



КУЧУК
Микола Вікторович — академік НАН України, директор Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ГЕННО-ІНЖЕНЕРНИХ РОСЛИННИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ

Стенограма доповіді на засіданні Президії НАН України 25 січня 2023 року

У доповіді наведено результати фундаментальних та прикладних наукових досліджень Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, спрямованих на розвиток рослинних біотехнологій для аграрного сектору економіки та фармацевтики, зокрема на створення біотехнологічних рослин сільськогосподарського та медичного призначення.

Шановний Анатолію Глібовичу!
Шановні члени Президії!

Моя доповідь присвячена розвитку генно-інженерних рослинних біотехнологій. Спочатку розглянемо застосування рослинних біотехнологій в аграрному виробництві.

Сьогодні у світі все помітнішими стають наслідки так званої «зеленої революції», пов'язаної насамперед зі створенням нових високоврожайних сортів сільськогосподарських культур. За останні пів століття сформувалася нова наукова дисципліна — генетична інженерія, яка, використовуючи методи молекулярної та клітинної біології, розв'язує проблему створення рослин з новими корисними ознаками на принципово новому методологічному рівні. Зокрема, у плідній співпраці з Інститутом фізіології рослин і генетики НАН України вивчено закономірності успадкування низки ознак формування якості зерна, стійкості та продуктивності рослин, розроблено протоколи молекулярного ДНК-аналізу селекційних популяцій. З використанням методів молекулярної генетики створено та впроваджено нові сорти Смуглянка, Золотоколосо, Фаворитка, Астарта, які забезпечили отримання рекордних урожаїв зерна — 124–140 ц/га. Однак ці сорти не є генетично модифікованими рослинами.

Зараз у світі чітко простежується тенденція до збільшення використання трансгенних рослин у сільському господарстві.

Так, за даними на 2020 р., глобальні площі, зайняті генетично модифікованими рослинами, становили приблизно 190 млн га. З усіх сільськогосподарських культур, що висіваються, трансгенними є 89 % бавовни, 77 % сої, 32 % кукурудзи, 30 % ріпаку. Причому за 26 років широкого використання трансгенних рослин у США, Аргентині, Бразилії, Канаді та Індії жодного випадку негативного впливу на здоров'я людини або на навколишнє середовище не було зафіксовано.

Нещодавно Верховна Рада України прийняла в першому читанні проєкт Закону України «Про державне регулювання генетично-інженерної діяльності та державний контроль за обігом генетично модифікованих організмів і генетично модифікованої продукції для забезпечення продовольчої безпеки» (№ 5839 від 05.08.2021), який має врегулювати питання реєстрації та вивільнення у навколишнє середовище генетично модифікованих рослин і відкрити нові можливості для дослідників. Наразі триває підготовка до другого читання. У разі ухвалення цей закон може стати підґрунтям для практичного використання та впровадження у виробництво генно-модифікованих рослин, створених як іноземними біотехнологічними компаніями, так і українськими вченими.

Зі становленням напряму генетичної інженерії рослин в Україні тісно пов'язана історія Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. У 80-х роках ХХ ст. група українських вчених під керівництвом академіка НАН України Ю.Ю. Глеби одними з перших у світі оприлюднили результати досліджень зі створення трансгенних рослин і соматичних гібридів. З метою розвитку цих досліджень Президія НАН України прийняла рішення про створення Інституту клітинної біології та генетичної інженерії. Відтоді в Інституті успішно проведено генетичну трансформацію великої кількості видів сільськогосподарсько цінних і лікарських видів рослин, а сформована школа і накопичений досвід дають підстави стверджувати, що там працюють найкращі в Україні фахівці в цій галузі.

Зокрема, в Інституті створено технологію отримання картоплі з генами екстраклітинних рибонуклеаз. Як відомо, картопля часто потерпає від вірусних захворювань, а такі генно-модифіковані рослини є набагато стійкішими проти вірусів.

Ми також розробили технології редагування геному біотехнологічних рослин спельти (*Triticum spelta* L.) та озимого ріпаку (*Brassica napus* L.) із застосуванням методики CRISPR/Cas9. Сьогодні це особливо важливо, оскільки через широкомасштабну воєнну агресію РФ проти України значну частину посівних земель у зонах ведення активних бойових дій вилучено з господарської діяльності, що призводить до засмічення угідь бур'янами. Швидко повернути ці землі до сфери сільськогосподарства можна буде лише за допомогою широкого використання гербіцидів тотальної дії. Тому науковці нашого Інституту створюють генетично модифіковані рослини, стійкі до гербіцидів, які в умовах активної боротьби з бур'янами дали б значний економічний ефект.

В Інституті розроблено методи біолістичної і *Agrobacterium*-опосередкованої генетичної трансформації кукурудзи та пшениці. Разом із фахівцями Інституту зернових культур НААН України було отримано сорти цих культур, стійкі до гербіцидів. Працюємо також над створенням трансгенних ліній кукурудзи, стійких до комах-шкідників, з використанням векторів з геном *Cry*-токсинів, генами стійкості до гербіцидів та генами транскрипційних факторів кукурудзи (BBM та WUS2), що зумовлюють індукцію соматичного ембріогенезу у «складних» для *in vitro* технологій гібридних лініях. Зокрема, отримано трансгенні рослини кукурудзи, стійкі до західного кукурудзяного жука — діабротика (*Diabrotica*). Це дуже небезпечний шкідник кукурудзи, який останніми роками активно поширюється територією України. Причому він є стійким до дії найбільш використовуваних у сільському господарстві інсектицидів. Личинки комах живляться корінням цієї культури, що призводить до зменшення об'єму та ураження гниллю ко-

реневої маси, а отже, до ослаблення та подальшої загибелі рослини.

Другий напрям, який активно розвивається в Інституті клітинної біології і генетичної інженерії НАН України, пов'язаний з розробленням рослинних біотехнологій фармацевтичного призначення. Цей новий напрям сучасних біотехнологій називають ще біофармінгом, або «молекулярним фермерством». Йдеться про використання рослин як експресійної системи для синтезу та накопичення рекомбінантних білків фармацевтичного призначення. Як відомо, рекомбінантні білки — це білки медичного призначення, вироблені за допомогою генетичної інженерії або в мікробних мікроорганізмах, або в клітинах ссавців, або в рослинах. Сфера їх застосування досить широка, починаючи від виробництва інсуліну і завершуючи продукуванням моноклональних антитіл для лікування онкологічних захворювань, ліків від серцево-судинних, гормональних хвороб, створенням вакцин проти вірусних захворювань, зокрема проти COVID-19. З точки зору безпеки та вартості виробництва рекомбінантних білків рослини мають значні переваги перед мікробним біосинтезом, а тим більше перед виробництвом на основі клітин ссавців чи комах.

Зараз ми працюємо над створенням біотехнологічних ліній рослин, які накопичують фармацевтично цінні рекомбінантні білки і проявляють антибактеріальну або антивірусну активність для захисту від кишкових інфекцій людей та сільськогосподарських тварин.

Як відомо, з метою протидії стрімкому поширенню стійких до антибіотиків мікроорганізмів у Європейському Союзі з початку минулого, 2022, року в тваринництві заборонено профілактичне годування тварин антибіотиками. В цій ситуації одним зі шляхів захисту сільськогосподарських тварин від поширення кишкових інфекцій є годування їх кормовими рослинами з накопиченими в них природними антибактеріальними білками.

Ми створили експериментальні моделі кормових біотехнологічних рослин, у яких відбувається гетерологічна експресія генів бак-

теріоцинів. Зокрема, ми брали такі білки, як сальмоцин, який ефективно інгібує патогенні штами *Salmonella* і запобігає поширенню сальмонельозу — тяжкого захворювання, яким людина заражається найчастіше через продукти птахівництва, та коліцин М, який знищує патогенні штами *E. coli* і може запобігти поширенню ентерогеморагічних штамів, що продукують цитотоксин і спричиняють небезпечні захворювання як у людей, так і у тварин.

Науковці нашого Інституту вперше отримали трансгенні рослини салату, мізуни та моркви, в яких відбувається експресія антибактеріального білка коліцину М. Було підтверджено експресію та наявність білка в рослинних екстрактах, а також виявлено антибактеріальну активність екстрактів трансгенних рослин проти патогенних та мультирезистентних штамів кишкової палички.

Як приклад створення біотехнологічних рослин з противірусною активністю можна навести отримані в нашому Інституті рослини томатів, які накопичують противірусний білок — альфа-інтерферон людини (на сьогодні його в товарних масштабах продукують у бактеріях). В експериментах було доведено біологічну активність інтерферону людини $\text{HuIFN}\alpha\text{-}2\text{b}$, синтезованого в трансгенних рослинах томату. У листках трансгенних томатів сорту Шедевр біологічна активність інтерферону альфа становила 850 000 МО на 1 г сирової ваги, що в сотні разів перевищує його біологічну активність в інших трансгенних рослинах — носіях цього гена.

Разом з колегами з Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України ми показали, що оромукозальний спосіб доставки інтерферону, який міститься в трансгенних томатах, підвищує виживання піддослідних мишей після інфікування їх патогенним вірусом везикулярного стоматиту. Так, у контрольній групі летальність становила 22,2 %, у мишей, яких годували комбікормом зі звичайними томатами, летальність була вдвічі меншою — 11,1 %, а всі миші, які їли крім комбікорму томати з інтерфероном, залишилися живими. До речі, це свідчить і про природну

антивірусну дію томатів, хоча й набагато нижчу, ніж у біотехнологічних томатів.

Фармацевтичні білки з антибактеріальними та антивірусними властивостями, які досліджуються в нашому Інституті, ми розглядаємо насамперед як профілактичні засоби для протидії поширенню бактеріальних та вірусних інфекцій. Це особливо важливо в нинішніх реаліях, оскільки під час війни погіршення санітарно-гігієнічних умов та вимушене переміщення великих груп населення можуть спровокувати спалахи вірусних та бактеріальних інфекцій.

Разом з Інститутом фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України ми працюємо над розробленням біотехнологій накопичення рекомбінантних мікроРНК в рослинах, зокрема створюємо рослинні системи високоефективної експресії гена — попередника мікроРНК, специфічної до мРНК ізоформи дельта-протеїнкінази С. Інгібування активності цього гена у тварин і, можливо, у людини приводить до зниження артеріального тиску. Це дуже цікавий напрям робіт, і, сподіваємося, нам вдасться отримати позитивні результати.

Розроблено кілька нових ефективних підходів до продукування рекомбінантних білків методом транз'єнтної (тимчасової) експресії. За одним з них експресія трансгена відбувається *in vitro* в культурі тканин рослин австралійського тютюну (*Nicotiana benthamiana*). Такі рослини з цільовим геном можна розмножувати мікроклонально для отримання великої кількості нових рослин — продуцентів рекомбінантного білка. Зараження нових тканин і рослин відбувається через системне поширення генетичного вектора, створеного на основі геному фітопатогенного вірусу.

На мій погляд, це дуже перспективна технологія, яка дозволяє ефективно накопичувати цінні рекомбінантні білки. Наведу лише один приклад. Подібну технологію транз'єнтної експресії, розроблену біотехнологічною компанією «Icon Genetics», співзасновником якої є академік НАН України Юрій Юрійович Глеба, було використано компанією «Marr Biopharmaceutical Inc.» для створення ліків проти



Досліди з вивчення впливу годівлі томатами з накопиченим альфа-інтерфероном на стійкість мишей лінії balb/c до вірусу везикулярного стоматиту

геморагічної гарячки Ебола. У 2014 р. під час спалаху цієї дуже небезпечної хвороби з високою летальністю препарат, який являє собою суміш трьох моноклональних антитіл, отриманий за допомогою генно-інженерних технологій у рослинах австралійського тютюну, було протестовано на 7 пацієнтах, з яких 5 вижили.

Інший запропонований нами метод передбачає використання векторів із застосуванням елементів геному фітопатогенного вірусу для накопичення рекомбінантних білків при транз'єнтній експресії в такому перспективному рослинному об'єкті, як ряска. Ці швидкорослі водні рослини завдяки своїм біологічним особливостям мають великий потенціал для використання в біотехнологіях. Наш Інститут мав грант Федерального міністерства освіти і досліджень Німеччини (BMBF) на створення Європейського центру з дослідження транзі-

ентної експресії у ряски, але, на жаль, війна перервала виконання цього проєкту.

На завершення доповіді хотів би навести цитату з роману «Мандри Гуллівера» відомого ірландського письменника, майстра сатиричного жанру, Джонатана Свіфта: “And he gave it for his opinion, that whoever could make two ears of corn or two blades of grass to grow upon a spot of ground where only one grew before, would deserve better of mankind, and do more essential

service to his country than the whole race of politicians put together” (І він дійшов висновку, що кожний, хто зможе отримати два початки кукурудзи або два колоси на тому клаптику землі, де раніше ріс тільки один, буде мати більші заслуги перед людством і краще послугує своїй країні, ніж усі політики, разом узяті).

Дякую за увагу!

*За матеріалами засідання
підготувала О.О. Мележик*

Mykola V. Kuchuk

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7365-7474>

ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF GENETIC ENGINEERING PLANT BIOTECHNOLOGIES

Transcript of scientific report at the meeting of the Presidium of NAS of Ukraine,
January 25, 2023

The report presents the results of fundamental and applied scientific research of the Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NAS of Ukraine, aimed at the development of plant biotechnologies for the agricultural sector of the economy and pharmaceuticals, in particular, the creation of biotechnological plants for agricultural and medical purposes.

Cite this article: Kuchuk M.V. Achievements and prospects for the development of genetic engineering plant biotechnologies. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2023. (3): 72–76. <https://doi.org/10.15407/visn2023.03.072>