



Фото Евгения Константинова.

СОСНЫ НА ЗАКАТЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Сколько существует человек, деревья обеспечивают его практически всем необходимым для жизни: строительный материал, топливо, инструменты, бумага... Главный источник этого ресурса — хвойные бореальных лесов: северного лесного пояса Земли. Со стороны такие бореальные массивы, как, например, тайга, кажутся вечными и неуязвимыми, но это впечатление ложное. Глобальное потепление и деятельность человека стремительно меняют условия, в которых существует лес.

Исследования приспособительных возможностей хвойных настолько стратегически важны, что регионы бореального пояса поддерживают их на государственном уровне. В частности, в России, где находится 60% бореальных лесов, проект по расшифровке генома хвойных выиграл в 2014 году правительственный мегагрант. Эту работу ведёт Лаборатория лесной геномики и Центр геномных исследований Сибирского федерального университета (Красноярск), руководит проектом доктор биологических наук Константин Валерьевич КРУТОВСКИЙ, профессор Гёттингенского университета (Германия) и Техасского агромеханического университета (США), ведущий научный сотрудник Института общей генетики им. Н. И. Вавилова (Москва).

О том, что такое быть деревом сегодня и как далеко может зайти человеческое вмешательство в естественный ход вещей, с ним беседует обозреватель журнала «Наука и жизнь» Елена Вешняковская.

— Константин Валерьевич, давайте начнём с детского вопроса: чем деревья отличаются от остальных растений? Стволом?

— Не только. И кустарники, и даже травянистые могут иметь одревесневевшие части. Дерево отличается от всех остальных растений тем, что у него не прекращается апикальный (верхушечный) рост. Иначе говоря, оно растёт всю жизнь, пока не умрёт. Конечно, с возрастом этот рост замедляется, но не останавливается никогда.

— То есть высота дерева — производная от его продолжительности жизни? А сколько в норме живут хвойные?

— Ель живёт 150—200 лет, сосны примерно по 300. Есть сосны, которым по 5000 лет, но не в России. Высоко в горах Сьерра-Невады, например, обитает сосна остистая, или ещё известная как сосна долговечная (лат. *Pinus longaeva*). Она растёт очень медленно, зато живёт до 5000 лет. Секвойя (лат. *Sequoia sempervirens*) растёт до 110 метров и выше и достигает возраста 2000—3000 лет. Дугласия, или псевдотсуга Мензиса (лат. *Pseudotsuga menziesii*), также достигает высоты 100—120 м и возраста 1300—1400 лет. Правда,

среди этого вида высоких долгожителей почти не осталось из-за рубок, только в нескольких популяциях сохранилось совсем немного деревьев, доросших до 100 метров. Но среди окаменелых экземпляров дугласии нашли дерево, достигающее рекордной высоты: 140 метров. При этом у неё ещё и верхушка была отломана.

— Трудно быть таким высоким?

— Нелегко. Прежде всего, надо как-то закачивать наверх воду. А сердца у дерева нет — нет активного механизма, подобного кровеносной системе. Его водяной насос работает за счёт осмоса и испарения воды листьями. Клетки корневых волосков содержат растворённые сахара и соли, и вода поступает к ним из почвы, чтобы уравновесить осмотическое давление. Вот и представьте, чего стоит поднимать воду на всю эту высоту пассивным образом.

— И как оно справляется?

— С помощью уникального для древесных механизма. Вертикальный ток воды во мно-

НАУКА И ЖИЗНЬ
И Н Т Е Р В Ь Ю



Профессор Константин Крутовский выступает на совещании-семинаре по лесной генетике, организованном Российским центром защиты леса.

го раз усиливается за счёт испарения воды через листья, которое создает вакуумный эффект. Вообще, древесные удивительны. Им принадлежит большинство биологических рекордов. Рекорд высоты — уже упомянутые секвойя и дугласия. Рекорд продолжительности жизни — есть виды эвкалипта, которые живут до десяти тысяч лет. Среди растений геном хвойных — один из древнейших и наиболее консервативных. Ель, сосна, лиственница, пихта — вроде бы эти виды отличаются, но у них одинаковый набор хромосом.

Хвойные — очень древний вид, сохранившийся за триста миллионов лет почти неизменным. Кроме того, у хвойных один из самых, если не самый большой геном среди живых организмов.

Геном хвойных в 4—10 раз больше генома человека. У человека 3,2 миллиарда нуклеотидных оснований, у сосны — в 7—10 раз больше.

— Неужели сосна генетически сложнее нас?

— А вот это интересный вопрос: определяется ли генетическая сложность только размером генома и числом генов? У человека, например, открыто примерно 21 тысяча генов, у тополя 36 тысяч, а у сосны — 50 тысяч. У червяка-нематоды, относительно

примитивного организма, меньше или почти столько же, сколько и у человека, — 20 тысяч, а у ещё более примитивной дафнии в 1,5 раза больше — 31 тысяча. При этом где нематода и дафния, а где мы? И какие-то деревья обошли и их и нас. Число генов может быть одинаковым, а сложность организма — разительно отличаться.

— Тогда за счёт чего?

— За счёт более сложной экзонно-интронной структуры генов. У примитивных организмов, таких как бактерии, ген, отрезок информации, транслируется целиком, используется только один вариант его прочтения. А у высших организмов — человека, млекопитающих — он разбит на короткие фрагменты, которые перемежаются так называемыми интронами. И интронная часть гена не передаётся. Механизм такой передачи довольно сложен: образуется первичная матричная РНК, которая включает и экзоны и интроны, затем интроны вырезаются, экзоны сшиваются (сплайсинг) в кодирующую непрерывную последовательность, и только потом эта последовательность транслируется в белок. Когда в 1977 году открыли экзонно-интронную структуру и сплайсинг, возник вопрос: зачем так сложно? А когда научились выделять и секвенировать матричную РНК, то поняли зачем: комбинаторные возможности такой структуры гораздо выше. Например, интрон может вырезаться или не вырезаться. Или, если есть пять экзонов, первый может соединиться с третьим, а потом уже третий со вторым. Это называется альтернативным сплайсингом. Благодаря ему один и тот же ген может кодировать несколько разных мРНК и соответствующих им белков, прочтений данного гена может быть много и соответственно увеличивается его информационный потенциал. Оказалось, что по мере эволюционного усложнения организма не столько число генов растёт, сколько усложняется экзонно-интронная структура, что позволяет одному и тому же гену контролировать совершенно разные

лируется целиком, используется только один вариант его прочтения. А у высших организмов — человека, млекопитающих — он разбит на короткие фрагменты, которые перемежаются так называемыми интронами. И интронная часть гена не передаётся. Механизм такой передачи довольно сложен: образуется первичная матричная РНК, которая включает и экзоны и интроны, затем интроны вырезаются, экзоны сшиваются (сплайсинг) в кодирующую непрерывную последовательность, и только потом эта последовательность транслируется в белок. Когда в 1977 году открыли экзонно-интронную структуру и сплайсинг, возник вопрос: зачем так сложно? А когда научились выделять и секвенировать матричную РНК, то поняли зачем: комбинаторные возможности такой структуры гораздо выше. Например, интрон может вырезаться или не вырезаться. Или, если есть пять экзонов, первый может соединиться с третьим, а потом уже третий со вторым. Это называется альтернативным сплайсингом. Благодаря ему один и тот же ген может кодировать несколько разных мРНК и соответствующих им белков, прочтений данного гена может быть много и соответственно увеличивается его информационный потенциал. Оказалось, что по мере эволюционного усложнения организма не столько число генов растёт, сколько усложняется экзонно-интронная структура, что позволяет одному и тому же гену контролировать совершенно разные

продукты. Так вот, у человека этот комбинаторный потенциал — самый высокий. «Скромный» набор из 21 тысячи генов по числу комбинаций даёт у человека белков на порядок больше, чем у ближайших высокоразвитых организмов, я уже не говорю про растения. А у бактерий интронной структуры вообще нет.

— *То есть число генов не коррелирует со степенью сложности организма?*

— Нет. А вот что определённо коррелирует — это число экзонов и интронов. Высокие комбинаторные возможности позволяют одному и тому же организму менять свою регуляцию. Например, бывает, что в одних условиях нужен один белок, а в других — другой, с какими-то изменёнными функциями. В сложную структуру заложено сразу много сценариев, которые при необходимости реализуются.

— *А с чем связан размер генома и почему у хвойных он так велик?*

— С одной стороны, иметь такой огромный геном, как у сосны, вроде бы нелогично: массивный аппарат расходует много энергии, а в природе идёт постоянная борьба за экономию. С другой стороны, вся эволюция генов и генома шла за счёт дупликации и увеличения. Изначальная простейшая структура дублировалась, из одного гена возникало два, теперь они могли пойти путём дивергентной — «расходящейся» — эволюции: функция, которую выполняет исходный ген, им покрыта, поэтому его дублёр может позволить себе делать что-то ещё. Затем третий, четвёртый, хромосомы удваивались, умножались... Но одновременно природа всегда старалась убрать лишнее, увеличение и сокращение всегда шли одновременно. Так вот, у хвойных, как выяснилось, 80% генома — это повторяющиеся, то есть как бы «лишние», отрезки. И из этих 80% примерно половина — это транспозоны, эти паразитические гены, чья единственная функция — размножаться и встраиваться. Чтобы не «увеличивать геномный штат» без необходимости, у живых организмов есть механизмы, подавляющие активность транспозонов. Например, относительно недавно открыли короткие некодирующие РНК, которые играют важную роль в регуляции активности генов, своего рода «смотрящие», и определённый класс этих РНК в итоге ограничивает активность транспозо-

нов. По некоторым предварительным данным, у ели и, возможно, вообще у хвойных наблюдается дефицит некоторых классов короткой регуляторной РНК.

— *В этом, наверное, есть какой-то биологический смысл?*

— Вероятно, такое количество транспозонов и большой геном дают хвойным какое-то преимущество, но в чём оно заключается, мы пока не знаем. Может быть, — это я уже фантазирую — оно связано с тем, чтобы в геноме имелся запас материала, необходимого для адаптации.

— *Похоже, что если это так, то запас очень скоро пригодится: на планете становится всё теплее.*

— Самое страшное в глобальном потеплении не само по себе изменение температуры, сколько то, что из-за этого нарушается режим цветения. У нас в бореальном лесном поясе холодная зима. Дерево не может регулировать свою температуру, как теплокровное животное, и не может сменить среду, как перелётная птица. Оно засыпает, зимует: рост и все процессы замедляются. Но деревья всегда конкурируют внутри вида и с другими видами за место под солнцем: чем быстрее растёшь, тем больше получаешь света. Чтобы обогнать других за период вегетации, надо как можно раньше начать расти и как можно позже закончить. Поэтому у деревьев выработался адаптивный механизм: с первыми признаками тепла и солнца они начинают расти. Но начнёшь расти слишком рано — рискуешь стать жертвой заморозка, который особенно опасен как раз для активно растущих тканей: в них образуется лёд и убивает ростовые почки. А замешкаешься с началом вегетации — обгонят другие. Значит, стартовать надо вовремя.

— *И как же они догадываются, когда пора?*

— Естественный отбор. Кто плохо догадывался, тех уже нет. У дерева эволюционно сформировался тончайший генетический механизм, реагирующий на сочетание света и температуры. Фактически каждое дерево — это очень чувствительный сенсор, который непрерывно мониторит такой набор условий в конце зимы и осени, когда можно начинать расти или, наоборот, пора формировать зимующую почку и засыпать. У популяций, растущих в разных местах, эти механизмы настроены по-разному, у



Ель обыкновенная — обладательница одного из крупнейших и древнейших в растительном царстве геномов.

каждой — на свои местные условия. А потепление климата — это обман, оно дезориентирует деревья.

Так что мы изучаем генетические механизмы адаптации ещё и затем, чтобы помочь природе справиться с эффектом потепления. Не так давно создан большой международный консорциум по использованию достижений геномики для предупреждения последствий глобального изменения климата. Он возник потому, что эта проблема, оказывается, есть даже у сельскохозяйственных культур, хотя уж они-то, казалось бы, полностью «одомашнены» и контролируются. На самом деле от климата зависят и они. Консорциум изучает, как вести селекцию культур, нацеленную не на те условия, которые есть сейчас, а на те, которые возникнут в результате глобального изменения климата.

— *То есть как подготовить пшеницу и картошку к потеплению?*

— Не только их. Я курирую в консорциуме направление по древесным: как помочь деревьям выжить в условиях меняющегося климата.

— *И как?*

— Древесные на протяжении своей долгой жизни подвергаются самым разным средовым воздействиям: то жара, то холод, воды то много, то мало... Поэтому у них выработан генетический механизм как бы

«на все случаи жизни»: очень высокий уровень индивидуальной изменчивости и фенотипической пластичности. «Портфель изменчивости» представляет собой адаптивный потенциал растения, с ним-то мы и работаем: методами и традиционной селекцией, и генной инженерии выводим породы, которые будут готовы не к сегодняшним условиям, а к завтрашним.

— *Но если адаптивный механизм уже есть, зачем дереву генетики? Оно приспособится и само.*

— Если успеет. Когда среда меняется постепенно, то организмы, у которых есть этот адаптивный потенциал — генетическая изменчивость, хватает времени, чтобы признаки, дающие преимущество, успели зафиксироваться в геномике. У кого не успевают, тот гибнет. А при резком, катастрофическом изменении вид уже никак не приспособится, поэтому вымирание видов — часть естественной эволюции. По данным палеонтологии, по ископаемым мы знаем, что в истории биологической жизни на Земле вымерло больше видов, чем сейчас существует. Но мы, люди, не хотим, чтобы то, что есть, умирало.

— *Решили помешать естественной эволюции?*

— Да мы и так ей давно и постоянно мешаем: нарушаем естественный баланс хозяйственной деятельностью, рубками, загрязнениями. Так может быть, пора вмешаться, чтобы и помочь? Если мы смоделировали, какие температура и влажность будут на некоторой территории через 20—30 лет, далее есть два пути. Первый и лучший — найти популяции, которые растут в более или менее похожих условиях и при лесовосстановлении использовать именно их, а не местные, которые через 20 лет окажутся не приспособленными. Это направление в лесной науке сложилось относительно недавно, оно называется *assisted migration* — мы помогаем популяциям быстрее мигрировать туда, куда они сами бы рано или поздно доползли через распространение генов, через семена, пыльцу... Но не всегда такая подходящая популяция существует, поэтому надо уметь выводить породы, адаптированные под худший сце-

нарий. И здесь мы обращаемся к геномной селекции.

Традиционная селекция древесных очень длительный процесс. Это у помидора в теплицах можно получить и наблюдать несколько поколений за одно лето и за несколько лет провести селекцию в сотне поколений. А сосна достигает половой зрелости к 15—20 годам. Так что при обычной селекции нужно 15 лет ждать, чтобы выросло дерево, отобрать, скрестить, потом снова 15 лет ждать. Сколько поколений сосны может получить и изучить исследователь на протяжении своей жизни? Три. А три поколения для селекции ничто.

А вот если генотипировать все гены или хотя бы большую часть генома для большой выборки деревьев, то есть знать всю изменчивость, можно построить корреляционные модели высокой сложности: посмотреть, какие комбинации генов и аллелей связаны с селекционно важными признаками.

— Для хвойных это будут, например, какие?

— Скорость роста, качество и объём древесины, устойчивость к заболеваниям; у кедровых — ещё урожайность кедровых шишек. Подчас эти сложные адаптивные признаки контролирует не один ген, а много. Зная полный генотип большого числа особей, морфологические признаки которых хорошо изучены и измерены, мы можем по этим моделям связать их вместе: понять, какие комбинации генов за какие признаки отвечают.

— То есть ключевое для решения этой задачи — возможность иметь и обрабатывать очень большие массивы данных?

— Да. Это позволяет понять генетический контроль сложных признаков, таких, которые контролируются не одним, не двумя, а несколькими десятками или сотнями генов. Имея такую модель, мы можем использовать её как предсказательную. Генотипировать деревья в самом раннем возрасте, как только из них можно выделить ДНК, и оставлять только те генотипы, по которым мы ожидаем желаемые признаки. Это ускоряет процесс селекции в сотни раз.

— Геномная селекция уже где-то применяется?

— В животноводстве. Гены молочности быстрее распространять через самцов. Кто будет давать больше молока, определяется элитными быками. Но это очень дорого-

стоящая селекция: бычка надо вырастить, скрестить с коровами, посмотреть дочек, дождаться, когда дочери начнут давать молоко, анализировать его на протяжении нескольких сезонов и потом решать, выбраковывать этого самца или считать элитным и продавать его сперму за большие деньги. В традиционном животноводстве такая селекция занимала пять-шесть лет. Сейчас, когда можно установить связь молочности с генотипом, берут ДНК бычка на ранней стадии развития, генотируют его геном по большому числу генов и определяют, можно ли ожидать высокой молочности от потомства. И в разведение пускают только «генетически правильных».

— Это проверено практикой?

— Да, и эффективность оказалась очень высокой. Молочное животноводство в Голландии, Америке, в Европе на 80%, а сейчас, может быть, и больше, уже перешло на геномную селекцию. Такая селекция дешёвая, но в наши дни секвенирование становится всё доступнее. То есть в абсолютном выражении технологии и оборудование делаются дороже, но растёт и эффективность, так что в пересчёте на единицу получаемой информации выходит дешевле. Секвенатор, который мы в Сибирском федеральном университете купили для геномного центра, стоит миллион долларов США. В стране

«Тихо, идёт... селекция!» Так в лабораториях Российского центра защиты леса в Пущино работают с семенами для получения первого сортного посадочного материала.



Фото Елены Вешняковой.

таких приборов полногеномного секвенирования всего три.

— *Счёт аппаратов такого класса идёт на единицы?*

— В России. В Европе их, конечно, больше, там каждый геномный центр ими оснащён. Я думаю, в Европе наберётся около сотни. Может, немного меньше. Но там же есть масса других видов секвенаторов.

— *То есть существует рынок этой техники?*

— Громадный, многомиллиардный, и он растёт. Потребности растут; например, Америка фактически полностью переходит на индивидуализированную медицину, а это требует технической базы и доступных технологий. Поэтому мировое научное сообщество поставило себе задачу создать такую технологию, чтобы одно полное секвенирование генома человека стоило не дороже тысячи долларов. Как только стоимость секвенирования снижается до тысячи долларов, медицинским страховым компаниям делается выгодно покрывать её своими страховками. Потому что предупредить заболевание часто дешевле, чем потом лечить. И зная предрасположенность человека к какому-то заболеванию, можно назначить ему превентивные меры: диету, специфические обследования с нужной частотой — всё это гораздо дешевле, чем потом лечить на сотни тысяч долларов. Так что страховым компаниям будет выгодно заплатить за человека эту тысячу, иметь геном и уже на основании этого...

— *...Рассчитывать стоимость страховки?*

— Нет. Это как раз уже в некоторых странах запрещено законом.

— *А что же?*

— Индивидуально проводить для каждого клиента профилактику возможных заболеваний. Могут дать рекомендации, что делать, чего избегать, на что чаще проверяться, даже могут назначить терапию. Таким образом клиент минимизирует свои риски, а страховая компания — свои. Поэтому в течение последних лет многие компании пытались создать технологию, способную полностью секвенировать геном человека всего за \$ 1000. Проект Archon X Prize даже предлагал грант в 10 миллионов долларов первой команде, которая приблизилась бы к достижению этой цели, однако конкурс был закрыт в августе 2013 года. Конечно, это копейки для высокотехнологичной

компании с многомиллиардным оборотом, но захватить этот рынок — вот что важно. Рынок секвенирования — это сегодня десятки миллиардов, а когда, уже вот-вот, вся медицина станет индивидуализированной, профилактической, на основе индивидуальных полных геномов, он ещё вырастет. И вот в январе этого года компания из Сан-Диего продемонстрировала новый секвенатор HiSeqX, с созданием которого эта цель наконец-то достигнута.

— *В этой модели страховой медицины секвенирование будет добровольным или обязательным?*

— Добровольным. Люди, которые не захотят знать своё будущее, смогут жить дальше как сложится само. Но я думаю, что большинство всё-таки захочет знать, где упадёшь, чтобы подстелить соломки, побережётся.

— *Получается, что мы уже влезает в собственную эволюцию?*

— Мы вообще идём к тому, что биологическая эволюция прекратится и всё будет полностью контролироваться человеком. Я, конечно, немного утрирую, но ведь, строго говоря, биологическая эволюция самого человека как вида уже практически прекратилась. Мы уже лечим болезни, которые были раньше неизлечимы, мы уже заглянули в геном. Следующий шаг — научиться его корректировать. Пару лет назад у бактерий открыли систему Cas9/CRISPR, которая отвечает за борьбу с мутациями, вызванными вирусом. Вирус вносит в геном мутации, повреждения, а бактерии с помощью этой системы восстанавливают повреждённые участки. Так вот эта система позволяет вносить нужные изменения в геном и считается очень перспективной для лечения человеческих генных мутаций и болезней. Пока идут только испытания, но у модельных видов — у мышей, у обезьян — система работает, корректируются участки, повреждённые онковирусами. Если это станет массовой практикой, то на этом биологическая эволюция человека остановится.

— *А может быть, она остановилась, когда мы перестали выкидывать слабых новорождённых и бросать на голодную смерть стариков?*

— Когда захотели жить дольше своего репродуктивного периода. По существующим прогнозам, если медицина будет развивать-

ся так и дальше, средняя продолжительность жизни скоро составит 150 лет.

— *Генная инженерия обещает много: вылечить больных, накормить голодных, продлить жизнь и молодость, и всё равно репутация у таких исследований неоднозначная: вторгаться в геном «с отвёрткой» кажется чем-то запретным.*

— Это на самом деле не всегда обоснованно: часто методами традиционной селекции мы гораздо радикальнее меняли геном и продолжаем менять, чем с помощью генной инженерии.

— *И всё же, неужели настороженность перед генной инженерией — просто бытовая инерция мышления?*

— Конечно, нет. Есть ситуации, и не только гипотетические, когда мы потенциально можем навредить. Я работал в Университете штата Орегон в лаборатории, которая занималась трансгенными тополями. Есть такой жук, похожий на колорадского, листоед тополевый (*Chrysomela scripta*), очень сильный вредитель тополей и осин. И есть бактериальный токсин, который его убивает. У соответствующей бактерии взяли ген, который вырабатывает очень высокотоксичный для личинки этого жука белок, встроили его в тополь, и тополь сделался защищён от этого жука. Если жук начинает его есть, то дохнет, если личинки откладываются — тоже дохнут. Но экологи опасаются, что если эта конструкция попадёт в природу, то многие сорняки, которые сейчас контролируются насекомыми, научатся от них защищаться, получат конкурентное преимущество и начнут вытеснять другие растения. И мир стремительно зарастёт сорняками.

— *Какой ужас: нашествие трансгенных лопухов...*

— ...Тогда молекулярные биологи и генетики, которые занимались этой темой, сказали: «Хорошо, чтобы ничего не попало в природу, давайте сделаем эти растения стерильными: дополнительно введём такую генетическую конструкцию, что они будут расти, но не цвести. У них не будет формироваться ни пыльцы, ни семян, они не смогут распространять свой генетический материал». На что экологи возразили:

Новые плантации деловой древесины (в виде упаковок семян) готовы к отправке из Российского центра защиты леса в разные уголки страны.

«Материал может попасть в природу путём горизонтального переноса: какие-то вирусы или бактерии захватят этот ген и потащат дальше. Или того хуже, вы введёте сейчас ген стерильности, а в живую природу попадёт именно он, и будет у нас мёртвый лес: расти — растёт, а воспроизводиться не может». Такое гипотетическое дерево, жизнеспособное, но стерильное, назвали деревом Франкенштейна, по аналогии с человекообразным монстром, которого создал доктор Франкенштейн, герой одноимённой английской повести. И настолько они запугали общественность, что на этой почве возник даже экотерроризм: активисты начали жечь генетические лаборатории. В том числе подожгли ту, где работал один из моих коллег в штате Вашингтон, и уничтожили очень ценные эксперименты. Ещё пытались рубить экспериментальные деревья, причём они, конечно, рубили всё подряд, поэтому пострадали и опытные деревья, не имеющие никакого отношения к трансгенным.

— *На самом деле в дикой форме они задают понятный вопрос: а какие гарантии, что распространение трансгенных конструкций у вас под контролем?*

— В любой новой технологии есть свои риски. Когда ты летишь на самолёте, ты знаешь, что он может упасть; когда используешь «чистую» энергию АЭС, знаешь, что станция может взорваться. Остаётся только учитывать эти риски, моделировать их и стараться не допускать негативных последствий. Цивилизация — это путь риска. Желательно, чтобы он был осмысленным.



Фото Елены Вешнякской.