

№5 1998 год

ПРОБЛЕМЫ ТРАНСГЕНЕЗА.

ФЕНОМЕН «ЗАМОЛКАНИЯ» ТРАНСГЕНОВ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Экспрессия чужеродных генов позволяет получать формы растений и животных, характеризующиеся качественно новыми признаками, которые невозможно получить с помощью методов классической селекции. Трансгенез позволяет модифицировать существующие сорта и породы, расширяя перечень их хозяйственно ценных признаков. Эти возможности трансгенеза обусловили его широкое применение в биотехнологии. Список сортов трансгенных растений, прошедших полевые испытания и уже возделываемых в Европе и Америке, быстро растет.

Однако существует целый ряд проблем, затрудняющих получение и использование трансгенных растений. Получение высокого уровня продукции рекомбинантного полипептида часто труднодостижимо и требует полной реструктуризации трансгена. Во многих случаях экспрессия трансгенов в линиях и популяциях растений оказалась высоковариабельной, нестабильной или малоэффективной. Феномен прекращения экспрессии перенесенного гена, обнаруженный в начале этого десятилетия, получил название «gene silencing» («замолкание» генов). Исследования показали, что существуют несколько эпигенетических механизмов, инактивирующих экспрессию чужеродных генов. В том случае, если существует сходство нуклеотидных последовательностей трансгена и одного из генов организма-хозяина, происходит снижение уровней экспрессии обоих генов (т.н. «ко-супрессия»). По-видимому, ко-супрессия может происходить на нескольких уровнях. Если в геномной ДНК содержится нуклеотидные последовательности, гомологичные промотору трансгенной инсерции, то взаимодействие хозяйской и чужеродной ДНК и/или пре-мРНК осуществляется в ядре, и происходит снижение уровня транскрипции. Нуклеотидная последовательность промотора при этом часто гиперметируется (по цитозину в GC- и GNC-сочетаниях), паттерн метилирования закрепляется в мейозе, и неактивное состояние трансгена сохраняется в ряде поколений. Если гомология между трансгеном и геномной ДНК существует на уровне экзонов, то ко-супрессия может произойти на пост-транскрипционном уровне. При этом взаимодействие осуществляется между мРНК в цитоплазме, что приводит к высокому уровню деградации матриц и, соответственно, снижает экспрессию обоих взаимодействующих генов (1, 2). Эти феномены, по-видимому, имеют отношение к базовым механизмам организации экспрессии эукариотических генов, и их дальнейшее изучение позволит прояснить молекулярные основы целого ряда явлений (например, каким образом поддерживается сбалансированная экспрессия гомологичных генов – членов мультигенных семейств, как может происходить взаимодействие аллелей, как может происходить эволюция за счет дупликации и последующей дивергенции генетического материала и т.д.). Одно из возможных применений механизмов, приводящих к инактивации экспрессии трансгенов, – защита против вирусных инфекций. Показано, что экспрессия вирусных генов (или их фрагментов) сообщает растениям иммунитет к соответствующему вирусу (3). В основе этого феномена лежат механизмы ко-супрессии на одном из описанных выше уровней: гомология на уровне промоторов приводит к ослаблению транскрипции, гомология на уровне мРНК приводит к дестабилизации транскриптов в цитоплазме. По-видимому, возникновение устойчивых форм растений к вирусам в природных популяциях также могло происходить этим способом при случайной интродукции фрагмента вирусной ДНК в геном и ее транскрипции с собственного или близкорасположенного растительного промотора.

Помимо чисто академического интереса, феномен «замолкания генов» может использоваться в прикладных целях. Трансгенные инсерции, структура которых гомологична генам патогенных вирусов, могут быть использованы для получения устойчивых сортов растений. Экспрессия репортерного гена, содержащего 110-нуклеотидный фрагмент экзона вируса бронзовости томата, достаточна для индукции устойчивого фенотипа у трансгенных растений табака (4). Кажется достаточно вероятным, что эта технология будет широко использоваться в биотехнологии растений и позволит достичь прогресса в такой сложной области, как противовирусная защита растений (5).

Литература

1. Flavell R.B. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 3490-3496.
2. Matzke M.A., Matzke A.J. Cell Mol. Life Sci. 1998. V. 54. P. 94-103.
3. English J.J., Mueller E., Baulcombe D. Plant Cell. 1996. V. 8. P. 179-188.
4. Sheng-Zhi Pang, Fuh-Jyh Jan, Gonsalves D. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 8261-8266.
5. Angell S.M., Baulcombe D. EMBO J. 1997. V. 16. P. 3675-3684.

А.В.Кочетов, к.б.н.,
зав. сектором генной инженерии растений,
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск