

ZÖLD BIOTECHNOLÓGIA

HÍRLEVÉL



7. évf. - 2011/7. július



*Barabás Zoltán
Biotechnológiai Egyesület
Alapítva: 1999 - Az EuropaBio tagja*

Dr. Szűcs István

A génművesség

Dudits Dénesnek

A rend uralja a természetet,
s a visszatérés révén tette
- a géneket.

Hogy az akácból akác legyen
és soha tölgy, dúl a harc
az élettér fölött.
Az er az alkalmazkodás,
s ha ellenáll gát
áttöri a rendet a mutáció.

A világ, melyben Te bolyongsz
a lét és az álom ösvényének
aréna-sikátora.
Az ösztönökbe léket váj a
szikék jajduló sikolya.

A bels láng mi f t:
úrrá lenni a titkokon,
s a lét tét a másik oldalon:
kenyérért kiált, mert éhe fáj
menti az ember saját fájától önmagát.

Az égi zene kottájának ritmusát
figyelve
int az Úr, hogy jól van ez:
a hit békés honába hatoló er
megszépíti az álmképeket.

Mert ha kiég az ölek üzenete
meghal az élni vágyás ereje.

Budapest, 2010. augusztus

HVG Hetilap, 2011. 29. szám
2011. július 20., szerda

http://hvg.hu/hvgfriss/2011.29/201129_nyomozas_elelmiszerterrorizmus_miatt_csore_

CSÖRE TÖLTVE

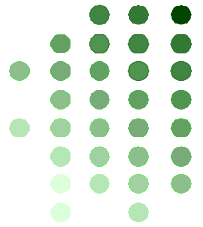
Nyomozás élelmiszer-terrorizmus miatt?

Tamás Gábor

Nemzetbiztonsági vizsgálat tárgya is lehet, miként került génszennyezett kukorica-vet mag a földekbe. A gyanúba keveredett vet magmultik milliárdos perre elegend adut húztak el.

Az állambiztonsági szolgálatok bevetését is lehetségesnek tartotta Font Sándor, az Országgyűlés fideszes mez gazdasági bizottsági elnöke a felelősök felkutatására és annak kiderítésére, hogyan kerülhetett

hazai forgalomba génmódosított kukorica-vet mag. Egyenesen úgy nyilatkozott, hogy a „génszennyezés” nemzetstratégiai jelentőségű problémával lehet egyenértékű. Javaslatát a szaktárca felé is meghallgatásra találta, legalábbis a HVG-t úgy tájékoztatta a Vidékfejlesztési Minisztérium, hogy „illetékesei vizsgálják ennek szükségszerűségét”. Más HVG-források szerint az alapvetően nemzetgazdasági érdekek elleni, a kémkedéssel azonos besorolású tevékenység, illetve az élelmi-



szerterrorizmus gyanúja alapján indulhat - személyi megfigyeléssel és lehallgatással, házkutatással is járó - nyomozás az ügyben.

Magyarország génmódosított terményektől (GMO) mentes státusa a tétje annak a háborúnak, amely az agrárkormányzat és a világ legnagyobb vetőmagcégei közé tartozó Pioneer, illetve Monsanto között tört ki. Az agrártárca „véletlenül GMO-keveredés” miatt eddig csaknem 3500 hektár kukoricavetés megsemmisítését rendelte el, miután a vizsgálatra felkent hivatalos laboratórium az említett két cég tételében a mérési hibahatárt meghaladó, azaz legalább egyezreléknyi GMO-tartalmat talált. Mivel Magyarországon a genetikailag módosított növények termesztését nulla toleranciával tiltják a jogszabályok, az ilyen magokból kikelt vetéseket haladéktalanul meg kell semmisíteni.

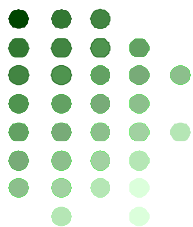
A látványos kitarcsászási akcióhoz a génmódosított szaporítóanyagokon kívül legalább két feltétel kellett: Fazekas Sándor vidékfejlesztési miniszter márciusi rendeletmódosítása, illetve a laboratóriumi kapacitások hiánya. Előbbi kötelezte az uniót, hogy a vetőmagot importáló cégeket, hogy gondoskodjanak a beszállított tétel GMO-mentességét tanúsító magyar hatósági laboratóriumi mérési jegyzék kiadásáról. Vagyis szinte mindenkit, hiszen a hazai szükséglet csaknem száz százalékát harmadik országokkal is kereskedő multinacionális cégek elégítik ki: a döntően amerikai tulajdonú, más országokban génmódosított fajtákat is forgalmazó Monsanto és Pioneer, illetve a svájci Syngenta. A több mint egymillió hektáros vetésterület miatt ez az ezres nagyságrendben beérkező mennyiség mintákra lehetett számítani - ám az állami ellenőrzésre kijelölt egyetlen, a fővárosi Keleti Károly utcában működő agrárszakigazgatási laboratórium június végéig csak heti



húsz tétel mérésére volt képes. (Igaz, ezt a kapacitást július közepére - jórészt az időközben kibontakozó GMO-bojtány nyomán - heti negyvenre emelték.) Így csak az eredetileg elírt háromhetes vizsgálati időtartam jöcskán meghaladó csúszással születhettek meg az eredmények - emiatt fordulhatott elő, hogy a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal csak a vetés után két és fél hónappal, a tenyészidő derekán kötelezte a gazdákat a növények kitarcsászására.

A GMO-mentesség hivatalos státuszának megteremtése a jelenlegi agrárstratégia egyik alapvető célkitűzése, amit még az új alkotmány is rögzít. Ennek szükségességét Fazekas Sándor a köztévé egyik múlt heti hírműsorában azzal támasztotta alá, hogy „az európai emberek többsége idegenkedik a genetikailag módosított élelmiszerektől, ezért az azoktól garantáltan mentes országok termelési hosszútávon piaci előnyökre számíthatnak”. Ezt az érvelést némileg árnyalja, hogy a takarmányozás fehérjeszükségletét hetven százalékban tengerentúli, zömmel GMO-t tartalmazó importszójjal kielégítjük európai - és benne a hazai - állattenyésztésben séggel szállít ilyen összetevőt tartalmazó árut a boltokba. Egy tavalyi élelmiszer-kutatói felmérés szerint a húskészítmények csaknem hatvan százaléka tartalmaz GM szóját. A mentesség megteremtésének exportértékével kapcsolatban is támadhatnak kétségeink a génmódosítási technológiát alkalmazó országok listája láttán. Azon ugyanis a nemzetközi élelmiszerpiac meghatározói szerepelnek, az Egyesült Államoktól a dél- és közép-amerikai országokon, az egyre izmosodó észak-afrikai államokon (például Marokkón) át az Európában nagyhatalomnak számító Spanyolországig. Igaz, a magyar agrárexport meghatározó célországai közül több (például Ausztria vagy Németország) valóban magasabb áron fogadja be a garantáltan GMO-mentes növényi termékeket.





A hazai piacot uraló három óriáscég sietett leszögezni, hogy a szabályokat tudomásul veszik, és a kormányzati törekvések valóra váltásában – nem hivatalos források szerint – akár közös laboratóriumfejlesztéssel, esetleg kutatási alap létrehozásával is részt vállalnának. Ez azonban a jelek szerint nem hatja meg a kormánypártok meghatározó agrárpolitikusaikat. Harcias és egyértelműen multiellenes nyilatkozataikban visszatér elem a GMO-ra alapozott későbbi piaci terjeszkedés érdekében elkövetett szándékos károkozás. A GMO-szennyezés (ami az agrártárca bejelentése alapján az szeptember 1. már be nem selekménynek számít) a kormányzat és a vele ez ügyben szövetséges zöld szervezetek szerint a multik érdekeit szolgálja, ezért jogos lehet a szándékosság felvetése. Ha ugyanis a folyamatos GMO-keveredés miatt megkérdőjelezhető válik Magyarország mentessége, akkor nem lesz értelme az új termesztési technológiák további korlátozásának.

A „trójai falóhoz” hasonlított eljárás lényege az volna, hogy a multik tervszerűen bekevernek nagyon kevés, de a piac elbizonytalanításához elegendő GM szemet az áruikba, és később erre hivatkozva elérik a GMO-korlátozások feloldását. Ezt a feltételezést az érintett cégek visszautasítják, és alapvetően üzleti érdekeik, a hazai, garantáltan GMO-mentes vetőmagtermelés kétharmadát kitevő exportjuk, jó híruk

elleni támadásként értékelik. Szerintük sokkal valószínűbb, hogy a mintavételi eljárás bizonytalansága, illetve a rendkívül alacsony kimutathatósági határ miatt lehetett pozitív a hatósági teszt.

Emiatt mind a Pioneer, mind a Monsanto kétkedve fogadta a hivatalos eredményeket. Saját tesztméréseik, illetve a hatóságtól kért kontrollvizsgálat adatai ugyanis mást mutattak. Ezzel függetlenül a Pioneer elre jelezte, hogy maradéktalanul kártalanítja az ügyben ártatlan gazdákat, és csak ezután tesz – szinte biztosan – további jogi lépéseket. A Monsanto ennél is magabiztosabb: a hivatal határozatát rögtön bírósági keresetben támadta meg azzal, hogy független és akkreditált franciaországi laboratóriumi eredmények cáfolják a magyarországi méréseket. Ugyanazon tételre, a magyar hatóság emberei által lepecsételt és azzal azonosított szállítmányból kivett szemekre vonatkoznak – állítják. Ilyen alapon a cég a megsemmisítés felfüggesztését kérte. Ha a hivatal nem ad haladékosan a vetések kitércsázására, és a bíróságon a Monsanto állításai bizonyosodnának be, milliárdos nagyságrendű kártérítési perek indulhatnak az állam ellen. Részben a kitércsázott kukorica hektáronként félmillió forintba becsült költsége, részben a vetőmagmagmút hírnevén esett csorba miatt.

Minősített eset

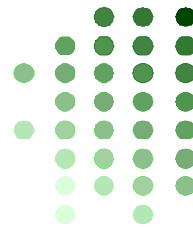
http://hvg.hu/hvgfriss/2011.29/201129_minositett_eset

Nem erősíti a magyar pozíciókat, hogy tavaly novemberben lejárt a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal GMO-keveredést ellenőrző laboratóriumának a Nemzeti Akkreditációs Testület (NAT) által kiadott engedélye. „Az új NAT-akkreditáció folyamatban van, amely kiterjed a GMO-vizsgálatokra. A laboratórium ezen átmeneti idő alatt is az ISO szabvány szerinti validált vizsgálatokkal végzi az ellenőrzést” - reagált a hivatal a HVG kérdésére. Ez azt jelenti, hogy áthidaló megoldásként a szakminiszter egy rendeletben „hatósági laboratóriummá” minősítette a novemberig nemzetközi akkreditációval rendelkező intézetet, amelynek



dokumentumai így egy bírósági eljárásban továbbra is bizonyító erejűnek számítanak. Azonban csak addig, amíg egy garantáltan ugyanabból a tételből származó, hatósági jegyzőkönyvvel nyilvántartásba vett mintáról egy másik, nemzetközi akkreditációval rendelkező, független kutatóintézet mást nem állít. Ilyenkor a bíróság újabb szakértők kirendelését, esetleg - megfelelő kontrollminta megléte esetén - harmadik mérés megrendelését határozhatja el, s ezeket az eredményeket is mérlegelve hozhat döntést a vitás ügyekben.

HVG



Royal Agricultural Society of England (RASE)

http://www.rase.org.uk/news-and-media/latest-news/GM_Statement_Final.pdf



A RASE állásfoglalása a genetikai módosításról

Az Angol Királyi Mezőgazdasági Társaság (*Royal Agricultural Society of England, RASE*) elismeri a biotechnológiai alkalmazások fontosságát a modern mezőgazdaság továbbfejlesztésében. Ebbe beletartozik a genetikailag módosított növények felhasználása is.

A RASE más új technológiákhoz hasonlóan erre is azt tartja, hogy a GM növények elterjesztésének és kihasználásának azokon a tudományos bizonyítékokon kell alapulnia, amelyek a növényeknek a mezőgazdasági rendszerekben és a növénytermesztés tágabb környezeti hatásaiban mutatkozó jótékony hatását támasztják alá.

A RASE határozottan támogatja, hogy a GM növények szántóföldi körülmények közötti tudományos kutatása és értékelése magán- és közpénzek felhasználásával folytatódjék.

Továbbá a RASE aggodalmát fejezi ki amiatt, hogy Európában a GM technológia kutatásának támogatását a közsférában megnyirbálták, akadályozva ezzel az új információk szerzését és a lehetséges új termékek kifejlesztését.

A RASE szerint a brit és európai gazdálkodóknak meg kell adni a lehetőséget arra, hogy ha akarnak, engedélyezett GM termékeket alkalmazhassanak, arra a 14 éves tapasztalatra és tudásra támaszkodva, amely a GM technológia széles körű alkalmazása során mind a fejlett, mind a fejlődő országokban összegyűlt.

Különösképpen az értékelési programokban szükséges felismerni azt, hogy a különféle gazdálkodási rendszereknek egymást kiegészítő módon kell fejleszteniük, hogy a gazdálkodóknak meglegyen a lehetőségük nem alkalmazni GM termékeket a gazdaságukban, ha nem akarnak.

A RASE elismeri, hogy vannak, akik aggasztónak találják a genetikai módosítás gyakorlati felhasználását, és támogatja az Egyesült Királyságban folyó nyílt vitát a GM termékek alkalmazásáról.

Tekintettel az Egyesült Királyság növénytermesztésnek és állattenyésztésnek kedvező éghajlati adottságaira, valamint az egyre növekvő globális élelmiszer-szükségletre, a RASE rendkívül helytelennek tart minden olyan intézkedést, amely akadályozza a brit gazdálkodókat a mezőgazdaságot termelékenyebbé és fenntarthatóbbá tenni képes új technológiák optimális alkalmazásának kikísérletezésében.

A RASE különösen aggasztónak találja azt, hogy a brit és európai gazdák kereskedelmileg hátrányos helyzetbe kerültek a globális árupiacon, ahol versenyezniük kell a világgazdaság többi szereplőjével. Az európai mezőgazdasági körülményekhez adaptált GM termékekhez való hozzáférés hiánya tovább súlyosbítja ezt a helyzetet, a régió mezőgazdasági termelékenységének kárára.



Új növénynevelési technikák Csúcstechnológia és a kereskedelmi célú fejlesztés kilátásai

Maria Lusser¹, Claudia Parisi¹, Damien Plan² és Emilio Rodríguez-Cerezo¹

¹ Az Európai Bizottság Közös Kutatóközpontja (JRC), Jövő kutatási Intézet (IPTS)

² Az Európai Bizottság Közös Kutatóközpontja (JRC), Egészségügyi és Fogyasztóvédelmi Intézet (HCP)

Részlet

BEVEZETÉS

A növénynevelésben szükség van az innovációra, hogy a mezőgazdaság meg tudjon felelni az olyan globális kihívásoknak, mint a népességnövekedés és az éghajlatváltozás. A világ népességének növekedése és a környezetvédelem szükségessége miatt hatékonyabban kell felhasználni a korlátozottan rendelkezésre álló termőföld- és vízkészleteket. A FAO statisztikai adatai alapján az élelmiszer-termelést 2000 és 2050 között meg kell duplázni. Emellett a fogyasztók értékes összetevőket tartalmazó, egészséges élelmiszereket igényelnek. Ezért tehát olyan növények kifejlesztésére van szükség, amelyek hasznos tulajdonságokat hordoznak, például ellenállnak a kártevőknek, a betegségeknek, elviselik a stresszt és a növényvédőszerket, illetve jobb minőségű termékek készülnek belőlük.

A mezőgazdaság mostanáig képes volt kezelni ezeket a kihívásokat. Számos haszonnövénynél jelentős hozamnövekedést sikerült elérni: a kukorica hozamát például az elmúlt húsz év során évi 120 kg/ha-ra sikerült emelni. A termőföld, az energia és a víz hatékonyabb felhasználása mellett az utóbbi években a jobb fajták és tökéletesített mezőgazdasági módszerek segítségével sikeresen csökkentették az egységnyi mezőgazdasági eredményre jutó termőföldvesztést és üvegházgáz-kibocsátást. További erőfeszítésekre van azonban szükség, ezért a növénynevelési módszerek után kutatnak céljaik megvalósításához.

A növénynevelés 10 000 évvel ezelőtt kezdődött a mezőgazdaság legjobb növények kiválogatásával, és ez vezetett el a domesztikációhoz. Gregor Mendel kb. 150 évvel ezelőtt felismerte a genetika törvényeinek sékeit, és ez nagyban felgyorsította a növénynevelést. A keresztezéses nevelés felfedezését az 1930-

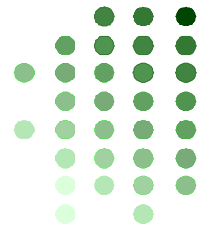
as években a hibridizáció, az 1960-as években a szövet- és sejtenyészési módszerek, az 1980-as években pedig a rekombináns DNS technikák és a génebesztés bevezetése követte. Az úgynevezett „*smart breeding*” („okos nevelés”) az 1990-es évek végén kezdődött a molekuláris markerek és a genomterképezés és -szekvenálás bevezetésével.

Az új módszerek nem léptek a régebbi növénynevelési módszerek helyébe: a növénynevelésben alapvető fontosságú minden rendelkezésre álló módszer bevetése. A hagyományos nevelési módszerek, a transzgenézis és az új növénynevelési módszerek mind nélkülözhetetlen részét képezik a növénynevelési eszközkészletnek.

A modern biotechnológia segítségével elállított élőlényeket (genetikailag módosított szervezeteket, GMO-kat) szabályozó, harmonizált EU törvényhozás 1990-re nyúlik vissza. A GMO-kra vonatkozó törvényeket az utóbbi években felülvizsgálták, és 2003-ban új törvényeket vezettek be a GM növényekből készített élelmiszerek és takarmányok szabályozására. A GMO-k meghatározása azonban ugyanaz maradt, mint ami 1990-ben volt, ezért nem tükrözi a modern nevelési csúcstechnológia mai állapotát.

Az elmúlt 20 év során új biotechnológiai módszerek, ezeken belül pedig új növénynevelési módszerek fejlesztése ment végbe. Ezek új feladatok elé állítják a törvényhozókat és -alkalmazókat, amikor azok az 1990-ből származó GMO-definíciót alkalmazzák. Egyes új növénynevelési módszerekkel létrehozott növények nem különbözethetnek meg a nekik megfelelő, hagyományos nevelési módszerekkel kifejlesztett növényektől, ezért felmerült annak az igénye, hogy ezek kerüljenek ki a GMO-törvények hatálya alól.

A GMO-k közé sorolt növényfajtáknak a



GMO-szabályozásból eredő költségei sokkal magasabbak, mint a nem GM növényfajták törzskönyvezésének és engedélyezésének költségei. A biotechnológiai vállalatokat és a biotechnológiai módszereket alkalmazó növénynevelőket, ezek közül is a kis és közepes vállalkozásokat különösen érzékenyen érinti a GMO-besorolás körüli törvényhozói bizonytalanság.

Az EU tagállamok illetékes hatóságai (*Competent Authorities, CA*) kérésére 2007 októberében az Európai Bizottság (EC) munkacsoportot hozott létre a CA javasolta, nyolc új módszerből álló lista értékelésére. Ennek az „Új módszereket értékelő munkacsoportnak” (*New Techniques Working Group, NTWG*) az a feladata, hogy a GMO-kra vonatkozó törvények szempontjából vizsgálja az új módszereket. Az NTWG jelenleg azt vizsgálja, hogy a módszerek alkalmazása kimeríti-e a genetikai módosítás fogalmát, és ha igen, akkor az alkalmazásukkal létrehozott élő lények az EU GMO-kra vonatkozó törvényeinek hatálya alá esnek-e.

Az itt közölt tanulmány a növénynevelési módszereknek ugyanezt a csoportját vizsgálja, a hangsúly azonban a módszerek fejlesztésére irányuló kutatás mai állásán van, valamint azon, hogy a nevelési szektor milyen mértékben vette ezeket át, milyen lehetséges kereskedelmi termékek kifejlesztéséhez vezethetnek, és milyen nehézségeket vet fel az új módszerekkel előállított termékek kimutatása.

3. DEFINÍCIÓK; A MÓDSZEREK LEÍRÁSA

A GMO-k meghatározása az Európai Parlament és a Tanács 2001/18/EK tanácsi irányelv 2 (2). paragrafusában található. Az irányelvben a GMO jelentése: olyan szervezet (organizmus) - az emberi lények kivételével -, amelynek az örökletes anyagát olyan módon változtatták meg, ahogyan az a természetben soha nem valósul meg sem párosodás, sem természetes rekombináció útján. Az irányelv mellékletei tartalmazzák a következő felsorolását:

1. GMO-kat létrehozó eljárások, például rekombináns nukleinsav-technikák, mikro- és makroinjekció, valamint sejtfúzió a természetben előforduló módszerekkel;

2. Olyan módszerek, amelyeknek az eredményét nem tartják GMO-nak, pl. *in vitro* megtermékenyítés, valamint természetes folyamatok, pl. konjugáció, transzdukció, transzformáció és poliploidia-indukció, valamint

3. Olyan genetikai módosító módszerek, amelyek ki vannak zárva az irányelvből, pl. olyan növényi sejtek mutagenézise és fúziója, amelyek között az örökletes anyag kicserélése hagyományos nevelési módszerekkel előidézhető.

3.1. Cinkujj-nukleáz (ZFN) technológia (ZFN-1, ZFN-2 és ZFN-3)

A cinkujj-nukleázok olyan fehérjék, amelyeket specifikus dezoxiribonukleinsav (DNS) szekvenciák elhasítására terveztek. Egy ún. cinkujj-doménből állnak (amely specifikus DNS-szekvenciákat ismert fel a növényi genomon), valamint egy nukleázból, amely kettős szálú DNS-t hasít. A cinkujj-technológia kifejlesztésének a célja olyan módszer létrehozása volt, amely lehetővé teszi mutációk helyspecifikus létrehozását, vagy gének helyspecifikus beültetését a növényi genomba.

Mivel a cinkujj-nukleázok heterodimer formájában működnek, két gént kell bevinni a célsejtekbe, általában expressziós plazmidon, egy rövid beillesztendő templátszekvenciával vagy DNS-szakasszal együtt vagy anélkül. A cinkujj-nukleázok növényi sejtekbe való beviteléhez számos módszer áll rendelkezésre, pl. transzfecció, elektroporálás, virális vektorok használata és *Agrobacterium* közvetítette átvitel.

A cinkujj-nukleázok plazmidvektorokról transziens módon kifejezhetőek. Miután a cinkujj-nukleáz kifejeződött, létrehozza a célzott mutációt, amely stabilan öröklik még a cinkujj-nukleáz kódoló





plazmid lebomlása után is. A másik lehetséges kimenetel, hogy a cinkujj-nukleáz gének transzgenként beépülhetnek a növényi genomba. Ebben az esetben a transzformált növény utódai között lesznek olyan növények, amelyekben még jelen vannak a cinkujj-nukleáz transzgenek, ezért az utódok közül ki kell szelektálni azokat a nem transzgenikus növényeket, amelyekben megvan a kívánt mutáció. Jelenleg folyik a vizsgálata annak a lehetőségnek, hogy a cinkujj-nukleázokat közvetlenül, fehérje formájában juttassák be a növényi sejtekbe.

A növénynemesítésben a cinkujj-nukleázok három fajtája ismeretes - ezek alkalmazási területe egyetlen nukleotidra kiterjedt mutációk vagy rövid deléciók/inszerciók létrehozásától (ZFN-1 – ZFN-2) új gének célzott bevitelét terjed (ZFN-3):

ZFN-1: Cinkujj-nukleázokat kódoló géneket visznek be növényi sejtekbe *repair* templát nélkül. A cinkujj-nukleázok a növényi DNS-hez kapcsolódnak és helyspecifikus módon kettős szálú töréseket (DSB) hoznak létre. A természetes DNS-repair folyamat, amely nem homológ végek összekapcsolása (*non-homologous end-joining, NHEJ*) útján működik, helyspecifikus, egy vagy néhány bázispár kiterjedésű mutációk vagy pedig rövid deléciók/inszerciók keletkezéséhez vezet.

ZFN-2: Cinkujj-nukleázokat kódoló géneket visznek be növényi sejtekbe a célbavett kromoszómaszakasszal homológ, néhány kilobázis nagyságú *repair* templáttal együtt. A cinkujj-nukleázok a növényi DNS-hez kapcsolódnak és helyspecifikus módon kettős szálú töréseket hoznak létre. A természetes *repair* mechanizmusok helyspecifikus pontmutációkat, pl.



egy vagy néhány bázispár megváltozását hozzák létre homológ rekombináció és a *repair* templát lemásolása útján.

ZFN-3: Cinkujj-nukleázokat kódoló géneket visznek be növényi sejtekbe egy olyan DNS-szakasszal együtt, amely több kilobázis hosszúságú lehet, és amelynek a végei homológok a hasítási hely két oldalán lévő DNS-szekvenciákkal. Ennek eredményeképp a DNS-szakasz helyspecifikus módon beépül a növényi genomba.

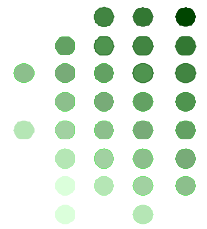
3.2. Oligonukleotid irányította mutagenézis (ODM)

Az oligonukleotid irányította mutagenézis (ODM) további növénynemesítési módszer célzott mutációk létrehozására. Az oligonukleotid irányította mutagenézis oligonukleotidok használatán alapul célzott mutációk létrehozására, amelyek általában egy vagy néhány nukleotidra terjednek ki. Az így elérhető genetikai változások a következők: új mutáció létrehozása (egy vagy néhány nukleotid cseréje), létező mutáció megszüntetése, vagy rövid deléciók létrehozása.

Az általában alkalmazott oligonukleotidok körülbelül 20-100 nukleotid hosszúságúak és kémiai szintézissel készülnek. Nukleotidsorrendjük homológját mutat a gazdanövény genomjával, kivéve a módosítandó nukleotido(ka)t. Oligonukleotid irányította mutagenézishez felhasználhatók DNS- és RNS-bázisokat együttesen tartalmazó kimérés oligonukleotidok, valamint egyes szálú DNS-oligonukleotidok.

Oligonukleotidok növényekbe való bevitele történhet a különféle sejtípusokhoz alkalmazható módszerekkel, például elektroporálással és polietilén-glikol (PEG) kiváltotta transzfekcióval. Csak növényekhez használatos, specifikus módszer a növényi szövetek génbelövéses transzformációja, valamint a protoplastok elektroporálása.

Az oligonukleotidok a genomban található homológ szekvenciához kapcsolódnak és egy vagy több, a nem komplementer nukleotidoknak megfelelő bázispárosodási hibát hoznak létre. A sejt saját DNS-repair mechanizmusa vélhetően felismeri ezeket a hibákat és elvégzi a javításukat. Az oligonukleotidok vár-



hatóan lebomlanak a sejtben, ám az indukált mutációk stabilan öröklődnek.

3.3. Ciszgenezis és intragenezis

Szemben a transzgenezissel, amely bármilyen, akár prokarióta, akár eukarióta organizmusból származó gének bejuttatását jelenti a növényi genomba, a ciszgenezis és intragenezis kifejezéseket a kutatók az utóbbi időben alkották meg annak az eljárásnak a jelölésére, amikor a génátvitel ugyanabból a fajból, vagy egy azzal keresztezhető fajból származó DNS-fragmentummal történik. A ciszgenezis esetében a bevitt gének, a hozzájuk tartozó intronok és szabályozó elemek folytonosak és változatlanok. Az intragenezis esetében a bejuttatott DNS a saját fajból vagy egy azzal keresztezhető másik fajból származó DNS-fragmentumok új kombinációja lehet.

Mindkét megközelítés célja új tulajdonság bevitelle a módosítandó növénybe. Azonban a definíció szerint csak a ciszgenezis hoz olyan eredményt, amely hagyományos nemesítési módszerekkel is elérhető (sokkal hosszabb idő alatt). Az intragenezis a ciszgeneziséhez képest lényegesen több lehetőséget jelent a génextresszió módosítására és a tulajdonságok kifejlesztésére, mivel a gének különböző promóterekkel és szabályozó elemekkel való kombinációja is megengedett. Az intragenezisbe a géncsendesítő módszerek, pl. RNS-interferencia (RNAi) alkalmazása (fordítva ismétlődő DNS-szakaszok bevitelle) is beletartozik.

A ciszgenikus és intragenikus növények előállítása ugyanazokkal a transzformációs módszerekkel történik, mint a transzgenikus növényeké. A jelenleg legintenzívebben kutatott ciszgenikus növények a burgonya és az alma, és a leggyakrabban használt módszer az *Agrobacterium* által közvetített transzformáció. Esetenként azonban a génbelövés is alkalmazható módszer.

3.4. RNS-függő DNS-metiláció (RdDM)

Az RNS-függő DNS-metiláció (*RNA-dependent DNA methylation, RdDM*) lehetővé teszi a nemesítők számára, hogy olyan növényeket hozzanak létre, amelyekben nincs idegen DNS, és amelyek nukleotidszekvenciájában nem történt változás vagy mutáció, de amelyekben a génextresszió epigenetikus úton módosult.



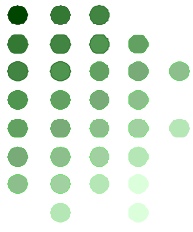
Az RdDM a célba vett gének transzkripciócsendesítését (*transcriptional gene silencing, TGS*) hozza létre a promóterszekvenciák metilálásán keresztül. A célzott RdDM úgy történik, hogy a promóterrel homológ RNS-eket kódoló géneket juttatnak növényi sejtekbe megfelelő transzformációs módszerekkel. Ehhez az eljárás egy pontján transzgenikus növényt kell létrehozni. A bevitt gének átíródása olyan kettős szálú RNS-molekulákat (*double-stranded RNA, dsRNA*) eredményez, amelyek specifikus enzimek általi feldolgozás (*processing*) után indukálják a célba vett promóterszekvenciák metilálását, ezáltal gátolják a célgén transzkripcióját.

Növényekben a metilációs mintázat meiotikusan stabil. A promóter metilációs mintázatában bekövetkezett változás és ezáltal a kívánt tulajdonság átörökítődik a következő nemzedékre. Az utódok között lesznek olyan növényvonalak, amelyek a szegregáció miatt nem tartalmazzák a beültetett géneket, de továbbra is megvan bennük a kívánt tulajdonság. A beültetett gének eltűnése után a metilált állapot számos nemzedéket át megmaradhat. Mai tudásunk szerint az epigenetikus hatás a nemzedékek során csökkenhet és végül meg is szűnhet, de ez a kérdés további vizsgálatot igényel.

3.5. Oltás (GM alanyra)

Az oltás olyan eljárás, amelynek során az egyik növény föld feletti vegetatív részét (amelyet oltványnak neveznek) egy másik növény gyökere alsó részéhez (amelyet alanynak neveznek) kapcsolják, jobb termesztési tulajdonságokkal rendelkező kimerás organizmus létrehozása céljából.

Az alany és/vagy az oltvány transzformációja transzgenezissel, ciszgenezissel és egy sor egyéb eljárás



rással is elvégezhető. Ha GM oltványt oltanak nem GM alanyra, akkor a szár, a levél, a virág, a mag és a gyümölcs transzgenikus lesz. Ha nem GM oltványt oltanak GM alanyra, akkor a levél, a szár, a virág, a mag és a gyümölcs nem fogja hordozni a genom DNS-szekvenciákban történt módosítást.

Az alany transzformációja hagyományos növénytranszformációs eljárásokkal, pl. *Agrobacterium* közvetítette transzformációval vagy génbelövással végezhető. Az alany tulajdonságai, pl. gyökeresedési képessége vagy a talajban élő kórokozókkal szembeni ellenálló képessége genetikai módosítással javíthatók, ezzel jelentősen növelhető a begyjelvényi részek (pl. gyümölcs) hozama.

Az alanyban géncsendesítés hozható létre RNS-interferenciával (RNAi), egy, kis RNS-molekulát felhasználó géncsendesítési módszerrel. Oltott növényekben a kis RNS-molekulák képesek áthaladni az alany/oltvány határon, így a géncsendesítő szignál az oltvány génexpresszióját is képes befolyásolni. Az RNS-interferenciával kezelt alanyok ezért alkalmasak a génexpresszió RNAi közvetítette szabályozásának vizsgálatára.

3.6. Fordított (reverz) nemesítés

A fordított nemesítés olyan módszer, amelyben a hibrid növény elállításához vezető események sorrendje meg van fordítva. Alkalmazása megkönnyíti a homozigóta szülői vonalak elállítását, amelyek hibridizáció után újra létrehozzák az elit heterozigóta hibrid növényt anélkül, hogy visszakeresztezést és szelekciót kellett volna végezni.

A fordított nemesítés módszere a következő lépésekben áll:

A reprodukálható elit heterozigóta növény szelekciója;

A meiotikus rekombináció leállítása az elit heterozigóta vonalban egyes gének, pl. a *dmc1* és *spo11* csendesítésével, RNS interferencia szekvenciákat kódoló transzgénekkel való növénytranszformációval;

Haploid mikroszporák (éretlen pollenszemcsék) nyerése a kapott transzgenikus elit heterozigóta vonal virágaiból;



A haploidok diploidizálására szolgáló technológia alkalmazása a haploid mikroszporák genomjának megduplázására és homozigóta sejtek nyerésére;

A mikroszporák tenyésztése homozigóta diploid növények elállításának céljából;

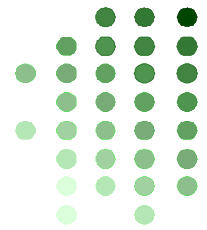
Olyan növevénypárok (szülői vonalak) kiválasztása, amelyek nem tartalmazzák a transzgént, és amelyek keresztezésével újra elállítható az elit heterozigóta növényi vonal.

A fordított nemesítés módszere a meiotikus rekombináció elfojtására használja a transzgenézist. A későbbi lépésekben kizárólag nem transzgenikus növények szelekciója történik. Ezért a szelektált szülői vonalak utódainak genotípusa azonos az elit heterozigóta növény genotípusával, és nem hordoz semmilyen további változást.

3.7. *Agrobacterium*-infiltráció (szoros értelemben vett *Agrobacterium*-infiltráció, agro-inokuláció, virág bemártása)

Különböző növényi szövetek, főleg levelek infiltrációja olyan *Agrobacterium*-szuszpenzióval, amely a növényben kifejezhető gént/géneket hordozza. A gének lokálisan, transziens módon magas szinten kifejeződnek.

Ezt a módszert gyakran alkalmazzák kutatási célból, pl. a növény-patógén kölcsönhatás tanulmányozására élő szövetekben (levelekben), vagy génkonstrukciók szabályozó elemeinek működésének ellenőrzésére. Emellett értékes rekombináns fehérjék termelésére is továbbfejlesztették, amire alkalmasá teszi.



mind a rendszer rugalmassága, mind pedig az elérhető magas fehérjehozam. Mindegyik esetben az eljárás célja az *Agrobacteriummal* infiltrált növény, nem pedig annak utódai.

Az *Agrobacterium*-infiltráció felhasználható értékes fenotípusú növények kiszűrésére, amelyek nemesítési programokban használhatók. Például a patogénekből származó specifikus génekkel való *Agrobacterium*-infiltráció felhasználható a növények ellenálló képességének értékelésére. Az *Agrobacterium*-infiltrációs vizsgálatban azonosított rezisztens növények később szűrtként közvetlenül bevonhatók a nemesítésbe. Ezeknek a növényeknek az utódai nem transzgenikus növények, mivel az *Agrobacteriummal* infiltrált növények generatív sejtjeinek genomjába nem épült be új gén. Másik megoldásként a kívánt növényvel genetikai szempontból azonos egyéb tárolt növények is használhatók szűrtként. Az infiltrált szövet és a használt génkonstrukció típusa alapján háromféle *Agrobacterium*-infiltráció különböztethető meg:

1. „Szoros értelemben vett *Agrobacterium*-infiltráció”: nem generatív szövet (tipikusan levélszövet) infiltrálása replikációra képtelen génkonstrukciókkal, helyi kifejedés létrehozására az infiltrált területen.

2. „Agro-inokuláció” vagy „agro-infekció”: nem generatív szövet (tipikusan levélszövet) infiltrálása az idegen gént teljes hosszúságú vírusvektorban tartalmazó génkonstrukcióval, génexpresszió létrehozására az egész növényben.

3. „Virág bemártása” (*floral dip*): generatív szövet (tipikusan virág) bemerítése DNS-konstrukciót hordozó *Agrobacterium*-tenyésztésből készített szuszpenzióba, embriók transzformálása céljából, amelyek aztán a csírázás során szelektálhatók. Az eljárás célja stabilan transzformált növények létrehozása. Ezért a módszer eredményeképp kapott növények - GMO-k, amelyek nem különböznek a más transzformációs módszerekkel létrehozott GM növényektől.

3.8. Szintetikus genomika

A szintetikus genomika definíciója: „A természetben nem létező biológiai komponensek és rendszerek létrehozása, valamint létező biológiai elemek módosítása; mesterséges biológiai rendszerek szándé-

kos tervezésével foglalkozik, nem pedig a természetes biológia megértésével.” (Synbiology, 2006)

A génszintézis területén elért magas technológiai színvonalnak és a teljes genomszekvenciák meghatározásával szerzett tudásnak köszönhetően ma már lehetséges nagyméretű, mesterségesen kódolt DNS-molekulák gyors, hatékony szintézise mindenféle természetes templát nélkül.

Nemrég kereskedelmi célra szintetizált darabokból összeállították a *Mycoplasma genitalium* genomját, a ma ismert legkisebb bakteriális genomot. A szintetikus genomika nemcsak létező élőlények kémcsöben való újra-elállítására ad lehetőséget, hanem az „építő kockák” szintézise a természetes élőlények módosított változatainak, sőt teljesen mesterséges élőlényeknek a megteremtése előtt is megnyitja az utat.

A szintetikus genomika egyik célja olyan minimális, életképes genomok készítése, amelyek gazdaságilag fontos vegyületek biokémiai szintéziséhez szolgálhatnak színhelyül. Az új módszer első kereskedelmi célú alkalmazásai várhatóan a bioüzemanyag- és gyógyszergyártás, valamint a környezeti szennyezések bioremediációja területén kerülnek majd ki.

Az NTWG úgy döntött, hogy felveszi a szintetikus genomikát a genetikailag módosított élőlényekre vonatkozó jelenlegi törvények alapján értékelendő módszerek listájára. Azonban jelenleg nem folyik, és nem is valószínű, hogy a közeljövőben indulni fog a szintetikus genomika növény-nemesítésben való felhasználásával foglalkozó kutatás. Ezért aztán nem történt irodalom- és szabadalomkutatás, a szintetikus genomikát kizárták a biotechnológiát a növény-nemesítésben alkalmazó vállalatokkal foglalkozó vizsgálatból, és nem történt meg a genom-módosítás és -kimutatás szintetikus genomikai vonatkozásainak megvitatása sem.



F szerkeszt : **Dudits Dénes**
Szerkesztette: **Keczáné Zsuzsa**
Fordította: **Fejes Erzsébet**
Példányszám: 1000 db/hó
Borító: **EDOMO MEDIA, Szeged**
Nyomda: **TISZA PRESS, Szeged**
Kiadja a GBE támogatásával a
Barabás Zoltán Biotechnológiai Egyesület

Green Biotechnology Europe (GBE)

