

Генетическое редактирование генома с помощью системы CRISPR/Cas

Современное сельское хозяйство сталкивается с рядом вызовов на фоне возрастающего спроса на продовольствие и требований к его качеству. Традиционные методы селекции не всегда успевают за стоящими перед ними сложными задачами. Обострившиеся проблемы требуют разработки и внедрения новых, инновационных инструментов, позволяющих сократить затраты на создание новых сортов, повысить их урожайность, качество и устойчивость к неблагоприятным факторам.

Один из перспективных подходов – генетическое редактирование генома растений с помощью системы CRISPR/Cas. Этот метод появился более 10 лет назад и сразу привлек к себе повышенное внимание как ученых, так и широкой общественности. Считается, что он произвел революцию в селекции. CRISPR/Cas часто называют «генетическими ножницами» из-за способности изменять последовательности ДНК в строго определенном месте и проводить точные модификации геномов растений для получения желаемых агрономических признаков. С развитием технологии связывают дальнейший прогресс в данной области. Чтобы редактировать целевой ген или регуляторные элементы, как правило, используют плазмиды, способные нарабатывать белок Cas9 и содержащие последовательность для так называемой направляющей РНК, которая, попадая в клетку объекта редактирования, связывается с последовательностью соответствующей ей ДНК в геноме, а белок Cas9 разрезает молекулу в указанном месте. Репарационная система клетки восстанавливает



Оксана Урбанович,
заведующий лабораторией молекулярной генетики Института генетики и цитологии НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор



Анастасия Шишлова-Соколовская,
старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института генетики и цитологии НАН Беларуси

разрыв. В результате репарации ДНК могут произойти делеции, инсерции или модификации нуклеотидной последовательности, что приводит к появлению мутаций и изменению функций редактируемого материала.

Первые работы, посвященные данной теме, были опубликованы в 2013 г., когда технология была применена к модельным объектам – арабидопсису и табаку. К концу 2024 г. способ был задействован для генетического редактирования уже более 100 видов растений, а количество научных публикаций превысило 1 тыс.

Успех применения генетического редактирования генома растений с помощью системы CRISPR/Cas требует научного сопровождения всех этапов этого процесса. Так как воздействию вначале подвергаются отдельные клетки, необходимо распо-

лагать инструментами, позволяющими добиться регенерации растений из эмбриональной или другой ткани, чтобы получить в конечном итоге взрослый экземпляр. Однако не все виды и сорта сельскохозяйственных культур отзывчивы на подобные манипуляции. Для многих из них требуется отработка особых приемов культивирования, включая доставку компонентов системы CRISPR/Cas в растительные клетки. Чаще всего для этого используют методы генетической трансформации (агробактериальный, биобалистика и перемещение, опосредованное полиэтиленгликолем или липофектамином), эффективность которых отличается для разных видов растений. Компоненты, транспортирующие нуклеазу CRISPR/Cas и направляющую РНК в клетку, также совершенствуются в направлении

повышения эффективности редактирования, возможности работать с несколькими генами одновременно, создания методов трансформации «без чужеродной ДНК». Ученые постоянно находятся в поиске новых решений, позволяющих добиться требуемого результата.

Важный вопрос при применении технологии CRISPR/Cas – выбор гена-мишени. Знание структуры и функции целевого гена либо регуляторных элементов, влияющих на его работу, определяет успех достижения поставленной цели. Прогрессу в этом направлении способствуют накопленные сведения о структуре и функционировании генов растений. К решению задачи привлекаются современные технологии, включающие углубленные исследования на основе данных секвенирования как непосредственно генома, так и транскриптома, изучение отдельных генов и их семейств, вовлеченных в формирование хозяйственно важных признаков. Большое количество сведений о секвенировании геномов важнейших сельскохозяйственных культур, ресеквенировании и транскриптомах доступны в международных базах данных. Это позволяет выделить множество генов-кандидатов на основе анализа с помощью методов биоинформатики. Объектом генетического редактирования становятся как гены, так и регуляторные элементы и системы метилирования. В будущем это позволит управлять геномом растений более гибко и динамично.

Технология генетического редактирования на основе CRISPR/Cas9 принципиально отличается от метода создания генетически модифицированных организмов (ГМО) тем, что

с помощью первой видоизменяют генетический аппарат объекта, фактически вызывая в нем мутации, в то время как при генерации ГМО в клетки растений встраивают гены других видов. На первых этапах редактированные растения также могут содержать чужеродный генетический материал. Как правило, он представлен фрагментами плазмид, используемых для доставки системы CRISPR/Cas9 в клетки. Но так как потребитель заинтересован в сельскохозяйственной продукции без чужеродной ДНК, эти элементы исключаются из генома традиционными, достаточно затратными и трудоемкими, селекционными приемами. Чтобы снизить издержки и удовлетворить общественность, все больше внимания уделяется методам редактирования генома без внесения чужеродной ДНК.

Несмотря на все преимущества, выход на рынок сортов, полученных с использованием системы CRISPR/Cas9, сталкивается с некоторыми проблемами в законодательстве, регулирующем выращивание растений, отселектированных с помощью новых методов. Данный вопрос обсуждается в различных странах. Так, США, Канада, Япония, многие государства Южной Америки и Азии не ограничивают выращивание культур, отредактированных с помощью CRISPR/Cas9, при условии, что конечный продукт не содержит трансгенного материала. Министерство сельского хозяйства Китая опубликовало предварительное положение, разрешающее выход на рынок отредактированных культур в 2022 г. В ЕС занимают более осторожную позицию, разрабатывая новую нормативную базу для культур, полученных с помощью геномных технологий (НГТ), вклю-

чая редактирование генов. Находится на рассмотрении положение, согласно которому растения без чужеродной ДНК в будущем должны регулироваться менее строго. В целом есть все основания полагать, что законы о распространении и выращивании генетически отредактированных (фактически мутантных) растений будут направлены в сторону их эффективного и безопасного использования.

Япония стала первой страной, допустившей в 2021 г. на рынок генетически отредактированные с помощью технологии CRISPR/Cas9 томаты с повышенным содержанием гамма-аминомасляной кислоты (GABA) (созданы компанией Sanatech Seed), рекомендуемые людям для снижения кровяного давления. Более 10 сортов важнейших сельскохозяйственных культур находятся на разной стадии коммерциализации. Среди них – соя с лучшей усвояемостью для животных (Бразилия), более высоким уровнем олеиновой кислоты (Китай), устойчивая к засухе и засолению (США); кукуруза со значительным содержанием амилопектина (Бразилия), крахмала (США); засухоустойчивый рис (Индия); пшеница со сниженным уровнем аспарагина (Англия); горчица с уменьшенной остротой (Канада) и горечью (США); ценная кормовая культура *Vigna unguiculata* с измененной архитектурой для облегчения механической уборки (США). Ожидается, что в 2026 г. Китай начнет массовую регистрацию сортов, содержащих генетически отредактированные области генома.

Анализ достижений в данной области показывает, что технология успешно применяется для улучшения большого количества хозяйственно ценных призна-

CRISPR



Рисунок. Основные направления генетического редактирования растений с помощью системы CRISPR/Cas

ков, таких как качество и питательная ценность плодов, урожайность, архитектура растения, устойчивость к засухе, засолению, температурному режиму, грибным и вирусным болезням, вредителям и др. (рисунок). Объектами редактирования являются основные сельскохозяйственные культуры – злаковые, плодовые, ягодные, цитрусовые, овощные, масличные и др. Так, например, по данным на 2024 г., технология CRISPR/Cas была применена к такой важной и активно модифицируемой культуре, как рис, для редактирования 55 генов. В результате получены растения с улучшенной архитектурой, урожаем зерна, устойчивые к абиоти-

ческому стрессу, болезням и вредителям. Генетическому редактированию подверглось около 100 генов томата. Совершенствования коснулись фенотипа растения, массы плодов, их количества, времени созревания, вкусовых качеств, мягкости, плотности, содержания ликопина и каротиноидов, цвета, устойчивости к 3 вирусам, бактериальной пятнистости, фитофторе, фузариозу, гербицидам, засухе, засолению и др.

Такие важные для Беларуси зерновые культуры, как пшеница и ячмень, за последние 8 лет стали объектом достаточно масштабных исследований по генетическому редактированию. Получена пшеница, устойчивая к фузариозу, мучнистой росе, вирусу желтой мозаики, с измененной текстурой крахмала, низким глютеиновым составом, повышенной урожайностью, устойчивая к гербицидам, засухе и др. В ячмень включены гены, влияющие на пивоваренные качества и состав крахмала, позволяющие повысить устойчивость к вирусам, мучнистой росе и другим грибным патогенам, положительно влияющие на размер зерна, урожайность и др.

Овощные, плодовые и ягодные культуры пока затронуты подобными работами в меньшей степени. Сказывается нехватка фундаментальных исследований и сложность самих объектов. Тем не менее создан виноград, устойчивый к милдью и оидиуму. Модифицированы гены земляники садовой, влияющие на время цветения, размер, цвет, вкус и время хранения ягод, устойчивость к грибным заболеваниям. Достигнуты успехи в генетическом редактировании яблони, груши, малины, сахарной свеклы и др.

В лаборатории молекулярной генетики Института генетики

и цитологии НАН Беларуси получены растения модельного объекта табака с мутацией в последовательности гена NtPDS. Измененные растения имели фенотип альбиноса, что позволило отработать саму технологию CRISPR/Cas9. Положительные результаты экспериментов помогли перейти к созданию картофеля с генетически отредактированными генами StCHL1 и StDMR6-1. Патоген, вызывающий такое опасное заболевание, как фитофтороз, использует эти гены для своего развития в клубнях. Нарушение работы генов должно повысить устойчивость культуры к болезни. Исследования проводились совместно с НПИЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству. С помощью агробактериальной трансформации сортов белорусской селекции были получены растения, в которые внесены различные мутации генов StCHL1 и StDMR6-1, индуцированные CRISPR/Cas9-системой. Эффект проведенных манипуляций еще предстоит оценить. Имеющиеся в литературе данные говорят, что мутации указанных генов положительно влияют на устойчивость к грибным заболеваниям как картофеля, так и других видов сельскохозяйственных культур.

Таким образом, технология CRISPR/Cas не только становится инструментом фундаментальной науки, но и радикально меняет подход к селекции. Прогнозируют, что через 10 лет значительная часть новых сортов будет появляться с помощью редактирования генома или аналогичных технологий. Успехи, достигнутые в Китае и США, демонстрируют ускорение изысканий в данной области в 5–10 раз по сравнению с классической селекцией. Большое внимание уделяется способам,

позволяющим модифицировать сразу несколько генов. Методы геномного редактирования могут быть объединены с новыми стратегиями селекции для ускорения создания сортов с ценными хозяйственными признаками.

Применение CRISPR/Cas не только позволит повысить урожайность сортов, но и окажет влияние на устойчивое развитие аграрной отрасли. Селекция может быть полностью преобразована, так как генетическое редактирование позволяет изменять важнейшие характеристики растений, включая повышение фотосинтеза, устойчивость к болезням и эффективность использования питательных веществ. Она направлена на создание культур, более устойчивых к изменению климата, способных снизить зависимость от химических обработок, способствующих уменьшению распространения болезней.

Выход на рынок сортов, полученных с помощью CRISPR/Cas, потребует решения вопросов общественной приемлемости, правовой базы и биобезопасности. При правильном внедрении эта передовая технология будет содействовать переходу к более устойчивой, стабильной и экономически эффективной сельскохозяйственной деятельности. ■

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Devanna B.N. Editorial: Innovations in Plant Breeding – CRISPR as a Powerful Weapon for Crops / B.N. Devanna, Y. Arra, M.S. Madhav // Front Genome Publishing. 2025. 7:1623540. Doi: 10.3389/fgeed.2025.1623540.
2. Tiwari J.K. CRISPR/Cas genome editing in tomato improvement: Advances and applications / J.K. Tiwari, A. K. Singh, T.K. Behera // Frontiers in Plant Science. 2023. 14:1121209. Doi: 10.3389/fpls.2023.1121209.
3. Урбанович О. Редактирование геномов с помощью системы CRISPR/Cas9 для создания растений с новыми свойствами / О. Урбанович, А. Шишлова-Соколовская, В. Неборская // Наука и инновации. 2025. №6. С. 76–79.

Диверсификационный потенциал ГОЛУБИКИ в Беларуси



Федор Привалов,
директор Центрального
ботанического сада
НАН Беларуси,
академик



Николай Павловский,
заведующий отраслевой лабораторией
Центрального ботанического сада
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук, доцент

Сохранению и укреплению здоровья людей способствует регулярное потребление плодов и ягод в достаточном объеме, что отмечено в качестве важнейшего приоритета Доктрины национальной продовольственной безопасности Республики Беларусь [1]. В этой связи актуальным является поиск новых видов растений с целью диверсификации отрасли садоводства, в том числе посредством интродукции. Одна из перспективных культур, представляющая интерес для плодородства Беларуси, – голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.), плоды которой обладают не только высокой питательной, диетической, но и чрезвычайно важной для здоровья человека лечебно-профилактической ценностью [2, 3].