



Геномное редактирование как машина времени, или ДОМЕСТИКАЦИЯ ЗА ПАРУ ЛЕТ

Культурные формы растений, как известно, имеют намного более крупные и вкусные плоды по сравнению со своими невзрачными и малосъедобными дикорастущими сородичами. Вспомните ту же грушу-дичок и истекающий сладким соком дюшес. Но что стоит за этими колоссальными внешними отличиями? Многие популярные ныне сельскохозяйственные растения были одомашнены около 10 тыс. лет назад – реально ли повторить этот уникальный эксперимент за гораздо более короткие сроки? И, наконец, зачем это может быть нужно?

Внешний вид, продуктивность и вкусовые качества культивируемых сегодня сельскохозяйственных растений претерпели сильные изменения за тысячи лет искусственного отбора. При этом встает вопрос: сколько же генов дикорастущего растения нужно изменить, чтобы сделать его похожим на культивируемого сородича, и что нам известно об этих генах?

Несведущему человеку может показаться, что такая трансформация шла у растений постепенно, и что в этом процессе были задействованы десятки, если не сотни генов. Однако исследования последнего десятилетия показали, что для каждой культуры имеется свой «джентельменский набор», состоящий из трех–пяти генов, случайные мутации в которых однажды раз и навсегда изменили судьбу их дикорастущих предков. То есть именно эти единичные гены ответственны за кардинальные изменения внешнего вида, продуктивности и вкусовых качеств. Другие десятки генов, по которым отличаются культурные и дикорастущие формы, отвечают уже за небольшие изменения, нюансы – за «шлифовку» «культурных» качеств.

Великие следствия малых причин

Наглядным примером доместикиции является *кукуруза сахарная* (маис) – единственный культурный представитель рода кукуруза из семейства злаки. У древнего предка нашей кукурузы – растения *теосинте*, распространенного на территории современной Мексики, – произошли мутации в регуляторных областях (отвечающих за экспрессию) двух генов (*ТВ1* и *GT1*). Следствием этого стало радикальное изменение архитектуры растения: мутация в первом гене привела к исчезновению боковых побегов, во втором – к уменьшению числа початков на побеге (Studer *et al.*, 2011; Wills *et al.*, 2013).

В результате произошло перераспределение питательных ресурсов в пользу меньшего числа более крупных початков.

Это событие стало важным, хотя и недостаточным условием повышения продуктивности. Ключевую роль в колоссальном увеличении урожайности сыграла мутация в кодирующей части гена *FEA2*, которая привела к появлению многорядного початка. Ведь по сравнению с теосинте, скромный початок которого содержит всего два ряда семян общим числом от 6 до 12 штук, початок его культивируемого сородича – настоящий гигант, содержащий 20 и более рядов семян (Bommert, Nagasawa, Jackson, 2013). То есть в результате продуктивность повысилась на порядок!

Более того, у теосинте к каждому семени плотно прилегает жесткая защитная чешуя, которую непросто отделить. Мутация в кодирующей области еще одного гена (*TGA1*) привела к так называемой «голозерности». В природе такие мутанты с семенами без «доспехов» были очень уязвимы и вряд ли выживали, но, случайно попав в руки человека, были оценены по достоинству и введены в культуру (Wang *et al.*, 2015).

Можно привести еще много подобных примеров доместикиции, помимо кукурузы. Так, у диких форм томата ген *FW2.2* кодирует так называемый негативный регулятор роста, который останавливает деление клеток плода. Мутантные варианты этого гена, отобранные в ходе длительной доместикиции, активизируются на более поздних стадиях развития растения, благодаря чему «золотые яблочки» успевают достичь более крупных размеров.

У дикорастущих видов риса созревшее зерно осыпается на землю, что является адаптивным свойством для сохранения вида в природе. При одомашнивании этого растения были отобраны формы, у которых зерно не осыпается с колосьев. Сегодня мы знаем, что это важнейшее для культивируемых злаков свойство возникло вследствие мутаций в кодирующей части гена *Sh4* и регуляторной области гена *qSH1* (Konishi *et al.*, 2006). Важную роль в доместикиции риса также сыграли мутации в некоторых других генах, изменившие архитектуру растения, включая число побегов, угол их наклона и плотность метелки.

Вместо «узкого горлышка» – точный план

Надо понимать, что мутации, оказавшиеся полезными для доместикиции, возникали случайным образом, и это могло произойти у не самых лучших представителей своего вида, например, у менее устойчивых к болезням. Для природных популяций характерно широкое внутривидовое разнообразие, но в ходе доместикиции лишь небольшая его часть «просочилась» на наши поля, огороды и сады через те или иные экземпляры со случайными мутациями, ставшими прародителями новой культивируемой формы. Другими словами, доместикиция всегда сопряжена с потерей генетического разнообразия в силу эффекта, названного «бутылочным горлышком».



ХЛЕСТКИНА Елена Константиновна – доктор биологических наук, профессор РАН, заведующая сектором функциональной генетики злаков Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), главный научный сотрудник Исследовательского центра продовольственной безопасности Новосибирского государственного университета. Автор и соавтор более 250 научных работ

Ключевые слова: растения, гены, геномное редактирование, *de novo* доместикиция, CRISPR/Cas9.

Key words: plants, genes, genome editing, *de novo* domestication, CRISPR/Cas9

В оформлении разворота использована картина американского художника А. Рокмана «Ферма» (2000 г.).
Courtesy Alexis Rockman.
Collection JGS Inc, New York

© Е. К. Хлесткина, 2016



Так выглядел далекий предок всем известной сахарной кукурузы с ее могучими початками, доместигированный в Южной Америке.
Creative Commons

Современные селекционеры пытаются восполнить эти потери за счет скрещивания культурных видов с дикорастущими сородичами: они надеются, что таким образом растения смогут получить полезные гены, в свое время утраченные при доместикации. Чаще всего речь идет о генах, обеспечивающих адаптацию к неблагоприятным условиям. Ведь в заботливых руках человека отбор шел в первую очередь на повышение продуктивности и улучшение вкусовых и питательных качеств.

Безусловно, от внимания селекционеров не ускользали и такие характеристики, как устойчивость к засухе, холоду, атакам фитопатогенов и т. д., и наиболее выдающиеся экземпляры культивируемого вида служили в качестве доноров генов устойчивости. Однако со временем перебор всех генных вариантов среди культивируемых видов завершился. А вот проблема защиты от неблагоприятных условий окружающей среды не только осталась, но и приобрела большую остроту: эволюционируя, фитопатогены преодолевают устойчивость растений и быстро «осваивают» новые территории, меняются климатические условия, происходит засоление почв и т. д.

Генетики, физиологи растений и фитопатологи сегодня специально исследуют коллекции дикорастущих сородичей культурных растений, которые бережно хранятся в генетических банках, например, во Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (Санкт-Петербург).



У диких предков картофеля в свое время возникла мутация, благодаря которой клубни стали развиваться на подземных «столонах» – вытянутых боковых побегах с удлинёнными междоузлиями и недоразвитыми листьями. *Справа* – один из многочисленных представителей дикорастущих форм картофеля из коллекции ВИР (Санкт-Петербург).
Фото автора

бург). Они выделяют экземпляры потенциальных доноров генов устойчивости к неблагоприятным факторам среды, а затем скрещивают их с культурными формами. Но чтобы передать нужный ген сорту, избавившись при этом от нежелательного генетического материала дикорастущего вида, требуются годы кропотливой работы.

Возможность ускоренного получения новых сортов связана с появлением методов геномного редактирования, особенно системы CRISPR/Cas9, которая позволяет получать нетрансгенные модифицированные растения с заданными мутациями.

Доместикация *de novo*

Редактирование с помощью CRISPR/Cas9 уже успешно опробовано на многих культурных видах растений. Оказалось, что за полтора-два года можно изменить ген-мишень таким образом, что растение приобретает устойчивость к определенному фактору внешней среды. Но для этого надо знать структуру этого гена, включая все варианты, как у культурной формы, так и у дикороса. А на получение таких данных уйдет еще от 3 до 5 лет исследований.

Но есть и другой, альтернативный путь. Ведь структура «генов доместикации» уже хорошо изучена, включая их различия у диких и культурных форм. Так почему бы не попытаться сначала выбрать «лучшие из лучших» экземпляры дикоросов – устойчивые к болезням, хорошо адаптированные к неблагоприятным климатическим условиям, – и не попробовать их вновь одомашнить? С помощью системы CRISPR/Cas9 можно воссоздать процесс доместикации в предельно сжатые сроки, т. е. за полтора-два года.

Сама эта идея весьма привлекательна. Однако надо понимать, что растения, полученные в результате редактирования «генов доместикации», во многом не будут удовлетворять требованиям к современным сортам. Придать дикоросу черты, характерные для культивируемого сородича, еще не означает создать новый сорт. Да и пищевые предпочтения современного взыскательного потребителя совсем не те, что у наших предков.

Тем не менее с помощью доместикации *de novo* можно решить одну важную задачу – «разорвать» нередко встречающуюся в природе взаимосвязь между полезным геном и каким-нибудь неблагоприятным свойством, таким как низкая продуктивность или плохие вкусовые качества. Избавиться от такой нежелательной связи порой не помогает даже череда скрещиваний: если «полезный» и «вредный» гены расположены вблизи друг друга на одной и той же хромосоме, то они будут, как правило, совместно передаваться по наследству. Чтобы найти одно растение, в котором эта «порочная связь» будет разорвана, придется проанализировать сотни и даже тысячи потомков. А с помощью системы

редактирования генома можно целенаправленно «накачать» нежелательный ген.

Еще хуже, если за «полезное» и «вредное» свойство отвечает один и тот же ген. Например, у некоторых форм дикого картофеля, устойчивых к колорадскому жуку, «невкусными» для жука являются листья, а для человека – клубни. По всей видимости, во всех тканях растения работает один и тот же ген, контролируя синтез соединений, которые приходится не по вкусу и нам, и жуку. И при попытке передать эту устойчивость культурным формам картофеля непременно параллельно передается и несъедобность клубней.

Но и здесь можно применить возможности системы CRISPR/Cas9 для тонкой тканеспецифичной настройки работы гена таким образом, чтобы он активно работал только в листьях. Для этого можно использовать специальный репрессор транскрипции, адресную доставку которого к промотору, управляющему работой целевого гена, будет осуществлять белок Cas9, в данном случае каталитически неактивный. Если соответствующую генетическую конструкцию мы встроим в геном под «клубнеспецифичным» промотором, который будет активироваться только в нужной ткани, то получим растение, являющееся эффективным донором для селекции.

Н а сегодня уже есть немало примеров генетически «отредактированных» культурных растений. Работы в этом направлении активно ведутся во всем мире и в России, в том числе и в Институте цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Но пока во всех этих случаях речь идет об изменении тех или иных свойств уже привычных нам культурных растений.

В свое время природа сделала нам подарок, пусть и случайный, в виде мутаций в «генах доместикации», запустив тем самым тысячелетний процесс искусственного отбора. С помощью геномного редактирования мы можем повторить «приручение» дикорастущих видов за фантастически короткие сроки. Решение этой фундаментальной задачи не только увлекательно, но и имеет вполне определенную практическую ценность.

Литература
Жарков Д. О. Геномные снайперы. НАУКА из первых рук, 2013, 6 (48), С. 20–22

Хлесткина Е. К. Система CRISPR/Cas9 для редактирования генома растений. В кн: Редактирование генов и геномов, Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2016. С. 171–188.