Transgenní organizmy, genové inženýrství a biotechnologie

M. Ondřej: Transgenic Organisms, Genetic Engineering and Biotechnology. Život. Prostr., Vol. 37, No. 2, 61 – 64, 2003.

The first transgenic plant varieties have been first tested in the field in 1986 and starting from 1994 they are introduced into the market. In the last year, the cultivation of transgenic plants has exceeded an area of 500 000 km^2. Transgenic varieties of the following plant species are cultivated in the field (with decreased area of cultivation): soybean, corn, cotton, rape, sugar beet, potato, flax, tobacco, tomato, papaya, melon, squash, cichory, carnation. The main traits, introduced by transgenosis are: herbicide tolerance, resistance to some insect pests, resistance to some specific virus diseases, male sterility, changes of spectrum of fatty acids of rape seeds, increased shelf-life of tomato fruits, increased vase-life of carnation flowers. Concerning genetically manipulated farm animals, there are geneticaly manipulated chicken, sheep, goats, rabbits, swines and cattle with transgenes increasing the resistance to diseases, improving the market quality of meat and milk and, last but not least, coding for pharmaceuticaly or industrialy valuable proteins produced in milk. There are also attempts to cure some human diseases by delivery of foreign genes into the somatic cells of human body. Transgenosis has been applied to about 500 patients and many of them were partly or completly recovered from cancer, AIDS and genetic defects.

Vnášení klonovaných genů do dědičného základu eukaryont se provádí více než čtvrt století a je to jedna z nejpozoruhodnejších kapitol v historii biologie. Bude zajímavé se ohlédnout do ní a na jejím základě se pokusit odvodit další pravděpodobný vývoj.

Jako počátek této historie u rostlin se obvykle uvádí r. 1977, kdy vyšla práce dokazující, že při indukci rostlinných nádorů bakteriemi *Agrobacterium tumefaciens* malá část tehdy teprve nedávno zjištěného plazmidu, nazvaného *Ti*, přechází do rostlinných buněčných jader. Tomu však předcházelo dosti dlouhé období, v němž se řada vědců pokoušela indukovat a prokázat přenos znaků prostřednictvím DNA, mechanismem obdobným bakteriálním transformacím. Uvědomovali si jeho zásadní význam. Nešlo o nic menšího, než o možnost navozovat v genomu cílené změny, tedy vytvářet nové formy rostlin podle přání zadavatele. Tím by byla korunována dlouhodobá snaha o změnu spektra mutací působením různých chemomutagenů, jehož cílem byla indukce specifických mutací, nebo alespoň vytvoření takového spektra mutací, v němž by určité žádoucí typy představovaly výraznou složku. Již od šedesátých let minulého století bylo mnoho pokusů s využitím cizorodé DNA jako mutagenu. Tehdy ovšem nebyly k dispozici metody genového inženýrství pro klonování genů a pro detekci jejich přenosu a většina tehdy získaných pozitivních výsledků (kterých bylo v renomovaných časopisech publikováno mnoho) byla zcela jasným experimentálním omylem.

S rychlým rozvojem těchto metod na počátku sedmdesátých let se otevřely perspektivy jejich uplatnění pro získávání nových odrůd kulturních rostlin, jež by mohly mít zásadní význam. Jednou z nich bylo vnesení genů pro symbiotickou fixaci vzdušného dusíku (jakou provádějí leguminózní rostliny v symbioze s bakteriemi čeledi *Rhizobiaceae*) do genomu obilovin a dalších kulturních rostlin. Tím by odpadla nutnost hnojit dusíkatými hnojivy. Brzy se však ukázalo, že k realizaci tohoto cíle

má lidstvo mnohem dále, než byla původní představa. Druhá možnost je daleko reálnější, je dosažitelná současnými metodami, i když cesta k jejímu dosažení je také mnohem složitější, než se zpočátku zdálo. Jde o změnu spektra aminokyselin v zásobních bílkovinách semen obilovin a luštěnin tak, aby se ve výsledném složení co nejvíce podobalo živočišnému a základní rostlinná strava by se tak stala z hlediska výživy plnohodnotná. Zatím sice neexistují odrůdy získané transgenozí, které by měly takto upravené zásobní proteiny semen, ale krok k tomu již byl učiněn, například při vývoji transgenní zlaté rýže (Ye et al., 2000). Zlatá rýže ve svých obilkách obsahuje beta-karoten (nedostatkový zvláště pro děti třetího světa), má zvýšený obsah železa a příznivě upraveno spektrum aminokyselin v zásobních proteinech. Jako odrůda zatím nebyla uvolněna, ale očekává se to v nejbližší budoucnosti. U dalších v laboratořích získaných a studovaných transgenních kulturních rostlin se využilo několik cest ke zlepšení spektra aminokyselin v proteinech semen (o problematice transgenoze rostlin podrobněji např. Ondřej, Drobník, 2002).

Všechny lákavé možnosti řízených dědičných změn ovšem stojí a padají s možností vnášet geny do rostlinného genomu. Chiltonová et al. (1977) nalezli přírodní systém vnášení dědičné informace do rostlinného genomu, a tím se otevřela cesta jeho využití pro vnášení cizích genů. Záhy bylo prokázáno, že do dědičného základu rostlin je možno vnášet jak rostlinné, tak bakteriální, živočišné, virové nebo syntetické geny, pokud mají určité vlastnosti a pokud mají regulační úseky DNA, které jim projev v rostlinách umožňují. Bakterie *Agrobacterium tumefaciens* nejsou jediným vektorem pro přenos klonovaných genů, je možná i přímá transformace prostřednictvím DNA.

Tato zjištění odstartovala neuvěřitelně rychlý rozvoj výzkumu transgenoze rostlin, který byl zpočátku porovnatelný s kosmickým výzkumem v době vypuštění prvních družic. Vyvinuly se nejprve dvě školy, které spolu soutěžily, postupovaly paralelně přibližně stejně rychle, ale své publikace vzájemně příliš necitovaly: *evropská škola* prof. J. Schella (ředitele Max Planck Institut für Züchtungsforschung Köln a Rijksuniversiteit Gent, Vrije Universiteit Brussel), kam patřily také laboratoře v Bruselu (Rijksuniversiteit Brusel) a *americká škola* prof. Mary del Chiltonové (University of Washington). Již r. 1985 vznikla v Gentu biotechnologická společnost Plant Genetic Systems. Odštěpila se vlastně od univerzitního pracoviště, které se sice vyvíjelo rychle, ale ne dostatečně rychle v představách prof. M. Van Montagu, který byl nejen vedoucím univerzitního pracoviště (společně s prof. Schellem), ale i odborným ředitelem výzkumu společnosti Plant Genetic Systems. Prof. Van Montagu viděl obrovské možnosti různých uplatnění ve šlechtění rostlin. Základem společnosti se stali nejlepší vědečtí pracovníci, kteří tam přešli z univerzitního oddělení.

V USA se iniciativy v aplikovaném směru chopily firmy Calgene a Zeneca, ale především zavedená biochemická firma Monsanto, která se rychle přeměnila na obrovský biotechnologický komplex. Přijímání výsledků veřejností v USA bylo odlišné od Evropy, což přispělo k tomu, že se prosadila firma Monsanto, která v současnosti ovládá přes 80 % produkce transgenních odrůd.

V loňském roce se již transgenní odrůdy pěstovaly na celkové ploše přes půl milionu čtverečních kilometrů. Kdykoli jindy a při jiné příležitosti by bylo konstatováno, že je to úspěch uplatnění vědeckých výsledků v praxi, jaký dosud nebyl zaznamenán. Veřejné mínění v Evropě je však do značné míry ovlivněno názory, které prosazují některé nevládní organizace, především Greenpeace, že geneticky modifikované organizmy nejsou dostatečně prozkoušeny a mohly by mít nedozírné škodlivé následky pro přírodu, přírodní společenstva a životní prostředí. Pravdou naopak je, že geneticky modifikované odrůdy jsou nejvíce prozkoumané odrůdy, jaké kdy byly pěstovány. Celá věc má nepřehlédnutelný politicko-ekonomický kontext a v Evropě se tím zbrzdil vývoj biotechnologických společností usilujících o uplatnění transgenoze ve šlechtění rostlin.

Vědci, kteří se zabývají genovým inženýrstvím, rozhodně nejsou nedostatečně odpovědní. Již r. 1974 renomované vědecké časopisy *Nature* a *Science* uveřejnily tzv. Bergův dopis, v němž hlavní představitel této vědní oblasti, prof. Berg, jako první na světě napsal, že genové inženýrství by mohlo být potenciálně nebezpečné, a proto by se měly pokusy okamžitě zastavit a svolat konference, která by rozhodla, co dál. To se stalo a konference rozhodla pokračovat v pokusech za opatření, která minimalizují možné nepříznivé důsledky. Tato opatření se od r. 1975 vyvíjejí a přísně dodržují. Stala se základem systému legislativních úprav s geneticky modifikovanými organizmy (GMO) i v našich zemích.

Pro tuto problematiku je specifické, že ani biologové nejsou jednotní v názorech na genové inženýrství a jeho uplatnění ve šlechtění rostlin. Biologové tvoří velmi rozvětvenou rodinu. Od objevu DNA vždy existovaly dva proudy, z nichž jeden se intenzivně snažil o rozvoj molekulární biologie a druhý, který považoval molekulární přístupy spíše za módní vlnu a někdy nebyl ochoten připustit ani existenci DNA jako dědičné hmoty. Projevilo se to zvláště v sovětské vědě uprostřed dvacátého století obdobím tzv. mičurinské a lysenkovské biologie. Ta má celou řadu rysů shodnou se současnými antibiotechnologickými aktivitami. Tenkrát, kdy od r. 1945 byla na základě pokusů s transformacemi bakterií jednoznačně rozpoznána DNA jako dědičná substance, skupina "vědců" podpořená vedením, hlásala myšlenku, že dědičnost je vlastností celého organizmu, že neexistuje specifická organela, tím méně pak látka dědičnosti. Dě-

dičnost lze podle této teorie "rozviklat" působením hybridizace (buď křížením, nebo "vegetativní hybridizací" – roubováním) a pak vytvořit takové dědičné vlastnosti, jaké sovětský člověk potřebuje. Toto učení prohlásili za pokrokovou sovětskou vědu, která je protipólem k "reakčnímu mendelizmo-morganizmu" (v českých překladech někdy mendělejevizmo-morganizmu) a čekali nedozírné úspěchy. Po zhruba patnácti letech čekání však byla tato teorie tiše opuštěna.

Biologové, znalí problematiky, jsou vždy příznivci uplatnění genového inženýrství v praxi. Biologové, zabývající se přednostně jinými otázkami, však mohou být i jejími odpůrci. Člověk, který se na spor dívá zvnějšku, však jen ztěží rozezná, kdo je odborníkem na molekulární genetiku a kdo na jinou stránku biologie, zvláště, když oba mají stejný akademický titul. Když jsou takové rozpory mezi biology, nedivme se, že ostatní se v tom vyznají ještě obtížněji.

Geneticky modifikované odrůdy kulturních rostlin procházejí velice podrobnými testy, jakými nové odrůdy nikdy neprocházely. Testují se na nich téměř všechny parametry, jaké vůbec testovat lze a musí být shodné s odrůdami, od kterých jsou odvozeny. U odpovídajících netransgenních odrůd většina těchto parametrů doposud nebyla k dispozici. Kdyby kulturní odrůdy v minulosti procházely sítem, jakým procházejí dnes transgenní odrůdy, na polích a zahradách by se dnes nepěstovaly brambory, rajčata, tabák nebo fazole. Lilkovité rostliny (brambory, rajčata, tabák) obsahují toxické alkaloidy a fazole toxický lektin (který se ničí varem). Žádnou transgenní odrůdu, která obsahuje látky toxické pro člověka a obratlovce, jež odpovídající netransgenní rostliny neobsahují, by kompetentní komise nepovolila.

První pokusy s pěstováním transgenních rostlin v přírodě (tabáku odolného proti hmyzím škůdcům) byly zaznamenány r. 1986 (Plant Genetics Systems) a první transgenní odrůda (rajčata Flavr Savr s prodlouženou životností plodů) se objevila na trhu r. 1994. Jde o méně než stovku odrůd (*www.agbios.com*). Současné odrůdy kulturních rostlin tvoří následující druhy (zhruba podle plochy rozšíření): sója, kukuřice, bavlník, řepka, řepa cukrovka, brambor, len, tabák, rajče, papája, meloun, dýně a karafiáty. Do rostlin jsou vneseny tyto hlavní znaky: tolerance k herbicidu, rezistence k hmyzím škůdcům, pylová sterilita pro heterózní šlechtění, rezistence k virovým chorobám, u řepky změna spektra mastných kyselin v oleji semen, u rajčete prodloužená konzumní zralost, u karafiátu prodloužená životnost řezaných květů. Obvykle každá odrůda má jeden z těchto nových znaků, v některých se kombinují dva vnesené znaky.

Uvedený výběr je zatím velmi úzký. V laboratořích univerzit, vědeckých a výzkumných ústavů i biotechnologických firem jsou připraveny transgenní rostliny, které mají některé ze stovek, možná tisíců nových znaků.

Sója je na prvom mieste (podľa plochy rozšírenia) medzi pestovanými kultúrnymi odrodami transgénnych rastlín, hlavne v USA

Některé z nich mohou být prospěšné v zemědělství, jiné ve farmakologii k produkci léčiv nového typu a další v průmyslu k získávání nových materiálů nahrazujících nejtvrdší kovy nebo umělé hmoty, ale i k získávání kvalitnějšího dřeva nebo nových enzymů pro biotechnologickou produkci. Všechny transgenní rostliny, které mají být pěstovány na polích, v parcích a zahradách a prakticky využívány, se testují na vhodnost k širšímu využití. Pokud by se zjistilo, že jsou z nějakého důvodu nevhodné, budou vyřazeny, ale stále bude mnoho dalších, vhodných. Komplexní průkaz bezpečnosti pro přírodu, přírodní prostředí a zdraví člověka bude vždy podmínkou jejich využití.

Podobná situace je u geneticky modifikovaných živočichů. Vnášení genů do genetického základu živočichů se vyvíjelo paralelně s těmito postupy u rostlin. Z hospodářských zvířat existují geneticky manipulované slepice, ovce, kozy, králíci, vepři a skot. Do jejich genomu jsou vnášeny geny, které zvyšují odolnost proti chorobám, zvyšují kvalitu masa, mléka a geny pro farmakologicky významné vzácné proteiny, produkované v mléce. Nejsou tak silně negativně hodnoceny. Nikdo zatím netvrdil, že například kozy, které dávají mléko, jež obsahuje faktor bránící hemofilii, představují nebezpečí pro přírodu a pro zdraví člověka. Praktické využití je nejen ve farmakologii, ale i v široké oblasti živočišné produkce. Domácí zvířata mají zpravidla své vymezené teritorium a se zvířaty v přírodě se nekříží, nelze tedy uvažovat o nebezpečí rozšíření potomstva úspěšných transgenních jedinců v přírodě. Jinak je tomu u ryb. Do genomu ryb byl v experimentech mimo jiné vnesen další gen pro rybí růstový hormon. Zvýšená aktivita tohto hormonu podstatně urychluje a zvyšuje jejich růst. V přírodních podmínkách by úspěšné transgenní populace mohly vytěsnit populace původní. Proto se tento transgen pravděpodobně nebude při šlechtění ryb využívat tam, kde uvedené riziko hrozí. To ovšem neznamená, že by se u ryb nemohly využívat jiné transgeny.

Jsou zde i pokusy o léčení lidí vnášením genů do dědičného základu somatických buněk. Podobným zákrokům se již podrobilo několik set lidí a mnozí z nich byli vyléčeni z nádorových a dědičných chorob. Pokusy s určitým úspěchem se prováděly i při léčení AIDS. Zde budou zásahy pravděpodobně vždy omezeny jen na tělní buňky, aby se nepřenášely do dalších generací.

Vytváření překážek pro využívání GMO v Evropě vede k jejímu zaostávání v aplikovaných biotechnologiích v oblasti rostlinné produkce. V příštím roce uplyne deset let od zavedení transgenních odrůd, a to bude jistě důvodem k určitému bilancování. Mnoho se pravděpodobně zatím nezmění, antibiotechnologové budou jistě i nadále varovat před dlouhodobými účinky, ale je naděje, že tento vývoj bude změněn. K tomu je však třeba osvěta v molekulární genetice a biotechnologiích. Nestačí osvěta širokých vrstev obyvatelstva, nejdůležitější je primární osvěta biologů, pak učitelů, lékařů, úředníků státní správy, redaktorů sdělovacích prostředků a dalších.

Literatura

Chilton, M.-D., Drummond, M. H., Merlo, D. J., Sciaky, D., Montoya, A. L., Gordon, M. P., Nester, E.W.: Stable Incorporation of Plasmid DNA into Higher Plant Cells: The Molecular Basis of Crown Gall Tumorigenesis. Cell, 11, 1977, p. 263 – 271.

Ondřej, M., Drobník, J.: Transgenoze rostlin. Academia Praha, 2002.

Ye, X., Al-Babili, S., Kloti, C., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P., Potrykus, I.: Engineering the Provitamin A (Beta-carotene) Biosynthetic Pathway into (Carotenoid-free) Rice Endosperm. Science, 287, 2000, p. 303 – 305.

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc., Katedra genetiky Biologické fakulty Jihočeské univerzity, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ***ondrej@umbr.cas.cz***