: L-аскорбиновую кислоту, краситель индиго, аминокислоты, антибиотики, мономерные единицы различных биополимеров. Общая стратегия при этом состоит во введении в организм хозяина специфических генов, клонированных в подходящем векторе, которые кодируют один или несколько ферментов, катализирующих не свойственные микроорганизму метаболические реакции или влияющих на осуществляемый им в норме биосинтез определенных соединений. Этот подход поможет создать необычные, более эффективные пути синтеза самых разных соединений, включая новые поколения антибиотиков [3].

Интересные возможности ДНК-технологии дают для решения экологических проблем. Создают растения, которые экстрагируют или разрушают поллютанты почвы. Так, симбиотическому азотфиксатору люцерны *Rhizobium meliloti* был встроены ряд генов, осуществляющих разложение бензина, толуола, содержащихся в

горючем. Глубокая корневая система люцерны позволяет очищать почву, загрязненную нефтепродуктами на глубину до 2-2,5 м.

Эти исследования способствуют развитию новых подходов и в сельском хозяйстве — к диагностике болезней, идентификации генетических признаков пород и сортов для селекции животных с новыми и улучшенными свойствами на основе направленного изменения геномов. Используя ДНК-технологии, можно менять состав молока, качество мяса, плодовитость, сопротивляемость или чувствительность к инфекциям [4].

Быстрому развитию ДНК-технологий способствовало то, что сразу была осознана огромная важность и перспективность в решении многих проблем экологии, биологии, медицины, промышленности и сельского хозяйства. Впервые появилась возможность не только изучать механизмы жизнедеятельности организмов, но и сознательно планировать изменения в них.

Программа «Геном» (современная геномика) дала возможность определить химическое строение генов и их расположение на хромосомах. Эта информация в принципе достаточна для того, чтобы собрать искусственную хромосому и ввести ее в клетку и выяснить как она работает.

Сейчас активно выполняется проект «Протеом», т. е. установление и расшифровка аминокислотных последовательностей и доменной организации всех белков, работающих в любом организме (в т. ч. и человека): обнаружение их, сопоставление с генетической картой генома и выявление всех функций. Это задача еще более сложная, чем та, которую удалось решить. Вот уже несколько десятилетий человеческую протеому (набор белков в человеческом организме) углубленно изучают во многих исследовательских центрах мира, а крупные фармацевтические компании, такие как Bayer, Merck и другие, вкладывают в белковые исследования немалые деньги. Прочность человеческую протеому так же

важно, как и расшифровать человеческий геном. Сегодня, даже с привлечением самых совершенных технологий и самых последних биомедицинских идей, на создание нового лекарства уходит 15-20 лет. Зная протеому, этот срок можно сократить до 2-3 лет.

Огромный шаг вперед был сделан в последние несколько лет в исследовании и анализе белок-белковых взаимодействий, белкового состава оргanelл, характера экспрессии различных структурных генов, кодирующих белки у онкологических больных.

Интеграция результатов исследований геномики и протеомики с использованием методов биоинформатики в конечном итоге приведет к формированию всесторонних баз данных о функциях генов, которые будут служить как фундаментальная информационная основа о белковых характеристиках и их функциях, необходимая для системного биологического подхода в изучении организации и функции живых объектов.

Ряд экологических и агроэкологических проблем, в решении которых большие надежды возлагаются на ДНК-технологии, носит комплексный характер. К ним относится проблема повышения плодородия почв. Использование для этих целей удобрений, главным образом азотистых, не дает желаемого эффекта по двум причинам. Во-первых, химический синтез азотистых удобрений идет с помощью энергоемкого и дорогостоящего процесса. Во-вторых, для создания в почве нужной концентрации удобрений их вносят в избытке и они в значительном количестве вымываются, что приводит к загрязнению водоемов и к нежелательному экологическому сдвигам в окружающей среде. В связи с этим ДНК-технологиям предстоит разработать способы использования биологической системы фиксации азота для обеспечения солями аммония сельскохозяйственных культур. Возможны несколько вариантов решения этой задачи: применение свободно живущих бакте-

рий, фиксирующих азот, или изолированной модифицированной нитрогеназы (фермент, ведущий биологическую азотфиксацию) в промышленном производстве аммиака; повышение эффективности природных азотфиксирующих бактерий-симбионтов и разработка новых симбиотических ассоциаций; введение генов азотфиксации (*nif*-генов) в культурные растения и др. Конечно, предварительно нужно провести работу по выяснению механизмов симбиотических взаимоотношений, разработке способов защиты нитрогеназы от действия кислорода, по расшифровке систем регуляции нитрогеназы и т. п. В решении таких фундаментальных проблем тоже ожидается помощь от генетической инженерии.

Следует подчеркнуть, что на современном этапе селекции развивается новый комплекс методов интенсификации сельского хозяйства, целью которого является ускорение получения нужных для человека форм живых организмов с использованием ДНК-технологий. В этом направлении увеличение защищенности нужных человечеству живых организмов достигается в основном не путем изменений условий их воспроизводства, а повышением их устойчивости к неблагоприятным внешним воздействиям. То есть качественно меняется объект воздействия — методы ДНК-технологий привлекают для того, чтобы изменить внутреннюю возможность организмов сохранять свои свойства, важные для человека, в таких условиях среды, какие уж сложились в настоящее время и в данном конкретном регионе. Касается ли это химического загрязнения или засоленности почв, изменений климата либо агрессии новых возбудителей болезней или вредных насекомых. Понятно, что культурных растений, используемых для обеспечения потребностей растущего населения человечества, ограниченное количество. Поддается исчислению и количество неблагоприятных внешних условий, в которых имеется необходимость сохранять их высокою продуктивность. Именно с

этим связаны надежды на то, что методы ДНК-технологий в конечном итоге позволят накопить определенный список приемов спасения земледелия в условиях резких изменений окружающей среды. Это и будет в будущем таким «батальоном приемов быстрого реагирования», предназначенного для решения любых вновь возникающих проблем разведения домашних животных и культурных растений.

Способность бактерий, стимулирующих рост растений, подавлять пролиферацию фитопатогенов можно повысить, если ввести в эти бактерии гены, кодирующие биосинтез антибиотиков, которые обычно синтезируются другими бактериями. Это позволит расширить спектр фитопатогенов, рост которых способен подавлять один вид бактерий. Более того, ограничивая размножение других почвенных микроорганизмов, бактерии, секретирующие антибиотик и стимулирующие рост растений, облегчают свою собственную пролиферацию, поскольку уменьшается число конкурентов за ограниченные пищевые ресурсы.

Примером хозяйственно важного направления генной инженерии, в частности, у животных, является получение трансгенных организмов с усиленным проявлением одного из хозяйственно ценных признаков продуктивности. Например, получение трансгенных овец с высокой плотностью шерстного покрова и улучшенными характеристиками шерсти. Усовершенствовать шерстные характеристики можно путем улучшения снабжения волосяных фолликулов необходимыми веществами, содержащими аминокислоты: лизин, метионин, аргинин, гистидин и цистеин. Деградация серосодержащих аминокислот микроорганизмами желудочно-желудочного тракта овцы приводит к потере большей части усвояемой серы, что ограничивает рост шерсти. Известно, что введение цистеина или метионина непосредственно в сычуг животного резко увеличивает рост шерсти овец. Так, ежедневная инфузия метионина или цистеина в

систему кровообращения одной меринской овцы в количестве 1-3 г обусловила значительное ускорение клеточного деления в фолликулах и роста шерсти. Аналогичный эффект увеличения шерстной продуктивности наблюдали при ежедневном введении 1 г метионина в сычуг ангорских коз [2].

Чтобы сократить путь синтеза цистеина в организме животного и увеличить его количество, было предложено создание трансгенных овец, содержащих в своем геноме бактериальные гены, определяющие синтез цистеина. В настоящее время для этого используются гены *Esherihia coli* или *Salmonella typhimurium*.

Представлены данные об использовании катализирующих биосинтез цистеина генов серинацетилтрансферазы и О-ацетилсеринсульфгидриказы из *S.typhimurium*, объединенных в одну плазмидную конструкцию. Оба гена отдельно были поставлены под контроль промотора, взятого из длинного терминирующего повтора вируса саркомы Рауса (RSVLTR). Экспрессия этих генов была продемонстрирована в культуре ткани соматических клеток овцы и на трансгенных мышах. Есть сообщение о получении первого трансгенного ягненка, несущего в своем геноме оба этих гена.

В другой работе были использованы трансгены, сконструированные из одного из генов *S.typhimurium*, управляемого либо RSVLTR, либо промотором фосфоглицераткиназы-1 мыши, и полиаденилированных последовательностей гормона роста человека. Результаты подтвердили эффективность использования трансгенных конструкций генов *S.Typhimurium* для повышения шерстной продуктивности овец и показали, что продукты генов бактериального синтеза цистеина могут коэкспрессироваться в клетках молочной железы как мышей, так и овец *in vivo*.

Еще одно возможное направление генно-инженерного изменения качества и выхода шерсти овец — это изменение пути метаболизма, определяющего синтез глюкозы в печени или

волосяных фолликулах, поскольку дефицит глюкозы как основного энергетического субстрата для большинства организмов существенно ограничивает использование аминокислот для синтеза белков шерсти.

Ведутся эксперименты по преобразованию кератинов, находящихся в клетках фибров шерсти. К ним относятся белки с низким содержанием серы, белки матрикса с высоким содержанием глицин/тирозина. Отдельные гены из указанных семейств секвенированы, что позволяет исследовать влияние белков каждого семейства на качественные характеристики шерсти овец. Один из методов направлен на сокращение количества цистеина в фибровых (с низким содержанием серы) волокнах модификацией одного или нескольких генов, кодирующих кератины матрикса. Так как содержание цистеина в шерсти варьирует без существенных изменений качества текстильного волокна, экспрессия низкоцистеиновых кератинов матрикса может существенно увеличить шерстную продуктивность [2].

Предполагается, что способность шерсти к окрашиванию можно изменить увеличением количества белков кератиновых филаментов. Это, в свою очередь, увеличит пропорцию ортокортикальных клеток вследствие того, что они содержат больше филаментов матрикса, чем паракортикальные клетки. Манипулируя с белками кутикулы, можно будет изменить прочность волоса. Увеличивая количество высокосерных белков, которые формируют структуру клеток кутикулы, можно улучшить прочность шерсти, изменить ее способность к окраске и к усадке. Завиток волос также может быть изменен, так как известно, что это свойство основано на преобладании одного или многих высокосеросодержащих белков кортекса.

В Австралии рассматривается и еще один подход к повышению продукции шерсти. Для этого предполагают сконструировать искусственный ген кератина, который экспрессировался бы

исключительно в волосяных фолликулах и увеличивал бы скорость синтеза этого белка, необходимого для роста волоса. Сложность этого подхода заключается в том, что, во-первых, кератины кодируются целым семейством генов, во-вторых, искусственная генная конструкция должна функционировать только в волосяных фолликулах, так как повсеместный синтез кератина приведет к ороговению тканей и гибели животного.

Таким образом, достижение максимально улучшенных характеристик шерсти овец и ее повышенного выхода с помощью генно-инженерных методов на данном этапе реализуется по двум основным направлениям: изменение баланса продуктов обмена веществ овец и манипуляции со структурными (кератиновыми) белками шерстных волокон.

Важнейшей проблемой повышения коэффициента полезного действия сельскохозяйственных животных является оптимизация и повышение эффективности симбиоза животных с микрофлорой их пищеварительного тракта. Общеизвестна роль микрофлоры желудка жвачных, определяющей перевариваемость клетчатки. Однако роль и значение микрофлоры пищеварительного тракта как у жвачных, так и у моногастрических животных значительно более многообразна. При этом представляется возможным получать трансгенных симбионтов-продуцентов ряда незаменимых элементов питания микроорганизмов. Проведены эксперименты на свиньях и птице, когда в состав микрофлоры вводились трансгенные микроорганизмы (*E.coli*) с интегрированным геном треонина, полученными в институте селекции промышленных микроорганизмов. Эта популяция существовала в желудочно-кишечном тракте достаточно продолжительный период времени и продуцировала треонин, который является незаменимой аминокислотой. Представляется возможным колонизировать в микроорганизме и других продуцентов. С нашей точки зрения, это один из эффектив-

ных методов использования генной инженерии в животноводстве.

Одним из перспективных направлений трансгеноза является получение трансгенных микроорганизмов экосистем рубца. Популяция микроорганизмов рубца ферментирует растительный корм, потребляемый животными. Главная роль микрофлоры рубца — это разложение целлюлозы. Большинство из бактерий, участвующих в целлюлозолитическом процессе, являются облигатными анаэробами, к которым относятся виды *Bacleroides*, *Ruminococcus* и *Butyrivibrio*. Вырабатываемые этими бактериями целлюлазы преобразуют целлюлозу и гемицеллюлозу в сахара, которые затем подвергаются ферментативным реакциям в анаэробных условиях до образования ЛЖК, уксусной, пропионовой и масляной кислот.

Во время ферментативных процессов рубца, при которых разрушаются фибровые волокна растений, растительные белки подвергаются гидролизу. При этом образуются аминокислоты участвуют в синтезе белков микроорганизмов, поэтому животные получают эти аминокислоты от бактерий рубца, которые перевариваются в желудочно-кишечном тракте.

Еще один подход в решении этой проблемы заключается в использовании генов, кодирующих нерастворимые формы белка. Для этой цели предлагается использовать модифицированный белок кукурузы зеин, обеспечивающий ее стойкость к хранению. Предполагается, что экспрессирующийся белок, подобный зеину, будет устойчив к ферментативным процессам в рубце и подвергнется разложению только в желудочно-кишечном тракте.

В настоящее время уже реализуется программа получения трансгенных кормовых растений для улучшения у жвачных животных баланса аминокислот, включая цистеин. Исследования выполняются с клевером и люцерной. При этом производится идентификация и клонирование генов, ответствен-

ных за синтез в листьях и стеблях этих пастбищных культур соответствующих белков, в числе характерных свойств которых помимо повышенного содержания определенных аминокислот, должна быть и генетически обусловленная устойчивость к ферментативным превращениям в рубце и способность перевариваться и утилизироваться в желудочно-кишечном тракте животных.

Проблема утилизации токсичных отходов — одна из самых острых проблем, стоящих перед человечеством. В 1985 г. мировое производство лишь одного из загрязняющих окружающую среду химических веществ, пентахлорфенола, составило более 50 000 т. Раньше токсичные вещества разрушали, сжигая их или обрабатывая другими химикатами, однако это тоже приводило к загрязнению окружающей среды, а кроме того, обходилось очень дорого. В середине 60-х гг. были обнаружены почвенные микроорганизмы, способные к деградации ксенобиотиков (неприродных, синтетических химических веществ, от греч. *xenos*, чужой) — гербицидов, пестицидов, хладагентов, растворителей и т. д. Это открытие подтвердило правильность предположения о том, что микроорганизмы можно использовать для экономичного и эффективного разрушения токсичных химических отходов.

Основную группу почвенных микроорганизмов, разрушающих ксенобиотики, составляют бактерии рода *Pseudomonas*. Биохимические исследования показали, что разные штаммы *Pseudomonas* способны расщеплять более 100 органических соединений. Нередко один штамм использует в качестве источника углерода несколько родственных соединений.

В биодegradации сложной органической молекулы обычно участвуют несколько разных ферментов. Кодирующие их гены могут иметь хромосомную локализацию, но чаще входят в состав крупных (50—200 т. п. н.) плазмид, а иногда обнаруживаются как в хромосомной, так и в плазмидной ДНК.

Бактерии, разрушающие негалогенированные ароматические соединения, как правило, превращают их в катехол или протокатехолат, а затем в ходе нескольких реакций окислительного расщепления, — в ацетил-СоА и сукцинат или пируват и ацетальдегид. Эти последние соединения метаболизируются практически всеми микроорганизмами. Галогенированные ароматические соединения, основные компоненты большинства пестицидов и гербицидов, с помощью тех же ферментов разрушаются до катехола, протокатехоата, гидрохинона или их галогенированных производных, причем скорость их деградации обратно пропорциональна числу атомов галогена в исходном соединении. Дегалогенирование (отщепление замещающего атома галогена от органической молекулы), необходимое для детоксикации соединения, часто осуществляется в ходе неспецифической диоксигеназной реакции, путем замещения галогена в бензольном кольце на гидроксильную группу. Эта реакция может происходить как в ходе биодegradации исходного галогенированного соединения, так и потом [1].

Значительный ущерб, наносимый культурным растениям вредителями и фитопатогенами, связан с генетической природой этих растений и технологией их выращивания. Некоторые ткани растений представляют собой субстрат питания большинства микроорганизмов и животных, и тот факт, что лишь небольшое число видов микроорганизмов и насекомых являются фитопаразитами, объясняется совершенной системой защиты, разработанной растениями в ходе сопряженной с этими микроорганизмами эволюции в течение миллионов лет. Практически это означает, что патологический процесс в растении, вне зависимости от вида стресса, вызывается недостатком или подавлением естественных механизмов устойчивости его.

Растения реагируют на биотические и абиотические стрессы синтезом защитных веществ. Транскрипция ключевых



ферментов, необходимых для синтеза этих компонентов, может усиливаться под действием определенных факторов окружающей среды. Предпринимаются многочисленные попытки усилить устойчивость растений к стрессам за счет переноса отдельных генов, кодирующих вещества с защитной функцией, включая осмопротектанты, ферменты, модифицирующие липиды мембран растительной клетки, токсин-иммобилизующие ферменты и т.д.

В настоящее время спектр ГМО огромен, их используют в различных направлениях, в том числе и для коррекции экологического загрязнения. И проблема биобезопасности каждого из них должна решаться в совершенно определенных, специфичных именно для данного ГМО условиях, в результате конкретных экспериментальных исследований.

В 2005 г. завершен ряд следующих разработок по ГМ сортам и породам животных ([www.fao.org](http://www.fao.org)):

- в США поступило в продажу соевое масло с низким содержанием линоленовой кислоты, ставшее первым представителем второго поколения продуктов сельскохозяйственной биотехнологии;

- в Австралии создан сорт кресс-салата, обогащенный полиненасыщенными омега-3 жирными кислотами, которые снижают риск сердечно-сосудистых заболеваний;

- выведены ГМ-сорта томата с вакциной против атипичной пневмонии; картофеля, снижающего риск заражения гепатитом В, а также риса с вакциной от аллергических реакций типа сенной лихорадки;

- в Японии создан ГМ-сорт сои, обогащенной белком, в природе содержится преимущественно в яичном белке, который улучшает рост волос и замедляет их выпадение при химиотерапии за счет синтеза новых кровеносных сосудов и улучшения микроциркуляции в коже головы;

- в США вывели породу коров, в организме которых синтезируется белок лизостафин, обеспечивающий ус-

тойчивость к возбудителю мастита — воспаления молочных желез, существенно снижающего удои;

- шотландские исследователи в белке куриных яиц получили антитела против злокачественных заболеваний кожи, что, по мнению авторов, позволит увеличить выпуск онкопрепаратов и снизить их стоимость;

- в Аргентине вывели породу коров, молоко которых содержит человеческий гормон роста (по мнению ученых, всего 15 таких животных удовлетворят мировую потребность в препарате);

- в Республике Корея вывели породу свиней, содержащих ген HLA-G, повышающий вероятность приживания их органов в человеческом организме.

Развивающиеся страны, в которых голодают сотни миллионов людей, особенно нуждаются в повышении качества пищи. Например, в бобовых растениях, выращиваемых повсеместно, не хватает некоторых серосодержащих аминокислот, в т. ч. метионина. Сейчас предпринимаются активные попытки повысить концентрацию метионина в бобовых растениях. В ГМ-растениях удастся на 25% увеличить содержание запасного белка (это сделано пока для некоторых сортов фасоли). В такой белок смогли ввести 12 разновидностей метионинов, которых там прежде не было. Другой пример, обогащенный бета-каротином «золотой» рис, полученный профессором Потрикусом из Технического университета в Цюрихе. Получение промышленного сорта будет выдающимся достижением. Предпринимаются также попытки обогатить рис витамином В, недостаток которого ведет к малокровию и другим заболеваниям. Работа по повышению качественных характеристик растениеводческой продукции хорошо иллюстрирует возможности современных ДНК-технологий в решении самых разнообразных задач [1, 2, 4].

Создание генетически модифицированных (ГМ) растений позволяет многократно ускорять процесс селекции

культурных сортов, а также получать культуры с такими свойствами, которые не могут быть выведены с использованием традиционных методов. Генетическая модификация сельскохозяйственных культур придает им устойчивость к пестицидам, вредителям, болезням, обеспечивая снижение потерь при выращивании, хранении и улучшении качества продукции.

Что характерно для второго поколения трансгенных культур, производящихся уже сейчас в промышленных объемах? Они обладают более высокими агротехническими характеристиками, т. е. большей устойчивостью к вредителям и сорнякам, а следовательно, и более высокой урожайностью.

Но сейчас наибольшее внимание будет обращено на создание продуктов третьего поколения, с улучшенной или измененной пищевой ценностью, устойчивых к воздействию климатических факторов, засолению почв, а также имеющих пролонгированный срок хранения и улучшенные вкусовые свойства, характеризующихся отсутствием аллергенов.

Для культур четвертого поколения помимо вышеперечисленных качеств будут характерны изменение архитектуры растений (например, низкорослость как фактор их устойчивости в ветреных областях), времени цветения и плодоношения, что даст возможность выращивать тропические фрукты в условиях средней полосы, изменение размера, формы и количества плодов, повышение эффективности фотосинтеза (а значит, и увеличение содержания кислорода в воздухе), продюцирование пищевых веществ с повышенным уровнем ассимиляции, т. е. лучше усваивающихся организмом.

Таким образом, совершенствование методов генетической модификации, а также углубление знаний о функциях пищи и об обмене веществ в организме человека дадут возможность производить продукты, предназначенные не только для обеспечения полноценного питания, но и дополнительно способст-

вовующие укреплению здоровья и профилактике заболеваний.

Широко известны медицинские проблемы, связанные с действием возбудителей болезней растений, в частности, грибов, на организм человека. Так, продукты жизнедеятельности грибка аспергил — афлатоксины являются опасными канцерогенами. Сегодня этим неистребимым грибком заражены посевы зерновых по всему миру — 20~25% площадей в зависимости от культуры и региона. ГМ-сорта с устойчивостью к грибковым заболеваниям не несут никаких токсических нагрузок. Некоторые исследователи считают, что проблемы заболеваний, которым подвержены растения, на порядок важнее той, которая обсуждается в связи с возможными рисками использования ГМО.

Необходимо подчеркнуть, что с помощью ДНК-технологий новые сорта не создают, а только изменяют их, делают более адаптированными к конкретным условиям разведения и задач. То есть исходный сорт должен быть уже адаптирован к определенным условиям внешней среды, а также технологиям возделывания. Поэтому в комплексных селекционно-агротехнических программах должны быть изначально определены цели и этапы использования классических и биоинженерных методов управления наследственной изменчивостью при реализации той или иной морфофизиологической модели сорта (гибрида). Обычно районированные сорта, используемые для генетических модификаций, характеризуются идеальной агроэкологической «подогнанностью» его генома и цитоплазмы (плазмона), к конкретным условиям.

В принципе, трансгенные растения должны заметно увеличить разнообразие сельскохозяйственных культур. Например, до сих пор селекция кукурузы в США основана на небольшом числе культивируемых сортов, в результате применяемый генофонд довольно беден. Семена сортов, находящихся в семенных банках, практически не использу-

ются. Для скрещивания применяют несколько высокоурожайных сортов. А если у нас есть гены, ответственные за необходимые свойства, то, вводя их в эти сорта, мы увеличим биоразнообразие используемых сортов.

Почти все наши традиционные продукты питания представляют собой результат естественных мутаций и генетической трансформации, которые служат движущими силами эволюции. Так, пшеница, которой принадлежит столь значительная роль в нашем современном рационе, приобрела свои нынешние качества в результате необычных (но вполне естественных) скрещиваний между различными видами трав. Сегодняшний пшеничный хлеб — результат гибридизации трех различных растительных геномов, каждый из которых содержит набор семи хромосом. В этом смысле пшеничный хлеб следовало бы отнести к трансгенным, или генетически модифицированным (ГМ) продуктам. Еще один результат трансгенной гибридизации — современная кукуруза, появившаяся, скорее всего, благодаря скрещиванию видов *Teosinte* и *Tripsacum*.

Перспективы решения проблемы голода с использованием традиционных подходов селекции не внушают надежд. К 2015 г. около 2 млрд человек будут жить в бедности. Растениеводы давно пытались решить эту проблему, издавна занимаясь выведением новых, высокопродуктивных сортов, традиционными путями при помощи скрещивания и отбора, т. е. путями естественными, главные недостатки которых — ненадежность и малая вероятность получения селекционером того, что он запланировал. Кроме того, часто жизни не хватает для создания нового сорта, т.е. слишком большие временные затраты.

Чтобы понять, как далеко зашли эволюционные изменения под влиянием селекционной работы человека, достаточно взглянуть на кукурузные початки (их возраст 5 тыс. лет), найденные при раскопках в пещере Теуакан (Мексика). Они примерно в 10 раз меньше, чем у современных сортов. И это

реальный пример работы генетиков и селекционеров.

Г. Д. Карпеченко (1927) впервые синтезировал новую неизвестную в природе видовую форму *Raphanobrassica* (рафанобрассика), константный полиплоидный межродовой гибрид между редькой и капустой. Совершенно справедливо Н. Н. Воронцов (1999) называет синтез рафанобрассики первым случаем конструирования нового генома, того, что в конце 70-х стало называться генетической инженерией.

Через три года шведский генетик Арне Мюнтцинг впервые осуществил ресинтез дикорастущего в природе аллополиплоидного вида багульника. Природная хромосомная инженерия создаст гибридогенные полиплоидные комплексы видов, открытые и изученные американским ботаником Ледьярдом Стеббинсом. В этих комплексах геномы нескольких диплоидных исходных видов могут вступать между собой во всевозможные гибридные аллотетраплоидные комбинации. Объединяться могут сразу несколько геномов, так что предком одного вида может быть не один, а несколько видов, как, например, у обычной мягкой пшеницы, у видов хлопчатника.

При традиционном выведении новых сортов, как правило, для получения у данного растения нужных признаков требуется от 5 до 15 лет. А потом еще, по крайней мере, от 3 до 8 лет работы традиционными методами, чтобы закрепить эти признаки у растения, а потом его районирование и т.д. ДНК-технологии, в отличие от традиционных методов селекции, дают возможность технологизировать эти процессы. Кроме того, эти технологии являются качественно новым инструментом для непосредственного изучения структурно-функциональной организации генетического материала.

Успешное развитие и внедрение новых ДНК-технологий в области сельского хозяйства связаны с необходимостью просветительской работы по разъяснению научных, экономических, правовых, и социальных проблем

этого процесса. Наиболее активно такая работа проводится в США, которые занимают первое место в мире по производству генетически модифицированных сельскохозяйственных культур и продуктов. Связано это с формированием и реализацией национальной научной политики по биотехнологиям и их адекватному финансированию.

В США был выдвинут и реализован тезис о том, что для ускоренного развития науки и технологий в XX и XXI веке необходимо создать особый механизм сотрудничества трех главных действующих лиц - государственного (федеральное правительство), академического (университеты и колледжи) и частного (корпорации и фирмы) секторов, так называемого социального партнерства, что, по-видимому, и легло в основу успехов использования ДНК-технологий. Федеральное правительство финансировало фундаментальные исследования, университеты и колледжи - проводило их, а корпорации и фирмы доводили результаты научных разработок до опытных образцов продукции и налаживали их серийный выпуск. Стратегия государственной политики финансирования научных подразделений в США направлена на проведение фундаментальных исследований, которые становятся базой для последующих научно-исследовательских разработок и проектов. Кроме того, важнейшей функцией государства является создание благоприятного климата для привлечения частных инвестиций, а также создание условий для эффективного применения технологий и внедрения инноваций фирмами и организациями. Необходимый элемент научно-технической политики - законодательные

акты, стандарты и защита прав на интеллектуальную собственность. Государство, вместо прямых капиталовложений, использует рыночные механизмы, в частности, налоговые льготы, лицензии. Это способствует заинтересованности частного сектора в быстром выводе новой продукции на рынок для максимального увеличения прибыли фирмы. В конкурентной борьбе выигрывает тот, кто быстрее воплощает научную разработку в конкретный продукт, представляя его на мировой рынок.

Фундаментальные исследования, лежащие в основе новых технологий, стали краеугольным камнем современного экономического развития и научно-технического прогресса США.

По видимому, такой механизм внедрения результатов научных исследований может быть интересен и для других стран.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глазко В.И. Генетически модифицированные организмы: от бактерий до человека. Киев: КВИЦ, 2002. — 2. Зинovieва Н.А., Эрнст Л.К. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных. Московская обл.: Издательство ВГНИИ животноводства. 2006. — 3. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н. и др. Генетика развития растений/ Под ред. С.Г. Инге-Вечтомова. Санкт Петербург: Наука, 2001. — 4. Харченко П.Н., Глазко В.И. ДНК-технологии в развитии агробиологии. М.: Воскресение, 2006. — 5. Jackson D.A., Symons R.H., Berg P. //Proc Natl Acad Sci USA, 1972. — Vol.69. N.10. 2904-2909. — 6. ISAAA Brief 35 Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops, 2006.

#### SUMMARY

The review of data about some key problems of agroecosystem development and uses of DNA technologies for their overcoming, and also about the results of application of DNA technologies in plant and animal breeding was presented. New approaches to acceleration of selection, experimental working out for the improvement of quality of agricultural production were discussed.