

БІОТЕХНОЛОГІЯ РОСЛИН ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ УМОВ ЖИТТЯ ЛЮДИНИ



В. А. КУНАХ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ
E-mail: kunakh@imbg.org.ua

Розглянуто сучасні напрями біотехнології рослин, їхню роль у створенні оптимальних умов проживання та вплив на тривалість життя людини. Проаналізовано стан біотехнологічних досліджень в Україні, внесок державних та громадських інституцій у подальший розвиток біотехнології рослин.

Ключові слова: біотехнологія рослин, здоров'я людини, клітинні технології, молекулярні технології, генетична інженерія, громадські організації біотехнологів рослин України.

Базовою потребою людини є здоров'я і тривалість повноцінного життя. За останні 2 тис. років середня тривалість життя людини неухильно зростала (рис. 1), що, безперечно, стало наслідком економічного, соціального і наукового прогресу людства. На цей час тривалість життя у розвинених країнах становить: для чоловіків — 74–77 років, для жінок — 80–83 роки, а в Україні — лише 61,5 і 72,6 року відповідно.

І здоров'я, і тривалість життя значною мірою залежать від умов проживання, які визначаються, передусім, рослинами. Окрім того, що саме рослини формують довкілля і становлять основу рекреаційного потен-

ціалу природи, вони є основою їжі, ліків, одягу, будівельних матеріалів, косметики, невичерпним відновлювальним джерелом енергетичних ресурсів тощо.

Проте сучасний стан довкілля, особливо в Україні, не дозволяє застосовувати більшість рослин як лікарську сировину і не лише як лікарську. Значна частина земель забруднена токсичними техногенними речовинами, у тому числі внаслідок Чорнобильської катастрофи. Тому для України майбутнє здоров'я населення та надії на життя і сталий розвиток у новому тисячолітті прямо залежать від профілактичної медицини, принципово нових і ефективних методів профілактики техногенних ендоекологічних захворювань.

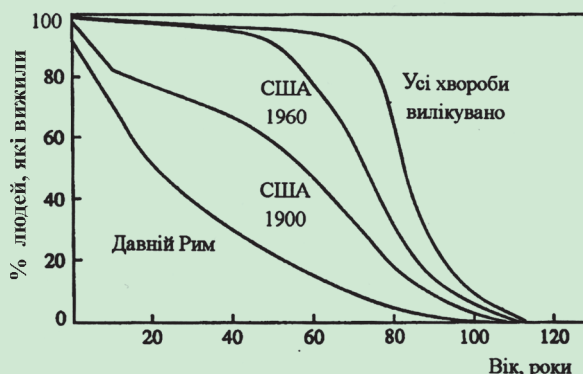


Рис. 1. Тривалість життя людини в середньому збільшується за поліпшення економічних умов.

У Давньому Римі середня тривалість життя становила 22 роки, у розвинених країнах на межі 19 і 20 ст. — 55 років, у 1960-х рр. у США — 75 років, а в 2004–2005 рр. — 76,7 року. Проте ці криві мають одне й те саме максимальне значення. Навіть якщо будуть винайдені ліки від усіх хвороб, наше тіло зношуватиметься за 115 років (за М. Minsky, 1994) [1]

Стреси та депресії є чинниками ризику виникнення практично всіх захворювань. Проте у практичній медицині інформація щодо цього майже не використовується. Разом з тим стресові ситуації на робочому місці щорічно коштують лише західноєвропейським роботодавцям близько 20 млрд. євро.

Для лікування і профілактики багатьох хвороб, а також як антистресові препарати й адаптогени застосовують головним чином препарати рослинного походження. Сьогодні, а надто в майбутньому, важливим джерелом екологічно чистої сировини лікарських рослинних препаратів може бути біомаса культивованих клітин. Вона може стати також джерелом харчової сировини контрольованої високої якості, за необхідності збагаченої (або позбавленої) мікроелементами, вітамінами, іншими біологічно активними речовинами.

За визначенням ВООЗ, «Здоров'я — це стан повного фізичного, психологічного й соціального благополуччя, а не лише відсутність хвороби чи фізичних вад». Це класичне визначення здоров'я, що його запропонував свого часу філософ Сігерест, має на увазі сприятливі умови проживання, повноцінне харчування та адекватне лікування. Саме на забезпечення цього була й буде спрямована біотехнологія загалом і біотехнологія лікарських рослин зокрема.

У сучасній біотехнології рослин виділяють три напрями:

- клітинні технології (технології, що ґрунтуються на використанні культури клітин, тканин та органів);
- молекулярні технології або ДНК-технології (молекулярні методи аналізу, створення генних конструкцій та аналіз їхніх регуляторних ефектів на експресію генів);
- одержання трансгенних рослин, трансгенез.

На основі цих технологій розробляються альтернативні джерела енергії, поліпшується довкілля, зберігаються зникаючі та створюються нові декоративні й сільськогосподарські рослини, а також нові форми ліків, дієтичного харчування тощо.

Розглянемо докладніше основні напрями сучасної біотехнології рослин і проаналізуємо стан розвитку їх в Україні.

Клітинні технології

Клітинна біотехнологія рослин ґрунтується на вирощуванні клітин, тканин або органів *in vitro* на штучних живильних середовищах (рис. 2).

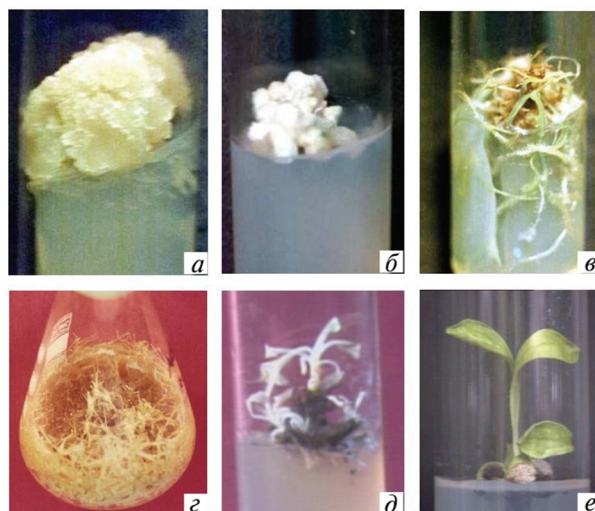


Рис. 2. Типи калюсних культур та культура органів рослин:
а — неорганізована калюсна тканина; б, в — морфогенні (органогенні калюси); г — культура коренів; д, е — культура ізолюваних пагонів

Унікальна особливість культивованих клітин — їхня тотипотентність, тобто здатність до регенерації цілісного організму (редиференціювання), — є основою прискороного мікроклонального розмноження та оздоровлення рослин, а також створення нових форм рослин методами клітинної селекції, генетичної інженерії тощо. Ізолювані клітини, тканини та органи рослин у культурі *in vitro* зберігають здатність до біосинтезу речовин спеціалізованого обміну і можуть бути джерелом економічно важливих продуктів метаболізму. Вони також спроможні до біотрансформації, тобто здатні перетворювати дешеві продукти переробки чи відходи на цінні продукти (рис. 3). Наразі у виробництві широко використовують культуру тканин і клітин для одержання як нових форм рослин, так і клітинної біомаси —



Рис. 3. Технології на основі культивованих *in vitro* клітин і тканин рослин

джерела біологічно активних речовин. Розглянемо деякі приклади детальніше.

Клітинні технології застосовують, у тому числі й в Україні, у селекції рослин, зокрема для одержання віддалених гібридів, створення гомозиготних диплоїдів (подвоєних гаплоїдів) і нових форм рослин (як соматоклональних варіантів, так і експериментальних мутантів), а також для прискореного мікроклонального розмноження та оздоровлення цінних генотипів. Тут найважливішими є два підходи: культура незрілих зародків дає змогу одержувати віддалені гібриди (інколи такі гібриди отримують також шляхом парасексуальної гібридизації, тобто злиттям протопластів), а культура ізольованих пиляків дозволяє одержувати гаплоїди. Застосування техніки гаплоїдизації в ранніх поколіннях після гібридизації припиняє формоутворювальний процес і дає змогу одержати чисті лінії, які можуть стати родоначальниками сортів.

Ці підходи в біотехнології, здобутки та проблеми, результати впровадження детально викладено в серії монографій, статей, дисертаційних робіт українських учених [2–12]. Слід зазначити, що сьогодні в Україні практично весь садивний матеріал картоплі, багатьох видів декоративних, квіткових і ягідних культур, підщепи та сорти плодкових і деяких технічних культур, наприклад хмелю, одержують переважно прискореним розмноженням і оздоровленням його в культурі *in vitro*. Технологія мікроклонального розмноження є дуже поширеною, оскільки вона дозволяє одержати за рік до 1 млн. одиниць оздоровленого садивного матеріалу від однієї вихідної рослини (рис. 4). На основі цієї технології зараз працюють навіть дрібні приватні підприємства, особливо ті, що вирощують садивний матеріал різних квіткових рослин. На сьогодні практично всі квіти троянд, гербери, гвоздик та ін., що надходять у продаж, — це результат мікроклонального розмноження *in vitro*.

На основі гаметоклональної мінливості, тобто спадкових змін, які виникають внаслідок культивування *in vitro* гаплоїдних клітин, переважно в культурі пиляків, у різних країнах створено понад 150 сортів рису, кілька десятків сортів ячменю, пшениці, інших злаків. А на основі соматоклональної мінливості, тобто спадкових змін, які виникають внаслідок культивування *in vitro* соматичних клітин, створено понад 30 сортів таких рослин, як пшениця, кукурудза, рис, петрушка, томати, різні сорти деко-

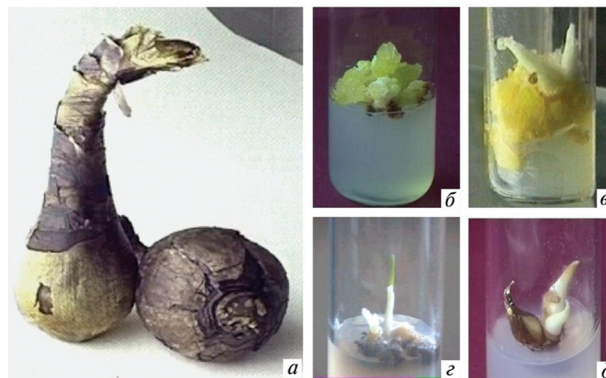


Рис. 4. Мікроклональне розмноження на прикладі рідкісної лікарської рослини угернія Віктора:
a — загальний вигляд природних цибулин (вік близько 40–50 років); *б* — первинний калюс, одержаний із лусок цибулини; *в* — індукція регенерації мікроцибулинок; *г, д* — різні етапи мультиплікації мікроцибулинок

ративних трав'янистих і квіткових рослин тощо.

Наприклад, у Південному біотехнологічному центрі в рослинництві (м. Одеса) за допомогою культури *in vitro* ізольованих зародків лише ярового ячменю одержано 6 сортів. Починаючи з 2001 р. два з них, а саме Прерія та Одеський 115, висівають в Україні на площі понад 600 000 га, вирощують його також у Російській Федерації [8, 11].

Нині для одержання нових форм рослин, у тому числі методами генетичної інженерії, широко застосовують клітинну селекцію [2, 4, 6, 8, 12, 13]. Вона ґрунтується на тому, що добір ведуть на клітинному рівні, добираючи окремі клітини з бажаними змінами, а потім регенерують з таких клітин рослини (рис. 5). Цей підхід істотно підвищує ефективність селекційного процесу — в одну чашку Петрі на селективне середовище висівають 10^4 – 10^5 клітин і добирають серед них з потрібними змінами. Постає питання: а яку площу поля зайняла б відповідна кількість рослин і яких це вимагало б трудовитрат?

Підсумовуючи викладене, слід зазначити, що на сьогодні в Україні практично всі наукові, науково-дослідні, селекційні заклади аграрного профілю, які працюють з рослинами, так само як і переважна більшість вищих навчальних закладів III–IV рівня акредитації, що здійснюють підготовку спеціалістів біологів, аграріїв та вчителів-біологів, а також наукові заклади НАН України біологічного профілю мають окремі групи, кафедри, лабораторії, відділи, де не лише проводять наукові дослідження, а й створюють

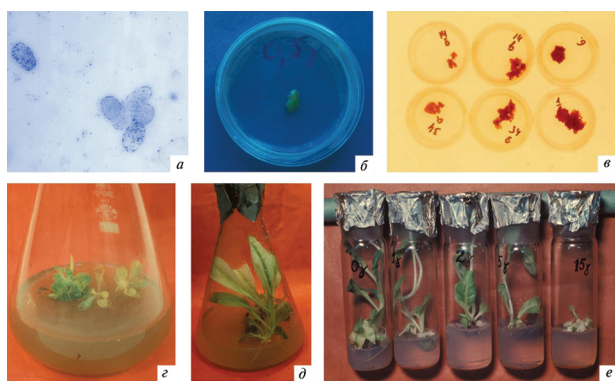


Рис. 5. Основні етапи клітинної селекції рослин:

a — окремі клітини, висіяні на селективне середовище; *b*, *в* — утворення мікроколоній на селективних середовищах; *г* — індукція регенерації із відселектованих колоній; *д* — укорінення регенерантів; *е* — перевірка одержаних регенерантів на стійкість до селективного чинника

нові форми рослин методами клітинної технології. Серед закладів аграрного профілю УААН найбільших успіхів досягли, на нашу думку, Селекційно-генетичний інститут, Південний біотехнологічний центр у рослинництві, Інститут картоплярства, Нікітський ботанічний сад, Інститут ефіроолійних і лікарських рослин, Інститут цукрових буряків, Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва, Миронівський інститут пшениці ім. В. М. Ремесла; серед закладів НАН України — Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії, Інститут фізіології рослин і генетики, Інститут молекулярної біології і генетики; серед вузів — Національний аграрний університет, Таврійський національний університет ім. В. І. Вернадського, Тернопільський педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Уманський аграрний університет.

Клітинна біотехнологія лікарських рослин та фітопрепаратів

Серед клітинних технологій в окрему галузь виділено біотехнологію одержання з біомаси культивованих *in vitro* клітин особливо цінних біологічних речовин для використання в косметичній, харчовій, а також у медичній промисловості. Зокрема, якщо раніше лікарською сировиною слугували лише цілі лікарські рослини або їхні частини, то тепер у багатьох випадках — біомаса ізольованих клітин або органів лікарських рослин, що вирощуються у стерильних умовах *in vitro*. Про переваги такої біотехнології лікарських рослин йдеться нижче.

У медицині сьогодні використовують понад 3 000 видів рослин, з них близько 100 спеціально вирощують, а решта — дикорослі. При цьому більшість цінних лікарських рослин є рідкісними або зникаючими видами; тропічні, субтропічні, альпійські тощо в Україні взагалі не ростуть. Крім того, різко скоротились і скорочуються далі ресурси вітчизняних лікарських рослин, що свого часу дозволяли Україні бути однією з провідних країн, в яких вирощувалась і заготовлялась рослинна сировина. Це відбувається, з одного боку, внаслідок різкого зменшення території для збирання дикорослих трав через хімічне і радіаційне забруднення [14], а з другого — через неможливість вирощування багатьох лікарських рослин у культурі через їхні біологічні особливості або несприятливі кліматичні умови. Саме тому дефіцитними стали навіть конвалія і валеріана. Схожа ситуація склалась і з тропічними та гірськими рослинами в місцях природного їх зростання.

Подібний стан стає характерним для багатьох країн світу. Власне, тому й виробники харчових домішок, косметики та ліків на основі рослинної сировини зазнають жорсткої критики з боку представників природоохоронних організацій. Аналіз ситуації в цій галузі свідчить, що багато видів рослин сьогодні знаходяться на межі зникнення внаслідок значно зрослих обсягів заготівлі, а також варварських методів збору рослинної сировини. Цю інформацію у звіті за 2003 р. навів Алан Гамільтон, який вивчає проблеми рослинного світу у Всесвітньому фонді дикої природи. Він зазначив, що із 50 тис. видів рослин, які застосовуються у виробництві вищезгаданої продукції, дві третини, як і за колишніх часів, збирають у природному середовищі, а тому від 4 до 10 тис. видів внаслідок цього можуть взагалі зникнути з лиця Землі. А. Гамільтон наголосив, що індустрія лікарських рослин, торговий оборот якої становить понад 20 млрд. дол. США, досягла велетенських розмірів і призводить до невідновних утрат довкілля.

Альтернативою тут можуть стати методи вирощування клітин, тканин та органів рослин у контрольованих умовах на штучних живильних середовищах, які дозволяють одержувати рослинну біомасу в необмеженій кількості. Вона може використовуватись як лікарська сировина, оскільки є екологічно чистою, не забрудненою хімічними добривами, пестицидами, гербіцидами, важкими металами, радіоактивними ізотопами тощо. Зокрема, лише в серії монографій

«Біотехнологія в сільському господарстві і лісництві» видавництва «Шпрінгер», започаткованій у 1986 році, із виданих на сьогодні 54 томів 13 присвячені лікарським та ароматичним рослинам [15]. Тут наведено конкретні результати біотехнологічних досліджень близько 300 родів лікарських рослин.

Роботи в цій галузі ведуться в багатьох розвинених країнах світу і передусім тих, де було започатковано дослідження з культурами ізольованих тканин рослин: США, Англії, Франції, Німеччині, Росії, а також у Японії, Індії, Китаї, Південній Кореї, Фінляндії, Угорщині й багатьох інших.

Не останнє місце тут посідає й Україна. Зокрема дослідження з метою створення клітинних штамів — продуцентів лікарської сировини — було розпочато в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України наприкінці минулого століття. За цей час у відділі генетики клітинних популяцій цього інституту самостійно та у співпраці з деякими науковими закладами Росії (Інститутом фізіології рослин ім. К. А. Тимірязєва РАН, Санкт-Петербурзькою хіміко-фармацевтичною академією, НДІ «Біотехнологія» та ін.) створено унікальні високопродуктивні штами женьшеню (рис. 6), родіоли рожевої, елеутерококу, полісціасу папоротелистого, ряду тропічних видів раувольфії, у тому числі раувольфії зміїної, арнебії барвної, унгернії Віктора, маку приквітничкового, рути запашної та інших видів цінних лікарських рослин. На їх основі методами

клітинної біотехнології створено перший у світі рослинний лікарський препарат «Біоженьшень», у промислових умовах апробовано технологію одержання протиаритмічного алкалоїду аймаліну, розпочато випробування препаратів з антимурагенними та радіопротекторними властивостями з біомаси клітин деяких лікарських рослин, зокрема женьшеню, золотого кореня, полісціасу папоротелистого, унгернії Віктора тощо. Розробляються технології одержання лікарських препаратів із рослин, які в Україні не ростуть, але мають надзвичайно велике значення для медицини [4].

На основі методів клітинної біотехнології створюється також лікарська рослинна сировина з новими властивостями. Наприклад, вирощування клітин у повністю контрольованих умовах дозволяє в разі потреби насичувати біомасу будь-якими макро- чи мікроелементами, певною мірою регулювати її вітамінний та амінокислотний склад. Методами генетичної інженерії в одній клітині чи рослині можна поєднувати властивості кількох рослин (можливо, це вирішить проблему рослинних лікарських зборів). Наукові дослідження в цьому напрямі проводять в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, а також в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України.

Переходячи до оцінки сьогоденного стану в галузі біотехнології лікарських рослин і фітопрепаратів, варто звернути увагу на те, що нині відомо понад 100 000 вторинних метаболітів рослинного походження [16]. Однак вивчено фармакологічну дію далеко не всіх цих сполук. Проте в культуру *in vitro* вже введено переважну більшість видів рослин, які відомі як джерело вторинних метаболітів, що становлять чи можуть становити інтерес у майбутньому. Як уже зазначалось, детально описано особливості культури тканин лікарських рослин із майже 300 родів [15]. Деякі з таких культур накопичують у 10–30 разів більше цільового продукту, ніж природні рослини. Відомі приклади, коли кількість вторинного метаболіту перевищує його вміст у рослині в 100 разів, як це описано, наприклад, для клітин раувольфії зміїної, які здатні накопичувати до 20% алкалоїду аймаліну [4]. За достатньої продуктивності культури і собівартості кінцевого біотехнологічного продукту (наприклад, для аймаліну — 1 500 дол. США за 1 кг, шиконіну — близько 4 000, камптотетину і його похідних — 5 000–25 000) такі технології є рентабельними (ціна протиух-



Рис. 6. Природний корінь женьшеню і культура тканин женьшеню (а) та фармакологічні препарати, створені на основі культури тканин (б)

линного алкалоїду таксолу, що накопичується деякими деревними рослинами роду *Taxus*, перевищує 200 000 дол. США за 1 кг). Культури таких клітин вирощують у промислових масштабах, а одержану сировину використовують для виробництва, у тому числі й лікарських форм. Сьогодні при розробленні нового фітопрепарату чи препарату на основі природних сполук рослинного походження практично невідоме походження сировини — це природні рослини чи культивовані *in vitro* органи, тканини, клітини. Більшість патентів на такі продукти, у тому числі ліки, як джерело сировини зазначають одночасно й інтактні рослини, і клітинну біомасу, вирощену *in vitro*.

Однак більшість відомих на цей час клітинних ліній є малопродуктивними, порівняно низький вихід цільових вторинних метаболітів зумовлює економічну недоцільність таких технологій. Наприклад, культивовані клітини практично не синтезують такі сполуки, як вінбластин, вінкрисдин, тропанові та морфіанові алкалоїди [4, 15, 16]. Для підвищення продуктивності широко і здебільшого успішно застосовують клітинну селекцію, що ґрунтується як на спонтанній, так і на індукованій різними мутагенами мінливості культивованих клітин; оптимізацію умов вирощування та складу ростових і продукційних живильних середовищ; культивування диференційованих культур клітин чи індукцію диференціювання; еліситори тощо. Останнім часом із цією метою ширше застосовують методи і підходи генетичної інженерії. Найрезультативнішою тут виявилась трансформація клітин за допомогою бактерії *Agrobacterium rhizogenes* і одержання так званих «бородатих коренів» (*hairy roots*), продуктивність яких значно вища, ніж звичайних недиференційованих культур [17, 18]. Вивчають також шляхи підвищення синтезу вторинних метаболітів підсиленням активності відповідного ферменту. Це можливо шляхом введення гетерологічного гена з тією самою функцією від мікроорганізмів чи інших видів рослин, підставлення власного гена під більш сильний промотор, введення гена, що кодує нечутливі до ретроінгібування ферменти або гена, який кодує антитіла проти ензиму, що є конкурентом за той самий субстрат, що й бажаний ген, зниження катаболізму цільових вторинних сполук. Опис техніки таких робіт та деякі приклади одержаних результатів можна віднайти в монографіях [13, 18].

Завданням майбутніх досліджень, здатних перетворити все це певною мірою екзо-

тичну біотехнологію лікарських рослин і фітопрепаратів на рутинну промислову технологію, є, на нашу думку, поглиблене вивчення генетики вторинного метаболізму, виділення та клонування відповідних генів, що дозволить створювати високопродуктивні штами із застосуванням сучасних методів клітинної селекції і генетичної інженерії, подальше удосконалення промислової технології вирощування ізольованих органів, тканин і клітин рослин, на основі передусім її спрощення, здешевлення технологічного обладнання біотехнологічних виробництв. Перспективними є також роботи з метаболічної інженерії рослин, спрямовані на підвищення продукування вторинних метаболітів [16, 19].

Молекулярні біотехнології або ДНК-технології

Такі технології є платформою геноміки та біоінформатики, потужним інструментом для вирішення широкого кола завдань. Молекулярні технології, зокрема, дозволяють:

- виявляти та оцінювати поліморфізм ДНК, а також особливості його виникнення;
- вивчати структуру й еволюцію генома та генофондів; бути додатковим інструментом у таксономії, систематиці та селекції;
- використовувати дані ДНК-поліморфізму в селекції, зокрема за допомогою молекулярно-генетичних маркерів картувати головні гени кількісних ознак (*QTL*) і проводити маркерасоційовану селекцію (*MAS*);
- розробляти молекулярні паспорти сортів;
- визначати точну фізичну локалізацію клонованих послідовностей ДНК на хромосомі або на її фрагментах;
- створювати фізичні карти генома або окремих хромосом;
- створювати банки генів;
- спостерігати за долею цілого генома при спрямованій селекції або його елементів у разі інтродукції їх в інший геном;
- виявляти наявність патогенів, трансгенів тощо;
- вивчати процеси фізичної рекомбінації та виділяти нові рекомбінантні форми ДНК;
- створювати генні конструкції та аналізувати їхні регуляторні ефекти на експресію різних генів;
- вивчати молекули ДНК із різною топологією тощо.

Використання молекулярно-генетичних маркерів відкрило широкі перспективи

в селекції рослин. Завдяки аналізу безпосередньо самого генома, а не продуктів його життєдіяльності, ДНК-маркери значно перевершують за специфічністю, роздільною здатністю й точністю фенотипні, зокрема білкові, маркери.

Сьогодні найефективнішим вважається аналіз за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР-аналіз), який дозволяє досліджувати молекулярно-генетичний поліморфізм із найменшими витратами часу й матеріалів. Широке розмаїття різновидів ПЛР-аналізу, висока технологічність, забезпечення комп'ютерними програмами сприяють вирішенню багатьох проблем у генетико-селекційних дослідженнях. Залежно від мети добирається домінантний або кодомінантний, моно- або полілокусний, бі- чи поліалельний тип маркера, який забезпечує потреби дослідження.

У цій галузі українські вчені змогли зберегти позиції, що відповідають сучасному рівню досліджень, і не лише в інститутах НАН України, але й в інститутах аграрного профілю та в деяких вищих навчальних закладах. Можна навіть вважати, що в багатьох закладах молекулярні біотехнології успішно розвиваються. Наприклад, згідно з даними Ю. М. Сиволапа [11] у Південному біотехнологічному центрі в рослинництві розроблено повну технологію використання ПЛР у генетиці, селекції та насінництві пшениці, ячменю, кукурудзи, сої, сояшнику та винограду. Вперше у СНД видано науково-методичний посібник на цю тему, ПЛР-технології впроваджуються в інститути УААН.

ПЛР-технологія здатна суттєво модернізувати й підвищити ефективність селекції рослин. Так, ДНК-технології визначення рослин винограду, хворих на бактеріальний рак, уперше були використані в Інституті виноградарства і виноробства ім. Таїрова та в Інституті винограду і вина «Магарач». (На Заході подібні методики з'явилися пізніше, однак застосовуються й дотепер). В Україні проблема бактеріального раку набагато гостріша, ніж у Західній Європі, де м'який клімат і щадні методи оброблення ґрунту не призводять до утворення ранової поверхні. Проте апробовані досягнення вітчизняної біотехнології виявились сьогодні не затребуваними.

Важливі результати одержано також у Національному аграрному університеті під керівництвом М. Д. Мельничука, де розроблено шляхи виявлення в рослинах та у продуктах харчування трансгенів, патогенів тощо [10].

Одержання трансгенних рослин, трансгеноз

Трансгенні рослини — це організми, які містять у своєму геномі рекомбінантний ген (гени). Генетична інженерія дає змогу виділяти ділянки ДНК, які містять потрібні гени, та вводити їх у геном рослин. У такий спосіб одержують рослини, стійкі проти шкідників і гербіцидів, вірусів, грибних патогенів, бактеріозів, абіотичних стресових чинників, з підвищеною загальною продуктивністю, з покращеною якістю рослинної продукції, поліпшеним зберіганням тощо. У рослини вводять гени, які контролюють білки тварин, людини, у тому числі гени, продуктами яких є лікарські речовини тваринного походження, інші важливі компоненти.

Зараз у світовій науці спостерігається бурхливий розвиток таких напрямів генетичної інженерії рослин:

- ізолювання та клонування нових генів;
- створення різноманітних генетичних конструкцій;
- застосування антисмислових конструкцій нуклеїнових кислот.

З практичною метою методи генетичної інженерії застосовують для:

- створення нових форм трансгенних рослин у сільському господарстві, квітництві та озелененні, лісівництві;
- одержання вакцин та інших фармацевтичних препаратів;
- створення і використання трансгенних рослин у фіторемерації (очищенні ґрунтів, ґрунтових вод від поллютантів: важких металів, радіонуклідів, інших шкідливих сполук) та біодеградації.

Зокрема, проведено молекулярне клонування багатьох генів, які кодують біосинтетичні шляхи важливих для медицини алкалоїдів. Ці гени уведено в різні рослини і в культивовані клітини, де вони експресуються [16, 19, 20]. Результати таких досліджень дають підстави говорити про започаткування нового напрямку — метаболічної інженерії біосинтезу рослинних алкалоїдів.

Інтенсивно розвивається такий напрям, як генетична трансформація пластидної ДНК, яка має низку переваг порівняно з ядерною трансформацією. Підвищений інтерес до цієї технології зумовлюється такими її особливостями:

- поліцистронний тип експресії дозволяє вводити відразу декілька генів у одну трансформовану систему;
- багатокопійність хлоропластного генома сприяє накопиченню великої кількості білка;

- материнський тип успадкування пластид зменшує ризик розповсюдження трансгенів у довкіллі;
- наявність у хлоропластах механізмів гомологічної рекомбінації дає змогу вбудувати трансген у визначене місце пластома.

Розвиток цього напрямку біотехнології рослин є перспективним для її широкого застосування у створенні систем накопичення корисних білків, істивних вакцин, стійких до біотичних та абіотичних стресових чинників рослин тощо. Наразі вже вбудовані у пластом тютюну гени синтезу соматотропіну, сироваткового альбуміну людини, інсуліну, холерного токсину, біополімерів, що зазнають біодеградації, а також гени стійкості до посухи, комах, грибів, гербіцидів. Одержано хлоропластні трансформанти для деяких видів сільськогосподарських рослин, зокрема картоплі та томата [20].

Виробництво фармацевтичних білків, антитіл, вакцин на основі генно-інженерних підходів є яскравим прикладом тих переваг, які має сучасна біотехнологія рослин. Такі білки та пептиди називають рекомбінантними, тому що їх одержують з використанням технології рекомбінантних молекул ДНК. Очевидно, першим практичним результатом у цій галузі слід вважати патент фірми Calgene на експресію інтерферону миші у клітинах рослин. Згодом була встановлена можливість синтезу імуноглобулінів у листках трансгенних рослин, інших білків людини і тварин.

Рослина як природний «біореактор» з виробництва важливих для медицини рекомбінантних білків має певні переваги порівняно з клітинами тварин, людини та мікроорганізмів:

- рекомбінантні білки, синтезовані в рослині, не потрібно піддавати денатурації та ресинтезу;
- рослини здатні не лише до синтезу і збирання, а й до глікозилювання білків тварин; це є абсолютно необхідним для синтезу антитіл і деяких інших функціонально повноцінних білків;
- рослини, порівняно із клітинами ссавців і трансгенними тваринами, забезпечують значне здешевлення виробництва рекомбінантних білків, причому без обмежень, пов'язаних зі зростанням обсягів такого виробництва; наприклад, якщо середня вартість очищених пептидів, створених за допомогою інших сучасних методів, становить 100 тис. — 1 млн. дол. США за 1 кг, то їхня вартість

у разі одержання із трансгенних рослин — 1 тис. дол. за 1 кг;

- у препаратах, вироблених із рослин, порівняно з препаратами тваринного чи мікробного походження, значно менше або й зовсім відсутні небажані віруси та пріони; відсутні домішки, що справляють алергенну, імуносупресивну, канцерогенну, тератогенну дію на організм людини; це зумовлює порівняну легкість очищення синтезованих рослинами фармацевтичних пептидів;
- під час вживання сирих овочів і фруктів, що містять гени, які кодують синтез білків-вакцин, відбувається імунізація організму.

Системи швидкого перепрограмування рослин постійно удосконалюються. Наприклад, внесення генетичного матеріалу в рослини можна здійснювати шляхом агробактеріальної інфільтрації. У цьому разі генетичний матеріал потрапляє у клітину після ін'єкції в листки рослини агробактерій, які містять відповідний вектор. Агробактерії переносять свою Т-ДНК у клітини мезофілу листка. У Т-ДНК агробактерій вбудовано кДНК, одержану на основі необхідних для утворення і проліферації вірусу ділянок вірусної РНК, а також ген (гени) рекомбінантного білка. У рослинних клітинах утворюється РНК після зчитування Т-ДНК. Далі відбувається процес, аналогічний зараженню вірусними РНК. Такий підхід дає змогу обходитись без синтезу РНК у безклітинній системі, а також використовувати не лише цілісні, а й розділені ділянки генів, які клоновано в різні штами бактерій. Ці гени остаточно збираються всередині рослинної клітини після одночасної інфільтрації цими штамами агробактерій. На основі описаних технологій створено трансгенні рослини, які використовують для виробництва оральних вакцин. Сучасні способи одержання рекомбінантних фармакологічно активних білків у рослинах та приклади їх застосування детально розглянуто в роботі [20].

Таким чином, біотехнологія вже допомагає лікувати різноманітні хвороби, розвиваючи і поліпшуючи методи терапії. Саме біотехнологія дала нам методи лікування кардіологічних хвороб, атеросклерозу, гемофілії, гепатиту, СНІДу тощо. Сьогодні створюються біотехнологічні продукти харчування, які зроблять дешевими та доступними для найбіднішої частини населення планети життєво необхідні вітаміни і вакцини. Збільшуючи поживну цінність продуктів харчування, біотехнологія водночас

дає змогу поліпшити якість харчування. Так, вже створюються сорти рису та кукурудзи з підвищеним вмістом білків; сорти ріпаку, сої та кукурудзи зі зменшеним вмістом олій. Окрім того, генетичну інженерію можна застосовувати для виробництва продуктів харчування з підвищеним вмістом вітаміну А, що допоможе вирішити проблему сліпоти у країнах, які розвиваються. Генетична інженерія також пропонує інші переваги для здоров'я, адже сьогодні вже розроблено методи, які дозволяють видаляти певні алергенні білки з продуктів харчування або запобігати їх передчасному псуванню [13, 21, 22].

Проблеми безпечного використання трансгенних рослин (біобезпека)

Серед цих проблем головними, на нашу думку, є:

- оцінка потенційного ризику вертикального та горизонтального перенесення генів під час вивільнення у природу трансгенних (генетично модифікованих) рослин;
- ретельне вивчення безпечності трансгенних рослин з вірусними послідовностями та менеджмент таких рослин, особливо тих, що містять гени *Bacillus thuringiensis*, які кодують інсектицидні білки (*Bt*-гени);
- пошук нових маркерних генів;
- розроблення правил вивільнення трансгенних рослин у навколишнє середовище;
- затвердження консенсусних документів з біобезпеки окремих форм трансгенних рослин культурних видів;
- розроблення методології посткомерційного моніторингу трансгенних рослин.

Біотехнологічні продукти, що їх створено та вже зареєстровано в багатьох розвинених країнах світу відповідними органами, є безпечними. Інформація, яку ми на сьогодні маємо, свідчить, що комерціалізовані продукти біотехнологій так само безпечні для людини і довкілля, як і традиційні продукти харчування. Відповідні регулюючі національні органи постійно удосконалюють процедури оцінки гарантованості безпеки біотехнологічних продуктів, і в разі існування наукових доказів загрози таких продуктів для здоров'я людини їх було б вилучено з міжнародних ринків.

Останнім часом у вітчизняних колах ведеться широка дискусія щодо перспектив використання трансгенних (генетично модифікованих) рослин в Україні [21–23], однак

вона далеко не завжди спирається на професійну точку зору спеціалістів.

При цьому не слід ігнорувати слушні побоювання стосовно можливого впливу трансгенних рослин на довкілля. Цілком очевидно, що йдеться передусім про можливі довгострокові екологічні наслідки їх використання та облік екологічних характеристик того чи іншого регіону (це стосується й України загалом). Але з'ясування цього можливе лише за умов застосування наукового моніторингу в широкомасштабних промислових випробуваннях нових організмів або використання їх в обмеженому режимі (на підконтрольних площах).

У цій ситуації всі зацікавлені верстви суспільства мають бути відкриті для діалогу, що базувався б на наукових даних, і проходив би з конструктивною участю цих самих сторін. Водночас спільнота не може бути позбавлена права на вибір нових продуктів харчування внаслідок дезінформації, котра викликає необґрунтовані побоювання. Точна та достовірна інформація щодо безпеки біотехнологічних продуктів має бути доступною всьому населенню. Прозорість прийняття рішень — головна складова цього процесу для зростання довіри суспільства до науки.

Утім, незважаючи на відсутність поки що власного закону в галузі біобезпеки, в Україні практично склалися основні елементи системи біобезпеки. Для подальшого розвитку її інфраструктури знов-таки потрібен конструктивний діалог усіх зацікавлених сторін, подальший розвиток ефективного законодавства з урахуванням не тільки принципів Картагенського протоколу з біобезпеки, але й оновлених директив Європейського Союзу, рекомендацій ВООЗ та досвіду передових країн світу.

Державні науково-технічні та академічні програми, спрямовані на підтримку біотехнологічних досліджень рослин

В Україні значення біотехнологічних досліджень цілком адекватно оцінюється як суспільством загалом, так і керівними органами країни. І хоча фінансова підтримка з боку держави є незначною, вона все ж таки дає можливість підтримувати такі дослідження на мінімальному рівні. Про це свідчить і фінансування деяких напрямів досліджень. Зокрема, протягом чотирьох років функціонувала Державна науково-технічна програма «Біотехнологія рослин та біобезпека» (2002–2006 рр.), у рамках якої фінансується, хоч і в україн незначних

обсягах, 7 проектів найвищої пріоритетності, відібраних за результатами величезного конкурсу.

У Національній академії наук України існують відомчі проекти та програми, які теж додатково фінансуються. Так, у Секції хімічних і біологічних наук виконується 10 проектів у рамках комплексної програми наукових досліджень «Новітні медико-біологічні проблеми та навколишнє середовище людини» (2002–2006). У біологічних відділеннях НАН України існували додаткові програми, наприклад у Відділенні загальної біології — «Генетична та клітинна інженерія як основа для нової зеленої революції» (2002–2006), а у Відділенні молекулярної біології, біохімії, експериментальної і клінічної фізіології — «Молекулярні основи функціонування генома та його реалізація» (2002–2006). Нині формуються програми на наступні роки.

Подібна, й так само дуже незначна, підтримка біотехнологічних досліджень надається також у системі УААН та Міністерства освіти і науки.

Роль наукових громадських організацій

В умовах відомого ставлення державних органів до науки загалом і до біотехнології рослин зокрема істотно зростає роль громадських організацій учених, діяльність яких спрямована на координацію та об'єднання зусиль дослідників, наприклад шляхом проведення наукових конференцій, засідань, видання наукових праць тощо.

В Україні створено низку таких наукових організацій, які об'єднують у тому числі й біотехнологів рослин:

- Всеукраїнська асоціація біологів рослин (президент — академік НАН України Д. М. Гродзинський);
- Всеукраїнське ботанічне товариство (президент — академік НАН України К. М. Ситник);
- Українське товариство фізіологів рослин (президент — академік НАН України В. В. Моргун);
- Українське товариство генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова — УТГіС (президент — член-кореспондент НАН України В. А. Кунах);
- Українське товариство клітинних біологів та біотехнологів (співпрезиденти — академік НАН України Ю. Ю. Глеба і академік НАН України Я. Б. Блум);
- Українське товариство клітинної біології (президент — член-кореспондент НАН України А. А. Сибірний);

- Українське молекулярно-біологічне товариство (президент — академік НАН України Г. В. Єльська) та ін.

Ці товариства виконують певну координуючу роль серед дослідників у галузі біології, зокрема генетики, селекції та біотехнології рослин. Оскільки автор є президентом Українського товариства генетиків і селекціонерів, зупинимось на діяльності саме цього товариства, що існує лише за рахунок членських внесків і проводить таку наукову і науково-організаційну роботу.

У 2001 р. УТГіС ім. М. І. Вавилова коштом членів товариства та добродійних внесків опублікувало унікальну наукову працю «Генетика і селекція на межі тисячоліть» (у чотирьох томах; головний редактор — В. В. Моргун; К.: Логос; загальний обсяг видання — 214 д. а.). У цих томах зібрано практично всі наукові здобутки українських учених, а також учених деяких країн СНД в галузі генетики, селекції і біотехнології.

Товариство видає (з 2003 р.) науковий журнал «Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів», який ВАК України затвердила як фаховий, періодичність журналу — два номери на рік обсягом 10–12 д. а. кожен; збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів» (т. 1 — 2003 р., 27 д. а.; т. 2 — 2004 р., 24 д. а.; т. 3 — 2006 р., 41 д. а.), збірник наукових праць «Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології» (2 томи, 72 д. а., 2007 р.). За останні 5 років товариство організувало і провело такі наукові конференції:

- 2002 р., листопад, «Генетично модифіковані рослини — перспективи та проблеми» (м. Київ);
- 2003 р., червень, IV Міжнародна конференція «Геном рослин» (м. Одеса);
- 2003 р., жовтень, I Міжнародна конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів» (м. Алушта);
- 2004 р., вересень, II Міжнародна конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів» (м. Алушта);
- 2005 р., лютий, «Проблеми екогенетики в Україні» (м. Яремча);
- 2005 р., грудень, «Біотехнологія в сільському господарстві і медицині» (м. Київ);
- 2006 р., вересень, III Міжнародна конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів» (м. Алушта);
- 2007 р., вересень, VIII з'їзд УТГіС ім. М. І. Вавилова (м. Алушта).

Переважно за рахунок добродійних внесків або ж навіть власним коштом останніми

роками в Україні опубліковано низку монографій з генетики, селекції і біотехнології рослин [2–4, 18, 21, 23, 24].

Разом з тим можливості українських учених у галузі сучасних напрямів біотехнології рослин досить обмежені. Незважаючи на попередні досягнення в біотехнології рослин, держава недостатньо фінансує її подальший розвиток. Утім, автор цієї статті не має на меті рекомендувати тут шляхи виходу із цієї ситуації, яка, безумовно, вже негативно позначається на розвитку продуктивних сил суспільства і матиме ще більший вияв у найближчому майбутньому. Зокрема, за прогнозами екологів, через 40–50 років залежність України від завезення продуктів рослинного і тваринного походження для харчових, лікарських та промислових потреб може виявитися відчутнішою, ніж залежність від імпорту нафти й газу.

І насамкінець, варто наголосити, що саме створення сприятливих умов проживання, повноцінного харчування, адекватного лікування, профілактики й корекції стресів, старіння і тісно пов'язаних з ним вікових хвороб, які ґрунтуються передусім на використанні природних сполук переважно рослинного походження, за умов належного застосування їх може сприяти наближенню до максимально можливої тривалості життя настільки, щоб досягнення її середнього показника 90–100 років стало реальністю. Водночас слід виходити з того, що похилий вік не повинен обертатися убогим старечим існуванням, навпаки, це мають бути повноцінні, плідні й не позбавлені радощів життя роки.

Наразі для поліпшення умов життя людини широко застосовують сучасні методи біотехнології. У найближчому майбутньому чи не найважливішим джерелом екологічно чистої і якісної рослинної сировини для харчової, фармацевтичної, косметичної, текстильної, переробної, будівельної та інших галузей промисловості, а також нових форм рослин для лісівництва, озеленення, очищення довкілля, одержання біопалива тощо можуть бути лише рослинні біотехнології. І біотехнологи України готові до вирішення цієї проблеми.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Minsky M.* Will robots inherit the Earth? // *Sci. Amer.* — 1994. — V. 271. — N4. — P. 109–113.
2. *Кучко А. А., Олійник Т. М.* Соматоклональна мінливість у картоплі. — К.: Довіра, 1998. — 192 с.
3. *Здруйковская-Рихтер А. И.* Эмбриокultura изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. — Ялта: Никитский ботсад, 2003. — 368 с.
4. *Кунах В. А.* Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. — К.: Логос, 2005. — 730 с.
5. *Кушнір Г. П., Сарнацька В. В.* Мікрোকлональне розмноження рослин. Теорія і практика. — К.: Наук. думка, 2005. — 272 с.
6. *Гірко В. С.* Нетрадиційні методи створення селекційного матеріалу пшениці: Дис. ... докт. сільськогосподарських наук: 06.01.05. — Миронівка, 1999. — 305 с.
7. *Чеченева Т. М.* Спонтанна та індукована мінливість кукурудзи *in vitro*: Дис. ... докт. біол. наук: 03.00.15. — К., 2003. — 302 с.
8. *Ігнатова С. І.* Біотехнологічні основи одержання гаплоїдів, віддалених гібридів і соматичних регенерантів зернових і бобових культур в різних системах *in vitro*: Дис. ... докт. біол. наук: 03.00.20. — Одеса, 2004. — 435 с.
9. *Дубровна О. В.* Мінливість геному буряків (*Beta vulgaris* L.) за інбридингу та в культурі *in vitro*: Дис. ... докт. біол. наук: 03.00.15. — К., 2005. — 375 с.
10. *Мельничук М. Д.* Молекулярно-біологічне вивчення геномних і реплікативних РНК фіто- та міковірусів як основа для створення рослинних біотехнологій: Дис. ... докт. біол. наук: 03.00.06; 03.00.20. — К., 2006. — 297 с.
11. *Сиволап Ю. М.* Биотехнология и растениеводство // *Современные биотехнологии — вызов времени.* — К.: РА NOVA, 2002. — С. 92–101.
12. *Сидоров В. А.* Биотехнология растений. Клеточная селекция. — К.: Наук. думка, 1990. — 280 с.
13. *Кучук Н. В.* Генетическая инженерия высших растений. — К.: Наук. думка, 1997. — 152 с.
14. *Кузнецова Е. Ю., Сурова Н. А.* Экологические проблемы заготовки лекарственного сырья в условиях Крыма. Перший Всеукраїнський з'їзд екологів (Вінниця, 4–6 жовтня 2006 р.): Тези доповідей. — Вінниця: Універсум, 2006. — С. 139.
15. *Biotechnology in Agriculture and Forestry / Ed. J.P.S. Bajaj.* — Berlin: Springer etc., 1986–2003. — V. 1–54.

16. Verpoorte R., van der Heijden, ten Hoopen H.J.I., Memelink J. Metabolic engineering for the improvement of plant secondary metabolite production // Plant tissue culture and biotechnology. — 1998. — V. 4, N 1. — P. 3–20.
17. Lee K. T., Suzuki T., Yamakawa T. et al. Production of tropane alkaloids by transformed root cultures of *Atropa belladonna* in stirred bioreactors with stainless steel net // Plant Cell Repts. — 1999. — V. 18. — P. 567–571.
18. Левенко Б. А. Трансгенные растения: современное состояние, проблемы, перспективы. — К.: Дошкольник, 2000. — 304 с.
19. Sato F., Hashimoto T., Hachiya A. et al. Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2001. — V. 98, N 1. — P. 376–372.
20. Кучук Н. В. Способы получения рекомбинантных фармацевтических белков в растениях // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2003. — №1. — С. 55–61.
21. Блюм Я. Б. Предисловие // Современные биотехнологии — вызов времени. — К.: РА NOVA, 2002. — С. 3–8.
22. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. — К.: Поліграф-Консалтинг, 2003. — 520 с.
23. Сорочинський Б. В., Данильченко О. О., Кріпка Г. В. Генетично модифіковані рослини. — К.: Фітосоціоцентр, 2005. — 204 с.
24. Тищенко Е. Н., Дубровная О. В. Эпигенетическая регуляция. Метилирование ДНК генов и трансгенов растений. — К.: Логос, 2004. — 233 с.

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ УСЛОВИЙ ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА

В. А. Кунах

*Институт молекулярной биологии
и генетики НАН Украины, Киев
E-mail: kunakh@imbg.org.ua*

Рассмотрены современные направления биотехнологии растений, их роль в создании оптимальных условий проживания и влияние на продолжительность жизни человека. Проанализировано состояние биотехнологических исследований в Украине, вклад государственных и общественных организаций в дальнейшее развитие биотехнологии растений.

Ключевые слова: биотехнология растений, здоровье человека, клеточные технологии, молекулярные технологии, генетическая инженерия, общественные организации биотехнологов растений Украины.

PLANT BIOTECHNOLOGY FOR HUMAN LIFE IMPROVEMENT

V. A. Kunakh

*Institute of Molecular Biology and Genetics of
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
E-mail: kunakh@imbg.org.ua*

Current trends in plant biotechnology, their role in creating optimal conditions for habituation and influence on human life span have been reviewed. The state of biotechnological investigations of Ukraine, contribution of the state and public institutions to further development of plant biotechnology were analyzed.

Key words: plant biotechnology, human health, cell technologies, molecular technologies, genetic engineering, public organizations for plant biotechnologists of Ukraine.