

A GM-NÖVÉNYEK ENGEDÉLYEZÉSÉNEK EURÓPAI/HAZAI TAPASZTALATAI

III. Országgyűlési Nyílt Napok a GMO-król a GMO-Kerekasztal 30. ülése, 24-27. oldal

Országgyűlés Irodaháza – Budapest, Széchenyi rakpart 19., 2017. május 18.

<http://bdarvas.hu/download/pdf/AIIGMO3.pdf>

Célzott mutagenézis – a precíziós nemesítés új módszere

Dudits Dénes

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

6726 Szeged, Temesvári krt. 62.

dudits.denes@brc.mta.hu

Minden időkből a fajtaelő-állító nemesítés kulcsszerepet játszott az agrár-innovációban, hiszen a természetett növények és tenyésztett állatok genetikai képességeinek folyamatos javítása az agrártevékenység jövedelmezőségét alapjaiban befolyásolja. A hagyományos nemesítési módszerek, mint a szelekció, a keresztezés vagy akár a poliploidizáció az érintett gének ismerete nélkül, véletlenszerűen módosítják egy adott élőlény génösszetételét, hiszen még az intenzív fajták nemesítői is csak a felszínen megjelenő tulajdonságokat értékelik. A nemesítés eredményességében lényegi javulást tesz lehetővé a molekuláris technikák alkalmazása, amikor célzottan történhet a DNS szerkezetének, működésének megváltoztatása. Különösen nagy jelentőségű az ún. genomszerkesztési módszerek kidolgozása, melyekkel egy kiválasztott célgén egyetlen molekulájának, nukleotidjának a kicserélésével lehet a megtervezett funkciójú fehérje szintézisét, és a kívánt új tulajdonság megjelenését biztosítani. Lényegében megvalósíthatóvá vált a célzott mutációk létrehozása, akár idegen gén beépítése nélkül is. A precíziós nemesítés mind több terméke jelenik meg a világon, és ezzel a fajta-előállítók versenye új szakaszba kerül. Ez az innovációs kihívás igen lényeges mezőgazdaságunk jövőbeni versenyképessége szempontjából is. Magyarország agráriuma az új technológiák révén lehetőséget kap arra, hogy a transzgenikus fajták (GMO-k) termesztésének tiltásából fakadó ellentmondásoktól megszabaduljon, és a hazai genomszerkesztési kutatások teret nyerjenek, amelyek a precíziós nemesítés eredményein keresztül a magyar gazdák érdekeit szolgálják.

A hirtelen fellépő örökletes megváltozások, a mutációk a biológiai sokféleség forrásai a természetben és a sikeres nemesítés alapanyagai

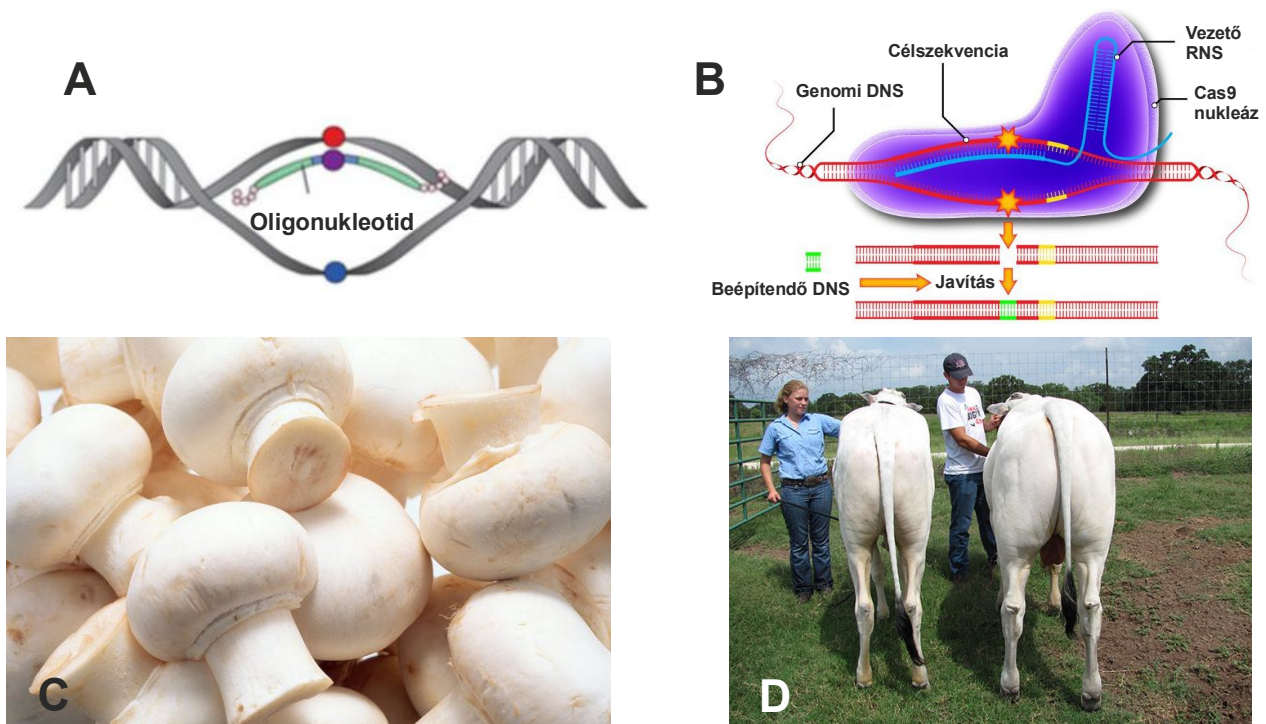
Az emberi beavatkozás nélküli, spontán módon bekövetkező genetikai változások minden 100 milliómodik nukleotidot érinthetik. Az így létrejött variabilitás fontos forrása a természetben zajló evolúciónak. A növények nemesítése során, az eredményesség érdekében szükség van arra, hogy a mutációk gyakoriságát mesterségesen növeljük. Kémiai mutagénekkel, vagy besugárzással elérhető, hogy 1000 nukleotidként egy mutáció történjen. Bár a mutációs nemesítés sikerét több mint 3100 elismert növényfajta tanúsítja, korlátot jelent, hogy az indukált mutációs események irányíthatatlanul érinthetik a genom bármely részét. Ezért párhuzamosan több technológia kifejlesztése is folyik, hogy egy kiválasztott gén meghatározott nukleotidjának kicserélésével tervezetten legyen megváltoztatható a kódolt fehérje szerkezete, és ezzel megszülethessenek a kívánt tulajdonsággal rendelkező növények, állatok.

Szintetikus DNS-molekulák, oligonukleotidok, mint génspecifikus mutagének

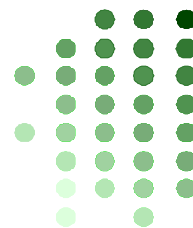
Az irányított mutagenézis speciális változata, amikor rövid, 25-150 nukleotidból álló, kémiai szintézissel előállított DNS-molekula, oligonukleotid (ON) szolgál egy kiválasztott célgén specifikus megváltoztatására. Az oligonukleotid-irányított mutagenézis (ONIM) igen vázlatos mechanizmusát mutatja be a mellékelt ábra A része. Az ON-molekulák csak a DNS kettős spirál nyitott állapotában képesek kötődni a kiválaszt-

tott célgén szekvenciaszakaszához, nukleobázisai kapcsolódási szabályai alapján. Az *ON* szintézise során a kívánt mutáció beépítése érdekében elhelyezett új nukleobázis párosodási zavart okoz, mert nem képes kapcsolódni a gazda DNS azonos pozíciójú nukleotidjával. Ez a zavar, ami a DNS-szál törésével is járhat, működésbe hozza a sejt saját hibajavító enzimszisztémáját. A javítási folyamat az *ON* szekvenciájának megfelelő nukleotidot építi be a DNS-szálba, és így egy új, három nukleotidból álló triplet jön létre, ami már más, a tervezett aminosav beépülését irányítja a fehérjeszintézis alatt. Egyetlen aminosav cseréje lényegesen befolyásolhatja a fehérje sajátosságait, és ezen keresztül a kívánt irányba változhatnak meg egy növény vagy állat sejtjeinek, szerveinek sajátosságai. Az *ONIM* technológia optimalizálásához gyakran használják a zöld fluoreszcens fehérje génjének módosítását.

Az *ONIM* technológia használhatóságát alapvetően befolyásolja az, hogy milyen hatékony az *ON*-molekulák bejuttatása a sejtekbe. Tekintettel arra, hogy az *ON*-molekulák rövid DNS-szakaszok, a felvételi módszerek sok szempontból követik a DNS plazmidokkal végzett transzformáció során használt protokollokat, mint a sejtekbe történő DNS-belövés, vagy a protoplasztok kezelése. Mivel az *ON* kezelt szövetenyészetben a mutáns sejtek felszaporítása szelektív körülményeket igényel nem véletlen, hogy az *ONIM* eredetű gazdasági növények gyomirtó szerekkel szembeni tűrőképességgel rendelkeznek, mint például a *chlorsulfuron*-tűrő dohány. Kanadában a BASF és *Cibus* cégek által *RTDS* (*Rapid Trait Development System*) technológiával előállított *Clearfield* nevű imidazolinon-tűrő repce 2013-ban nyert elismerést. A szintetikus *ON*-molekulák szerepet kapnak, mint templátok a



Ábra magyarázat: **A.** Az oligonukleotid-irányított mutáció (*ONIM*) során egyetlen nukleotid kicserélése történik, miután a szintetikus DNS molekula (25-150 nukleotid) felismeri a célszekvenciát, ahhoz kapcsolódik és aktiválja a sejt hibajavító mechanizmusait, miközben a kívánt nukleotid beépül és ezzel új aminosav kódja jön létre; **B.** A *CRISPR/Cas9* szerkesztés során a vezető RNS molekula ismeri fel a célszekvenciát, ehhez a DNS régióhoz irányítja a *Cas9*-nukleázt, amely a DNS mindkét szálát hasítja. Ezt érzékeli a sejt hibajavító rendszere, és a javítás során következhet be a kívánt nukleotid cseréje vagy nukleotidok beépülése; **C.** Késletetett barnulású csiperke; **D.** Miosztatin gén szerkesztett, mutáns változatát hordozó bika (jobboldali kép).



nukleázokat használó genomszerkesztési technológiákkal végzett irányított nukleotidcserék kialakítása során is.

CRISPR/Cas9 rendszer – Kedvelt genomszerkesztési technológia

Mint az ábra **B** részében láthatjuk, a *CRISPR/Cas9* technológia esetében RNS molekula vezeti a *Cas9*-nukleáz a célszekvenciához. A módszer alkalmazásakor szükség van mind a vezérlő RNS, mind a nukleáz fehérje szintetizáltatására a sejtekben. Ez megvalósítható transzgenikus vektorok használatával. Az ilyen kezdeti kísérleteket felválthatja a vezér RNS és nukleáz-komplexek kialakítása *in vitro*, így idegen gén bevitelére nincs szükség. Napjainkban tanúi lehetünk a *CRISPR/Cas9* technológiával, valamint más genomszerkesztési módszerrel kialakított növények és gazdasági állatok megjelenésének, amelyek agronómiai, vagy élelmezési szempontból előnyös, új tulajdonságokkal rendelkeznek. Számos betegség-ellenálló növény (rizs, búza) született ilyen úton. Az ábra **C** része a készletetett barnulású csiperkegombát mutatja, amely forgalmazható az Egyesült Államokban. Az ábra **D** része pedig nagy izomzatú bikát ábrázol, aminek természetes mutáns analógját már ismerik az állattenyésztők (*Belgian blue* szarvasmarha).

Szempontok a GMO/nem-GMO kérdés mérlegeléséhez

A genomszerkesztés termékei alapvetően mutánsok, és az EU direktívák nem tekintik a mutánsokat GMO-nak. Lényeges, hogy a géntechnológiai úton módosított (GM) szervezetek transzgenikus formái (pl. *Bt*-növények) olyan genetikai beavatkozások termékei, amelyek a természetben nem következhetnek be. Ugyanakkor ez a kritérium nem áll fenn a genomszer-



kesztés termékei esetében, mert több példa is igazolja, hogy ezek a műveletek már ismert spontán vagy indukált mutációk kialakulásához vezethetnek. A genomszerkesztés termékeinek kimutathatósága nagy nehézséget jelent, mert szinte lehetetlen megkülönböztetni a mesterséges vagy a természetes okokból származó nukleotid változásokat. Mivel még nincs Európai Unió döntés, igen fontos lenne, hogy a törvényhozók a tudományos tényekre támaszkodjanak, amikor döntenek ennek a fontos innovációs lehetőségnek az elfogadásáról. Ezért nagy jelentőségű az EASAC (*European Academies Science Advisory Council*, Európai Akadémiák Tudományos Tanácsadó Testülete) most megjelent állásfoglalása: "Arra kérjük az EU-szabályozás megfogalmazóit, hogy mondják ki: a genomszerkesztésből származó termékek, amennyiben nem tartalmazznak nem rokon szervezetekből DNS-t, nem esnek a Genetikailag Módosított Szervezetekre (GMO-ra) vonatkozó szabályozás alá". Ez a szakmai alapokon nyugvó javaslat segítheti a hazai felkészülést is az új technológiák térhódításából fakadó újabb versenyhelyzetre (1).

1. Dudits D. és Györgyey J. (2013): *Zöld-GMO-k*. Akadémiai Kiadó, pp. 145; Fehér A. (szerk.) (2014): *A növények molekuláris biológiájától a zöld biotechnológiáig*. Akadémiai Kiadó, pp. 281; Balázs E. és Dudits D. (szerk.) (2017): *Precíziós nemesítés. Kulcs az agrár-innovációhoz*. Agroinform Kiadó, pp. 194.