

UUSIA OMINAISUUKSIA KASVEIHIN GEENITEKNIIKAN AVULLA



Dosentti Viola Niklander-Teeri
Soveltavan biologian laitos, Latokartanonkaari 5-7
PL 27, 00014 Helsingin yliopisto
viola.niklander-teeri@helsinki.fi

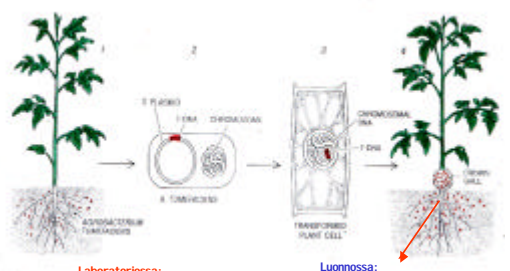
mtip 12.1.2004 VNT

Kasvinjalostus

- Kasvinjalostus on **perimän muokkausta**:
 - valintajalostus
 - risteytysjalostus
 - mutaatiojalostus
 - haploidijalostus
 - hybridijalostus
 - siirtogeenijalostus
- **Geenitekniset menetelmät** kasvinjalostuksessa:
 - geenimerkkiavusteinen jalostus (valintajalostusta)
 - -siirtogeenijalostus

mtip 12.1.2004 VNT

Agrobakteerivälitteinen geeninsiirto (1983)



Laboratoriossa:

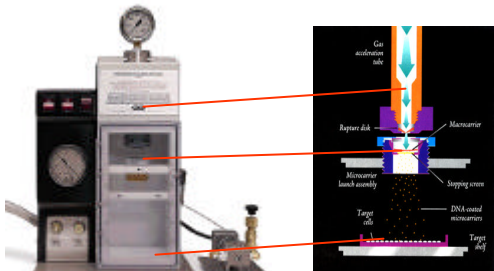
- tuumori- ja opiinigeenit poistettu
- tilalle sovellusgeeni(t)

Luonnossa:

- nopeaa solunjakaantumista (tuumori)
- opiinien synteesi

mtip 12.1.2004 VNT

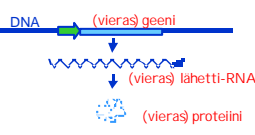
Suora geeninsiirto: partikkelipommitus (1987)




mtip 12.1.2004 VNT

Geenisiirron avulla voidaan kasveihin lisätä uusia ominaisuuksia

Geneettinen koodi on universaali



(vieras) geeni → (vieras) lähetti-RNA → (vieras) proteiini

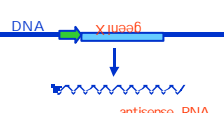


‘Kultaiseen riisiin’ muodostuu karoteenia (A-vitamiinin esiaste). Riisiin on siirretty geneja narsissista ja bakteerista.


mtip 12.1.2004 VNT

Geenisiirrolla voidaan myös poistaa ominaisuuksia

‘Antisense RNA’ pysäyttää geenitoiminnan

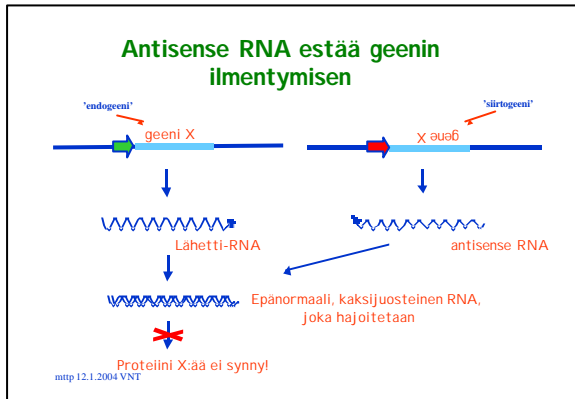


DNA → γ uuaa6 → antisense RNA



Valkoiset gerberat on johdettu punaisesta siirtämällä kasviin yksi gerberan omista väriainesynteesiin osallistuvista geneista ‘antisense’ asennossa.

mtip 12.1.2004 VNT



- ### Markkinoilla:
- Rikkakasvihävitteen (herbisidin) kestävyys
 - Hyönteisresistenssi
 - Viruskestävyys
 - Hedelmän säilyvyys
 - Kukan väri
 - Leikkokukkakestävyys
 - Koirassteriilisyy
- mtp 12.1.2004 VNT



Herbisidin kestävyys

Yksi tapa: Herbisidi ei pysty inhiboimaan kohdeproteiinia

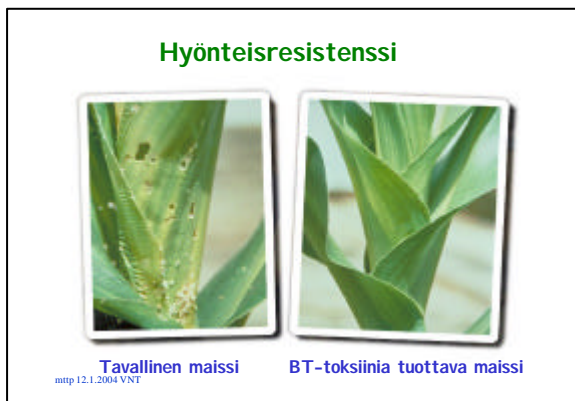
Taustaa:

- Glyfosaatti inhiboi EPSPS entsyymin toiminnan, joka tarvitaan tärkeiden aromaattisten aminohappojen (tryptofaani, tyrosiini, fenyylialaniini) biosynteesiin bakteereilla ja kasveilla
- Glyfosaatin ominaisuuksia
 - tehoa kaikkiin kasvilajeihin
 - hajoaa nopeasti maassa

Roundup® (glyfosaatti) -kestävä GM-soija ja muut lajit:

- Mutantti -EPSPS entsyymin yli tuotto (bakteerigeeni tai kasvin oma geeni), joka ei inhiboidu glyfosaatista

mtp 12.1.2004 VNT



Hyönteisresistenssi

Taustaa:

- *Bacillus thuringiensis* (Bt)-bakteeri tuottaa itiöitä, joissa 'kidemäinen rakennelma' proteiineista
- Yhdellä 'crystal' (Cry) proteiineista insektisidi -aktiivisuutta (Bt-toksiini)
- Toksiini tarttuu tuhohyönteisen toukan suolen reseptoriin ja aiheuttaa nälkiintymisen ja kuoleman

Bt-maissi ja muut Bt-kasvit:

- Cry-proteiinien yli tuotto, jolloin toukat kuolevat syötyään Bt-kasvia

mtp 12.1.2004 VNT

Virusresistenssi



Rengaslaikkuvirusta kestävä siirtogeinen papaija. Tuotantokasvatuksessa Havaijilla vuodesta 1996.

mtp 12.1.2004 VNT

Hitaasti pehmenevä tomaatti



FlavrSavr® tomaatti (Calgene)

mtp 12.1.2004 VNT

FlavrSavr (Flavour Savour) tomaatti

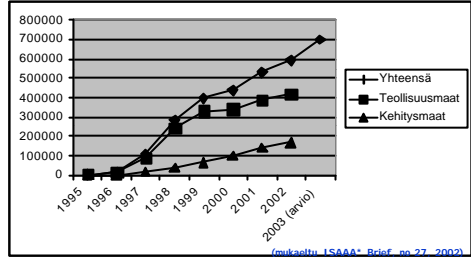
Taustaa:
-Tomaatin kypsyessä sen sisältämät polygalakturaasi-entsyymit alkavat hajottaa hedelmän soluseiniä

Siirtogeinen FlavrSavr-tomaatti:
-Antisense-konstruktio polygalakturaasi-entsyymia koodaavasta geenistä alentaa entsyymin tasoa huomattavasti, jolloin seurauksena soluseinän hajoamisen hidastuminen hedelmässä, jolloin tomaatit pehmenevät hitaammin

- Toinenkin lajike markkinoilla USA: ssa (Endless Summer® by DNA Plant Technology, USA). Antisense-konstruktio, joka blokkaa etyleenin tuoton (etyleenin 'vanhenemishormoni')

mtp 12.1.2004 VNT

GM-kasvien viljelyksien pinta-ala maailmanlaajuisesti 1996-2002 (km²)



(lähde: ISAAA Brief no 27, 2002)

*The International Service for the Acquisition of Agri- biotech Applications (ISAAA) is a not-for-profit organization that delivers the benefits of new agricultural biotech technologies to the poor in developing countries.

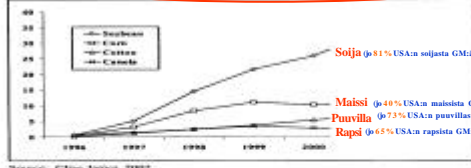
mtp 12.1.2004 VNT

Table 3. Global Area of Transgenic Crops in 2001 and 2002: by Country (Million Hectares)

	2001	%	2002	%	+/-	%
USA	33.7	68	39.0	66	+ 5.3	+ 9
Argentina	11.8	22	13.3	23	+ 1.7	+ 14
Canada	3.2	6	3.3	6	+ 0.3	+ 9
China	1.5	3	2.1	4	+ 0.6	+ 40
South Africa	0.2	<1	0.3	1	+ 0.1	+ 50
Australia	0.2	<1	0.1	<1	- 0.1	--
India	--	--	<0.1	<1	<0.1	--
Romania	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Spain	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Uruguay	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Mexico	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Bulgaria	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Indonesia	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Colombia	--	--	<0.1	<1	<0.1	--
Honduras	--	--	<0.1	<1	--	--
Germany	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--
Total	52.6	100	58.7	100	+ 6.1	+ 12%

Source: Clive James, 2002.

Figure 4. Global Area of Transgenic Crops, 1996 to 2002: by Crop (Million Hectares)



Source: Clive James, 2002.

Table 4. Global Area of Transgenic Crops in 2001 and 2002: by Crop (Million Hectares)

Crop	2001	%	2002	%	+/-	%
Soybean	33.3	63	36.3	62	+ 3.2	+ 10
Maissi	9.8	19	12.4	21	+ 2.6	+ 27
Cotton	6.6	13	6.8	12	0.2	--
Canola	2.7	5	3.0	5	+ 0.3	+ 11
Squash	<0.1	<1	<0.1	<1	--	--
Papaya	<0.1	<1	<0.1	<1	--	--
Total	52.6	100	58.7	100	+ 6.1	+ 12

Source: Clive James, 2002.

Tulossa 2005-2015:

- Ravintoarvoltaan parannetut kasvit (proteiinien, öljyjen, **vitamiinien** ja kivennäisaineiden parempi koostumus)
- Hedelmien ja vihannesten parannettu säilyvyys
- Kasvien parannetut maku- ja tuoksuomaisuudet
- Kuivuuden, suolan, metallien ja lämpötilojen (kylmä/kuuma) kestävyyskyvyn parantaminen
- Allergeenien poisto
- Maanparannus kasvien avulla (engl. phytoremediation)
- **Kasvien käyttö hyödyllisten aineiden tuottajaisäntinä ("bioreaktoreina")**

mtp 12.1.2004 VNT

A-vitamiinin esiasteen tuotto riisissä: 'Kultainen riisi'



'Kultainen riisi'

- Tarkoitus estää esim. sokeutumista ja muita **A-vitamiinin puutteesta** johtuvia sairauksia (ennen kaikkea lapsilla)
- Kehitetään ja testataan kehitysmaiden oloihin sopivaksi Filippiineillä **IRRI:n** toimesta (kansainvälinen riisintutkimuslaitos)
- **Ei lisenssimaksuja tai rajoituksia köyhille viljelijöille** ('humanitäärisen käyttöön')

mtp 12.1.2004 VNT

Kasvien käyttö 'bioreaktoreina' pellolla

- **Perinteisesti** kasveja käytetty ruoaksi, rehuksi, polttoaineeksi, rakennusaineeksi, kuidun lähteenä ja lääkinällisiin tarkoituksiin
- **Tulevaisuuden visio**, että kasveja valjastetaan **'bioreaktoreiksi'** tuottamaan vieraita proteiineja (muita kuin kasvin omia) esim. lääkinällisiin tarkoituksiin



mtp 12.1.2004 VNT

Mitä etuja kasvien käytöllä verrattuna bakteeri-, hiiva- ja eläinsoluviljelmiin tai siirtogeenisiin eläimiin?

- **Halvemmat pääoma- ja tuotantokustannukset** (olemassa olevat maataloustekniikat ja pellot; tuotetta ei tarvitse aina edes eristää kasvista vaan kasvi syödään)
- **Pitkäaikaissäilytys** esim. siemenissä (ei tarvita kylmäsäilytysketjuja, esim. kehitysmaat)
- **Turvallisempia**, koska ei ihmispatogeeniä (HIV, hepatiitti-virus, prionit)
- **Eettisesti hyväksytympää**



mtp 12.1.2004 VNT

Arvokkaiden aineiden tuotto kasveissa:

- **Teollinen tärkkelys ja lipidit** (non-food use)
- **Teolliset entsyymit** (α- amylaasi, **fytaasi**, β-glukanaasi, β-ksylanaasi)
- **Biohajoavat muovit**
- **Lääkeaineet**, esim.:
 - **Hormonit** (kasvuhormonit, erytropoietini)
 - **Hemoglobiini**
 - **Antikoagulantit** (hirudini)
 - **Ihmisen maitoproteiinit** (kaseiini, laktoferrini, lysotsyymi)
 - **Vitamiinit** (Kultainen riisi)
 - **Rokotteet**
 - **Antigeeniset proteiinit** ('aktiiviset rokotteet')
 - **Vasta-aineet** (passiiviset rokotteet)



mtp 12.1.2004 VNT

Fytaaasi

- Fytaaatti (myo-inositolihexafosforihappo) on fosforin (P) pääasiallinen varastomuoto siemenissä (jopa 80% siemenen P:stä). Fytaaatin suola on fytiiini. Varastoituneena proteiinijyväsiniin.
- Kun siemen itää, fytaaasi-entsyymi hydrolysoi fytiiiniin epäorgaaniseksi fosforiksi ja inositoliksi
- Siemenet rehun pääkomponentteja. Varastomuoto (sidottu P) kuitenkin huono P:n lähde yksimahaisille. Siksi epäorgaanista P:tä joudutaan lisäämään rehuun.
- Aiheuttaa P-päästöjä ympäristöön



mtp 12.1.2004 VNT

Fytaaasi-entsyymien tuotto siemenessä

- Vaihtoehtona fytaaasin lisäys rehuun:
 - homeessa (*Aspergillus niger*) tuotettuna
 - kasvin siemenessä tuotettuna
- Fytaaasi kasvin siemenessä tuotettuna (etuja):
 - siemet voidaan jauhaa suoraan rehun joukkoon
 - halvempaa kuin fermentoreissa tuotettu
 - öljy- ja tärkkelystuotannon sivutuotteena



- ➔ Tavoitteena:
 - vähemmän epäorgaanisen P:n lisäystä rehuun
 - vähemmän P-päästöjä ympäristöön

mtp 12.1.2004 VNT

Biohajoavien muovien tuotto kasvilla

- Polyhydroksyalcanoatteja (PHA)
- Bakteripolymeerejä, joita bakteeri käyttää hiilen ja energian lähteenä
- Kerääntyvät bakteerisoluun rakkuloiksi ('inklusionaiksi')
- Hajoavat nopeasti (kompostoituaessa 3-9 kk)
- Ongelmana kallis hinta. Jopa 10 kertaa kalliimpia kuin öljypohjaiset polymeerit (polypropyleeni)
- Bakteerin PHB biosynteesigeenit siirrettyinä kasviin:
 - tarvitaan 3 entsyymiä, yksi kasvin solulimassa valmiina.
 - esiaste asetyyli-CoA, PHB=polyhydroksyybutyraatti

- ➔ Uusiutuvia ja ympäristöystävällisempiä polymeerejä

mtp 12.1.2004 VNT

Lysotsyymien tuotto riisiin jyvässä

- Yksi ihmisen maidon runsaimmista proteiineista (50-400 mg/ml)
- Muissakin eritteissä, kuten kyynelissä ja syljessä
- Bakterisidi. Tappaa bakteereja hajottamalla niiden soluseinää
- Maidonkorvikkeisiin halutaan lisätä lysotsyymiä, jota eristetään äidinmaidosta (arvokasta)
- Vaihtoehtoisia tapoja tuottaa sitä esim. hiivasolussa tai kasvilla, kuten riisiin jyvässä
- Riisin jyvän edut
 - proteiinipitoisuus hyvä (9-19% jyvän painosta)
 - jyvät säilyvät pitkään
 - ei allergiaa-aiheuttava. Vauvojen ensiruokaa
 - edullista käyttää maailmanlaajuisesti vauvanruokien raaka-aineena
- Tuottotaso jopa 45% liukoista proteiineista

mtp 12.1.2004 VNT

Rokotteiden tuotto siirtogeenisissä kasveissa:

- esimerkkejä aktiivisista alayksikkörokotteista

- Hepatiitti B-viruksen pinta-antigeeni
- Ripuli bakteeri toksiiniin B-alayksikköproteiini
- Malaria-alkueläimen epitoppeja
- Vesikauhuviruksen pintaglykoproteiini
- Norwalk-viruksen kuoriproteiini
- Minkin enteriittiviruksen kuoriproteiini
- Koleratoksiiniin B-alayksikköproteiini
- Suu- ja sorkkatauti viruksen rakenneproteiini
- Herpesviruksen glykoproteiini
- Hammasmätä-streptokokin pintaproteiini
- HIV epitoppeja
- Hemagglutiiniin influenssavirusta vastaan
- c-Myc syöpää vastaan



mtp 12.1.2004 VNT

Ensimmäiset kliiniset ihmiskokeet

Aktiiviset rokotteet: 1997, 'Phase I/II trials'

- ETEC-bakteerin LT-B perunassa (raakoja perunanpaloja)
- Hepatiitti-B antigeeni perunassa (kaupallisen rokotteen tehoste)
- Norwalk-viruksen VLP perunassa
 - ➔ Antigeeniset proteiinit kestivät hajoamatta
 - ➔ Indusivat immuunivasteen
 - ➔ Ei sivuvaikutuksia

Passiivinen rokote: 1998, 'Phase II trials'

- IgA vasta-aine hammasmätää vastaan tupakassa
 - ➔ Eliminoi *Streptococcus mutans* -bakteerin

mtp 12.1.2004 VNT

Botechnology Information Website
Deliberate releases and placing on the EU market of Genetically Modified Organisms (GMOs)

The purpose of this website, managed by the Joint Research Centre of the European Commission on behalf of the Directorate General for the Environment, is to publish information and to receive comments from the public regarding notifications about deliberate field tests and placing on the market of genetically modified organisms, as defined in Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001.

Deliberate release into the environment of GMOs for any other purposes than placing on the market

<p>Plants</p>  <p>Genetic modification</p> <p>Developed the GEP Application Form in 2002 or 2011 format</p> <p>Log of Main Trials</p>	<p>Organisms other than plants</p>  <p>Genetic modification</p> <p>Developed the GEP Application Form in 2002 or 2011 format</p> <p>Log of Main Trials</p>	<p>All products</p>  <p>Genetic modification</p> <p>Developed the GEP Application Form in 2002 or 2011 format</p> <p>Log of Main Trials</p>
---	--	---

Placing on the market of GMOs as or in products

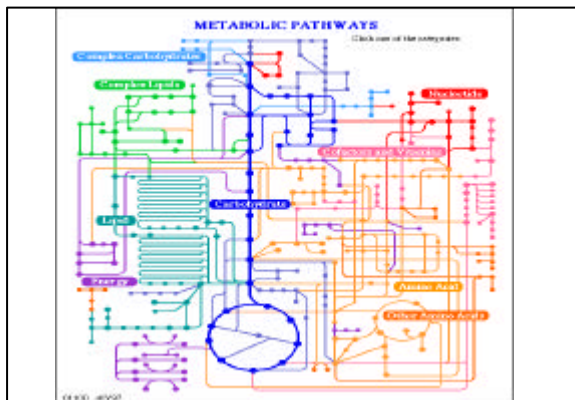
EU:n GMO-tuotetiedotukset: <http://emoinfo.jrc.it/>

mtp 12.1.2004 VNT

Tulossa 2015 jälkeen:

- Kasvin parannettu yhteyttämiskyky
- Kasvin parannettu ravinteiden sitoutumiskyky orgaanisiksi yhdisteiksi (assimilaatio)
- Hedelmien ja siementen määrän, koon ja laadun parantaminen
- Kukkimisajan muutokset
- Kasvin rakenteelliset muutokset
- Heteroosin ja apomiksin hyötykäyttö

mtp 12.1.2004 VNT



Genomiikkatutkimus

- Kokonaisia genomeja sekvensoitu
- Kokonaisia metaboliareittejä ja niiden vuorovaikutusta muihin reitteihin pystytään tutkimaan samanaikaisesti
- Genomiikkatieto tarjoaa aivan uudenlaiset mahdollisuudet kasvinjalostukselle, koska tiettyjä aineenvaihduntareittejä pystytään sen avulla muokkaamaan kohdennetusti ("täsmäjalostus")



mtp 12.1.2004 VNT

DNA siru (5000 geeniä)

Geenien ilmenemistä ja säätelyä pystytään tutkimaan kokonaisvaltaisesti

mtp 12.1.2004 VNT



Miksi GM-kasveja vastustetaan?

- 1. Terveysyyt**
 - allergiat
 - myrkyllisyys
 - antibiootiresistenttien kehittyminen
- 2. Ympäristösytyt**
 - geenien karkaaminen luontoon
 - biodiversiteetin vähentyminen
- 3. Poliittiset syyt**
 - kehitysmaiden asema
 - monikansalliset yhtiöt
 - monopolit ja patentit
- 4. Arvoasiat**
 - kulttuuri, etnisyys
 - uskonto
 - sosio-ekonomiset näkemykset
 - humanistiset näkemykset
 - elämäntapa



mtp 12.1.2004 VNT

- Liki 10 vuoden aikana ei ole tullut esiin yhtään tapausta, jossa kaupallisessa tuotannossa olevat GM-kasvit olisivat aiheuttaneet vahinkoa ihmisen terveydelle tai ympäristölle
 - Kaupalliset GM-kasvit ovat myös paljon tiukemman tutkimuksen ja lainsäädännön alaisena kuin perinteisillä menetelmillä jalostetut kasvit. Sen vuoksi voidaan sanoa, että ne ovat jopa luotettavampia, täsmällisempiä ja ennustettavampia kuin risteytyksellä tai mutaatioilla aikaansaadut lajikkeet
 - Tutkijat ja viranomaiset pitävät kaupallisia GM-lajikkeita vähintään yhtä turvallisina terveydelle ja ympäristölle kuin muilla menetelmillä markkinoille tuotettuja lajikkeita ja haluaisivatkin, että kokemuksen vielä kartuttua jonkin aikaa, GM-kasvien riskianalysien ja lainsäädännön ei tarvitsisi olla yhtään sen erilaisempi kuin muidenkaan markkinoille tuotettujen kasvilajikkeiden
 - Arvosyihin ei voida eikä tarvitsekaan vaikuttaa ("kuluttaja päättää mikä on hyödyllistä, mutta ei mikä on vaarallista")
- mtp 12.1.2004 VNT

Tulevaisuuden visioita

Erikoistuotteiden viljelyä Suomessa:

Suomen maantieteellisellä sijainnilla voidaan nähdä myös etuja tulevaisuuden maataloudessa. Visiona voisikin olla, että suomalaisella viljelijällä on hyvät mahdollisuudet erikoistua siirtogeenisten ravinto-, lääke-, ym. kasvien tuotantoon pelloilla, kun perinteinen viljelytuotanto on siirtymässä meiltä etelämpään. Suomessa siirtogeenisten viljelykasvien avoin käyttö on turvallisempaa, koska melkein kaikki viljelykasvilajit ovat meillä tuontilajeja. Koska siirtogeenisillä viljelylajikkeilla ei ole risteytyviä lähisukulaisia taalla, eivätkä eliittilajikkeet selviä peltojen ulkopuolella luonnonvaraisena, geenien leviäminen luontoon minimoituu.

mtp 12.1.2004 VNT