

А.Л. КОНОВ, М. ВЕЛЧЕВ, Д. ПАРСЕЛ

Представительство компании Монсанто Европа С.А. в РФ

Тел. (7 095) 933 59 20; факс (7 095) 933 59 21.

E-mail: alexei.konov@monsanto.com

## **ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИЙ В КОМПАНИИ МОНСАНТО: ОТ ПЕРВЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ОПЫТОВ ДО ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВО ВСЕМ МИРЕ**



*Приведена краткая история современной биотехнологии сельскохозяйственных растений. Рассмотрены методы трансформации. Уделено внимание вопросам регенерации трансформантов. Описаны механизмы устойчивости генетически модифицированных растений к гербицидам и вредителям. На примере коммерческих генетически модифицированных сортов и гибридов показаны пути разрешения проблемы с сорняками и вредителями, эффективность и преимущества выращивания таких растений. Большое внимание уделено рассмотрению вопросов биобезопасности и законодательства в разных странах мира. Приведены основные этапы развития сельскохозяйственной биотехнологии, рассмотрены ее перспективы.*

© А.Л. КОНОВ, М. ВЕЛЧЕВ, Д. ПАРСЕЛ, 2005

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2005. № 3

### **Введение**

Цель настоящего обзора — дать краткий очерк технологии генной инженерии растений, у истоков которой стояли ученые Монсанто — Роберт Фрейли, Роберт Хорш, Эрнест Яворский и др. [1, 2], рассказать об основных генетически улучшенных культурах (ГУК) и практике их применения. История начальных этапов развития генной инженерии растений изложена в обзоре Гассера и Фрейли в журнале «В мире науки» (№ 8, 1992). Эта статья, несмотря на «преклонный» по меркам бурно развивающейся науки возраст, остается одним из лучших научно-популярных обзоров в данной области. За 10 лет с момента его выхода устарел лишь раздел «перспективы». В 1992 г. авторы писали: «Первые трансгенные растения созданы менее 10 лет назад. С тех пор методы генной инженерии были применены более чем к 50 видам растений, и лишь несколько лет отделяет нас от начала эры промышленного производства генетически модифицированных культур»... Последующее десятилетие ознаменовалось невиданным технологическим прорывом: удалось получить трансгенные варианты практически всех основных сельскохозяйственных культур [3], генетически модифицированные культуры не просто вышли на поля, но за восемь лет — с 1996 по 2004 гг. — площади под ними увеличились в мире более чем в сорок раз и составляют сегодня 81 млн гектаров [4]. Чтобы понять масштаб, достаточно сказать, что 81 млн га — это более половины всех посевных площадей России, самой большой аграрной страны мира.

### **Агробактерия как природный генный инженер**

К началу 80-х годов XX века сразу в нескольких лабораториях мира — в Гентском Университете (Бельгия), Институте им. Макса Планка в Кельне (Германия), в Вашингтонском Университете (США) и в компании Монсанто — вплотную подошли к получению первых трансгенных растений. Изучая почвенную бактерию *Agrobacterium tumefaciens* — известного паразита многих растений, вызывающего образование на стволах деревьев и кустарников корончатых галлов, ученые выяснили удивительный механизм этого явления. При определенных условиях (например, при поранении растения) бак-

терия переносит фрагмент собственной ДНК (Т-ДНК — transferred DNA) в ядро растительной клетки, где эта ДНК интегрирует в хромосому. Паразитируя на молекулярном уровне, агробактерия заставляет растение строить для себя фабрику по производству питательных веществ — производных аминокислот и сахаров (опинов). Ферментативный механизм растения, отвечающий за транскрипцию собственной ДНК, распознает чужеродную ДНК из бактерии как свою собственную и транскрибирует находящиеся в ее составе гены вместе с растительными. Механизм трансформации растения (от транспорта Т-ДНК в растительную клетку до ее попадания в ядро и внедрения в хромосому) подробно изучен [5].

Собственно история генной инженерии растений началась с того момента, когда ученые научились «обезоруживать» плазмиды агробактерий, заменяя гены в составе Т-ДНК на те гетерологичные гены, которые необходимо ввести в растение. «Обезоруженная» бактерия обеспечивает внедрение в хромосому растения гетерологичного гена, ответственного за синтез необходимого человеку продукта.

Таким образом, используя естественно существующий в природе механизм «горизонтального переноса генов» от бактерии к высшим растениям, можно получать растения, которые несут в своем геноме и экспрессируют те или иные полезные гены. Основанный на агробактериальном переносе генов метод генной инженерии дал мощный импульс развитию фундаментальной и прикладной биологии и биотехнологии растений.

#### Получение трансгенных растений

Среди первых видов растений, полученных с помощью агробактериальной трансформации, были представители семейства пасленовых — табак (*Nicotiana tabacum*), петуния (*Petunia sp.*) и картофель (*Solanum tuberosum*). Со временем выяснилось, что можно с достаточной эффективностью трансформировать большинство двудольных растений. В лаборатории имитируют природный процесс: из молодых побегов нарезают кусочки стебля или листа и на них наносят суспензию агробактерий. Повреждение тканей растения при получении эксплантов служит сигналом к началу

инфекции. Подвергая трансформации большое число эксплантов, можно селективно отбирать именно те, которые получили гетерологичный ген. Собственно, эта работа напоминает обычный труд селекционера, отбирающего после скрещивания из множества получившихся вариантов нужный. С использованием метода агробактериальной трансформации были получены линии картофеля, устойчивые к колорадскому жуку, гербицид-устойчивая сахарная свекла и другие культуры.

Выяснение механизмов агробактериальной трансформации позволило существенно повысить эффективность метода и трансформировать те виды растений, которые многие годы считались «устойчивыми», например, подсолнечник и однодольные растения, к числу которых относятся основные сельскохозяйственные культуры — злаковые.

Кроме агробактериальной системы, было разработано несколько альтернативных методов трансформации. Одним из таких методов было введение гетерологичной ДНК в протопласты (растительные клетки без стенок). Другим способом является электропорация, при которой мембрана «протыкается» импульсом напряжения. Эти процедуры универсальны для трансформации любых клеток. Но регенерировать полноценное растение из изолированного протопласта гораздо сложнее, чем из клетки или группы клеток в составе экспланта. Часто трансгенные растения, полученные таким способом, оказываются стерильными. Поэтому большое внимание было уделено разработке методов прямого введения ДНК в интактные (имеющие клеточную стенку) клетки растений. Простые инъекции ДНК оказались неэффективными. Для повышения эффективности доставки генов в клетки был разработан метод, основанный на бомбардировке растительных эксплантов микрочастицами с напыленным на них генетическим материалом. Технически процесс состоит в том, что на микрочастицы вольфрама или золота наносят суспензию с ДНК, помещают эти частицы в специальную капсулу, которой «выстреливают» в мишень — чашку Петри с эксплантами. Быстро движущиеся металлические частицы диаметром 1–2 мкм доставляют молекулы ДНК в клетки, пробивая клеточную

стенку и проникая через мембрану. Крошечные отверстия в стенках и мембранах быстро затягиваются, так что «проколы» существуют недолго, не нарушая целостности клеток. Со времени создания первой «биологической пушки» ее устройство претерпело множество усовершенствований: были созданы аппараты с пневматическим и электрическим разрядом, а самой распространенной версией стала пушка, в которой ускорение частиц осуществляется импульсами сжатого газа гелия. С помощью «биологической пушки» были получены такие культуры Monsanto, как гербицид-устойчивая соя и новые гибриды кукурузы, устойчивые к различным вредителям и гербициду Раундап™.

Добавление фитогормонов ауксинов и цитокининов в питательную среду, на которой культивируют экспланты, позволяет инициировать процесс морфогенеза (регенерацию). Эффективная регенерация — важный этап получения трансгенного растения. Среди регенерирующих растений необходимо отобрать растения, получившие гетерологичный ген — трансформанты. Как и у селекционеров, использующих маркерные признаки для отбора, у молекулярных биологов есть в распоряжении набор стандартных селективных генов-маркеров. Экспрессия такого гена, введенного в клетки экспланта вместе с целевым геном, позволяет осуществлять селекцию трансформантов. Отбор ведут на селективных питательных средах. Один из наиболее распространенных селективных агентов, антибиотик канамицин, нарушает нормальное функционирование 70S рибосом, что приводит к дисфункции хлоропластного аппарата клетки: в нетрансформированных клетках нарушается фотосинтез и наблюдается обесцвечивание тканей. В трансформированных клетках ген, кодирующий фермент неомицинфосфотрансферазу (*nptII*), обеспечивает устойчивость к канамицину, позволяя отбирать трансформанты.

Альтернативная система селекции может быть создана на основе гена, обеспечивающего устойчивость к гербициду широкого спектра действия, например к гербициду Раундап™, действующим веществом которого является N-фосфометилглицин (глифосат). При добавлении в питательную среду глифосат адсорбируется клетками растения-регенеранта и

переносится по всем частям растения. Глифосат действует на метаболический путь шикимовой кислоты, блокируя синтез некоторых незаменимых ароматических аминокислот, прежде всего в точках роста стебля и корня. Чувствительный к глифосату путь метаболизма шикимовой кислоты есть в клетках водорослей, растений, бактерий, грибов, простейших, но отсутствует у насекомых, рыб, птиц, млекопитающих и человека. Поэтому глифосат безвреден для человека и других организмов, у которых нет специфической мишени глифосата — фермента 5-енолпирувилшикимат-3-фосфат синтазы (*EPSPS*). Клонирование гена, обеспечивающего устойчивость к гербициду, и введение этого гена в геном растения дало бы возможность отбирать устойчивые к гербициду трансгенные растения. В принципе, добиться устойчивости трансгенных растений к действию глифосата можно несколькими способами: за счет обеспечения избыточного уровня фермента *EPSPS* в растении или путем внедрения в растение мутантного гена *EPSPS*, продукт которого обладает низким сродством к глифосату, или путем внедрения гена, обеспечивающего деградацию гербицида в растении. Из всех перечисленных наиболее успешным оказался путь введения в геном растения чужеродного гена *EPSPS*, продукт которого обладает низким сродством к глифосату, т.е. не подвержен ингибированию. Такой ген был выделен из клеток агробактерии штамма *CP4* и назван *CP4EPSPS*. В трансгенном растении он обеспечивает устойчивость к действию гербицида, полностью компенсируя блокируемую глифосатом функцию собственного растительного фермента *EPSPS* [6].

#### Растения, устойчивые к гербицидам и насекомым-вредителям

Разработка генно-инженерного метода получения гербицид-устойчивых растений стала основой внедрения принципиально новой технологии возделывания сельскохозяйственных культур: устойчивые к гербициду Раундап™ растения можно обрабатывать этим неселективным гербицидом непосредственно на полях, причем достигается 100%-ная гибель сорняков без повреждения культурного трансгенного растения [7].

Другая важнейшая проблема прикладной сельскохозяйственной биотехнологии — защита от насекомых-вредителей — была решена путем создания трансгенных растений, экспрессирующих гены Bt (*Bacillus thuringiensis*). Некоторые штаммы почвенного микроорганизма *Bacillus thuringiensis* (Bt) продуцируют белки, губительные для различных групп насекомых [8]. В клетках этих бактерий в ходе споруляции образуются кристаллоподобные включения, содержащие энтомоцидные дельта-эндотоксины (Cry-белки). Инсектициды на основе Cry-белков Bt давно применяются в биологической защите растений: бактериальные препараты, распыляемые на полях, в отличие от химических средств безвредны не только для человека и животных, но и для тех насекомых, которые не являются близкими родственниками «целевого» вредителя. Описано более 60 подвидов *Bacillus thuringiensis*. Продуцируемые ими энтомотоксины отличаются достаточно узкой специфичностью. Известны энтомотоксины, с высокой специфичностью контролируемые вредителей из отрядов чешуекрылых (семейства Cry1 и Cry9), жесткокрылых (семейство Cry3) и двукрылых (семейства Cry4 и Cry11). Эндотоксины Cry2 обладают двойной специфичностью — против чешуекрылых и двукрылых. Большинство энтомоцидных белков имеют молекулярную массу 130–145 кДа (представители семейств Cry1, Cry4, Cry9 и др.). Попадая в кишечник насекомых, белковые кристаллы растворяются в среде кишечного сока, подвергаются действию протеиназ, в результате чего образуются устойчивые к дальнейшему протеолизу фрагменты 60–70 кДа — так называемые «истинные токсины», которые связываются с аффинным белком (рецептором) поверхности апикальных мембран эпителиальных клеток кишечника. Молекулы токсина образуют в мембранах пору, из-за чего насекомое не может нормально перерабатывать пищу и погибает. В отличие от бактериальных препаратов, эффективность инсектицидного действия которых зависит от погодных условий, от времени и аккуратности обработки, трансгенные Bt-растения постоянно вырабатывают энтомотоксин в количестве, достаточном для обеспечения защиты от вредителей в течение всего

сезона и вне зависимости от погодных условий. Все стадии взаимодействия токсина и рецептора высокоспецифичны, и поэтому создание трансгенных растений, экспрессирующих определенный тип энтомотоксина Bt, обеспечивает направленную защиту от конкретного вредителя [9].

Создание устойчивого к гербициду или вредному насекомому растения на практике оказалось достаточно сложной задачей. Недостаточно иметь вектор с клонированным геном и эффективную систему его трансформации в геном растения. Необходимо обеспечить устойчивую экспрессию трансгена на уровне, достаточном для выполнения защитной функции, а также сохранение этого признака в потомстве.

Одна из трудностей была связана с обеспечением экспрессии генов бактериального происхождения в геноме растения. Задача была решена частичной или полной заменой бактериальных кодонов искусственно синтезированными, характерными для эукариот. Так, например, в трансгенном картофеле, устойчивом к колорадскому жуку, в качестве целевого гена использован полностью синтетический аналог природного гена *CryIIIa*: кодируемая им последовательность аминокислот абсолютно идентична природной, а уровень экспрессии такого синтетического гена позволяет поддерживать в листьях растения концентрацию эндотоксина, на порядок превышающую летальную для вредителя дозу. При создании гербицид-устойчивых растений было необходимо дополнительно решить проблему доставки белка CP4EPSPS в хлоропласты, место действия гербицида Раундап™. Для этого к 5'-концу гена *CP4EPSPS* была присоединена последовательность, кодирующая хлоропластный транзитный белок (СТР), который обеспечивает доставку белка CP4EPSPS в хлоропласты.

#### Агрономические, технологические и экологические преимущества генетически улучшенных культур

В настоящее время зарегистрирован целый ряд культур, созданных в компании Монсанто с использованием методов геномной инженерии (табл. 1), в том числе устойчивые к насеко-

мым-вредителям (Bt-культуры) и устойчивые к гербициду Раундап™ (RR®-культуры). Среди этих культур в коммерческом «портфеле» компании основное место занимают соя, кукуруза, хлопчатник и масличный рапс. Площади под посевами этих четырех важнейших культур ежегодно увеличиваются. Быстрый рост площадей под генетически улучшенными культурами (более чем в 30 раз с 1996 по 2002 гг.) свидетельствует о значительных технологических и агрономических преимуществах этих культур.

Основные площади под этими культурами находятся в четырех странах: США (59 %), Аргентине (20 %), Канаде (6 %) и Китае (5 %). В ряде стран, включая Россию, генетически улучшенные культуры (ГУК) пока не выращиваются, но разрешен импорт продуктов и компонентов из ГУК.

Наиболее настороженно к внедрению ГУК в практику сельского хозяйства относятся страны Европейского Союза (ЕС). Наблюдается так называемый «атлантический парадокс». Несколько лет назад в странах ЕС стал действовать *de facto* мораторий, снятый только осенью 2004 г., на выдачу разрешений новым генетически модифицированным (ГМ) сортам и продуктам из них, поскольку требовалось «разработать дополнительные меры оценки безопасности» биотехнологических культур для здоровья человека и окружающей среды [10]. В то же время страны ЕС продолжают ежегодно импортировать не менее 30 млн тонн сои из Аргентины и США, где основная часть продукции получена из трансгенных растений. В этих странах и Канаде ГМ культуры успешно возделываются уже несколько лет, и при этом не было отмечено ни одного случая их отрицательного воздействия на человека или окружающую среду. В Европе под воздействием анти-ГМ пропаганды многие люди боятся употреблять в пищу продукты, полученные из ГМ источников, но при этом тысячи европейцев путешествуют в США и Канаду и с удовольствием едят там американские стейки и картофельные чипсы, приготовленные с использованием ГМ технологий. Да и в самой Европе значительная часть микробиологической и пищевой промышленности использует ГМ технологии [11]. Сегодня с принятием но-

вого порядка регистрации ГМ культур в странах ЕС меняется отношение и к трансгенным растениям.

Важной вехой стало присоединение Индии, а затем Бразилии к клубу стран, возделывающих ГУК: в 2002 г. в Индии было принято решение о начале коммерческого выращивания генетически улучшенных сортов хлопчатника, а в Бразилии в 2004 г. легализировано выращивание сои.

Возделывание Bt-культур, помимо технологических преимуществ и повышения эффективности сельскохозяйственного производства, имеет ряд важных экологических преимуществ: сокращение числа обработок инсектицидами или полный отказ от обработок, отсутствие или значительное снижение остатков инсектицидов в почве и урожае, снижение опасности от-

Таблица 1  
Генетически улучшенные культуры Monsanto

Культура	Коммерческое название	Свойство
Bt Хлопчатник	Bollgard®	Устойчивость к насекомым-вредителям
RR® Хлопчатник	Roundup Ready®	Устойчивость к гербициду Раундап™
Bt/RR® Хлопчатник	Bollgard® and Roundup Ready®	Устойчивость к насекомым-вредителям и к гербициду Раундап™
RR® Соя	Roundup Ready®	Устойчивость к гербициду Раундап™
RR® Кукуруза	Roundup Ready®	Устойчивость к гербициду Раундап™
Bt Кукуруза	YieldGard®	Устойчивость к насекомым-вредителям
RR® Масличный рапс	Roundup Ready®	Устойчивость к гербициду Раундап™
Bt Картофель	NewLeaf®	Устойчивость к насекомым-вредителям
Bt+ Картофель	NewLeaf Plus®	Устойчивость к насекомым-вредителям и вирусам
RR® Сахарная свекла*	Roundup Ready®	Устойчивость к гербициду Раундап™

\* Совместная разработка ряда компаний.

Таблица 2

Сравнение узкоспецифичного действия энтомотоксина, продуцируемого Vt-растением, и действия двух классов наиболее часто применяемых инсектицидов (наличие воздействия обозначено знаком ⊕)

Вид	Отряд	Vt CryIA	Органо- фосфатные инсектици- ды	Карбома- тные инсектици- ды
<i>Ostrinia / Sesamia</i>	<i>Lepidoptera</i>	⊕	⊕	⊕
Клопы	<i>Hemiptera</i>		⊕	⊕
Тли	<i>Homoptera</i>		⊕	⊕
Трипсы	<i>Thysanoptera</i>			⊕
Медоносная пчела	<i>Hymenoptera</i>		⊕	⊕
Клещи	(не насекомые)		⊕	

равления людей пестицидами, безопасность для полезных насекомых, увеличение их биоразнообразия [12].

Рассмотрим конкретные примеры. Одним из самых серьезных вредителей кукурузы в США и ряде других стран являются европейский кукурузный мотылек (*Ostrinia nubilalis*) и совки рода *Sesamia sp.* Экспрессия гена *CryIA(b)* в трансгенной кукурузе YieldGard® позволяет достичь практически полной защиты растений от этих вредителей. В США при высоком фоне заражения потери урожая кукурузы могут составлять до 20 % (до 2 млрд долларов в год в денежном эквиваленте), причем традиционные инсектициды не только не могут эффективно воздействовать на прячущиеся внутри стеблей личинки вредителя, но и наносят значительный вред нецелевым и полезным насекомым (табл. 2). В процессе культивирования кукурузы YieldGard® выяснилась еще одна особенность, выгодно отличающая эти сорта от традиционных. Поражение насекомыми традиционных сортов практически всегда сопровождается грибным заражением початков, в результате чего в растительной массе и зерне кукурузы накапливаются микотоксины. Только за первые два года выращивания кукурузы YieldGard® в США стало возможным снизить уровень содержания микотоксинов в несколько раз и значительно улучшить качество как пищевого зерна, так и кормов для животных.

На Европейском континенте кукурузу культивируют на юге, в странах Средиземноморского и Черноморского бассейнов. Турция является одной из стран, где поражение вредителями может приводить к потере до 100 % урожая в отдельных районах при отсутствии обработок инсектицидами. Культивирование кукурузы YieldGard® на опытных полях (в настоящее время идет процесс регистрации этой культуры) дало возможность сравнить эффективность этой технологии с традиционными технологиями защиты в условиях Европейского континента.

Другим примером может служить картофель NewLeaf®, устойчивый к колорадскому жуку. Введенный в геном картофеля ген *CryIIIA* обеспечивает надежную и узкоспецифичную защиту [13]. В 2002 г. два сорта картофеля NewLeaf® американской селекции (Рассет Бурбанк и Суперниор) получили в Российской Федерации сертификат биобезопасности. За годы испытаний на территории России в различных климатических зонах была показана не только стопроцентная эффективность этих сортов в борьбе с колорадским жуком, но и их положительное влияние на экологические показатели за счет снижения пестицидной нагрузки на экосистему полей. Исследования, проведенные российскими институтами, продемонстрировали значительное увеличение биоразнообразия в картофельном биоценозе при выращивании картофеля NewLeaf® по сравнению с обычной технологией, основанной на традиционных сортах и применении инсектицидов.

Массовое распространение получили культуры, устойчивые к гербициду Раундап™, что объясняется рядом важных технологических и экономических преимуществ: возможностью более гибкого севооборота, снижением общего количества применяемых гербицидов при наилучшем контроле сорняков, возможностью беспашотной обработки почвы и повышением урожайности [7].

В качестве примера можно привести RR® сою — самую массовую генетически улучшенную культуру. За годы возделывания RR® сои общее количество применяемых на этой культуре гербицидов снизилось более чем на 10 %, при этом произошла замена ассортимента ранее применявшихся гербицидов, имеющих за-



Рис. 1. Этапы получения ГУК

метно худшие экологические и токсикологические характеристики (2,4-D, метолахлор, пендиметалин, трифлуралин и др.), на Раундап™. Уже многие годы Раундап™ является самым продаваемым гербицидом в мире именно благодаря удачному сочетанию высокой эффективности и безопасности для окружающей среды и человека.

Среди стран Восточной Европы Болгария и Румыния были первыми странами, применившими технологию генетически улучшенных культур на практике. В Болгарии наиболее ярким примером служит выращивание RR® кукурузы. За период с начала 90-х годов в отсутствие регулярных обработок против сорняков уровень зараженности полей таким опасным сорняком, как гумай (*Sorghum halepense*), достиг уровня, при котором выращивание кукурузы стало практически невозможным. Традиционные технологии защиты уже не могли решить проблему. За два сезона (1998 и 1999 гг.) использования технологии RR® кукурузы удалось практически полностью решить проблему гумая и ряда других опасных сорняков. При этом урожайность была повышена более чем на 30 % по сравнению с наиболее дорогостоящей традиционной технологией защиты. В Румынии одной из основных возделываемых культур является соя, которая в прошлом выращивалась на площади не менее 200 тыс. га.

В 90-е годы XX века под соей осталось менее 100 тыс. га, что было связано в первую очередь с невозможностью защитить посевы от сорняков: традиционные системы защиты были достаточно дороги и не обеспечивали эффективной защиты. RR® соя была зарегистрирована для выращивания в Румынии в 1999 г., с тех пор ее площади увеличились в несколько раз и составляют не менее половины всех площадей, занятых этой культурой. Появилась реальная возможность наращивания производства сои.

#### Вопросы регулирования и биобезопасности

Толковый словарь определяет генную инженерию в целом как «направление исследований в генетике, в рамках которого разрабатывают приемы, позволяющие по заранее намеченному плану перестраивать геном организмов, изменяя в нем генную информацию» [14]. Согласившись с этим определением, уточним, что генная инженерия растений представляет собой инструментальный набор методов, позволяющий добавлять в геном растения-реципиента один или несколько генов с известной функцией с тем, чтобы экспрессия этих генов обеспечивала тот или иной новый признак. Генная инженерия привносит в организм признаки, которые невозможно или очень сложно передать методами традиционной селекции.



Рис. 2. Получение RR® сои: 10 лет от клонирования гена до выхода на рынок

В различных лабораториях мира ежегодно получают сотни различных трансгенных растений. Большинство получаемых трансформантов служат для целей фундаментальных исследований или для оптимизации процессов трансформации. Эти растения никогда не покинут стены лабораторий, и поэтому не требуется специального регулирования и изучения их влияния на человека и окружающую среду.

Растения, получаемые с целью дальнейшей коммерциализации, проходят долгий путь от лаборатории до поля, всесторонне испытываются свойства продуктов питания, получаемых из этих культур [15, 16]. Создание новой культуры методами генной инженерии можно разделить на три этапа (рис. 1). Рассмотрим историю создания RR® сои, показанную на фоне общего процесса развития технологии генной инженерии (рис. 2).

Как видно из рис. 1 и 2, последним этапом перед выходом продукта на рынок является всестороннее изучение его безопасности. В странах, где коммерчески выращиваются ГУК или осуществляется импорт продукции, полученной из ГМ источников, реализуются спе-

циальные программы изучения безопасности пищевых продуктов из ГМ источников и био-безопасности самих культур для выращивания [17, 18]. Аналогичные программы есть и в России (см. подробную информацию на сайте <http://www.iacgea.ru>).

В своей деятельности по регистрации и внедрению генетически улучшенных культур во всем мире компания Монсанто строго следует правилам и законам тех стран, в которых она ведет эту деятельность.

### Перспективы. Три «волны» в биотехнологии растений

Первые трансгенные растения были получены в нескольких лабораториях мира, в том числе в Монсанто, менее 20 лет назад. Сегодня генная инженерия растений — бурно развивающееся направление биотехнологии, по темпам развития сопоставимое с развитием компьютерных технологий. В мире коммерчески выращиваются и используются для получения пищевых продуктов различные генетически улучшенные культуры. В последние годы наблюдается бурный рост сельскохозяй-



ственной биотехнологии во многих странах, прежде всего в Китае, где принята национальная программа по развитию сельскохозяйственной биотехнологии.

Принято рассматривать три «волны» развития биотехнологии растений.

Растения первой «волны» — это растения с каким-либо новым свойством устойчивости к вирусам, паразитам или гербицидам. Основные сельскохозяйственные культуры были получены на гребне этой «волны» в конце 80-х годов. Характерным для таких ГМ культур является то, что введенный признак устойчивости является моногенным, а источником генов служат либо вирусы растений (ген белка оболочки вируса, экспрессия которого обеспечивает устойчивость к данному вирусу), либо почвенные бактерии (гены устойчивости к насекомым, гербицидам), т.е. в качестве донора генов используются уже хорошо изученные биологические объекты.

В настоящее время мы находимся в двух-трех годах от гребня второй «волны» — создания растений с новыми потребительскими свойствами, но потенциал создания культур с новыми признаками устойчивости еще не исчерпан (например, одна из последних разработок Монсанто — кукуруза, устойчивая к поражению личинками жука *Diabrotica*, которые уничтожают корневую систему растений). Среди растений второй «волны» следует упомянуть культуры, изменения в метаболизме которых позволяют получать пищевые продукты с улучшенными характеристиками. К ним относятся, например, кукуруза с повышенным содержанием незаменимых аминокислот, соя, содержащая полезные дополнительные белки, масличные культуры с измененным составом масла [19]. Можно упомянуть также разрабатываемые другими компаниями и лабораториями проекты, направленные на получение фруктов и овощей с повышенным содержанием витаминов, зерновых культур с повышенной питательностью зерен и т.д. Одно из недавних достижений ученых — создание «золотого риса». В лаборатории И. Потрикуса (Технологический Институт, Цюрих, Швейцария) удалось ввести в геном риса гены, необходимые для синтеза бета-каротина, предшественника витамина А, и гены, контролирующие содержа-

ние железа в зернах риса [20]. Эти работы создают реальные предпосылки для решения проблемы дефицита железа и витамина А в рационе многих миллионов страдающих анемией людей, прежде всего в Азии. Компания Монсанто внесла свой вклад в этот проект, безвозмездно передав мировому сообществу обширную информацию, полученную в ходе секвенирования генома риса [21]. Совместно с индийскими учеными Монсанто создает новые сорта горчицы с использованием методов генной инженерии. Мы также участвуем в разработке ряда других совместных проектов, направленных на внедрение новейших биологических технологий в сельское хозяйство развивающихся стран. В России примером успешного проекта биотехнологического сотрудничества служит создание российскими учеными новых форм картофеля, устойчивых к колорадскому жуку, на основе лучших российских сортов с применением технологий Монсанто.

Говоря о трансгенных растениях третьей «волны», следует отметить проекты, направленные на создание культур, обладающих устойчивостью к абиотическим стрессам (холод, засуха). Получение таких культур позволит решить проблему зон «рискованного земледелия», где урожай во многом зависит от капризов погоды. Наконец, следует сказать о растениях-фабриках, способных либо производить технические присадки к автомобильным маслам, либо лекарства и другие вещества, получение которых традиционными способами требует больших производственных затрат и зачастую наносит значительный вред окружающей среде. Уже сегодня созданы первые лабораторные образцы растений — продуцентов вакцин, применение которых в будущем позволит защищать людей от опасных инфекционных заболеваний [22].

Получение растений второй и третьей «волны» базируется на достижениях геномики — нового направления в молекулярной генетике, использующей инструментарий молекулярной биологии и генной инженерии [16].

\* \* \*

Современная биотехнология, основанная на технологии рекомбинантных ДНК, стано-

витає важним інструментом в селекції рослин в наступившій ХХІ столітті. Розробки компанії Монсанто в області генної інженерії рослин дозволяють компанії зберігати лідируючі позиції серед насінних і селекційних компаній світу.

**SUMMARY.** The history of modern biotechnology of agricultural plants is briefly considered in the article. Methods of genetic transformation and regeneration of transgenic plants as well as the mechanisms of resistance of genetically modified plants to herbicides and pests are discussed. By the example of genetically modified varieties and hybrids there are shown the ways of solving the problem of weeds and pests. The questions of biosafety legislation in different countries are considered.

**РЕЗЮМЕ.** Коротко наведена історія розвитку сучасної біотехнології сільськогосподарських рослин. Розглянуто методи трансформації. Придана увага питанням регенерації трансформантів. Описано механізми стійкості генетично модифікованих рослин до гербіцидів та шкідників. На прикладі комерційних генетично модифікованих сортів та гібридів показані шляхи вирішення проблеми боротьби з бур'янами та шкідниками, ефективність та переваги вирощування таких рослин. Велику увагу приділено висвітленню питань біобезпеки та законодавства в різних країнах світу. Наведено основні етапи розвитку сільськогосподарської біотехнології, розглянуто її перспективи.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Fraley R. et al.* Expression of bacterial genes in plant cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1983. — **80**. — P. 4803.
2. *Horsch R. et al.* A simple and general method for transferring genes into plants // *Science.* — 1985. — **227**. — P. 1229—1231.
3. *Birch R.G.* Plant transformation: problems and strategies for practical application // *Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* — 1997. — **48**. — P. 297—326.
4. *ISAAA.* Global Review of Commercialized Transgenic Crops, 2004. — № 27.
5. *Zupan J. et al.* The transfer of DNA from *Agrobacterium tumefaciens* into plants: a feast of fundamental insights // *Plant J.* — 2000. — № 1. — P. 11—28.
6. *Padgett S. et al.* New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene, pp. 53—84. // *Herbicide Resistant Crops*, S.O. Duke (ed.), CRC, Boca Raton, Florida, 1996.
7. *Carpenter J., Gianessi L.* Herbicide Use On Roundup Ready Crops [Letter]. — *Science.* — 2000. — **287** (5454). — P. 803.
8. *Holfe H., Whitely H.R.* Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* // *Microbiol. Rev.* — 1989. — **53**. — P. 242—255.
9. *Mendelsohn M. et al.* Are Bt crops safe? // *Nature Biotechnol.* — 2003. — **21** (9). — P. 1003—1009.
10. *Kalaitzandonakes N., Bijman J.* Who is driving biotechnology acceptance? // *Nature Biotechnol.* — 2003. — **21**. — P. 366—369.
11. *Menrad K., Menrad M.* Anticipating commercial introduction of new GMOs in the (enlarged) European Union. Fraunhofer Institute for Systems and Innovation Research. Results of a written survey among companies and research institutions. Report, March 2003. Karlsruhe, Germany.
12. *Betz F.S. et al.* Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. — 2000. — **32** (2). — P. 156—173. San Diego: Acad. press.
13. *Perlak F. et al.* Genetically improved potatoes: Protection from damage by Colorado potato beetles // *Plant Mol. Biol.* — 1993. — **22**. — P. 313—321.
14. *Глазко В., Глазко Г.* Русско-англо-український тлумачний словар по прикладній генетиці, ДНК-технології і біоінформатиці. — Київ: Нора-Принт, 2000.
15. *Cockburn, A* (XE "Cockbur, A"). Assuring the Safety of Genetically Modified (GM) Foods — The Importance of An Holistic, Integrative Approach // *J. Biotechnol.* — 2002. — **98**. — P. 79—106.
16. *Sharma H.C. et al.* Applications of biotechnology for crop improvement: Prospects and Constraints // *Plant Sci.* — 2002. — **163**. — P. 381—395.
17. *Nap J.P. et al.* The release of genetically modified crops into the Environment, part I // *Plant J.* — 2003. — **33**. — P. 1—18.
18. *Conner A.J. et al.* The release of genetically modified crops into the environment, part II // *Plant J.* — 2003. — **33**. — P. 19—46.
19. *Dehesh K.* How can we genetically engineer oilseed crops to produce high levels of medium-chain fatty acids? // *Eur. J. Lipid Sci. and Technol.* — 2001. — **103** (10). — P. 688—697.
20. *Potrykus J.* Golden rice and beyond // *Plant Physiol.* — 2001. — **125**. — P. 1157—1161.
21. *Barry G.F.* The use of the Monsanto draft rice genome sequence in research // *Plant Physiol.* — 2001. — **125** (3). — P. 1164—1165.
22. *Staub J. et al.* High-Yield Production of a Human Therapeutic Protein In Tobacco Chloroplasts // *Nature Biotechnol.* — 2000. — **18** (3). — P. 333—336.

Поступила 18.08.04