

СЕМЕНОВОДСТВО И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 631.527:635-152

DOI 10.36305/2712-7788-2021-4-161-56-66

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ: ЕЁ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Евгения Михайловна Макрушина¹, Олег Алексеевич Клиценко²¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита, Никитский спуск, 52²Агротехнологическая академия ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
295492, Республика Крым, Симферополь, Аграрное
E-mail: klitsenko@mail.ru

Методы генетической инженерии значительно расширяют возможности управления наследственностью и изменчивостью растений. Однако при этом они всегда будут оставаться лишь дополнительным, но не замещающим фактором в арсенале адаптивной системы селекции растений. Важнейшей задачей является предотвращение распространения генетически измененных форм живых организмов, используемых в биотехнологиях, в открытые агросистемы и природные экосистемы. Проблемы широкого распространения генетически модифицированных организмов требуют теоретического осмысления, разработки соответствующих методов и критериев, интеграции с другими областями знаний и, наконец, выбора оптимальных возможностей распространения конечного продукта. Новые усовершенствованные методы создания ГМО могут значительно снизить возможный риск, связанный с произвольным характером внедрения трансгенов в геном, происходящего при применении существующих на сегодняшний день подходов. Основными теоретическими и методическими положениями трансгенной селекции необходимо считать: а) получение большого количества ГМ-организмов как исходного материала для селекции; б) тщательный геномный, анатомо-морфологический, биохимический и медико-биологический анализ ГМ-элементов с точки зрения их влияния на экологию, здоровье человека и эволюционные процессы; в) жесткий отбор особей по полезным для человека признакам и свойствам с исключением сцепления их с негативными – вредными и летальными детерминантами; г) создание молекулярных регуляторов (переключателей генов), которые могут активировать полезные и инактивировать встроенные гены, детерминирующие проявление нежелательных признаков. Одной из главных причин, сдерживающих интенсивность и эффективность работ по трансгенезу, является крайне слабое развитие исследований по идентификации эффективных генов, созданию банков генов, ограниченная научная база генетической инженерии, что связано с недостаточным финансированием, а также отсутствие жесткого законодательства в области данной проблемы.

Ключевые слова: генная инженерия; ГМО; трансгенная селекция; переключатели активности генов

Введение

Одним из новых направлений биотехнологии является трансгенная селекция – выведение сортов растений с использованием исходного материала, полученного в результате трансгеноза. Последний представляет собой процесс внесения в геном хозяина новой для него генной конструкции (трансгена) из других таксонов. Одним из путей такого процесса является рекомбинация ДНК отдельных видов организмов.

Первая публикация, в которой сообщалось о получении *in vitro* рекомбинантной ДНК, состоящей из фрагментов разных молекул ДНК: вирусной, бактериальной и фаговой, появилась в 1972 г. Работа была выполнена американским ученым Полом Бергом с сотрудниками и ознаменовала рождение новой отрасли молекулярной

биологии – генетической (генной) инженерии. Емкую информацию о развитии этой науки приводит Н.Б. Лещинская (1996).

Первым советским ученым, который поверил в перспективность генной инженерии и возглавил исследования в этой области, был А.А. Баев.

Генетическая инженерия, по его определению, это конструирование *in vitro* функционально-активных генетических структур (рекомбинантных ДНК) или, иначе, создание искусственных генетических программ (Бабаев, 1984). Согласно А.А. Жученко (2003), генная инженерия обозначает генетические манипуляции, с помощью которых формируется организм, имеющий новую комбинацию наследственных признаков. Генная инженерия имеет целью изучение механизмов функционирования генетического аппарата эукариот, включая человека, что другими приемами сделать невозможно. Вместе с тем генная инженерия ставит перед собой обширные практические задачи. Прежде всего, это получение ряда лекарственных средств путем бактериального синтеза, например инсулина, интерферонов. Важнейшим достижением является создание диагностических препаратов, в частности, для выявления такого опасного заболевания, как СПИД. Получение так называемых трансгенных растений открывает принципиально новые возможности для растениеводства в создании сортов и гибридов, устойчивых к экстремальным воздействиям и инфекционным поражениям. Это далеко неполный перечень практических свершений генной инженерии.

1. Некоторые теоретические и практические результаты генной инженерии и трансгенной селекции

Уже первые шаги в области изучения рекомбинантных молекул позволили считать, что достигнут не просто успех, но осуществлен прорыв, открывающий новые пути для познания наследственности. Возникли исключительные условия для изучения механизмов функционирования и структурной организации генома, в том числе и генома человека. Используя методы генной инженерии, ученые сделали много поразительных открытий. К одному из них относится явление дискретности генов эукариот. Если раньше было признано положение о коллинеарном переносе генетической информации от ДНК на мРНК и от мРНК на белок, то сейчас установлено, что гены животных и растений имеют внутри такие последовательности, которые после транскрипции удаляются и не копируются в структуре белка. Значимые части гена называли экзонами, а удаляемые части – интронами. Последовательности РНК, соответствующие интронам, вырезаются и не транслируются, а последовательности, соответствующие экзонам, сшиваются специальными ферментами. Этот процесс получил название «сплайсинг».

Другое очень важное открытие состоит в следующем. Было известно, что у бактерий, да и не только у них, в составе генома имеются такие гены, которые перемещаются, мигрируют, меняют свое место на хромосоме. Генная инженерия позволила глубже проникнуть в природу подвижных элементов, изучить их структуру, механизмы действия и биологическую роль. Именно при перемещении подвижных элементов (транспозонов) и происходит часто негомологичная рекомбинация.

Важнейшей задачей адаптивной селекции является повышение величины и качества урожая сельскохозяйственных растений, базирующееся на мобилизации генофонда, управлении наследственностью, сортоиспытании и семеноводстве. В решении этой проблемы именно селекционеры будут выполнять роль стратегов в повышении урожайности и улучшении качества сельскохозяйственных растений, и обеспечении продовольственной безопасности, осваивая новые, в том числе трансгенные, технологии. В этом направлении достигнуты определенные успехи (Макрушин и др., 2021).

Одной из важных задач улучшения растений является повышение продуктивности сортов и качества синтезируемой продукции: белков, жиров, полисахаридов и других веществ, определяющих питательную и технологическую ценность. Эта проблема обстоятельно освещена в учебнике «Сельскохозяйственная биотехнология» (Шевелуха, 2003), изданном коллективом авторов под редакцией академика РАН В.С. Шевелухи.

Авторы считают, что наиболее перспективным является использование генно-инженерных методов при создании новых сортов и гибридов, без сцепления с отрицательными свойствами. Так, например, введение дополнительных кодонов лизина в гены проламинов может привести к синтезу белков, обогащенных лизином, и улучшению кормовой и питательной ценности белка.

Другое направление проводимых в этой области работ касается возможностей изменения метаболизма у трансгенных растений. Введение гена сахарозо-фосфатсинтетазы кукурузы (SPS-гена), являющегося ключевым ферментом в регуляции углеводного метаболизма, в геном других растений приводило к изменению углеводного обмена и повышению продуктивности растений. В настоящее время получены такие трансгенные растения томата, картофеля, рапса, хлопчатника.

Значительное место в селекции растений занимает выведение сортов и гибридов, устойчивых к стрессовым воздействиям. Экстремальное влияние факторов окружающей среды, таких как засуха, избыточное увлажнение, воздействие высоких или низких температур, засоление и кислотность почв, приводит к значительным потерям и ухудшению качества сельскохозяйственной продукции.

Ряд адаптивных реакций растений на стрессы обуславливаются синхронным взаимодействием множества генов. В связи с этим более доступными для генно-инженерных исследований являются биохимические процессы, непосредственно индуцировавшиеся фактором стресса. Так, например, известно, что в растениях, подвергающихся длительному водному стрессу, накапливается ряд органических низкомолекулярных соединений, таких как пролин, глицин бетаин и ряд других, которые служат осморегуляторами или осмопротекторами.

В результате трансгенной селекции были получены формы табака с повышенной солеустойчивостью, а также растения риса, способные расти при повышенных температурах и выдерживать до двух часов при +47°C.

А.А. Жученко (2003) считает, что в процессе интеграции методов адаптивной системы селекции и трансгеноза первостепенное внимание должно быть уделено повышению устойчивости сортов и гибридов к болезням, вредителям и сорнякам. О важности этого направления селекции свидетельствует уже тот факт, что общее число потенциально вредоносных для агроэкосистем видов достигает 80–100 тыс., в том числе свыше 30 тыс. возбудителей грибных, бактериальных и вирусных заболеваний, около 10 тыс. членистоногих и др. Несмотря на увеличение количества применяемых в сельском хозяйстве пестицидов (например, в США 400 тыс. т в год), к началу XXI в. потери урожая составляют в среднем 33%. Общая же цена потерь угрожая сельскохозяйственных растений в мире, согласно имеющимся оценкам, только от болезней достигает 50 трлн долларов в год. В этой связи большие перспективы представляет сочетание методов традиционной селекции и трансгеноза при создании сортов с вертикальной устойчивостью, а также многолинейных и синтетических сортов. Связано это с тем, что методы генной инженерии позволяют встраивать в растение-реципиент сразу несколько разных генов устойчивости, создавая таким образом «пирамиду генов» обеспечивающую комплексную резистентность сорта.

Однако нет оснований утверждать, что генная инженерия якобы сокращает время выведения сортов с требуемыми характеристиками (Шеламова и др., 2001), так

как для этого всегда используют уже приспособленные к местным условиям внешней среды (почве, климату, погоде, технологиям возделывания) сорта, для создания которых необходимо 5-10 лет и более.

Используя генно-инженерные методы, возможно конструирование растений с повышенной резистентностью к атаке насекомыми. Так, было показано, что бактерии *Bacillus thuringiensis* экспрессируют инсектицидный белок – прототоксин, который, попадая в кишечник насекомых, расщепляется под действием протеаз до активного токсина, приводящего к гибели вредителей.

Препараты на основе этого токсина использовались для обработки растений в поле. Полученные препараты были нестойкими и довольно быстро разлагались, что не позволяло развить у вредителей устойчивость к инсектициду в то время, как продукция таких белков в растительных клетках могла обеспечивать устойчивую резистентность растений к насекомым (Шевелуха и др., 2003).

При действии фитопатогенов в растениях включается каскад механизмов защитных реакций. При этом активные ответные реакции в растениях могут проходить по двум основным направлениям: во-первых, в ответ на инфекцию начинается синтез соединений, являющихся токсичными и ограничивающих жизнедеятельность патогенов, что в конечном итоге приводит к их гибели. Во-вторых, в качестве защитного ответа могут создаваться структурные барьеры, которые предотвращают повреждение растений и распространение патогенов, что достигается лигнификацией клеточных стенок растений либо укреплением клеточных стенок за счет гликопротеидов, богатых гидроксипролином, и других соединений, так называемых экстенсинов, что приводит к защите тканей от повреждения фитопатогенами.

В настоящее время получены линии табака, которые помимо устойчивости кВТМ (вирусу табачной мозаики) резистентны к вирусу тыквенной мозаики. Были также получены растения картофеля и кукурузы, устойчивые к вирусам скручивания листьев, и растения ячменя, резистентные к вирусу карликовости, а также сорт тыквы, обладающий устойчивостью сразу к трем вирусам.

Одним из основных направлений биотехнологии растений является получение культурных растений, устойчивых к воздействию гербицидов. Гербициды широкого спектра действия, уничтожая сорные травы, оказывают угнетающее действие и на посевы. Получение устойчивых к гербицидам растений ведется в двух направлениях: во-первых, прямая селекция устойчивых к гербицидам форм растений (в основном путем скрещивания с дикими видами растений, устойчивых к гербицидам); во-вторых, получение трансгенных растений путем введения генов, экспрессия которых приводит к гербицид-резистентности. Теоретической основой получения трансгенных растений, устойчивых к гербицидам, являются данные о молекулярных механизмах возникновения устойчивости к гербицидам выделения генов как бактериального, так и растительного происхождения, определяющих этот признак. Действие гербицидов проявляется в подавлении метаболизма растительных клеток: ингибировании биохимических процессов прежде всего фотосинтеза (атразин, симазин, диурон) и синтеза аминокислот (глифосат, сульфонилмочевина, биалафос). Устойчивость к гербициду возникает либо в результате изменения сродства гербицида с его ферментом-мишенью, либо непосредственно ингибированием молекулы гербицида.

В Институте биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины получен трансгенный гибрид свеклы сахарной, устойчивой против гербицида баста (сплошного действия). Установлено, что производство трансгенной свеклы наполовину дешевле, чем обычной, за счет снижения затрат труда и средств на борьбу с сорняками (Гизбулин, 2003).

2. Стратегия регуляции активности генов

2.1. Регуляция активности генов лекарственными средствами

Одно из основных требований, предъявляемых к генной терапии, – обеспечение оптимальной активности встроенных генов. Если это условие не соблюдается и ген чрезмерно активен, может возникнуть рак. Гены, входящие в состав ДНК, содержат инструкции для синтеза других биомолекул, несущих генетическую информацию, а именно молекул РНК. Наодном из видов РНК – матричной – синтезируются белки. Биологические переключатели, над созданием которых работают разные коллективы ученых, апробирующие различные подходы (два из них представлены на рис. 1), позволят регулировать активность соответствующих генов (и тем самым – количество кодируемых ими белков) либо полностью выключать эти гены (Баррик, Брейкер, 2007, Semi-Synthetic ..., 2009; Козубек, 2016; Макрушин и др., 2021).

Ученые из компании Intrexon взяли на вооружение эти особенности, чтобы с их помощью попробовать осуществить строгий контроль активности любых генов, включаемых в геном человека. Предположим, что каждый встраиваемый ген снабжен биологическим переключателем, который срабатывает и тем самым активирует терапевтический ген только в присутствии лиганда – экдизона, адаптируемого к физиологическим особенностям человеческого организма. У пациента, получившего препарат-активатор в низкой дозе, активируется лишь небольшое число копий встроенного гена и кодируемый белок синтезируется тоже в небольшом количестве. Если же дозу активатора повысить, то и число активированных генов возрастет, а вместе с этим образуется больше продукта. Чтобы предотвратить всякие неожиданности, предусматривается, что отсоединение лиганда блокирует процесс. Нет экдизона – нет и активации. Кроме того, экдизонне должен влиять на работу других генов, поскольку в норме этот гормон не нужен организму для регуляции генной активности.

В течение последних восьми лет ученые Intrexona пробирали свой переключатель на тысячах генов человека и показали, что в лабораторных условиях практически любой из них может быть поставлен под гормональный контроль с помощью экдизона. Помимо этого, группа Керка добавила еще один контрольный механизм, используя промоторы, каждый из которых специфичен для клеток определенного типа. В результате целевой ген экспрессировался либо только в специфических клетках – нейронах, клетках крови или печени и т. д., либо при заданных условиях, например в окружающих опухоль тканях, обедненных кислородом. Привлечение дополнительных молекулярных «стражников» снижало вероятность нежелательных воздействий на нецелевые ткани.

Генные переключатели опробованы на небольшом числе тщательно отобранных пациентов с рецидивирующей меланомой. Больному вводят в одну или две опухоли гены, продукты которых ускоряют образование цитокинов – сигнальных молекул (интерферона или различных интерлейкинов), которые используются иммунной системой для борьбы с раком. Предполагается, что уничтожить все точки опухолевого роста нет необходимости: если иммунная система расправляется с одной из них, она отыскивает другие уже самостоятельно.

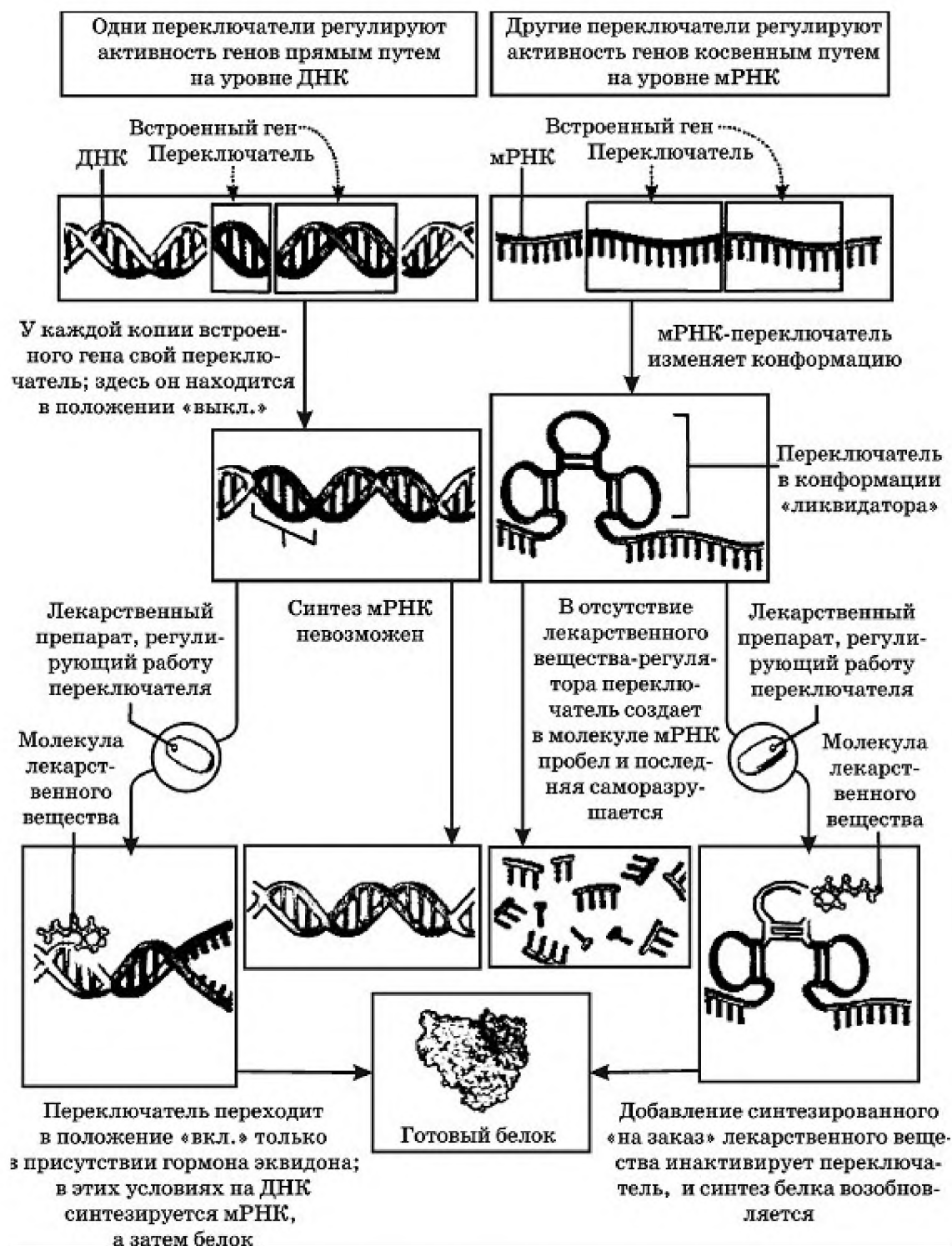


Рис. 1 Две стратегии регуляции активности генов с помощью лекарственных средств

Fig. 1 Two strategies for regulating gene activity using drug products

Цитокины запускают широкий спектр физиологических реакций – от расширения кровеносных сосудов, обеспечивающих доступ иммунных клеток к инфицированной ткани, до активации киллерных Т-клеток, которые помимо всего прочего разрушают раковые клетки. Но пока достичь успеха в использовании в подобной иммунотерапии наиболее мощных цитокинов, таких как интерлейкин-12 (IL12), не удастся.

Неудача связана отчасти со склонностью IL 12 вызывать «цитокиновый шторм», при котором иммунная система направляет всю свою мощь на сам организм: у больных резко падает артериальное давление, нарушается работа легких, возникают проблемы в сердечно-сосудистой системе – и все вместе нередко приводит к повреждению органов и смерти. При этом, по словам Лоренса Купера (Laurence Cooper), врача-исследователя из Онкологического центра М.Д. Андерсона при Техасском университете и руководителя компании Ziopharm Oncology, «тонны научных статей свидетельствуют о его воздействии на микроокружение опухолей IL12 – это чаша Грааля для иммунологии». Таким образом, в единичную опухоль следует вводить как можно больше IL12, но не настолько много, чтобы спровоцировать «цитокиновый шторм». Здесь и может проявиться во всей полноте потенциал генного переключателя.

Введенные в опухоль IL12-гены снабжены переключателем, распространяются по многим ее клеткам, в том числе и уже имеющимся там клеткам иммунной системы, «подхлестывая» их. Поскольку переключатель активируется только в присутствии соответствующего лиганда, можно повышать уровень цитокина в опухоли, осторожно увеличивая количество вводимого лекарственного вещества. При первых признаках приближающегося «цитокинового шторма» можно пропустить следующую дозу, устранив тем самым опасность.

Ziopharm, сотрудничающая с Intrexons в разработке методики цитокиновой терапии, пока довольна полученными результатами. Керк сообщил, что его группа собирается апробировать новый подход на белках немного меньшего размера, чем IL12, надеясь избежать нежелательных последствий малейших отклонений от схемы. «Мы выбрали один из самых „стойких“ генов, желая испытать переключатель на прочность». Другими словами, Керк с сотрудниками хотят проверить, действительно ли переключатель, переведенный в состояние «выкл.», остается полностью выключенным.

Возможность встраивания в геном сразу нескольких искусственно контролируемых генов, каждый из которых подчиняется своим командам, приведет к тому, что генная терапия станет высокоэффективной и совершенно безопасной, заняв лидирующее положение в медицине.

Результаты двух испытаний на безопасность, проведенных в нескольких медицинских центрах (с участием в общей сложности 40 пациентов), дают основания надеяться на положительный ответ. К сожалению, ни один из участников испытаний не выздоровел, однако нельзя отрицать их пользу: безопасность метода была доказана. Как и ожидалось, у небольшого числа больных появились признаки опасной гиперреактивности, но они исчезли, как только пациенты перестали получать экдизон.

Обнаружились и некоторые свидетельства эффективности методики. В одном из двух испытаний 12 участницам, страдающим раком молочной железы, инъецировали терапевтический ген. Каждая из них перед этим прошла в среднем восемь курсов противораковой терапии, и надежды на излечение оставалось все меньше. По разным причинам оценить эффективность метода удалось лишь для семи пациенток. У четырех из них размеры опухоли уменьшились, а у трех остальных процесс стабилизировался – по крайней мере на время испытаний. Во втором испытании на безопасность с участием 26 пациентов с метастазирующей меланомой, прошедших в среднем по шесть курсов терапии, отмечалось повышение уровня цитокинов и других противораковых агентов. В мае 2015 г. Ziopharm приступила к тестированию метода на больных с полиформной глиобластомой, наиболее агрессивной формой опухоли головного мозга.

2.2. Рибопереключатели

Ричард Маллиган (Richard Mulligan) из Гарвардской медицинской школы занимается созданием переключателя другого рода: его подход основан на

использовании природных молекул – небольших РНК под названием «рибозимы». Эти необычные биомолекулы были открыты в 1980-х гг.; как и обычные ферменты, они катализируют различные биохимические реакции. Но большинство ферментов – это белки, а рибозимы – молекулы РНК. Особую ценность для обсуждаемого здесь круга вопросов представляет то, что некоторые рибозимы катализируют расщепление самих себя и побуждают к этому же молекулы, с которыми они связаны.

В конструкции Маллиганарибозим соединен не с самим целевым геном, а с его мРНК-копией, молекулой, на которой синтезируется соответствующий белок. Вначале Маллиган синтезирует сегмент ДНК, который кодирует само расщепляющийся рибозим, а затем инъектирует больному эту ДНК и терапевтический белок.

В клетке синтетическая ДНК транскрибируется в мРНК; от нее в автономном режиме отщепляется участок, представляющий собой рибозим. Оставшийся сегментом РНК отсоединяется клеточными ферментами, и дальнейший его синтез прекращается. Все выглядит так, будто ген соответствующего белка выключается.

В 2000 г. Роналд Брейкер (Ronald R. Breaker) с коллегами из Йельского университета показал, как защитить оставшуюся часть мРНК и при этом в случае необходимости выключить синтез белка. Для этого нужно присоединить к рибозиму некую молекулу под названием «аптамер» – своего рода сенсор, активируемый лекарственным веществом. Только в его присутствии сенсор изменяет свою конформацию так, что рибозим утрачивает способность расщеплять мРНК. И тогда на мРНК синтезируется белок. В отсутствие лекарственного вещества, влияющего на сенсор, рибозим и мРНК саморазрушаются.

К 2004 г. Маллиган с коллегами провели множество экспериментов с применением рибозимов-переключателей и тщательно подобранных сенсоров и продолжают совершенствовать свою методику. Сенсоры можно наделить чрезвычайно высокой специфичностью, последовательно уменьшая частоту нежелательных побочных эффектов. Как и в случае с экдизоном, на мРНК, к которой присоединен рибопереключатель, белок синтезируется только тогда, когда пациент принимает соответствующее лекарство.

2.3. Многопрофильные переключатели

Несмотря на то, что переключатели единичных генов далеко не совершенны, биологи считают, что недалеко то время, когда рутинными станут многопрофильные переключатели, благодаря которым точность регуляции генной терапии существенно возрастет. Весьма плодотворной может стать комбинация генной терапии с использованием переключателей, с одной стороны, и другими противораковыми инструментами – с другой.

Так, Купер из центра Андерсона работает над созданием методики, в которой пара генов с переключателями совмещается с клеточной противораковой терапией. Гены кодируют два вида интерлейкинов, IL12 и IL15. Как показывают лабораторные испытания, в присутствии IL15 мобилизующее действие второго интерлейкина на иммунные клетки усиливается. Третий участник этой схемы – группа генетически модифицированных иммунных клеток, называемых CART клетками. Они превосходят природные компоненты иммунной системы по нацеленности всей своей мощи на опухолевые клетки. Объединив все это в единое целое, Купер существенно повысил прицельность и эффективность терапии. Поскольку переключатели и их активаторы позволяют подбирать нужную концентрацию IL12 и IL15 независимо, можно тонко настраивать ход лечения для достижения оптимального результата при минимальном количестве IL12, что уменьшает вероятность возникновения «цитокинового шторма».

По словам Купера, при небольшой доле фантазии это новое устройство можно назвать машиной с дистанционным управлением.

Новая технология далека от совершенства, но о ее огромном потенциале можно говорить уже сейчас. Если простое встраивание чужеродных генов, начало которому было положено в 1990-х гг., можно назвать генной инженерией 1, то встраивание с переключателем – это генная инженерия 2. Когда-нибудь вместо лекарственных препаратов пациентам будут прописывать молекулярные переключатели различных встроенных генов, срабатывающие в нужном месте в нужное время, вместо того, чтобы заполнять весь организм безо всякой пользы, а нередко и вызывать серьезные побочные эффекты. Сами препараты не будут вырабатываться в гигантских биореакторах на фармацевтических предприятиях. Лекарственное вещество поступит в организм пациента только тогда, когда это нужно, и попадет в нужное место.

3. Ограничения и опасности генетической инженерии

Как отмечает А. А. Жученко (2003), исследования в области генетической инженерии, наряду с положительными результатами, несут в себе опасности и ограничения. В связи с этим при оценке возможностей генетической инженерии важно учитывать те ограничения и опасности, которые вытекают из законов генетической и экологической изменчивости живых организмов.

В связи с указанными положениями необходимо иметь в виду, что большинство хозяйственно и адаптивно ценных признаков по своей природе являются полигенными, большинство из которых остается генетически и биохимически не идентифицированными. Причем методы генной инженерии разработаны лишь для небольшого числа видов.

Довольно серьезные трудности имеют место в связи с неопределенностью конечного результата, трансгенеза, как и при индукции мутаций.

Известно, что каждый вид, организм и даже клетка имеют мощную противoinформационную защиту: системы узнавания и репарации, подавляющие функционирование экзогенной ДНК. Наряду с этим у высших эукариот функционирует весьма сложная и многоэшелонированная регуляция экспрессии генома. Наличие этих механизмов, с одной стороны, предотвращает получение эволюционно-неапробированных генетических вариаций, т.е. усиливает биобезопасность трансгенеза, а с другой – сдерживает получение нетрадиционных генетических вариаций, что является главной задачей генетической инженерии и селекции в целом.

Значительную опасность представляет повсеместное использование неизбирательных гербицидов и энтомотоксинов, что неизбежно ведет к эффекту «пестицидного бумеранга». Широкое применение пестицидов сплошного спектра действия является причиной нарушения трофических связей и экологического равновесия в агробиоценозах.

Наибольшую тревогу ученых, промышленников, законодателей и потребителей растительной продукции вызывает использование трансгенных растений в полевых условиях, а также употребление конечных продуктов, трансформированных (ГМО) растений. У таких растений отмечен несвойственный для данного вида, сорта синтез веществ, обладающих токсичным действием, а также ингибирующие процесс митоза и нарушение системы его протекания. Наряду с растениями эти процессы могут иметь место и в организме человека, что чревато вредными последствиями, вплоть до повышения вероятности онкологических заболеваний.

Как показывает анализ современного состояния проблемы, исследования в области генной инженерии могут быть столь же опасными, сколь и полезными. Поэтому генная инженерия стала самым мощным возбудителем спокойствия ученых и

мировой общественности в начале XXI в. Это связано с тем, что, как и любое другое судьбоносное для *Homo sapiens* направление науки, генетическая инженерия может иметь не только позитивные, но и негативные последствия. И главная трудность заключается в том, что в настоящее время еще невозможно точно спрогнозировать в долгосрочной перспективе все последствия её широкого использования и найти методы трансгеноза, позволяющие вводить в организм хозяина полезные гены с исключением сцепления их с отрицательными генными структурами.

Значительную перспективу в целях повышения безопасности и снижения ограничений использования генной инженерии представляет проблема регулирования активности генов. Необходимо создание молекулярных регуляторов (переключатели генов), которые могут активировать полезные и инактивировать встроенные гены, детерминирующие проявление нежелательных признаков.

Выводы

1. Некоторые авторы утверждают, что традиционное ведение сельского хозяйства сходит с дистанции. Возможен ли в обозримом будущем полномасштабный переход к основанным преимущественно на биотехнологии сельскому хозяйству и производству пищевых продуктов? Бесспорно, методы генетической инженерии значительно расширяют возможности управления наследственностью и изменчивостью растений. Однако при этом они всегда будут оставаться лишь дополнительным, но не замещающим фактором в арсенале адаптивной системы селекции растений.

2. Важнейшей задачей является предотвращение распространения генетически измененных форм живых организмов, используемых в биотехнологиях, в открытые агросистемы и природные экосистемы.

3. Проблемы широкого распространения генетически модифицированных организмов требуют теоретического осмысления, разработки соответствующих методов и критериев, интеграции с другими областями знаний и, наконец, выбора оптимальных возможностей распространения конечного продукта.

4. Новые усовершенствованные методы создания ГМО могут значительно снизить возможный риск, связанный с произвольным характером внедрения трансгенов в геном, происходящего при применении существующих на сегодняшний день подходов.

5. Основными теоретическими и методическими положениями трансгенной селекции необходимо считать:

а) получение большого количества ГМ-организмов как исходного материала для селекции;

б) тщательный геномный, анатомо-морфологический, биохимический и медико-биологический анализ ГМ-элементов с точки зрения их влияния на экологию, здоровье человека и эволюционные процессы;

в) жесткий отбор особей по полезным для человека признакам и свойствам с исключением сцепления их с негативными – вредными и летальными детерминантами;

г) создание молекулярных регуляторов (переключателей генов), которые могут активировать полезные и инактивировать встроенные гены, детерминирующие проявление нежелательных признаков.

6. В настоящее время основная дискуссия при оценке риска использования ГМО ориентирована на конечный продукт, тогда как возможные эволюционные последствия генетической инженерии остаются без внимания. Значительная опасность для эволюционного процесса. Так, например, безграничное вмешательство человека в естественную эволюцию органического мира может изменить как экологическую ситуацию, так и направление эволюции. Можно надеяться лишь на то, что адаптация

самого *Homo sapiens* к окружающей среде посредством познания (суть культурной эволюции) будет опережать темпы и масштабы антропогенного вмешательства в процессы естественной эволюции.

7. Одной из главных причин, сдерживающих интенсивность и эффективность работ по трансгенезу, является крайне слабое развитие исследований по идентификации эффективных генов, созданию банков генов, ограниченная научная база генетической инженерии, что связано с недостаточным финансированием, а также отсутствие жесткого законодательства в области данной проблемы.

Литература / References

Баррик Дж., Брейкер Р. Древние генетические переключатели // В мире науки. № 6. 2007. С. 54–58.

[Barrick J., Breaker R. Ancient genetic switches. *In the world of science*. 2007. 6: 54–58]

Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). В 2-х томах. М.: РУДН, 2001. 1480 с.

[Zhuchenko A.A. Adaptive system of plant breeding (ecological and genetic basis). In 2 volumes. Moscow: PFUR, 2001. 1480 p.]

Козубек Дж. Переключатели генов // В мире науки. 2016. №3. С. 54–58.

[Kozubek J. Gene switches. *In the world of science*. 2016. 3: 54–58]

Макрушин Н.М., Плугатарь Ю.В., Макрушина Е.М., Гончарова Ю.К., Гончаров С.В., Шабанов Р.Ю. Генетика. Санкт-Петербург: Лань, 2020. 404 с.

[Makrushin N.M., Plugar Yu.V., Makrushina E.M., Goncharova Yu.K., Goncharov S.V., Shabanov R.Yu. Genetics. St. Petersburg: Lan', 2020. 404 p.]

Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. М.: Высшая школа, 2003. 469 с.

[Shevelukha V.S. Agricultural biotechnology. M.: Higher school, 2003. 469 p.]

Lapenna S., Dinan L., Friz J., Hopfinger A.J., Liu J., Hormann R.E. Semi-synthetic ecdysteroids as gene-switch actuators: synthesis, structure-activity relationships, and prospective ADME properties // *ChemMedChem*. 2009. Vol. 4(1). P. 55–68. DOI: 10.1002/cmdc.200800280. PMID: 19065574.

Статья поступила в редакцию 20.08.2021 г.

Makrushina E.M., Klitsenko O.A. Gene engineering: its positive and negative effects // *Plant Biology and Horticulture: theory, innovation*. 2021. № 4 (161). P. 56–66.

Genetic engineering methods significantly expand the possibilities of controlling plant heredity and variability. However, they will always remain only an additional, but not a substitute factor in the arsenal of the adaptive plant breeding system. The most important task is to prevent the spread of genetically modified forms of living organisms used in biotechnology into open agrosystems and natural ecosystems. The problems of the wide distribution of genetically modified organisms require theoretical understanding, the development of appropriate methods and criteria, integration with other areas of knowledge and, finally, the selection of the optimal possibilities for the distribution of the final product. New improved methods for creating GMOs can significantly reduce the possible risk associated with the arbitrary nature of the introduction of transgenes into the genome, which occurs when using the current approaches. The main theoretical and methodological provisions of transgenic selection should be considered: a) obtaining a large number of GM organisms as a starting material for selection; b) a thorough genomic, anatomical-morphological, biochemical and medicobiological analysis of GM elements from the point of view of their influence on ecology, human health and evolutionary processes; c) strict selection of individuals according to traits and properties useful to humans, with the exception of their linkage with negative - harmful and lethal determinants; d) creation of molecular regulators (gene switches) that can activate useful and inactivate built-in genes that determine the manifestation of undesirable traits. One of the main reasons constraining the intensity and effectiveness of transgenesis work is the extremely weak development of research on the identification of effective genes, the creation of gene banks, and a limited scientific base of genetic engineering, which is associated with insufficient funding, as well as the lack of strict legislation in the field of this problem.

Key words: *genetic engineering; GMO; transgenic selection; gene activity switches*