

# Precíziós nemesítés – az elcsendesített génektől hangos a tudományos világ

Bárdos B. Edit

A génszerkesztéssel pontról pontra, tetszőlegesen, az ember számára kedvező irányban változtatható a növények és az állatok genetikai anyaga. Ha az ily módon előállított termékeket nem tekintjük GMO-knak, egy új innovációs lehetőség nyílik meg a növénynemesítők előtt - mondta Dudits Dénes akadémikus, a Magyar Tudomány Ünnepe november 6-ai előadásán a Magyar Tudományos Akadémián.

A precizitás az élet minden területén, így a mezőgazdaságban, és annak egy szűkebb területén, a nemesítés, a fajta-előállítás során is fontos. Ehhez, a precizitás eléréséhez a molekuláris biológiai kutatás forradalmian új technológiákat adott a nemesítők kezébe.



Fotó: MTA: Szigeti Tamás

Ma már, a korábbiakhoz képest sokkal precízebben módosíthatók a gének, kezdte Dudits Dénes az előadását, amelynek központi témája, „központi molekulája” a DNS volt. Mint ismert, ez az élet kódját hordozó molekula – szerkezetéből adódóan – biztosítja egyrészt a tulajdonságok öröklődését, másrészt irányítja a fejlődési programot. Az érthetőség kedvéért előrebo-

csátotta, hogy előadásában sokszor esik szó a DNS-t alkotó molekuláris elemekről, a nukleotidokról, amelyeknek a sorrendje jelenti a genetikai kódot. Az alapfogalmak tisztázása során arra az ismert tényre is emlékeztetett, hogy a termés a gének és a környezet kölcsönhatásának az eredménye. A gének összességét hívjuk genomnak, s az abban található genetikai információ valósítja meg azt a fejlődési programot, amelynek végterméke – esetünkben – az ember számára hasznos mezőgazdasági termék.

## Az evolúció alapja

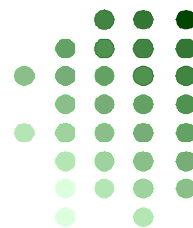
A DNS-molekula, és az azt felépítő egységek a természetben is folyamatos változásnak vannak kitéve. Ennek során alakulnak ki a spontán mutációk, s ezek képezik az evolúció alapját. Gyakorisága elenyésző, minden 100 milliomodik nukleotidra jut egy. Amikor a nemesítők besugárzással vagy kémiai mutagének használatával indukált mutációkat hoznak létre, az arány lényegesen javul, 1:1000 lesz.

**ENNEK ELLENÉRE, HANGSÚLYOZTA AZ ELŐADÓ, A KLASSZIKUS NEMESÍTÉSI MÓDSZEREK NEM IRÁNYÍTHATÓK.**

Például egy keresztezés után nem befolyásolhatók a genetikai történések, de még indukált mutáció esetében sem tudható előre, hogy melyik gén mutálódik. Több tízezer növényt vagy állatot kell termesztetni, illetve tenyészteni ahhoz, hogy a kívánt tulajdonságot mutató egyedek kiválogathatók legyenek.

**EZT AZ IRÁNYÍTHATATLANSÁGOT SZÜNTETHETI MEG EGY TELJESEN ÚJ TECHNOLÓGIA, A GENOMSZERKESZTÉS.**

Ezzel együtt, hangsúlyozta Dudits Dénes, a hagyományos nemesítés, benne a mutációs nemesítés nagyon sikeres, évről évre nő a növények, az állatok teljesítőképessége.



*Több mint 3200 mutációs eredetű növényt termesztünk, s ez azért fontos, emelte ki az előadó, mert az uniós szabályozás szerint a mutánsok és a mutációból származó tenyésztési anyagok nem GMO-k.*

Példaként egy olyan rizst említett, amelyik esetében a kutatók gammasugárzással indukált mutációval jelentősen megnövelték a szemek súlyát. A kérdés tehát az, hogy a véletlenszerű mutációs folyamat miként, milyen eljárással tehető irányíthatóvá?

**A hagyományos nemesítés módszerei: a géneket manipulálják**

**SZELEKCIÓ**  
Forrás: <http://maatkara.extra.hu>

	♂ B	♂ b
♀ B	BB	Bb
♀ b	Bb	bb

**KERESZTEZÉS**  
Forrás: Wikipedia

**HETERÓZIS**  
Forrás: D. Cavagnaro et al.

**POLIPLOIDIA**  
Forrás: Dudits et al.

**MUTÁCIÓ**  
Forrás: Zalewska 2010 EJPAU 13/4

## Új módszerek

Az egyik ilyen technológiával foglalkoznak az előadó intézetében, az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában. Arra keresik a választ, hogy miként lehet a laboratóriumban megszüntetett rövid DNS-molekulák, az úgynevezett oligonukleotidok felhasználásával irányított mutációt létrehozni, hogyan tud egy szintetikus DNS-molekula specifikus nukleotidcserét, indukált mutációt kiváltani.

Az eljárás lényege, hogy 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 enzimrendszerét. A javítási folyamat során a megfelelő nukleotid épül 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 a növény sejteinek, szerveinek sajátosságai. **A MÓDSZER ELŐNYE, HOGY TRANSZGENMENTES, TEHÁT NEM KELL IDEGEN GÉNT BEÉPÍTENI, EGYSZERŰ A MEGTERVEZÉSE ÉS A SZINTÉZIS IS VISZONYLAG OLCSÓ.** Azonban számos korlátja is van, amelyek gátolják az alkalmazást és a hatékonyságot.

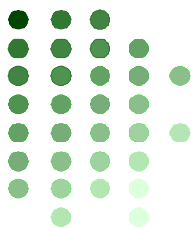
A technológia fejlesztéséhez és optimalizálásához tehát szükség van egy olyan marker rendszerre, amellyel követhető a mutáció. Ebből a célból létrehoztak egy olyan kukorica sejt vonalat, amelyik hibás fluoreszcens fehérje gént hordoz, s ezért ezek a sejtek nem fluoreszkálnak. Ha azonban ezekben a sejtekbe belövik az (aranyrészecskékhez rögzített) oligonukleotidokat, akkor láthatóvá válnak (fluoreszkálnak) a javított sejtek, azok, amelyekben bekövetkezett a korrekció.

A napjainkban leggyakrabban használt és legígéretesebb módszer azonban a CRISPR/Cas9 technológia. Ezt ismertetve az előadó ismét a kukorica növényt hozta példának. A kukoricának több mint 2 milliárd(!) nukleotidja van, ezek között kell megtalálni azt az egyet, amit ki szeretnénk cserélni és mutáltatni.

**A CÉLSZEKVENCIÁT EBBEN AZ ESETBEN EGY VEZÉR RNS-MOLEKULA ISMERI FEL, AMIHEZ HOZZÁKÖTŐDIK EGY DNS-T HASÍTÓ ENZIM, A CAS9 NUKLEÁZ.**

Ez kettős szálú hasítást okoz a célszekvencia, a kicserélendő nukleotid közelében. Miközben kijavítódik ez a DNS-törés, megtörténhet a kívánt módosítás. (Ehhez egy minta DNS-t használnak, ami legtöbbször szintetikus oligonukleotid.)





**A véletlen genetikai eseményektől az irányított mutagenézis felé**

Az evolúció alapja spontán mutáció: 1/100 millió nukleotidból

Indukált mutációs nemesítés: 1/1000 millió nukleotidból

Nukleotidsere bárhol a genomban Gamma sugarak

Szintetikus DNS vezérli a szekvenencia specifikus megváltoztatását

## Elcsendesített gének

Ezzel az eljárással a kutatók **intenzíven vizsgálják a magyar mezőgazdaságot is érintő aszály okozta veszteségek mérséklésének lehetőségét, s ebben a kérdésben is új utat nyithat a genomszerkesztés.** A kukoricában például megtalálható az argos nevű gén, amelyet ha a CRISPR/Cas9 technológia segítségével magasan expresszálnak, akkor a legkritikusabb időszakban, a virágzásakor bekövetkező szárazság esetén sem csökken a termés mennyisége.

Aszályos körülmények között fontos a levelek légzőnyílásainak állapota, ettől függ ugyanis, hogy a növény mennyi vizet veszít. Az ezt befolyásoló hidrogén-ATPáz enzim génjének DNS szekvenciájába – szintén CRISPR technológiával – egy stopkodont építettek be, aminek következtében a gén „elcsendesült”. Ennek eredményeként a sztomák a korábbiakhoz képest előbb záródnak, ezzel csökken a növények párologtatása, vízvesztése.

### CRISPR TECHNOLÓGIÁVAL BETEGSÉGEKKEL SZEMBENI REZISZTENCIA IS KIALAKÍTHATÓ.

A **rizis járványos barnulásának** kórokozója is megfékezhető, ehhez egy fehérje gén kikapcsolását kell elvégezni irányított mutagenézissel. A lisztharmat az egyik legsúlyosabb gabonabetegség, s úgy tűnik, erre is lesz megoldás. Ehhez a **búza** kinázgénjét kell „elrontani”, működésképtelenné tenni, a mutánsok a kontroll növényekhez képest sokkal kisebb lisztharmat fertőzöttséget mutatnak. **Gyapottal** is végeztek kísérleteket: szintén CRISPR technológiával elrontották az argináz nevű gént, így a növények nagyobb gyökérzetet növesztettek, aminek szintén aszály esetén van nagy jelentősége.

A példák sorát az állattenyésztéssel folytatta az előadó. Ismert, milyen nagy károkat okoz az RNS-vírus által okozott sertésbetegség, **a sertés reprodukív és légzőszervi szindrómája (PRRS)**. Ahhoz, hogy a vírus képes legyen megfertőzni egy sejtet, egy olyan fehérjére van szükség, amihez kötődni tud. Ez az úgynevezett receptor fehérje. **Ha ennek a receptor fehérjének egy egységét genomeditálással (szintén CRISPR/Cas9 technológiával) elrontjuk, akkor a vírus nem tud kötődni a sejtekhez, következésképpen rezisztencia alakul ki.**

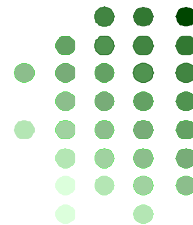
A genomeditálási kutatások másik céljának az úgynevezett miosztatin gén. A miosztatin fehérje ugyanis az izmok növekedését és differenciálódását gátolja. **HA EZT A MIOSZTATIN GÉNT SZERKESZTÉSSSEL MUTÁLTATJÁK, AKKOR A MUTÁNS EGYEDEK A VAD TÍPUSHOZ KÉPEST NAGYOBB HÜSTÖMEGET NÖVESZTENEK.** (Ezen a területen igen sikeres kutatások folynak Gödöllőn, a Biotechnológiai Központban. *Hiripi László* és munkatársai nagyobb hústömegű nyulakat állítottak elő.) **Szarvasmarhák** esetében is igen jelentős testtömeg-növekedés érhető el a miosztatin gén elhallgattatásával.

**A humán táplálkozást** érintő példát hozva az előadó a **tojásallergiát** említette, amelyről sok embertársunk szenved. Az allergiás reakcióért két fehérje felelős: az ovalbumin és az ovomukoid. Az ezeknek a fehérjéknek a termelődéséért felelős gének szintén elcsendesíthetők a CRISPR technológiával, és **olyan tyúkok keltethetők ki, amelyek teljesen egészségesek, de nem működik bennük az ovalbumin és ovomukoid fehérje termelődéséért felelős gén.**

**„Természetes” miosztatin izommutánsok:**

**Precíziós génszerkesztéssel létrehozott mutánsok**

Forrás: PLOS One, Scientific Reports, Technology Review, 16.



## Nem GMO

Előadása végén *Dudits Dénes* kitért a technológiák eltérő megítélésére. Egy új nemesítési anyagot ugyanis különbözőképpen véleményez az egyesült államokbeli és az európai szabályozás. Az amerikai szerint nem érdekes, hogy azt miként, milyen technológiával állították elő, ott a növény vagy állat tulajdonságai alapján döntenek.

Ezzel szemben az Európai Unió a módszer, az előállítás technológiája alapján dönt az egyes termékekről, és ahogy az előadó fogalmazott, ezért van most bajban. Mert ugyan annak idején döntöttek a GMO-ról, de nem számoltak azzal, hogy jön egy új technológia, a genomszerkesztés, és át kell alakítani a szabályozást.

**EZ AZ ELLENTMONDÁS AZ ELŐADÓ SZERINT ÚGY LENNE FELOLDHATÓ, HA A GENOMSZERKESZTÉSES TECHNOLÓGIÁT ELFOGADNÁK IRÁNYÍTOTT MUTAGENEZISNEK.**

Mert mint mondta, a felsorolt példákat is azért említette, mert jó lenne elkerülni azt a zsákutcát, amibe a GMO-ügy került. – Ha ugyanis elfogadjuk, hogy a genomszerkesztésből származó szervezetek irányított mutánsok, akkor azokra érvényes kell, hogy legyen az Európai Uniónak a meghatározása, amelyik nem tekinti GMO-nak a mutagenezist, a sejtfúziót és a poliploidizációt.

*– Az Európai Akadémiák Tudományos Tanácsadó Testületének, az EASAC-nak a javaslata arra kéri az EU-szabályozás megfogalmazóit, hogy mondják ki: a genomszerkesztéssel létrehozott termékek, amennyiben nem tartalmaznak idegen fajtából származó DNS-t, nem esnek a genetikailag módosított szervezetekre, a GMO-kra vonatkozó szabályozás alá, hangsúlyozta végül Dudits Dénes.*