

Възстановяване на видове

Десислава Нешева

Възможно ли е по земята отново да бродят мамути, динозаври и други изчезнали видове? Науката все по-сериозно се доближава до подобна перспектива. Вече се анализират и следващите проблеми – какво ще ни даде „възкръсването“ на изчезнали видове, полезно ли е, може ли да е опасно? Запазването на биологичното разнообразие по принцип е стратегически проблем пред човечеството, който ангажира огромен научен и икономически потенциал, като има своите заблуди, проблеми и постижения. Възстановяването на изчезналите може да се приеме засега за екстремна и „екзотична“ част от него. Самата идея за това поражда дискусии, особено остри около етичните и политически проблеми, но все повече се съсредоточават и върху екологичните последици от освобождаване на „пришълци от миналото“ в дивата природа.

Възстановяване на изчезнали видове или „биологията на възкресението“ е стара мечта, която напоследък е близо до осъществяване и отново е актуална – както в популярната, така и в научната литература. Днес съществуват три основни подхода при опитите за подобно „възраждане“ – обратно размножаване, клониране и генно инженерство. Всеки от тях показва обещаващи резултати, но е свързан и със специфични проблеми.

„Обратното размножаване“ е процес, който има за цел да концентрира в един индивид наследствените черти, които продължават да съществуват, но са разпръснати в популацията. При

обратно размножаване фенотипите на предците могат да бъдат възкресени, но гените, които са в основата на тези фенотипове, може да се различават от тези, които са присъствали в изчезналите видове. Образно казано – може да се възстанови формата, но съдържанието да е различно.

Подобно на традиционните програми за селективно размножаване, при „възкресението“ се подбират двойки за чифтосване въз основа на техния фенотип (определена морфология или поведенческа черта). Докато повечето програми за селективно развъждане имат за цел да създадат или подобрят нови черти, обратното отглеждане има за цел да

възкреси черти, които са били изгубени или минимизирани през еволюцията. Обратното развъждане обаче има няколко важни ограничения. Например необходимо е целевите черти на предците да се запазят в рамките на живота на видовете. Това означава, че походът може да е походящ само когато изчезналият вид е много тясно свързан към вид, който все още е жив. Освен това няма никаква сигурност, че избраният фенотип е резултат от същия

генотип или е, по-вероятно, набор от генетични характеристики и взаимодействия с околната среда. Тези процеси може да водят до по-висока степен на инбридинг в популацията или дори до поява на нежелани комбинации от алели, като и двата могат да намалят общата жизнестойкост на популацията. Успешен пример за обратно размножаване е възстановяването на популацията на зубрите в Европа, като при тях обаче имаше запазени живи индивиди от вида, макар и много малко. Днес зубрите са около 10 000 (през 2020 са били точно 8461), пръснати основно по зоопаркове и резервати, като всички те са потомци на 12 оцелели и поименно познати животни.

Клонирането е друг метод за работа с изчезнали видове. Базира се върху създаване на генетично идентични копия на изчезнал вид от запазени соматични клетки (които формират органите на



Европейският зубър е впечатляващ пример за запазване на изчезващ вид. Често се говори и за възраждане, макар че видът не е бил напълно изчезнал и е бил подложен на обратна селекция.

Снимка: Pryndak Vasyl Wikipedia Commons CC BY-SA 3.0

тялото и не са полови). Те се сливат с яйцеклетки от близко свързани и живи донорски видове, което може да доведе до клетъчно препрограмиране и ембриогенеза, процесът е известен в науката като SCNT (Somatic cell nuclear transference). След това развиващият се ембрион се довежда до термин в рамките на сурогатен гостоприемник. Тъй като в биологичните останки ДНК деградира в различна степен след смъртта, клонирането на отдавна мъртви организми е много трудно осъществимо. По принцип организъм, роден след SCNT, има идентична ядрена геномна последователност с донора на соматичната клетка.

Най-популярният успех на този метод бе клонирането на овцата Доли от края на миналия век. Тя бе родена в Рослинския институт (*Roslin Institute*) в Мидлоуигън (Шотландия) на 5 юли 1996 година, а почина на 14 февруари 2003. Като научен експеримент е носела



Овцата Доли, препариран експонат в Кралския музей на Шотландия. Снимка: Wikipedia Commons

индекса 6LL3, а името Доли получава по предложение на един от животновъдите – кръстена е на певичката Доли Партън, известна с пищния си бюст. Връзката е, че овцата Доли се развива от клетка, взета от вимето на донора. В експеримента в 277 яйцеклетки са били пренесени ядра от клетки на овцата донор. От тях 29 се развиват до ембрион, а само един оцелява до раждане. Доли ражда свое потомство, но живее само 7 години – почти наполовина спрямо овцете от нейната порода. Възпаление на белите дробове е довело до преждевременна смърт. Според някои учени клонирането е една от причините за ранната смърт и бързото остаряване. Други експерименти обаче отхвърлят това.

Успехът с Доли доведе до бързо развитие на клонирането на животни. Досега подобни експерименти са провеждани с мишки, кози, свине, крави. Използвани са както клетки от живи животни, така и клетки, които са запазени при ниска температура. Между другото, все по-

вече клонирани овце достигат достойна за породата им възраст, но Доли все пак остава героиня на науката – първата, появила се по този метод.

Клонирането е привлекателен подход и за възстановяване на видове, тъй като за разлика от обратното размножаване, полученият организъм ще бъде идентичен, поне на нивото на ядрения геном, на донора на соматичната клетка. Клонира-

нето обаче изисква съхранени витални клетки, каквито не са достъпни за повечето изчезнали видове. Когато един организъм умре, неговите тъкани (и ДНК в тях) започват да се разрушават. Вътреклетъчни и получени от околната среда нуклеази получават достъп и разграждат ДНК, протичат физически и химични процеси (окисление, хидролиза, радиация и др.), които причиняват допълнителни нарушения. Механизмите за поправка не функционират след смъртта, което води до все по-фрагментирана и увредена ДНК. Все пак, при скоро изчезнали видове, е възможно създаване на клонинги от клетки, които са били събрани, култивирани и замразени преди смъртта.

Първият случай на „възстановяване“ на изчезнал вид чрез клониране е от 2003 г., когато се ражда клонирано яре Biscardo - представител на наскоро изчезнал подвид на испанския ендемичен козирог *Capra pyrenaica*.

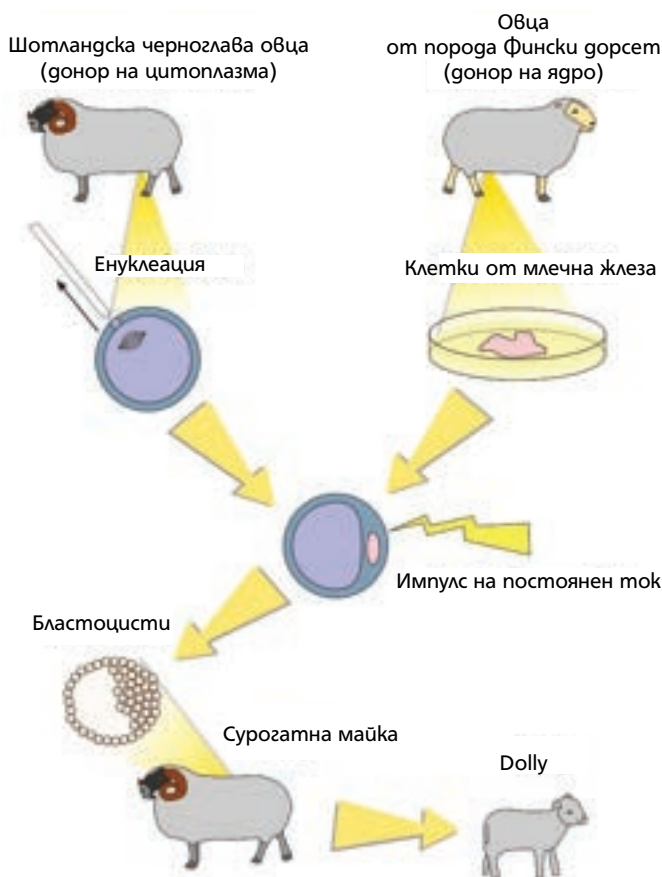


Схема на клонирането на Доли.
Автор: Kirill Borisenko, Wikipedia Commons CC BY-SA 4.0

зени и използвани за SCNT с енуклеирани яйцеклетки от домашни кози. Повечето реконструирани ембриони не са се развили, но един женски индивид се ражда. За съжаление това животно притежава деформиран бял гроб, което довежда до бърза смърт.

Има примери за успешно клониране и от нежизнеспособни клетки. През 2001 г. е клониран муфлон, застрашен подвид дива овца, от животно, което е намерено мъртво. Негова нежизнеспособна клетка се слива с енуклеирана яйцеклетка и това е довело до ембриогенеза. Този резултат показва, че замразяването и изсъхването, наблюдавани при дългосрочното запазване на биомолекулите в останки от организми, може да осигурят клетки, които

Няколко години по-рано екип от испански, френски и белгийски учени събират кожни проби от последния жив индивид от този подвид (женски индивид на име Силия). Фибробласти от кожата проба се отглеждат в култура и след това се замразяват в течен азот. Тези замразени клетки по-късно са размра-



Силия е била последният жив представител на Букардо.
Източник: <https://www.heraldo.es/noticias/aragon/2020/01/09/ultimo-bucardo-celia-aniversario-muerte-1352365.htm>

да се използват за *SCNT*. До 2008 г. няколко независими изследвания са доказали тази хипотеза – клонирани са миши ембриони от лиофилизирани клетки и от клетки, взети от мишки, чиито цели тела са били замразени за около 16 години. Успех е постигнат след инжектиране на цели клетки директно в енуклеирани яйцеклетки. Тези, които започват да се разделят на линии от ембрионални стволови клетки, са използвани за *SCNT*. Резултатите до момента показват, че е възможно да бъдат получени клонинги на някои наскоро изчезнали видове. Трябва да се има предвид, че ефективността на генериране на ембриони намалява с времето, през което клетките са били замразени.

Генното инженерство е третият, най-сложен, но и най-модерен подход за възстановяване на изчезнали видове. Той притежава предимството на последните научни постижения в две области – работата с гревна ДНК и редактиране на генома. Напредъкът в технологиите за извличане и секвениране на гревна ДНК правят все по-осъществимо пълното реконструиране на геномни последователности на изчезнали видове. Тези геноми могат да бъдат приведени в съответствие с геномните последователности на днес съществуващите, най-близки до тях видове. След като се установят ключови разлики в последователността между изчезналите и съществуващите видове, може да се използва генното инженерство в *in vitro* условия за редактиране на генома на живия вид. В резултат на което геномът на живите клетки ще експресира гени от изчезналият вид. След това тези живи клетки могат да се използват за *SCNT*.

Първата стъпка е реконструирането на геномната последователност от из-

чезнали видове. Скоростта на разпадане на ДНК е по-бавно в по-студени условия в сравнение с разпадането в гореща среда. Затова ранните изследвания на древни ДНК се концентрираха върху животни, които са живели и умрели в арктическите региони. Напоследък подобренията в ДНК методологиите направиха възможно реконструирането на пълни геномни последователности от проби, запазени във все по-широк времеви диапазон и в по-разнообразна среда за съхранение. Наличието на секвениран и сглобен геном е ключът към възстановяването на видовете. Друг проблем е, че поради фрагментирания характер на възстановените древни ДНК последователности, може да се стигне до вероятни таксономични отклонения, които да повлияят на това кои изчезнали видове в крайна сметка ще имат своите секвенирани геноми. Това означава, че гревните геноми не могат да бъдат сглобени, а ще бъдат подредени чрез картографиране на възстановените къси ДНК фрагменти към геноми, които са били сглобени преди това, създавайки това, което се нарича *референтно насочено снаждане*. Колкото по-голяма е еволюционната дистанция между предварително секвенирания референтен геном и генома на изчезналия вид, толкова по-малко молекули ще бъдат картографирни надеждно. Следователно е трудно да се сглобяят правилно и напълно геномите от изчезнали видове без информация от близки родствени видове. След като геномът на изчезнал вид бъде сглобен, следващата стъпка е да се идентифицират частите от този геномна последователност, която отговаря за целевия фенотип. След което може да се промени всеки сайт в съществуващият геном, където последователността се различава от изчезналия геном.

Подходите за редактиране на генома се подобряват по отношение на ефективността, с която те насочват и заместват правилната област на генома. Обаче все още не е възможно да се предвидят последиците от мащабно редактиране върху стабилността на генома. „Прекратяването на изчезването“ (терминът е тромав, но по-добър от наситения със силно религиозно съдържание „Възкресение“), е възможно чрез използване на биоинженерни техники, които могат да манипулират ДНК и геноми в даден организъм. Запазването на видовете чрез технология за редактиране на гени представлява вълнуващо и осезаемо ново движение в науката и опазването.

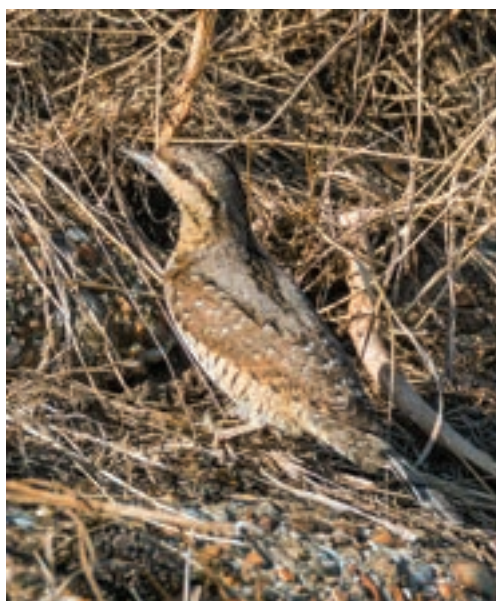
Ето един практичен пример. Генен драйв (gene drive) е проектиран, за да увеличи значително вероятността за унаследяване на специфичен алел от родител към потомство, с цел разпространението му в цялата популация. Той представлява генетичен елемент, който въвежда отклонение в относителния шанс за наследяване между отделни алели на гени, което позволява на един да се разпространява бързо в популация за сметка на други, дори ако това е неблагоприятно за организма. Генните стимули могат да бъдат използвани за генетична модификация на цели популации, като например насекоми, пренасящи болести. Проучване от 2020 г. използва редактиран генен драйв в лабораторията за потискане на репродуктивната способност на комарите (*Anopheles gambiae*), с цел намаляване на разпространението на малария. Тези резултати са обещаващи, но е необходимо допълнително проучване, за да се установи дали прилагането на тази технология върху популациите от див комари би било ефективно и безопасно. Наме-



Десислава Нешева е възпитаник на Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. Бакалавър по молекулярна биология (2006) и магистър по генетика (2008). Работи в Катедра по Медицинска генетика към Медицински университет – София. Доктор по генетика от 2016 г. Специализирала е 2 години популационна, еволюционна и антропогенетика във Флорентинския университет, Италия. Участва в множество проекти и има интерес в области, свързани с изследване на онкологични заболявания, вродени малформации, проблеми на дълголетието и социално значими болести.

сата на хората в генетиката открива огромни възможности, но крие и своите опасности.

Какво ще стане, ако можем да помогнем на застрашените див животни да се адаптират по-добре към множеството непознати за тях заплахи? Днес видовете са изправени пред предизвикателства като изменение на климата, инвазивни врагове и болести? ООН предупреждава, че около един милион животински и растителни видове са в риск от изчезване. В отговор, програмите за консервационно развъждане се засилват, за да стимулират и защитават попула-



Въртошиятка може да намира храната си на повърхността на земята и се маскира добре в тази среда. Снимка: joe m devereux

ции. Консервационното развъждане обаче може да предотврати изчезването, но не позволява на застрашените видове да оцелеят в дивата природа. Затова успоредно с борбата с климата и болестите, трябва спешно да улесним живота на застрашените видове. И тук Целенасочена генетична интервенция (TGI) влиза в употреба. Тя работи чрез адаптиране на методи, които се използват успешно в селското стопанство и медицината, при които генетиката на

индивида се променя по начини, които, когато се предават на по-широката популация чрез размножаване, могат да променят чертите на даден вид, за да спомогнат за неговото оцеляване. Два от най-обещаващите подходи в този инструментариум включват изкуствен подбор и синтетична биология.

Генетичното разнообразие е от съществено значение за дългосрочното оцеляване на даден вид. Популация с голямо генетично разнообразие съдържа много различни алели. Аелите са различни форми на ген, които съществуват в един и същ локус на хромозомата, определяйки черти, които са специфични за индивидите. Когато се сблъскат с промени в околната среда, като например по-високи температури, някои индивиди ще имат естествено предимство пред други, защото имат правилните алели, за да се справят с тази промяна – това е основата на естествения отбор.

Като пример може да посочим гвептици от един и същи вид, които мо-



Въртошиятка може да живее и гнезди и по дърветата и тогава окраската се променя. Снимка: Donald Hobern Wikimedia commons CC BY 2.0

гат да гнездят в една и съща гора. Някои индивиди предпочитат да строят гнездата си високо в короната, докато други избират да гнездят близо до земята. Това предпочитание има някаква вродена генетична основа. Когато са изправени пред обезлесяване, наземно гнездящите птици ще имат предимство за оцеляване и те ще се възпроизвеждат по-бързо и ще предават гените си на потомството, увеличавайки разпространението на алели, свързани с гнездене в близост до земята в популацията. За разлика от това, ако инвазивен вид, който ловува на земята, засели тяхното местообитание, птиците, гнездящи по дърветата, ще имат изборително предимство пред птиците, гнездящи в близост до земята. Същото важи и за болестите. Ако се появи нова болест, някои индивиди ще имат алели, продуктите на които проявяват протективен характер спрямо болестта. Това, разбира се, е случайно, но генетичното разнообразие гарантира, че вероятността поне някои индивиди да устоят на болестта е висока.

Ограниченото местообитание от генетична гледна точка може да представлява сериозна заплаха за оцеляването на вида. То води до бързо намаляване на размера на популацията. Ограничените, затворени популации са трудни за възстановяване, защото те често водят до инбридинг, което се отразява отрицателно на генетичните характеристики на потомството. За съжаление, човешката дейност увеличава риска от изчезване на видове, предизвикано от промяна в земеползването, изменение на климата и много други фактори. Генетичното разнообразие в рамките на един вид поддържа биоразнообразието между видовете. Опазването на генома представлява начин за запазване на за-

страшените видове и поддържане както на генетичното, така и на биоразнообразието.

Намаляването на популациите затваря един порочен кръг. Когато размерът ѝ спадне, рискът от инбридинг се повишава, тъй като има по-малък избор на партньор. Инбридингът намалява генетичното разнообразие в популацията, като намалява способността ѝ да се адаптира към промените в околната среда или да оцелее при нови заболявания. Генетиката ни предоставя възможности за борба с този омагьосан кръг. Геномното секвениране позволява да се идентифицират значими гени и тяхната функция, изследователите могат да сравняват и идентифицират нереперентни алели в популацията. Така се изработва и стратегия за опазване. Това стана възможно едва през последните години посредством Next Generation Sequencing (NGS, Секвениране от ново поколение). То е по-лесно, по-евтино и по-бързо като дава възможност за натрупване на огромно количество данни по ефективен начин, за разлика от традиционните методи за секвениране на Sanger.

Генетичното спасяване е успешно приложено при пумата от Флорида (*Puma concolor coryi*), подвид на пума, оцелял с около 20 – 25 индивида в дивата природа в края на 90-те години. Високите нива на инбридинг са пречели на останалата популация да се възпроизведе успешно. Осем пуми от тексаски подвид са използвани посредством генните технологии за опазване на вида и днес около 230 екземпляра *Puma concolor coryi* съществуват в дивата природа.

Третият подход за възстановяване на изчезнали видове притежава предимството на последните научни постижения в две области: работата с древна



Пума от Флорида (*Puma concolor coryi*). Автор: Larry W. Richardson/USFWS U.S. Fish and Wildlife Service Southeast Region.

ДНК и редактиране на генома. Те са вероятно най-подходящият подход към съхранение на видовете. Напредъкът в технологии за извличане и секвениране на гревна ДНК прави все по-осъществимо пълното реконструиране на геномни последователности на изчезнали видове. Тези геноми могат да бъдат приведени в съответствие с геномните последователности на днес съществуващите, най-близки до тях видове. След като се установят ключови разлики в последователността между изчезналите и съществуващите видове, може да се използва генното инженерство в *in vitro* условия за редактиране на генома на живия вид. В резултат на което геномът на живите клетки ще експресира гени от изчезналият вид. След това тези живи клетки могат да се използват за SCNT.

Технологията за редактирането на генома, разработена за първи път през 90-те години на миналия век, манипулира генетичния материал на живия организъм чрез изтриване, заместване

или вмъкване на ДНК последователност. Редактирането на генома съчетава желаните черти, които са направили вида уникален с гени от вида донор. Ето защо полученият организъм не е напълно идентичен с изчезналият вид, а е хибрид. Редактирането на генома става чрез CRISPR технологията (Вж Природа бр.1/2020). Тя позволява на учените да насочват промени към конкретни места

в генома като използват и протеина Cas9, който действа като молекулярна ножица. Технологията вече е научно призната. През 2020 г. Еманюел Шарпентие (Emmanuelle Charpentier) и Дженифър Доудна (Jennifer Anne Doudna) получиха Нобелова награда за нея. Възникват обаче етични съображения, защото геномната технология е нова и тя изисква внимателно обмисляне, преди да бъде използвана в реална среда.

Един от обектите, върху които се работи с нея са кораловите рифове. Те са от жизненоважно значение за здравословното функциониране на нашата планета, поддържат грандиозно биоразнообразие, което предоставя изобилие от екосистеми на крайбрежните популации. За жалост, повече от 60% от кораловите рифове са застрашени от човешката дейност. Основната заплаха за тях е т. нар. „избелване на коралите“ – стресова реакция при загуба на ендосимбиотичните водорасли, наречени зооксантели (*Zooxanthellae*). Клетките на водораслите съдържат хлоро-

фил, който придава цвят на коралите и осъществява фотосинтеза. Когато се изгубят, остава само екзоскелетът от бял калциев карбонат, откъдето идва и името „избелване“. Промени в околната среда (по-топла вода, повишена слънчева радиация и екстремни промени в солеността) са причини за избелването на корали, което често води до смърт и има каскаден ефект върху цялата екосистема. Решението на този проблем дава геномиката, която предлага начин за опазване чрез използване на генетичното разнообразие на симбионтните водорасли. Някои симбионти са по-устойчиви от други на топлинен стрес. За съжаление, най-термоустойчивият тип е и най-редкият сред видовете корали. Програмите за селективно размножаване на корали дават възможност да се увеличи разпространението на видовете, които експресират гени, свързани с устойчивост на топлина. Системата за редактиране на гени CRISPR-Cas9 е успешно използвана за генетично модифициране на коралови зиготи. Изследователите са се насочили към специфични протеини, които карат коралите да флуоресцират под UV светлина. Тези протеини действат слънцезащитно, предотвратявайки увреждане на ДНК чрез отразяване на високочестотно лъчение.

Австралийско-френски съвместен проект, наречен CORAL CARE стартира през 2021 г. в опит да проучи гените и пътища-

та, свързани с топлинната толерантност на коралите. Този проект е възможна стъпка напред, използвайки техники CRISPR-Cas9 и CRISPR-dCas9 за промяна в генната функция и за включване или изключване на гени, за да се идентифицират функциите, свързани с термотолерантността в коралите.

Много учени изразяват загриженост относно непредсказуемите, дългосрочни последици от въвеждането на генетично модифицирани корали в екосистемата. Въпреки това, ако един вид бъде успешно съхранен с помощта на геномна технология – това може да проправи пътя за бъдещо приложение.

Друга история със спасяване на застрашен вид е свързана с Чернокракия пор (*Mustela nigripes*) – най-застрашеният бозайник в Северна Америка. Една спешна програма за отглеждане групна животното от ръба на изчезване, но връщането му обратно в дивата природа е било опасно за него. Чернокракият пор



Коралът на преден план е избелен, като е загубил симбионтните си хлорофилни водорасли, а този зад него е здрав.

Снимка: Wikimedia Commons CC BY 3.0



Чернокракият пор е бил на ръба на изчезването, но вече е запазен

е особено податлив на горската чума, без съмнение следствие от ниското генетично разнообразие в малката му популация. Инфекцията има почти 100% смъртност при животното. През 2016 г. е използвано генно инженерство за установяване на имунитет в самоподдържаща се дива популация. Системата CRISPR-Cas9 е дала възможност за насочване на целева ДНК последователност, чиито продукти участват в имунния отговор срещу чума.

Това се постигна чрез получаване на алели за устойчивост от домашен пор и посредством CRISPR-Cas9 медирано редактиране за интегриране на избрания алел в генома на чернокракия пор. Успешната интеграция може да бъде проверена с помощта на PCR техники.

Проучване от 2023 г. произвежда първия анотиран референтен геном при чернокракия пор. Това осигурява изключително прецизен генетичен ресурс, който ще подкрепи бъдещи задълбочени проучвания в консервационната геномика. Това сглобяване служи като справка

за анализиране на генетични данни от различни индивиди, което позволява на изследователите да идентифицират мутации, свързани с инбридинг, и да изследват уязвимостта на вида към чума в сравнение със сродни евразийски видове. В бъдеще в референтния геном могат да бъдат интегрирани допълнителни корекции, за да се подобри неговата точност.

Синтетичната биология е по-нова и по-противоречива от изкуствения подбор. Тя включва методи като трансгенеза и генно редактиране. Синтетичната биология може да се използва за въвеждане на изгубени или нови гени и за коригиране на специфични генетични характеристики на организма, без да се променят групи характеристики, което често се случва с по-малко целенасочени подходи като изкуствена селекция. Трансгенезата прави това чрез включване на чужда ДНК от различен вид в генома. Генното редактиране е по-фино и работи като индуцира самия организъм да нокаутира или замени целевите гени. Американски кестенови дървета, корали и чернокраки порове са само част от видовете, върху които в момента се изпробват методи на синтетична биология, за да подпомогнат възстановяването им. Американските кестенови дървета са впечатляващ пример за успех. Този вид е бил доведен до практически изчезване в Северна Америка след появата на азиатската гъба *Chestnut Blight* в края на 1800 г. Тествани са различни под-

ходи за повишаване на резистентността към този патоген с различна степен на успех, но тъй като на първото липсва естествена резистентност, най-ефективният подход към днешна дата включва използването на трансгенеза за въвеждане на нов толерантен към болести ген от пшеница. Това е довело до появата на американски кестенови дървета, които изглеждат устойчиви на мана. Пробното засаждане на тези дървета в американските гори може скоро да започне, в очакване на регулаторно одобрение.

Ужасяващите вълци (*Aeposyon dirus*) представлявали големи животни с мощни челюсти от семейството на кучетата в Плейстоцена. Повече от 400 техни черепи са били открити в катранените ями Ла Бреа в Калифорния. Били са до 25% по-големи от сивите вълци и са имали малко по-широка глава и светла гъста козина. Диетата им се състояла от най-малко 70% месо, предимно коне и бизони. Изчезнали са в края на най-новата ледникова епоха, преди около 13 000 години.

Интересът към тях се заражда след създаването през 2021 г. на лабораторията по биотехнологии „Колосал“ (Colossal). Нейният основател Бен Лам (Ben Lamm) споделя идеи за проект с хар-



Експериментални дървета от американски кестен в Ботаническата градина на щата Масачузетс. Снимка: Wikimedia Commons



Американска порода едри кучета, които са използвани за геномно възраждане на ужасяващите вълци



Запазен скелет на ужасяващ вълк. Снимки: Палеонтологичен музей La Brea Tar Pits, Лос Анжелис, Wikimedia commons CC BY-SA 4.0

варгския генетик Джордж Чърч (George Church) за повторно създаване на вълнести мамути и чрез тях да възстанови екологичния баланс във вечната замръзналост. За равновесието му трябва да и хищници.

В усилията си да пресъздаде ужасяващите вълци, лабораторията извлича ДНК от костни останки и е използвала генно редактиране за въвеждане на някои от тези елементи в клетки от сиви вълци. След това използват клонирането, за да превърнат клетките в реални животни. Анализите на генома на ужасния вълк позволиха на „Колосал“ да идентифицира множество гени, подложени на положителна селекция, като се фокусира върху основните черти, които ги правят уникални (размер, мускулатура, цвят, текстура, дължина и шарка на козината). Използвайки иновативен подход за установяване на клетъчни линии от стандартно взета кръв, екипът на „Колосал“ събра кръв от сив вълк и установи клетъчни линии от кръвни епителни прогениторни клетки (EPC).

След това екипът извърши мултиплексно редактиране на генома на тези клетки, последвано от секвениране на целия геном, за да потвърди ефективността на редактирането и да идентифицира всички промени в генома, възникващи по време на разширената клетъчна култура. Избят се висококачествени клетки с нормални кариотипове за клониране чрез ядрен трансфер на соматични клетки в донорни овоцити. След това здрави развиващи се ембриони са прехвърлени в сурогати за междувидова бременност. Три бременности доведоха до раждането на първия изчезнал вид. Тези технологии могат директно да помогнат за спасяването на разнообразие от други застрашени животни. Това е изключителен технологичен скок, генетични инженерни усилия както за науката, така и за запазването на живота, и прекрасен пример за силата на биотехнологията за защита на видове, както съществуващи, така и изчезнали.

Успешно се раждат два мъжки индивиди *Ромул* и *Ремус*, и една женска, *Халиеси* (препратка към телевизионния сериал *Game of Thrones*). Раждането на ужасяващите малки вълци доказва ефикасността и осъществимостта на създаването на стандартизиран набор от инструменти за избягване на видовото изчезване. Ужасяващите вълци поставят рекорда за брой прецизни генетични редакции във всички живи видове. Компанията извърши рекордните 20 прециз-

ни

ни редакции на генома в 14 гена, всички модификации са получени от анализа на генома на страшният вълк като 15 от тези редакции са точните изчезнали варианти. Заедно тези редакции допринасят за по-голямо, по-силно тяло и по-дълга, по-пълна козина с лека пигментация. Идентифицирани са генни варианти, специфични за ужасяващите вълци. Използва се иновативен подход за висококачествено съгласяване на древни геноми, което води до 3,4-кратно покритие на генома, изолиран от зъба и 12,8-кратно покритие на генома от вътрешното ухо. Установено е, че древните вълци имат бяла на цвят, дълга и гъста козина – аспекти на фенотипа им, които съответстват на животните, живели през студените периоди на плейстоценските ледникови епохи. Клонирани са висококачествени клетъчни линии, използвайки ядрен трансфер на соматични клетки в донорни яйцеклетки.

Целевите гени са избрани, защото всеки е свързан с една или повече ключови черти, които правят ужасните вълци уникални сред кучетата. Един от целевите гени за серинова протеаза (CORIN), който се експресира в космените фоликули, въздейства върху цвета и шарката на козината. Редактирани са и специфични варианти в мултигенен регулаторен район, който е свързан с вариациите в размера на тялото, както и морфологията на ухото, черепа и мускулната. Един от гените *HMGA2* е пряко свързан с размера на тялото при кучета и вълци. Друг *MSRB3* е свързан с вариациите във формата на ухото и черепа при кучета и други бозайници.

За всеки вариант, идентифициран като свързан с целеви фенотип, учените създават подробен профил на всички потенциални въздействия върху генома на донора. За да осигури желаните и здра-

вословни резултати, екипът отхвърля варианти, които биха понесли известен риск извън прогнозирания фенотип или приоритетни варианти, които вече са еволюирали при сивите вълци. Ужасният вълк има три промени в протеиновата последователност на белтъка *LCORL*, които са предсказани чрез 3D моделиране, за да променят начина, по който протеинът се съзва точно на мястото, където *LCORL* трябва да се свърже с основен комплекс за заглушаване на ген, известен като гомейн *PRC2*. Интересното е, че големите породи кучета (които са опитомени сиви вълци) имат вариант на *LCORL*, при който липсва изцяло *PRC2* гомейна. Тъй като се предвижда версията на ужасния вълк да има подобно фенотипно въздействие като варианта, открит при по-големите породи кучета, и поради потенциала на *LCORL* да взаимодейства с други гени в генофонда на сивия вълк, които не са редактирани, зловещите вълци на „Колосал“ експресират протеин, който се намира в най-големите сиви вълци. Този избор позволява предвиденото фенотипно въздействие и без допълнителен риск. Използва се най-безопасния и ефективен подход за връщане на изгубените фенотипове, които правят изчезналия вид уникален.

Учените се обръщат към древната ДНК, за да научат колкото е възможно повече за всеки вид и когато е възможно, да свържат изчезналите специфични варианти на ДНК последователности с всяка ключова черта. В някои случаи научаваме, че варианти, които вече присъстват в сурогатния вид, могат да бъдат използвани за инженерирание на тази ключова черта.

В генома на ужасяващия вълк има заместване в три белтък- кодиращи основни пигментационни гена, които са

OCA2, *SLC45A2* и *MITF*. Те влияят пряко върху функцията и развитието на меланоцитите. Въпреки че те биха довели до светла козина при ужасните вълци, вариантите в тези гени при сивите вълци може да доведе до глухота и слепота. Ето защо екипът създаде светло оцветена козина в ужасните вълци по път, за който е известно, че е безопасен при сивите вълци – чрез предизвикване на загуба на функция на *MC1R* и *MFSD12*. Тези гени влияят върху експресията на пигментите еумеланин (черен) и феомеланин (червен) в меланоцитите, които се отлагат върху козината, постигайки по-светъл пигментиран цвят, взаимстван от този на страшният вълк, но без никакви потенциални въздействия върху здравето.

Някои учени отхвърлят твърдението на компанията, че новите животни са възраждане на изчезналите същества, тъй като в действителност ужасяващите и сивите вълци са различни видове, разделени от няколко милиона години еволюция и няколко милиона ДНК последователности. Тези животни всъщност не са страшен вълк и не е правилно да се каже, че страшните вълци са били върнати от изчезване. Според Андерс Бергстрьом, професор в Университета на Източна Англия, който специализира еволюция на кучетата, това е модифициран сив вълк и двадесет промени не са достатъчни, за да го определят като изчезналия вид, но може да доведе до поява на странно изглеждащ сив вълк.

Бет Шапиро, експерт по древна ДНК, от Калифорнийския университет, Санта Круз смята, че е философски спор това дали трябва да се нарече страшен вълк или по друг начин. Страшни или не, новите вълци демонстрират, че науката става все по-ловка в контрола си вър-

ху геномите на животните – и посочват как това умение може да помогне за опазването на природата. Като част от проекта на „Колосал“ са клонирани няколко червени вълци, американски вид, който е най-заstraшеният вълк в света. Но това не е толкова драматично, колкото предполагаемото прераждане на изчезнало животно с много културни последици. Мотивацията за дейността на лабораторията е разработване на инструменти, които може да се използват, за да се спре изчезването на видовете.

Разпространението на гени има както рискове, така и предимства. То може да бъде трудно за контролиране, а последиците могат да са опасни. Вероятно няма да загубим следите на мамутите в Сибир, но какво да кажем за плъховете? Генетично модифицираните култури пораждат обосновани страхове. Една модификация може да се премести в роднини, може да прескочи и да излезе извън контрол или да не бъде изразена по начина, който очаквате. Въвеждането (или повторното въвеждане) на вид в местообитание винаги е свързано с известен риск, но вече този риск е управляван успешно с живи животни, като повторното въвеждане на вълци в Националния парк Йелоустоун или бобрите в Обединеното кралство. Имало е и бедствия, както при отровната тръстикова жаба в Австралия, която първоначално е била внесена, за да подпомогне контрола на сивогърбите тръстикови бръмбари, които увреждат захарните култури, но сега се разпространява из целия континент и застрашава с изместване местните популации. Успехи засега има, но и всяка нова крачка показва и нови проблеми. Така че пътят до възродените мамути все още е дълъг и несигурен. ■

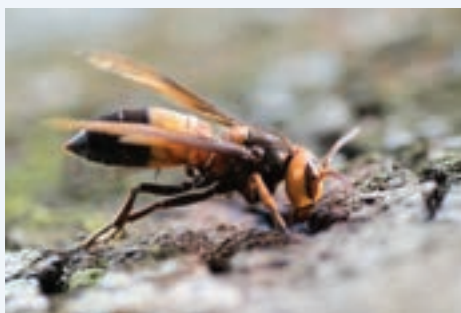
Гигантски пчелояден стършел атакува Европа

За разлика от обикновените европейски стършели (*Vespa crabro*), чиято дължина обикновено не надминава 2.5 см., в източните райони на Азиатския континент живеят 2 вида стършели, които имат почти двойно по-големи размери и често нападат и унищожават полезните медоносни пчели. Между тях по-известни са Азиатският гигантски стършел (*Vespa mandarina*), който достига дължина до 5 см. и се среща в Япония, Китай, Южна Корея и гр. и Източният

гигантски стършел (*Vespa soror*), достигащ обикновено до 3 см. и обитаващ предимно Индия, Тайланд, Лаос, Северен Виетнам и гр. И двата вида са опасни хищници, хранят се главно с различни едри насекоми, но понякога нападат и гребни гръбначни животни –

гекони, птици и гр. Нанасят големи щети и на пчеловъдството чрез унищожаването на цели пчелни семейства и колонии, които предпочитат в менюто си. Ужилванията им могат да причинят смъртта на човек.

Един от тези гигантски стършели – Източният гигантски стършел (*Vespa mandarina*), е пренесен по неизвестен начин през 2019 г. на американския континент в района на гр. Ванкувър, където е обявен веднага за вреден инвазивен вид и е ограничено разпространението му. През 2022 г. обаче, пчелари от Северна Испания и зоолози от университета в Овиего открили за първи път няколко подобни „жълтоглави гигантски оси“ и в Испания, което се оказало първо неочаквано проникване на Източният гигантски стършел (*Vespa soror*) в Европа. През м. март, 2022 г. и м. октомври, 2023 г. те отново успели да хванат в капани и 4 живи стършели от този



Външен изглед на *Vespa soror* (Интернет)

вид, върху които направили и по-прецизни таксономични и молекулярно-биологични изследвания. Било окончателно потвърдено, че те са на вида *Vespa soror* и той е нов вредоносен инвазивен вид в Европа. Съобщението на испанските учени е публикувано през ноември 2024 г. в международното научно списание *Ecology and Evolution*.

Според авторите на откритието, както и на други учени, „Ако огромните прищълци успеят да създадат трайни популации на ев-

ропейския континент те могат да застрашат хората, медоносните пчели и други животни“. Ентомологът г-р Фил Лестър (Phil Lester) от университета в Уелингтън (Нова Зеландия) определя откритието на новия нашественик в Европа като „много тревожно, защото *V.*

soror е известен агресивен пчелояд“, но ще атакува и много други животни като оси, насекоми и дори малки гръбначни животни и това може да се окаже истински проблем“.

Засега е неясно как опасният нов прищелец в Европа е проникнал в Испания, но фактът, че той вече е улавян 2 пъти в различни години, подсказва, че в страната има вече млада женска (майка или царица по терминологията на пчеларите), която вече се е установила някъде и е възможно да даде началото и на нова млада колония на нашественика?. А според един от авторите на откритието – Д-р Санчез, (Dr. O. Sanchez) „сега е времето да започнат активни издирвания в страната за нови колонии на вида и да се направи необходимото да се унищожат преди окончателното им намножаване в страната и в Европа“.

По *Ecology and Evolution* и *Live Science*