

Antropologie a moderní trendy v biologii

Jaroslav PETR
VÚŽV v.v.i.

petr@vuzv.cz

Biotechnologie

„Jakákoliv technologie využívající za specifickým účelem biologické systémy, živé organismy a jejich produkty k tvorbě nebo proměně produktů či procesů.“



OSN Smlouva o biodiverzitě

Pěstování zelí a jeho kysání – biotechnologie?



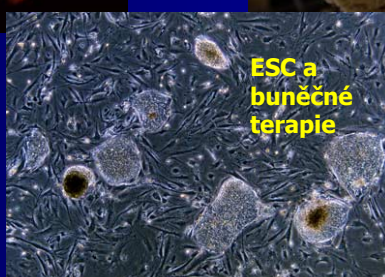
Biotechnologie

Těží z mnoha vědních oborů

- Genetika
- Molekulární biologie
- Buněčná biologie
- Mikrobiologie
- Biochemie
- Embryologie
- aj.



Biotechnologie



Přinášejí biotechnologie zásadní zvrát?



Otvíráme Pandořinu skříňku?



Změna rostlin a zvířat domestikací



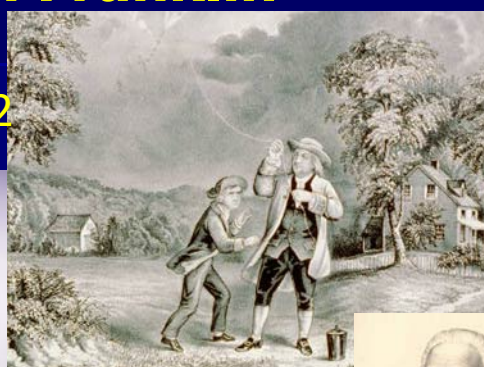
„Všechny zásadní objevy procházejí třemi etapami. Nejprve jsou zesměšňovány, následně zuřivě popírány, aby byly nakonec přijaty jako naprostá samozřejmost.“

Arthur Schopenhauer

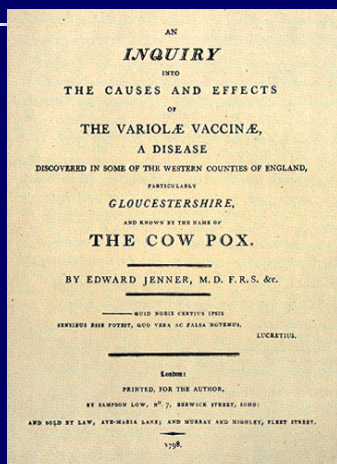


Benjamin Franklin

- Červen 1752



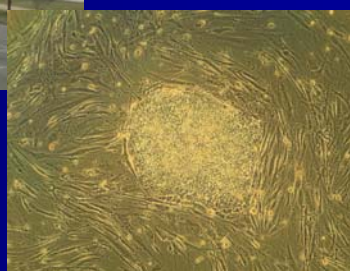
Edward Jenner - 1798



Od poklidných protestů...



... přes politické a právní kroky ...



... po násilí



Snahy omezit nebo zakázat biotechnologie

Zvláště silné v EU

- Genetické modifikace
- Klonování savců
- Embryonální kmenové buňky



Lidé poměřují rizika a přínosy



Významný přínos vyváží i velká rizika

■ ČR 2012

81 404 dopravních nehod

681 lidí usmrceno

2996 lidí zraněno těžce

22590 lidí zraněno lehce

Hmotné škody 5 mld. Kč



Pro pohodlí se vystavujeme smrtebným rizikům

- Všichni vědí o negativním vlivu pasivního životního stylu na lidské zdraví a přesto roste počet obézních a následně i počet lidí s cukrovkou druhého typu, rakovinou a kardiovaskulárními chorobami.



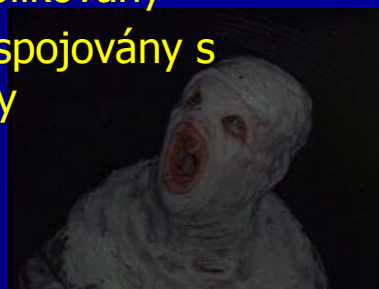
Významný přínos vyváží i neznámou míru rizika

Užívání mobilních telefonů se bouřlivě rozvíjelo i v době, kdy Světová zdravotnická organizace nebyla s to dát jednoznačnou záruku, že záření nemá negativní vliv na lidské zdraví.



Technologie mohou být snadno odmítnuty

- Není zjevný přínos pro konkrétního spotřebitele
- Jejich princip je komplikovaný
- V povědomí lidí jsou spojovány s negativními fenomény



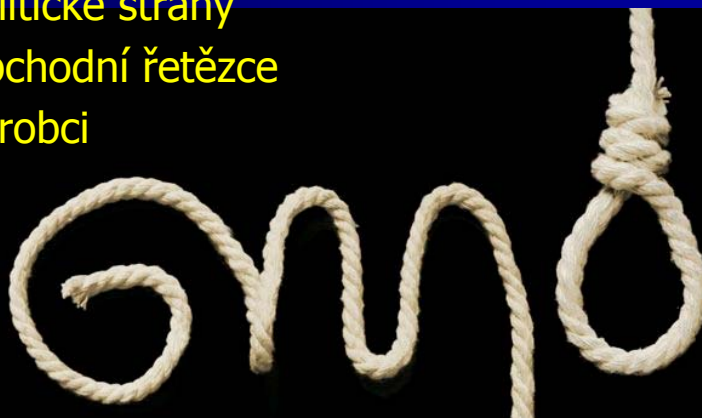
Veřejnost

- Snadno podléhá emocím
- Je přístupná jednoduchým „příběhům“, které jsou nabízeny všemi informačními kanály
- Náchylná uvěřit ve „spiknutí“
- Vyžaduje důkazy „neexistence rizika“



Zájmové skupiny

- Nevládní organizace
- Politické strany
- Obchodní řetězce
- Výrobci



Odborníci

- Odmítají se bavit s laiky
- Když už se baví, tak odmítají přizpůsobit komunikaci veřejnosti
- Vysvětlení principu technologie je složité
nezáživné
- Nemohou dokázat „neexistenci“



Vzniká černobílé vidění - nepodložené fakty

Přírodní vs. Umělé

- Přírodní je „dobré“
- Umělé je „špatné“

ALE

- Přírodní katastrofa
- Umělá ledvina



Ekologické zemědělství chrání přírodu



Ekologické zemědělství poškozují přírodu

Ekologičtí zemědělci
vyselektovali
ekologickým
postřikem obaleče
jablečného
rezistentního
k bakulovirům



Konvenční zemědělství ničí přírodu



Konvenční zemědělství chrání přírodu

- V EU vynaloženy velké prostředky na ekologické hospodaření

- Vědecká pozorování prokázala
 - ptáci upřednostňují intenzivně obhospodařované území
 - počty i druhová pestrost jsou vyšší



Co přinášejí a čím hrozí genetické modifikace?

Specifika genomů vyšších rostlin

- Rostliny mají v genomu i 25 Gbp (např. některé borovice)
- Geny mají v průměru 4 kbp
- Promotory 1 kbp
- Strukturní geny 3 kbp
- Počet genů může být vyšší než u obratlovců (pšenice asi 80 000 genů – pseudogeny)

Huseníček Thalův (*Arabidopsis thaliana*)



Jeden z nejmenších genomů
mezi vyššími rostlinami.
Kompletně „přečten“ - 25 498 genů

Nediferencované rostlinné pletivo - kalus



Lze pěstovat na živných půdách
Vyžadují auxiny
(např. kys. β indolylmásečná)
cytokininy
(např. kinetin)
Polyplodie, aneuploidie
Amplifikace i deamplifikace DNA

Z buněk vypěstované rostliny změnou přídavku růstových faktorů

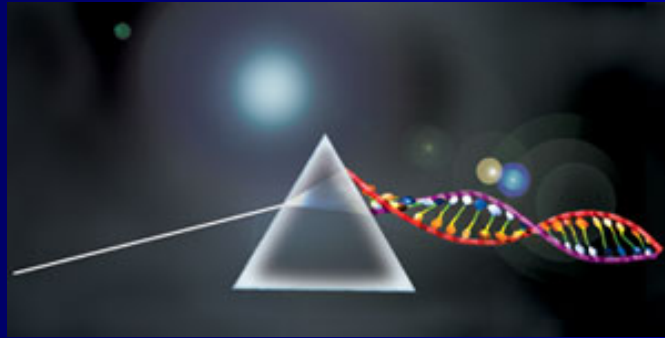


Somatoklonální variabilita

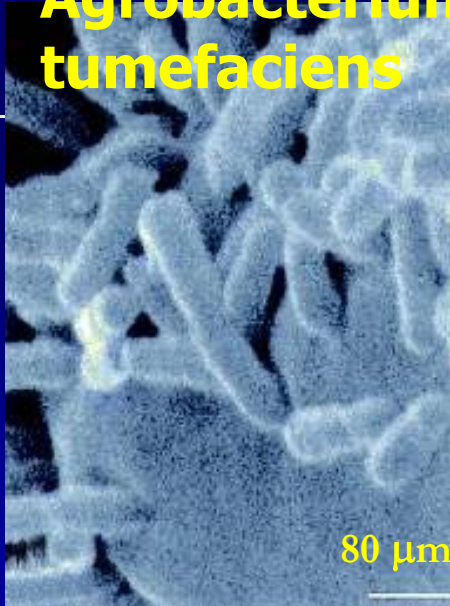
V důsledku genetických
změn při kultivaci mají
tyto rostliny jiné
vlastnosti než původní
rostlina. Dochází k
selekcí
nejživotaschopnějších
buněk.



Metody genetické modifikace



Agrobacterium tumefaciens



- Půdní bakterie
- Proniká do rostlin
- Vyvolává tvorbu nádorů
- Nádory rostou v kultuře bez auxinů a cytokininů

Nádor produkuje:

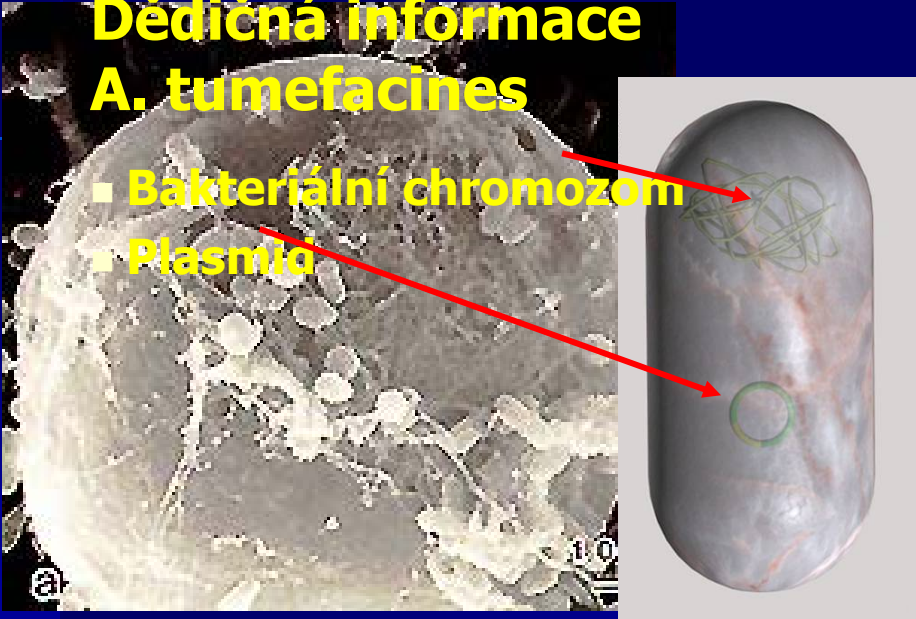
- Auxiny
- Cytokininy
- růst nádoru
- Opiny
- výživa agrobakterií



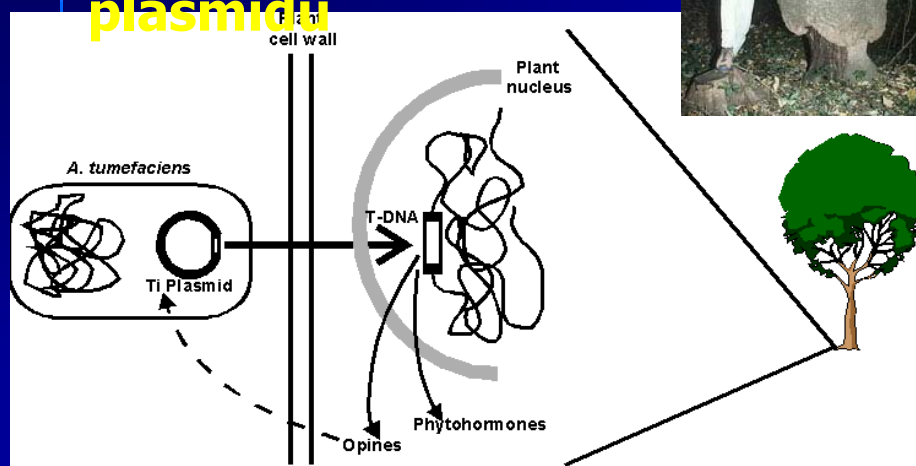
NC(=O)CC[C@@H](O)C[C@@H](O)C[C@@H](O)C[C@@H](O)CO manopin

Dědičná informace
A. tumefaciens

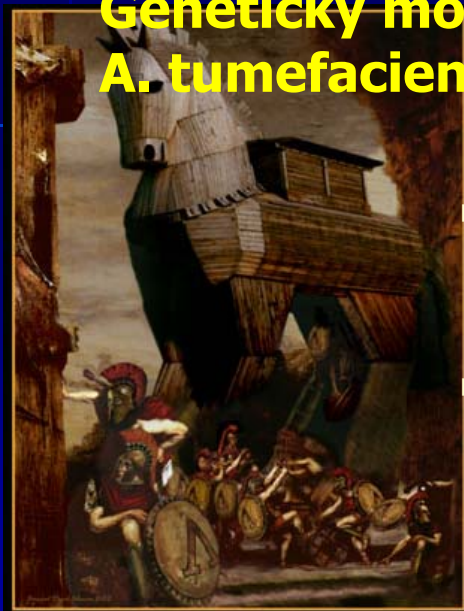
- Bakteriální chromozom
- Plasmid



Agrobacterium tumefaciens přenáší do jaderného genomu rostliny část plasmidu



Geneticky modifikované *A. tumefaciens*

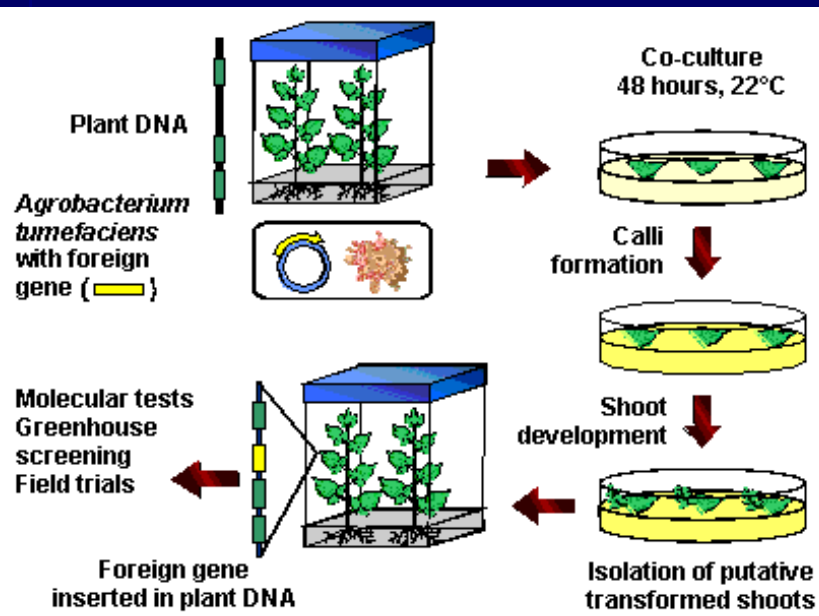
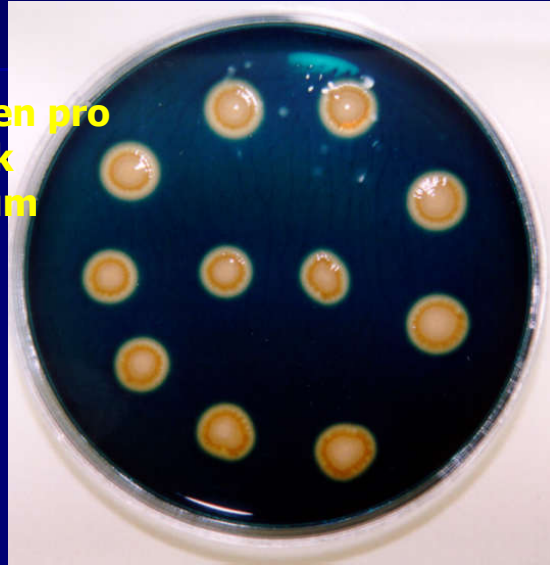


Funguje jako
„trojský kůň“

„Pašuje“ námi
„podvržené“
geny do genomu
rostlin

Pro selekci „povedených“ bakterií

- Selekční gen pro rezistenci k antibiotikům

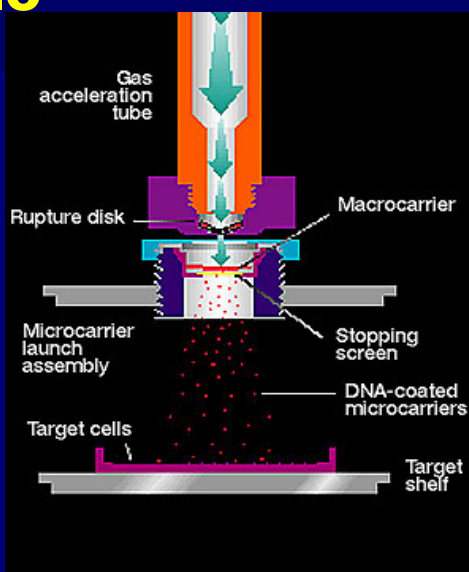
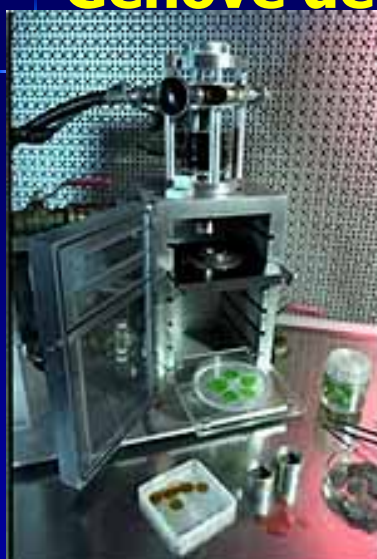


Pro selekci úspěšně transformovaných rostlinných buněk

- Selekční geny pro odolnost k antibiotikům
- Selekční geny pro odolnost k herbicidům
- Markerové geny – např. GFP



Genové dělo



Metody tvorby geneticky modifikovaných organismů

V zemích EU – techniky dány výčtem

- Přibývá neustále nových technik pro cílené zásahy do dědičné informace
- Příslušné orgány EU nestačí rozhodovat o nových technikách

- **Rozhodování**

Neřídí se výsledným fenotypem

Hlavní kritérium je reálná detekce

Verdikt expertů nemusí respektovat politici

Výsledek:

- Máme organismy s cíleně pozměněnou dědičnou informací a nevíme, jestli se na ně vztahuje přísná evropská legislativa pro GMO



K čemu jsou genetické modifikace rostlin?

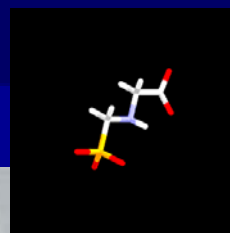
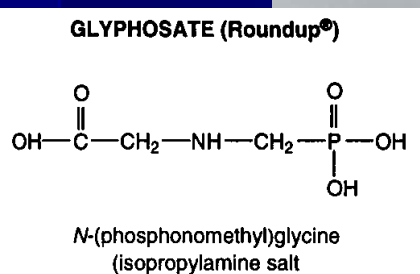
- Dnes pomáhají především pěstitelům
- Spotřebitelé nepřinášejí přímý efekt
- GM rostliny dalších generací – přínos spotřebitelé



Odolnost rostlin k herbicidům

Totální herbicid Roundup

Derivát glycinu

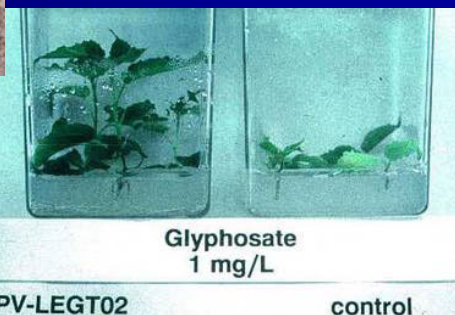


Člověku neškodí ani dávka z 0,5 ha

Ničí spolehlivě všechny vyšší rostliny



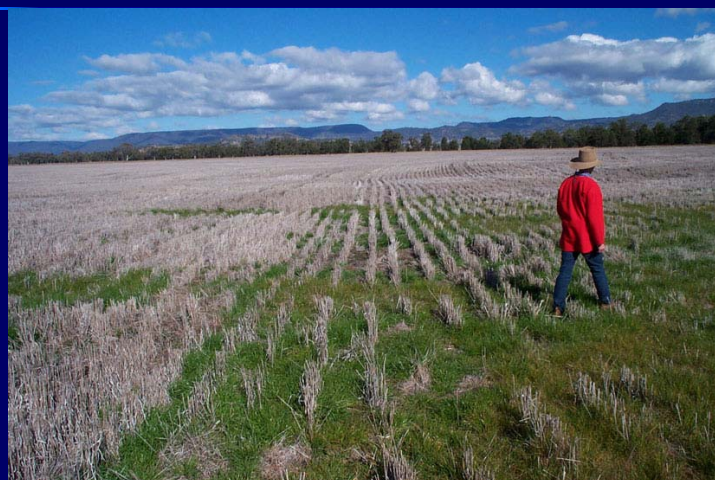
Gen pro enzym rozkládající glyfosát enzym, který mu odolá



Usnadňuje pěstování – boj s plevelem



Riziko vzniku rezistentních plevelů



Sója odolná vůči herbicidům

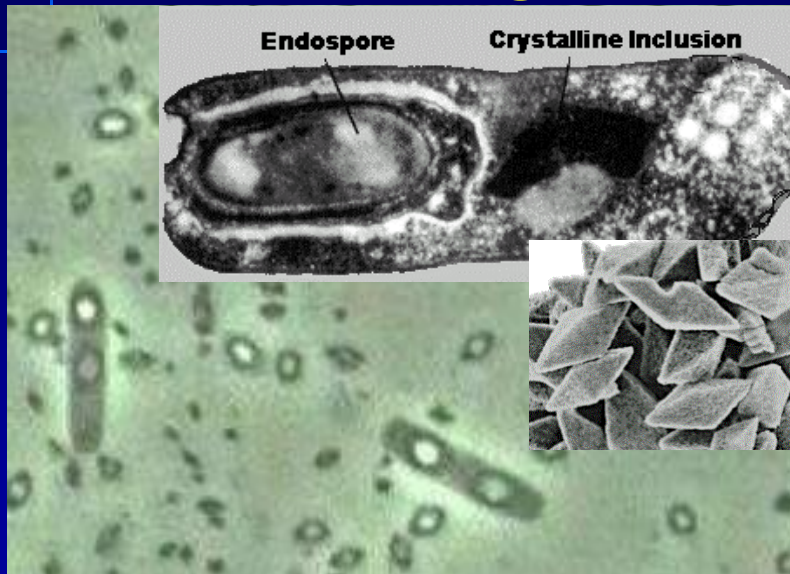


Více než 60% ploch na světě
90% v USA oseto RR sójou
U nás povolena pro dovoz a zpracování

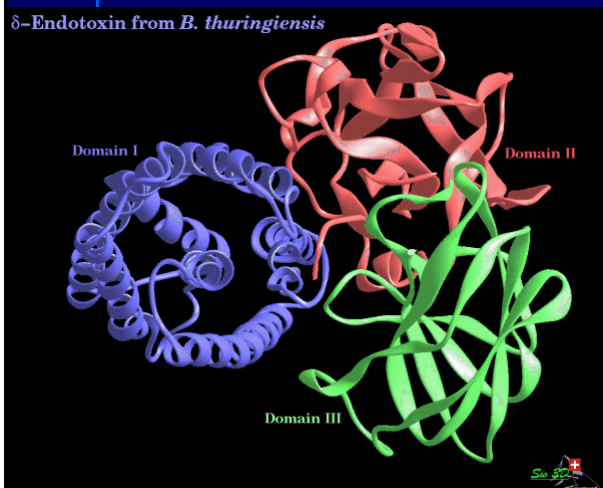
Rostliny odolné proti škůdcům



Bacillus thuringiensis



δ - endotoxin



- zásadité prostředí
- odštěpení obou konců
- vazba na receptor
- agregace
- perforace střeva

Specifický účinek na danou čeleď hmyzu.

**Používá se jako ekologický
insekticid
obvykle směs delta toxinů**



**Obaleč *Choristoneura fumiferana*
Kanada na balzámové jedli**

**KUKUŘICE
- rozmach škůdců**



Zavíječ kukuřičný v roce 1990



Poškození hmyzími škůdci vyvolává napadení plísněmi



- další škody
- mykotoxiny



Bt- kukuřice

odolná vůči hmyzím škůdcům



©GARY MUNKVOLD

Je povolena k pěstování v EU.
Po vstupu do EU se může pěstovat i v ČR.
V roce 2008 se jí zasel 8000 ha
V roce 2012 se jí zasel 3 050 ha

Polní pokusy - Itálie

**Konvenční
kukuřice**

Bt- kukuřice

Výnos vyšší až o 43%
Hladiny fumonisinů nižší 130krát

Rizika vzniku rezistentních škůdců

- Rezistence je dědičná
- Založena recesivně
- Musí se udržovat refugia, kde nebudou škůdci vystaveni selekčnímu tlaku
- Křížením vzniknou heterozygoti, kteří jsou na Bt citliví



Rezistence vzniká na všechny pesticidy

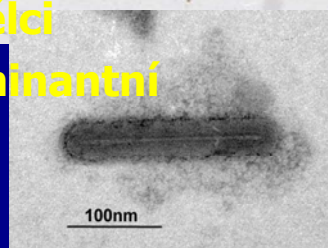
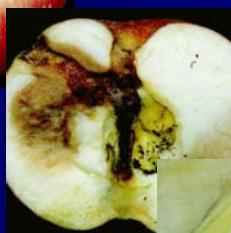
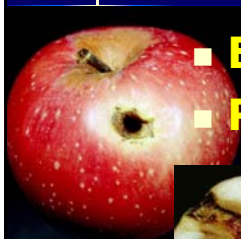
Rezistence na Bt-toxin

- Na polích u Bt-plodin – byla zjištěna výjimečně u zastaralých linií bavlníku
- Opakovaně vznikla po ekologických postřicích toxiny z *B. thuringiensis* zápředníček polní



Rezistence obaleče na bakuloviry

- Ekologičtí zemědělci
- Rezistence je dominantní



Brambor Amflora

2010 - schválen pro pěstování v EU

Antisense DNA ke genu GBSS

Narušení syntézy amylozy

Změna složení škrobu

Amylóza ve stopových množstvích

Většinu škrobu tvoří amylopektin

2012 – ukončeno pěstování v Evropě



Pro spotřebitele

- Pšenice E82
bez glutenu pro celiaky

- Soja Plenish
zvýšený obsah
kyseliny olejové

Typical Fatty Acid Composition

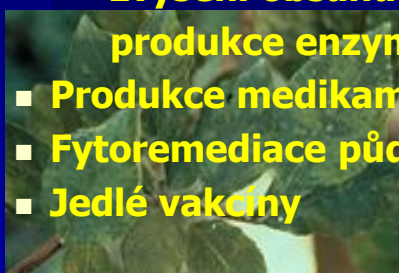
	C16:0 Palmitic Acid	C18:0 Stearic Acid	C18:1 Oleic Acid	C18:2 Linoleic Acid	C18:3 Linolenic Acid
Plenish* High Oleic Soybean Oil	6.5	4	75	7	2.5
Commodity Soybean Oil	11	4	22	55	8

Note: Fatty acid profiles may vary slightly.

Další genetické modifikace

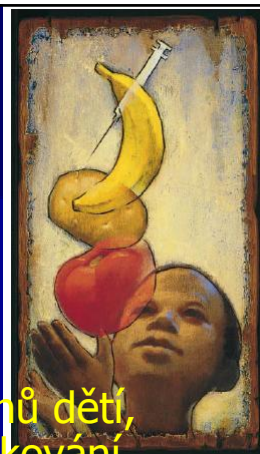
- Odolnost k virům
- Změna kvality produktů
změna v obsahu a kvalitě tuků
zvýšení obsahu vitamínů, AA
produkce enzymů – fytáza

- Produkce medikamentů
- Fytoremediace půdy
- Jedlé vakuoly



Jedlé vakcíny

- Ročně umírají 3 miliony dětí na choroby, před kterými spolehlivě chrání očkování
- Každoročně se rodí 30 milionů dětí, které nemají ani základní očkování
- Za 17 \$ lze zajistit očkování obrna, záškrť, TBC, černý kašel, spalničky, tetanus



Jedlé vakcíny

- Na některá místa nelze vakcíny dopravit
- Pěstování GM plodin s expresí antigenů
- Místní zdroj pro vakcinaci

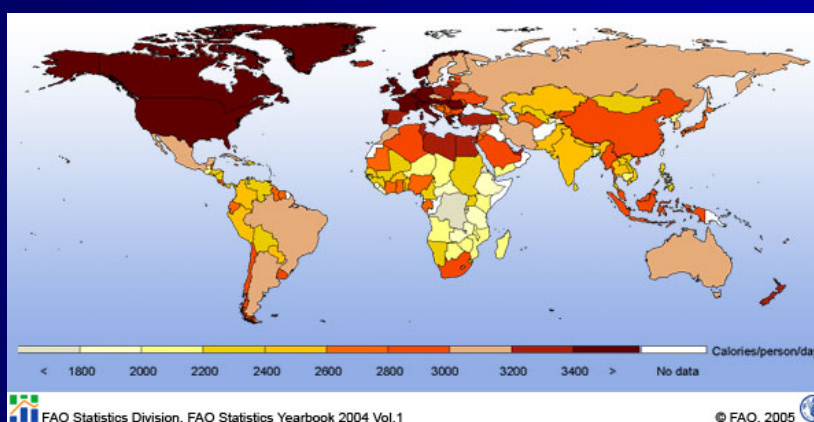


Boj s hladem a chudobou



- 1,2 miliardy lidí vydělává méně než 1 dolar denně
- 800 milionů trpí hladem
- 6 milionů dětí do 5 let umírá
= předškolní populace Japonska

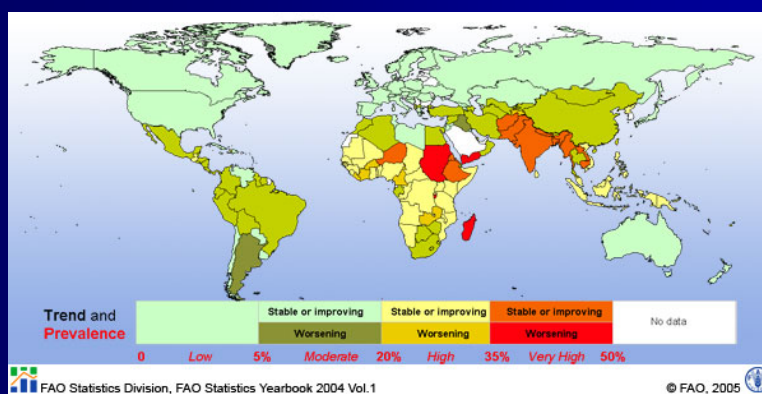
Příjem energie cal/den



Denní porce 1 100 milionů chronicky hladovějících lidí



Dětská podvýživa



Hlavní příčiny hladu

- Ozbrojené konflikty
- Klimatické změny
- AIDS



Růst populace

- Nezpomalil se
- Denně se rodí 250 000 dětí
- Při tomto tempu přibude 1 miliarda lidí za deset let
- Z toho
 - rozvinuté země **56 milionů**
 - nejchudší země světa **900 milionů**



Čerpání přírodních zdrojů - ničení biotopů



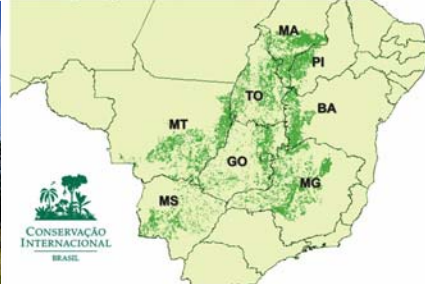
Cerrado



Área de distribuição original do Cerrado



Principais remanescentes de vegetação nativa de Cerrado em 2002



Důvody hladu v Africe

- Afričané potřebují k přežití výnos alespoň 1 tunu z hektaru.
- Potenciál afrických polí je 3 tuny na hektar.
- Tento potenciál se nedaří naplnit.
- Výnosy často klesají pod 1 tunu z hektaru

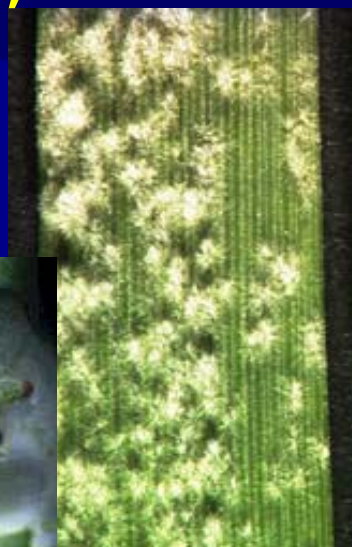


Nedostatek živin v půdě

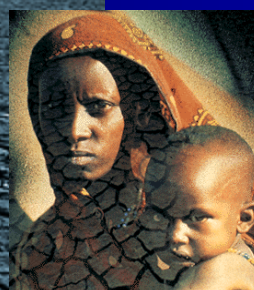


Hnojiva jsou mnohonásobně dražší než v Evropě.

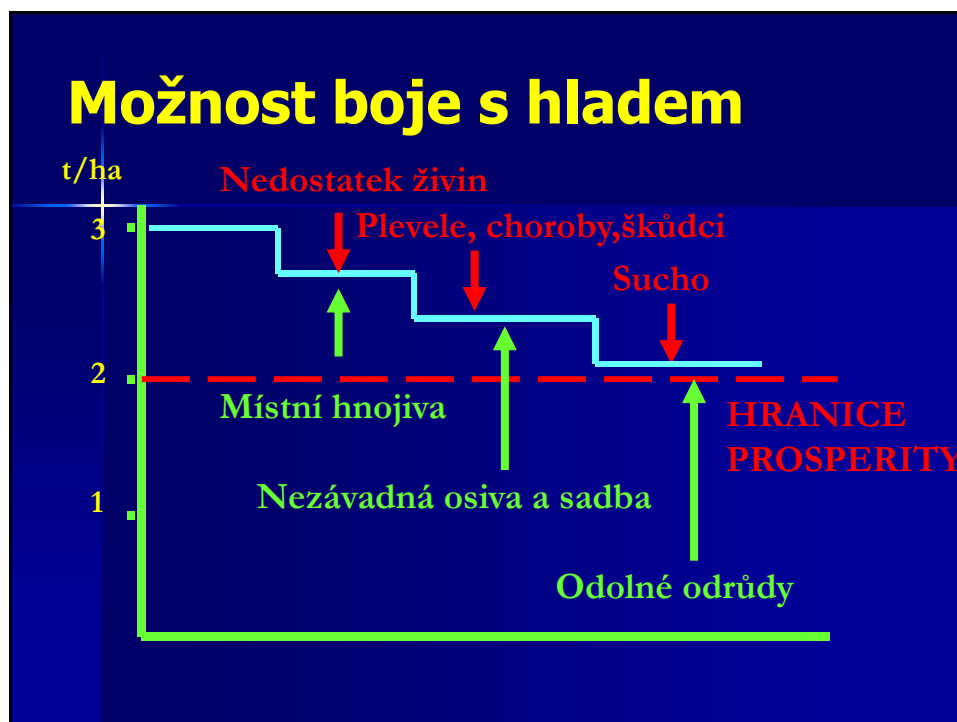
Plevely, choroby, škůdci



Sucho



Voda je v některých oblastech stejně drahá jako umělé hnojivo



Nové odrůdy

- Klasické šlechtění
pomalé
dostává se na hranice možnosti
- Genetické modifikace
rychlé
zatím nejsou jasné jeho limity



1998 - GM papája odolná k viru
pěstuje se na Havaji a v JV Asii



Rezistence k suchu

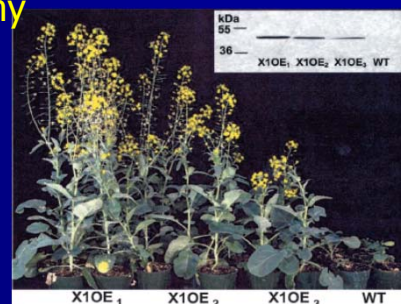
- Zvýšení exprese fytohormonu cytokininu brání shazování listů za sucha
- Rostliny snášejí dlouhodobě sucho
- Vystačí s 30% vody při 12% redukci výnosu
- Vyvíjejí se k suchu rezistentní linie

rajčata
rýže
pšenice



Rezistence k zasolení půd

- Řepka - exprese genu AtNHX1 z huseníčku
Transport Na iontů do vakuol až do 6% sušiny
- Vyloučí Na z cytoplasmy
- Udrží osmotický tlak pro příjem vody
- Výnos semen je ovlivněn jen nepatrně



Boj s podvýživou „zlatá rýže“



Avitaminóza A

- 250 milionů lidí

- Ročně 200 tisíc dětí oslepne
- 2,5 milionu lidí zemře
- 40 gramů „zlaté rýže“ denně pokryje potřebu
- Stravu obohatit o tuky
- Je k dispozici 10 let
- **Stále se nepěstuje**

Maniok



- Základ výživy - 600 mil. lidí
- V Africe -250 milionů lidí (40% obyvatel)
- Odolnost k virům
- ročně ztráty 45 milionů tun
- Gen pro metabolismus škrobu z E. coli
- 2,5krát větší kořeny
- 2krát více kořenů

GM plodiny v Africe



AFRIKA - SUCHO OD ROKU 2001



Opakovaná katastrofální neúroda



HLAD OHROZIL NA ŽIVOTĚ 20 – 40 MILIONŮ LIDÍ



Miliony lidí oslabených hladem zemřou na infekční choroby



Nejvíce jsou
ohroženy

- Děti
- Matky
- Staří lidé

Dovezená potravinová pomoc obsahuje GM

kukuřici



Zambijský president Mwanawasa: „GM food is poison!“



**Distribuce potravinové
pomoci zastavena**

Důvody odmítání GM kukuřice:

- Farmáři vysejí zrno z potravinové pomoci
- Začne pěstování GM plodin
- Kontaminace exportních produktů „geny“
- Kontaminace medů pylem
- EU přestane dovážet
- Odvolání na stanovisko BMA

Vliv GM rostlin na životní prostředí



Bt kukuřice vs. monarch stěhovavý



- V laboratoři krmeny housenky monarcha klejichou poprášenou pylem z Bt kukuřice
- Housenky masově hynuly

Vyhubí Bt kukuřice motýla?

Výsledky experimentů nebyly potvrzeny



- Housenky se vyhýbají plevelům poprášeným pylem
- Šlo o odrůdu s vysokým množstvím Bt v pylu
- Tato odrůda se nikdy nepěstovala na polích.

Bt kukuřice mu svědčí
– klesá spotřeba insekticidů.

Ohrožuje ho kácení lesů v Mexiku.

Bt plodiny a chrostíci

- **Bt-kukuřice**
- Z polí se uvolňuje Bt-toxin do potoků
- V laboratoři se ve vodě s Bt-toxinem nedaří larvám chrostíků
- Znamená to, že v okolí polí s Bt-kukuřicí vymírají chrostíci?
- Jsou chrostíci v potocích u kukuřičných polí?



Bt-plodiny a včely

- Povinně se testuje, zda nektar či pyl Bt-plodin neškodí včelám
- Nebyl prokázán negativní vliv
- Bt-proteiny nejsou cíleny na blanokřídlý hmyz
- Pozitivní vliv na potlačení zavijede voskového



Bt-plodiny vs. parasitoidi a predátoři

- Parasitoidů a hmyzích predátorů může být v porostech Bt-plodin méně, protože je tam méně hmyzích škůdců
- Není však přímý vliv na četnost a druhovou pestrost parasitoidů a hmyzích predátorů



Bt-plodiny vs. půdní mikroorganismy

Mikroorganismy

- Těžké posoudit – neznáme je
- Mění se v závislosti na mnoha faktorech

Půda, počasí, plodina, odrůda, agrotechnika, sezóna aj.

- Tyto výkyvy jsou větší než změny vyvolané pěstováním Bt-plodiny



Bt-plodiny vs. půdní makroorganismy

Makroorganismy

Např. hlístice, stinky, chvostokoci, roztoči, kroužkovci

Jejich četnost a druhové složení se s pěstováním Bt-plodin mění

Jiné faktory ale způsobují ještě větší změny – např. osevnické postupy, změny odrůdového složení aj.



Britské studie biodiverzity



Vliv pěstebních postupů GM plodin odolných k herbicidům na biodiverzitu polí.

GM řepa



- Méně plevelů
- Méně včel
- Méně semen
- Méně semenožravých brouků
- Méně ptactva
- Více chvostoskoků a jejich predátorů

GM řepka



- Méně plevelů
- Méně včel
- Méně motýlů
- Méně semen plevelů
- Méně semenožravých brouků
- Méně ptactva
- Více chvostoskoků a jejich predátorů

GM kukuřice



- Ve všem lepší než tradiční kukuřice
- Tradiční kukuřice postihuje biodiverzitu mnohem více než jakákoli jiná plodina
- Platí i po zákazu atrazinu

GM řepa



S jinou agrotechnikou a jinou organizací porostů.

Výrazně vyšší biodiverzita rostlin i živočichů na poli a v okolí než u porostů konvenční řepy.

Klasické plodiny už vytlačily planě rostoucí druhy

- Vojtěška – Švýcarsko
- Rýže - Tajwan



Oryza rufipogon



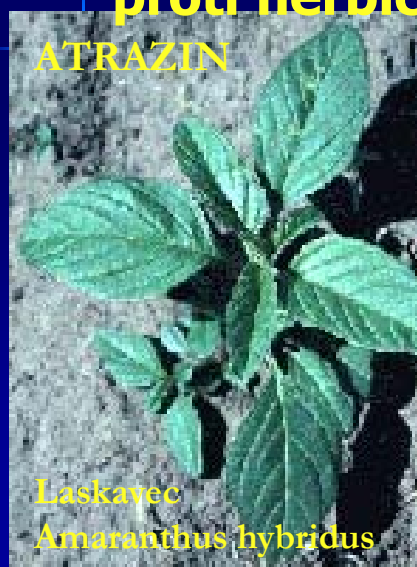
Medicago falcata

Klasické plodiny už vytlačily planě rostoucí druhy

- Vojtěška – Švýcarsko
- Rýže - Tajwan



Riziko vzniku rezistence proti herbicidům u plevelů



Vznikají spontánně
např. železniční náspy

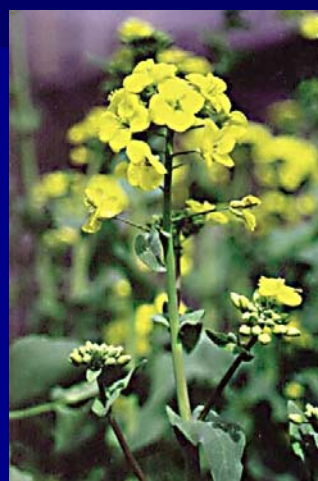
Vznik mezidruhových hybridů



Laskavce

Vznikají spontánně
Je to přirozený mechanismus
vzniku nových druhů.

Řepka a planá brukev



Výskyt hybridů ve Velké Británii

Celkem 50 000 hybridů



Brukev hojná u řek



Často v těsném sousedství
polí s řepkou

Hybridizace a introgrese



- Dochází k přenosu pylu?
- Dochází ke křížení?
- Vznikají životaschopné hybridy?
- Vytváří hybrid stabilní populaci?
- Kříží se hybridy s původním druhem?
- Kříží se opakovaně?
- **Přináší nový gen selekční výhodu?**

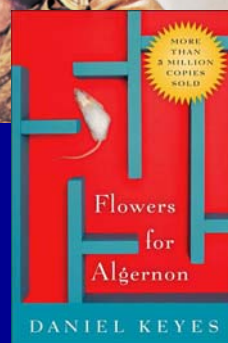
Genetické modifikace živočichů



Od Algernon ... (1959)



Daniel Keyes



...k Doogie (1999)

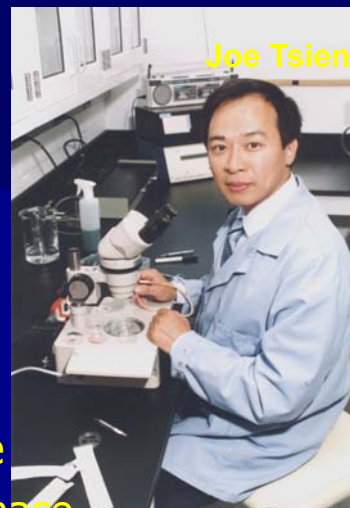


Hobbie-J (2009)

Pamatuje si 3x déle



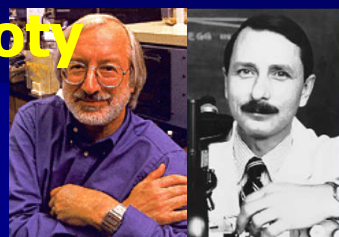
- Činnost genu NR2B v mozku s věkem slábne
- Zásah do dědičné informace posílením funkce genu NR2B v mozku
- Omlazení mozku



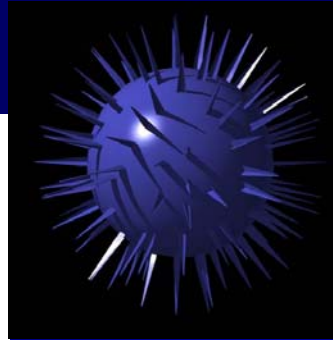
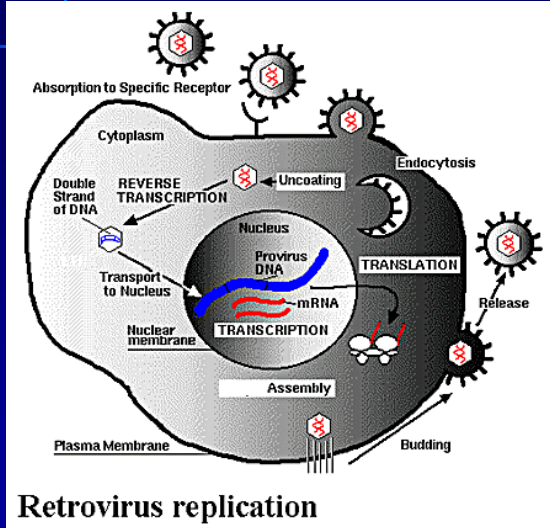


Metody tvorby geneticky modifikovaných savců

Mikroinjekce do prvojádra zygoty

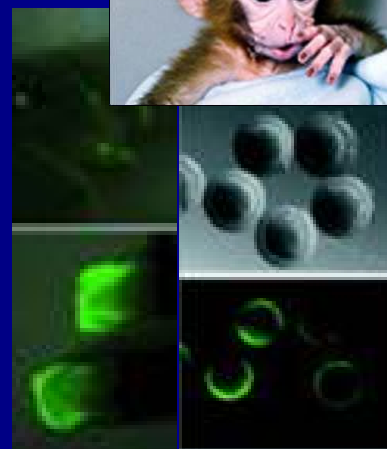


Retroviry



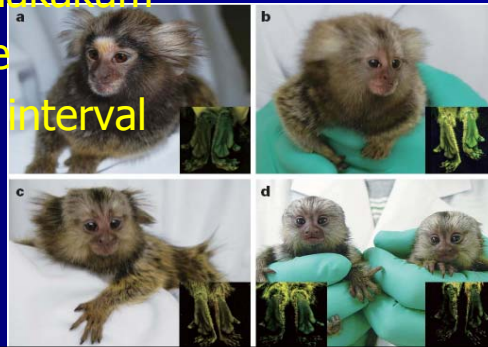
Retrovirus replication

Mikroinjekce retrovirového vektoru do zralého oocyty



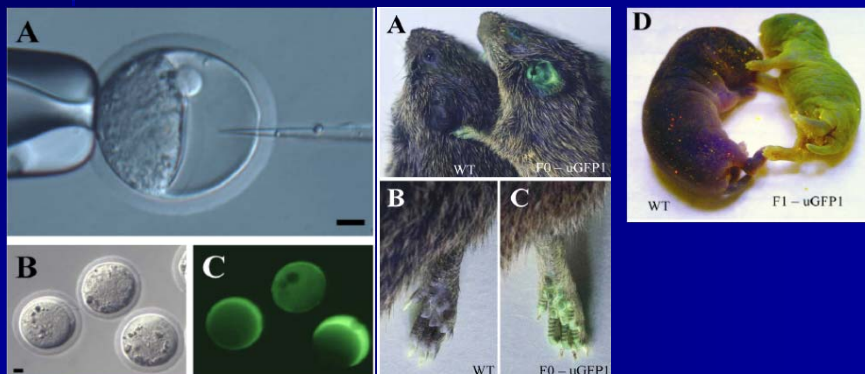
Mikroinjekce retrovirového vektoru do embrya

- Kosman bělovousý (2009)
Model pro lidské choroby
- Výhody oproti makakům
vyšší reprodukce
kratší generační interval

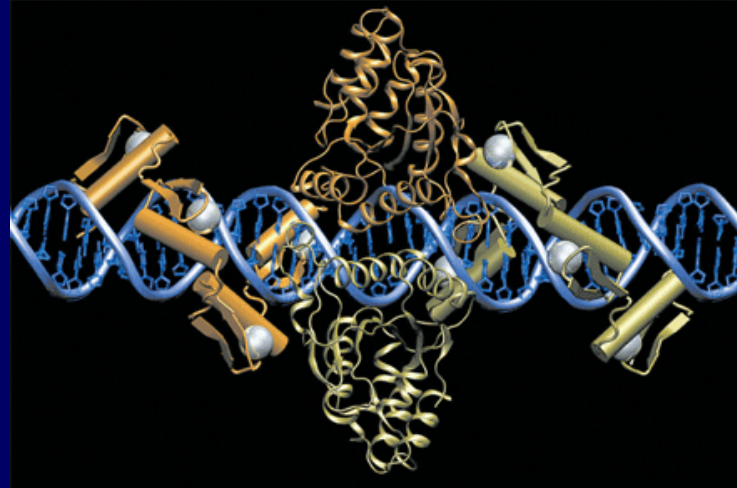


Lentivirové vektory

- Hraboš préríjní



Zinc finger nukleázy



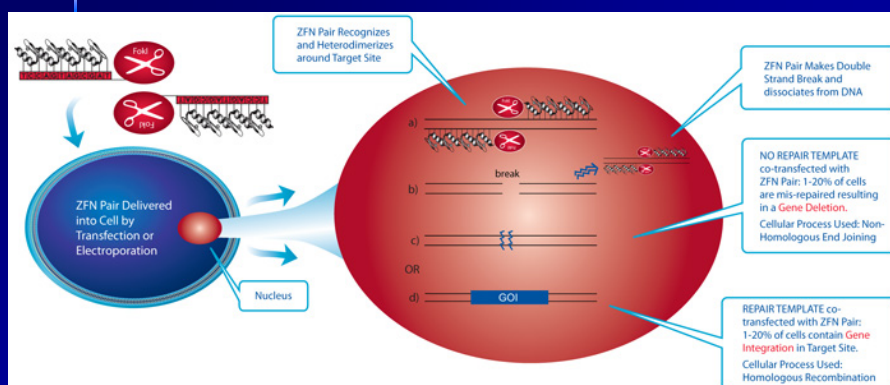
Zinc finger nukleázy



- „Zinkové prsty“ - zhruba 30 AA držných zinkovým iontem
- Objeveny v roce 1986
- Součást transkripčních faktorů
- Určují místo vazby na DNA
 - tři báze v DNA na jeden „prst“

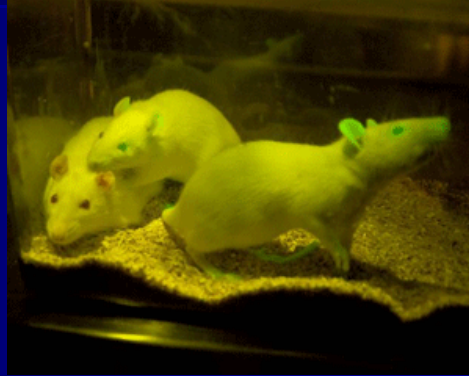
- **Kombinace tří „zinkových prstů“ stačí na určení specifického místa v genomu**
- **Navedou na něj nukleázu**
- **Ta dimeruje a štípně DNA**
- **Nastartují reparační procesy**
- **Homologní rekombinací se zabuduje dodaná sekvence – frekvence homologní rekombinace roste na 1:1000**

Zinc finger - nukleázy



Zinc finger - nukleázy

- Mikroinjekce do embrya
- Lze provést cílený knockout
- Lze dosáhnout homologní rekombinace



TALEN

Bakterie *Xanthomonas* ovládá geny hostitelské rostliny speciálními bílkovinami - transkripčními aktivátory. Ty se vážou na zcela určité sekvence v genomu hostitelské rostliny.



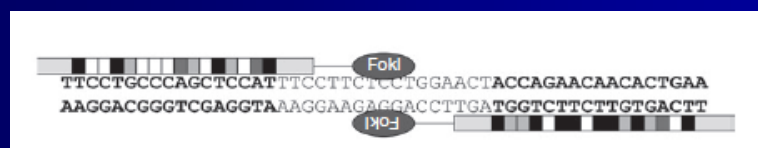
TALEN

- Pro určení specifické sekvence v modifikovaném organismu se vytváří speciální protein transcription-activator like (TAL) effector protein konstruovaný podle proteinů (transkripčních aktivátorů) bakterie *Xanthomonas*



TALENy

- Pro štěpení DNA se na Tal efektorový protein naváže nukleáza Fok1



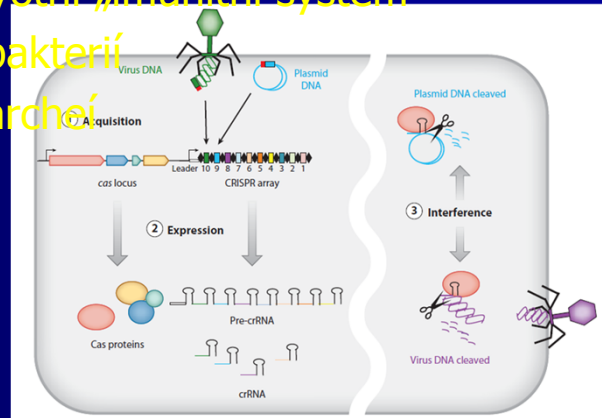
- Při injekci mRNA do cytoplasmy zygoty účinnost knockoutu kolem 75 %

System CRISPR-Cas

Prokaryotní „imunitní systém“

40 % bakterií

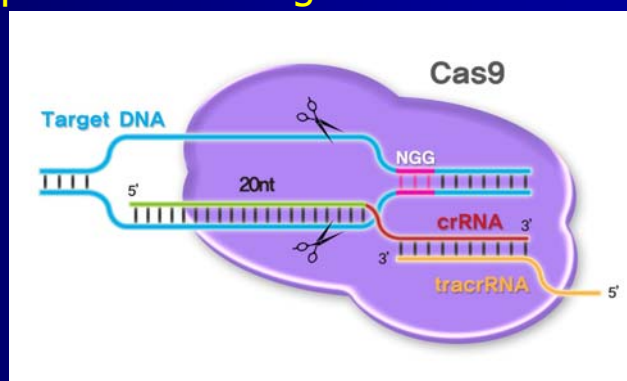
90 % archeí



CRISPR-Cas system

System CRISPR-Cas

- Synteticky připravené crRNA
- Cíl na specifické místo genomu



System CRISPR-Cas

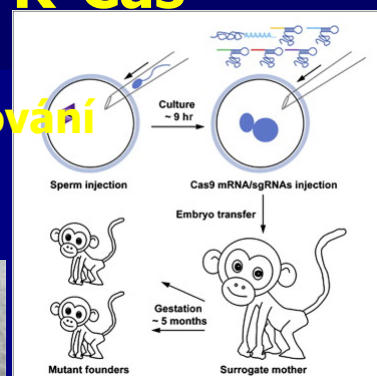
- KO i homologní rekombinace
- RNA – snazší příprava a nižší cena
- Lze připravit crRNA pro libovolné sekvence
- Vysoce specifické – rozliší rozdíl i v jediné bazi
- Vysoce účinné – 90 % na obou chromozomech několik zásahů najednou



System CRISPR-Cas

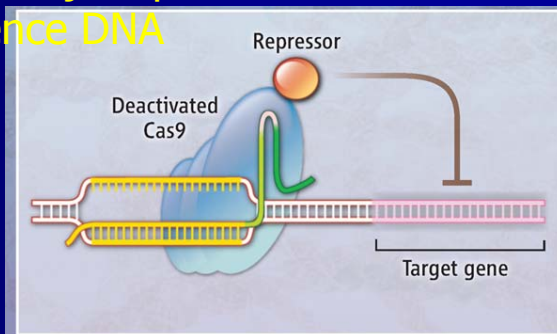
Simultánní vyblokování

- 2 genů
- i homozygotně



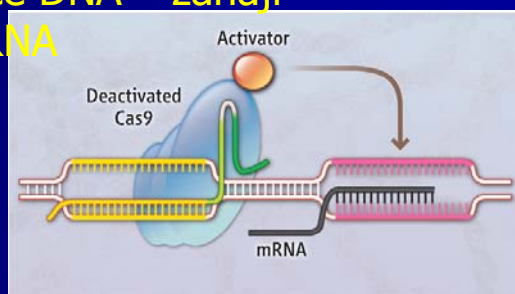
CRISPR-Cas aktivace a suprese genů

- Nefunkční Cas9 – neštípe DNA, ale slouží jako nosič pro represor
- crRNA nasměruje represor do blízkosti cílové sekvence DNA



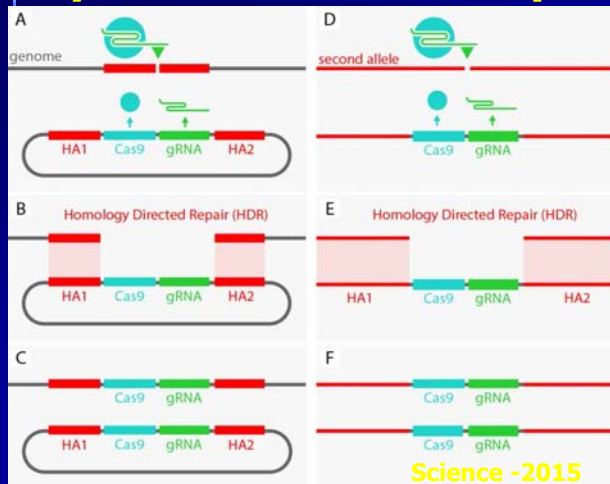
CRISPR-Cas aktivace a suprese genů

- Nefunkční Cas9 – neštípe DNA, ale slouží jako nosič pro aktivátor
- crRNA nasměruje aktivátor do blízkosti cílové sekvence DNA – zahájí transkripci mRNA



Mutagenní řetězová reakce MCR

- Vyblokování druhé alely z 97 %



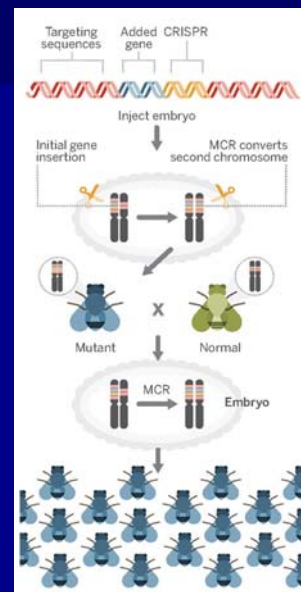
Ethan Bier
UC San Diego



Valentino Gantz

Mutagenní řetězová reakce MCR

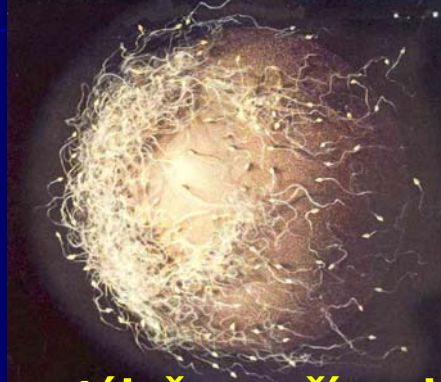
- Při křížení s nemutovanými homozygoty mají kříženci vyblokované oba geny (nad 95 %)
- Pokud je nositelem mutace 1% jedinců, převládnou nositelé mutace v populaci za 10 generací
- Otázka biologické bezpečnosti



Spermie jako vektor



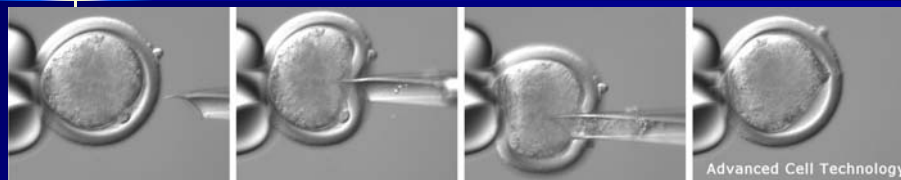
IVF spermatem s bakteriální kontaminací



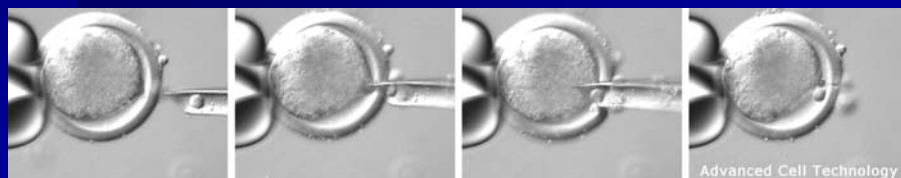
- Experimentálně u myši prokázána přítomnost bakteriálních sekvencí v genomu

Přenos jader

Enukleace oocyty



Přenos somatické buňky pod zonu cytoplastu





Ian Wilmut
Roslin Institute
Skotsko



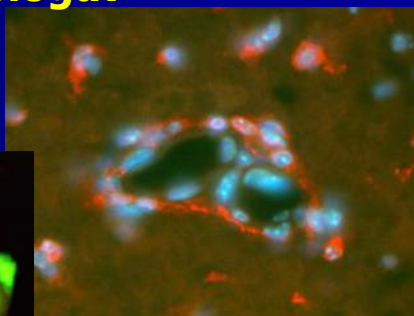
Ovce Dolly

Klony domácích zvířat



K čemu jsou GM živočichové?

Pouhý „kapric“ biologů?



Poznání funkce genů



Živé bioreaktory



Klony s genem pro lidský antitrypsin
léčba rozedmy plic

Živé bioreaktory



Srážlivý faktor VIII a IX
léčba hemofilie

První lék z „živých bioreaktorů“



- **Atryn**
GTC Biotherapeutics
- **Povolen v EU 2006**
v USA 2009
- **Antitrombin**
Potlačení nežádoucí
srážlivosti krve,
např. při operacích

Nové materiály



BioSteel

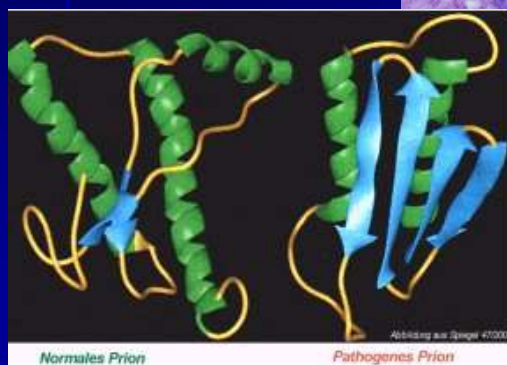
Nexia Bioscience
Kanada



Genetický knockaut



Genový knockaut — boj s prionovými chorobami





Skot rezistentní k BSE

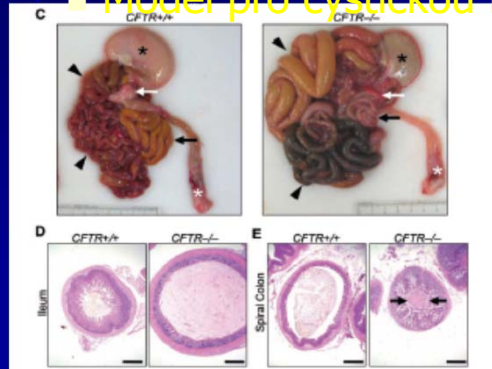
Hematech – USA
 RIKEN – Japonsko
 Texas A&M University

- 8 holštýnských býků
- Genový KO genu pro prionový protein

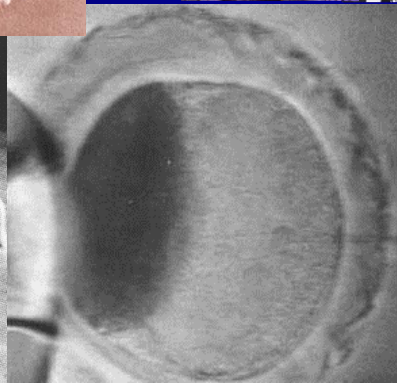
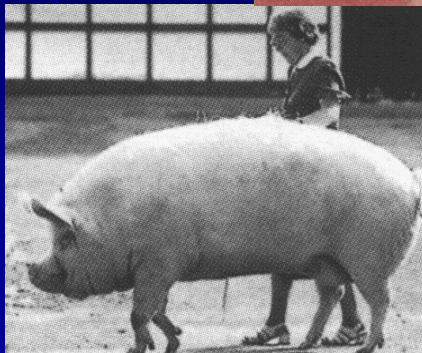
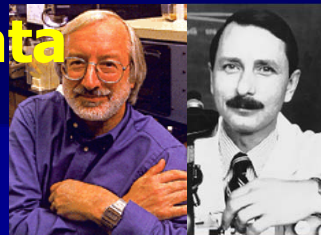


Zvířecí modely lidských dědičných chorob

- KO genu pro CFTR
- Model pro cystickou fibrózu



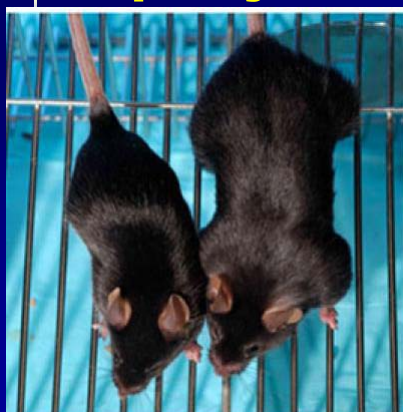
Beltsvillská prasata



Knokaut genu pro myostatin



Blok myostatínu a zvýšená exprese follistatínu se doplňují



GM pstruh duhový

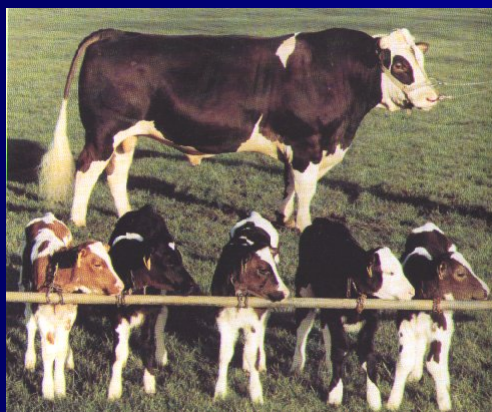
- Blok genu pro myostatin
- Funguje i u dalších obratlovců



Změna složení mléka prasnic

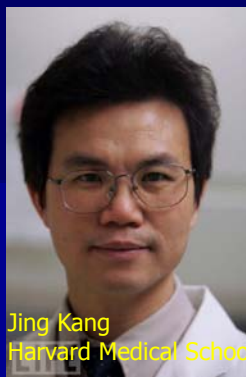


Herman – Pharming (NL)



Prase s „omega-3“ ve svazech

- Do genomu prasete vnesen gen fat-1 z hlístice *Caenorhabditis elegans*
- Enzym konvertuje omega-6 polynenasycené mastné kyseliny na „omega-3“
- Se stejným genem byly modifikován i kur a ryby

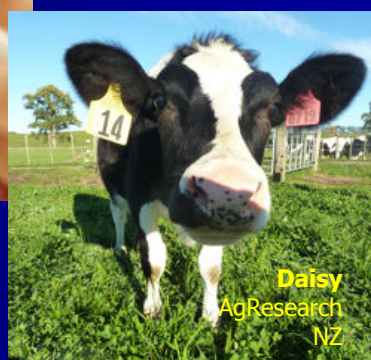


Jing Kang
Harvard Medical School



Hypoalergenní mléko

- Chybí alergenní beta-laktoglobulin



Enviropig™



Xenotransplantace zvířecí orgány lidem

- Není dost orgánů pro transplantace



Pro

Proti

- Prasata je dost
- Jejich orgány mají vhodnou velikost
- Lze získat prasata bez patogenů
- Imunitní bariéra
- Hyperakutní rejekce – rychlé zničení orgánu
- Endogenní retroviry – riziko „děděných“ virů



Prasata pro xenotransplantace

- Vyblokování prasečích genů (alfa-GAL)
- Vnesení lidských genů (hDAF, CD46)



Ptáci



Problémy – zvláštnosti reprodukce ptáků

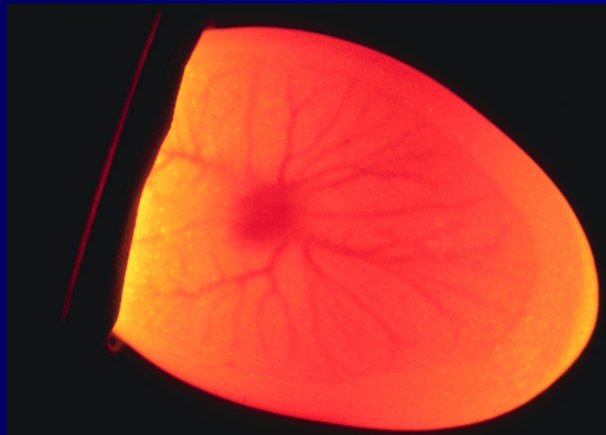


Za 24 hodin po ovulaci – 60 000 buněk

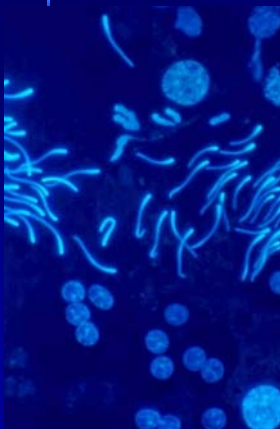
Metody tvorby geneticky modifikovaných ptáků

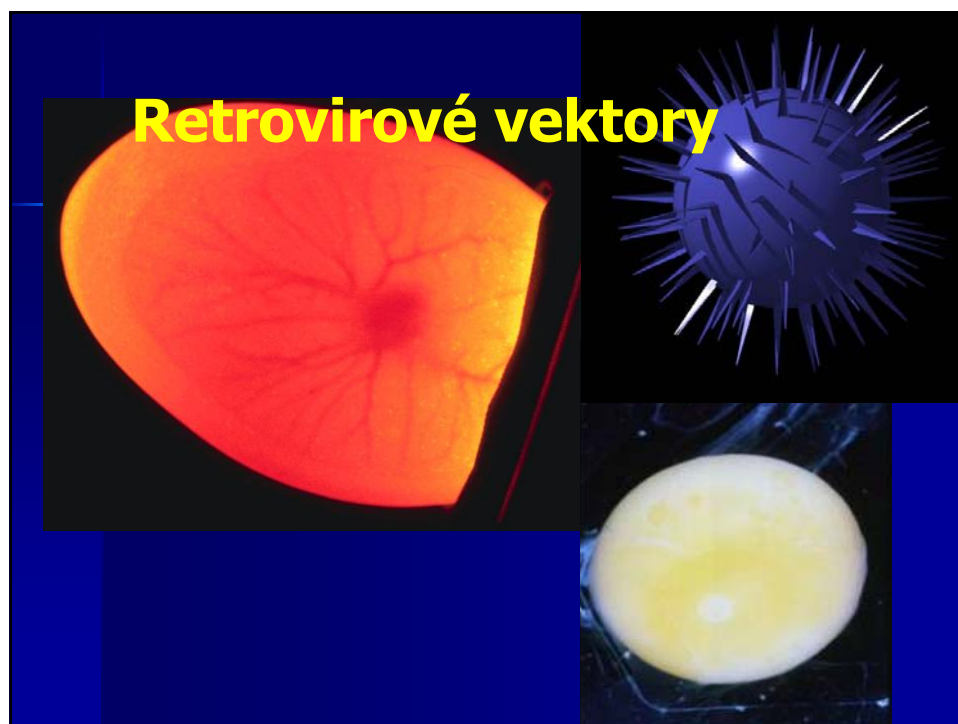


Transplantace PGC



Transplantace spermatogonií





Odolnost k chorobám



„Zlatá vejce“



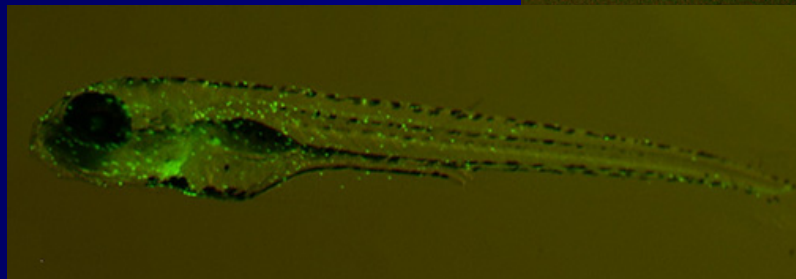
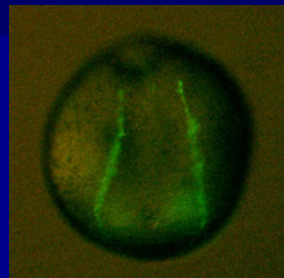
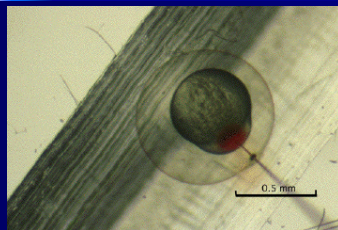
0,1 až 1 gram bílkoviny/ vejce
250 vajec/ rok
50 000 SF / 1 gram bílkoviny



Ryby



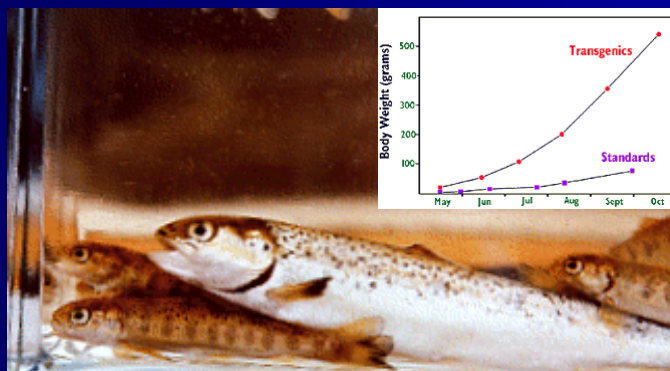
Mikroinjekce



Transplantace PGC



Indukce růstu přenosem genu pro GH „all fish gene“



GM losos AquAdvantage



William Muir Pardue University



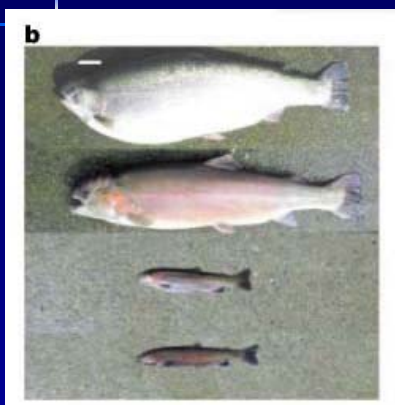
- Pokusy v laboratoři
- Počítačové modely
- Naznačují možnost úspěchu GM ryb po úniku do volné přírody

GM ryby – gen pro GH

- Snížená životnost plůdku
- Zvýšená odolnost ke kanibalismu
- Lepší trávení bílkovin
- Jsou kompetitivnější
- Rychlost nejasná - menší (1/2) i větší (3x)
- Dříve pohlavně dospívají
- Pravděpodobně i úspěšnější při tření
- Vyšší produkce pohlavních buněk



GM ryby vs. divoké



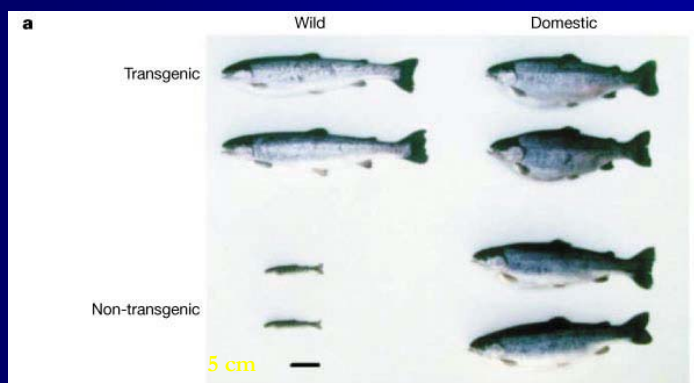
GM samice – 14,2 kg

GM samec – 8,2 kg

Divoká samice – 0,171 kg

Divoký samec – 0,220 kg

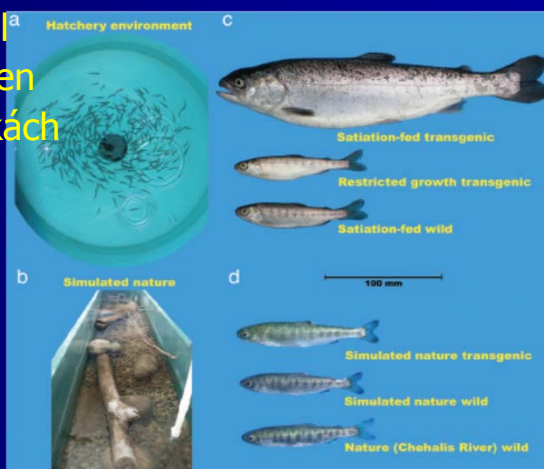
U kulturních linií není výrazný efekt GM



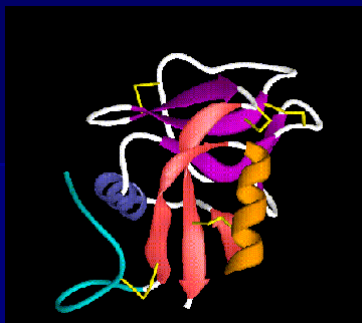
Vliv odchovu na růst GM losos kisuča

- Růstový potenciál GM ryb se uplatní jen v umělých podmínkách
délka GM ryby 3násobek

- V přírodních podmínkách GM větší o 20%



AFP



Geneticky modifikované akvarijní ryby

GLOFISH
GFP – danio pružované



GM potkani - GFP

2011

- ČIŽP ujistila výskyt GFP+ potkanů v zájmových chovech a jejich export



Foto Dr. K. Angelis

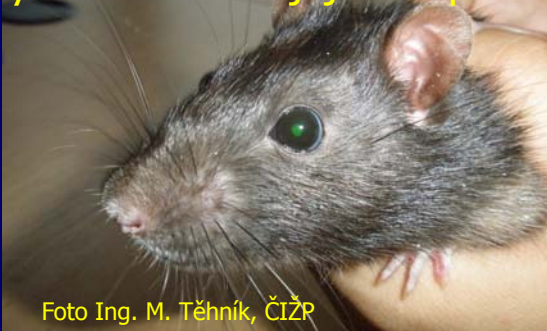


Foto Ing. M. Těhník, ČIŽP

Máme se bát GM živočichů?

- Domestikace změnila zvířata k nepoznání

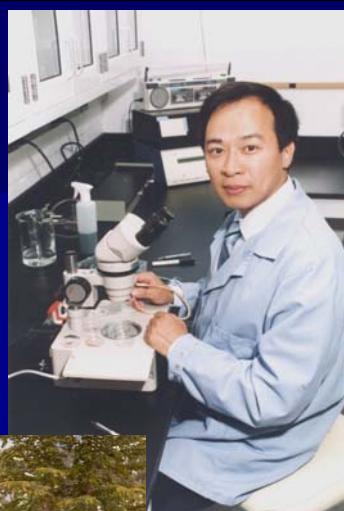


Máme se bát GM živočichů?



- Genetické modifikace - pokračování procesu, který začal před 10 000 roky

Chytrí psi



Chytrí psi



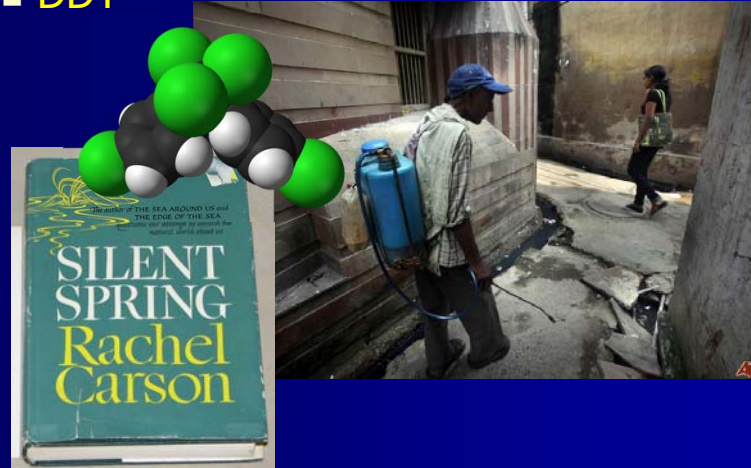
Zatím je to jen scifi, ale jednou ...

Geneticky modifikovaní komáři



Postřiky insekticidy

■ DDT



Eliminace komárů-přenašečů genetikou modifikací

- Vypuštění sterilních jedinců
- Vypouštění nositelů dominantní letální vlohy
- Rozšíření vloh pro rezistenci komárů k původci choroby
- Nákaza GM symbiontem



Aedes aegypti OX513A



- Larvy hynou, pokud nejsou odchovány ve vodě s tetracyklinem
- Odchov velkého počtu samců
- Vypuštění do přírody
- Potomstvo zplozené s divokými samicemi hyne v larválním stádiu
- Expresa červeného fluoreskujícího proteinu

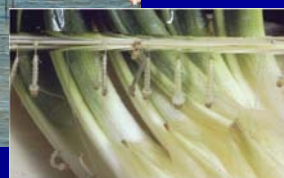
Další modifikace

Létající injekce

- GM komár by při bodnutí vnesl do těla člověka nebo zvířete vakcínu proti infekční chorobě



Vliv na necílové organismy





Komáři jako opylovači

- Podle některých odborníků plní komáři významnou roli opylovačů
- Pokud zmizí, poškodí to flóru
- „Zloději nektaru“ ?



Vemeník
(*Platanthera obtusata*)


Opylení
Komár jarní (*Ochlerotatus communis*)



**Vypuštění
do volné přírody**

Oxitex
Aedes aegypti OX513A

Kajmanské ostrovy
Malajsie
Mexiko





GMO - free

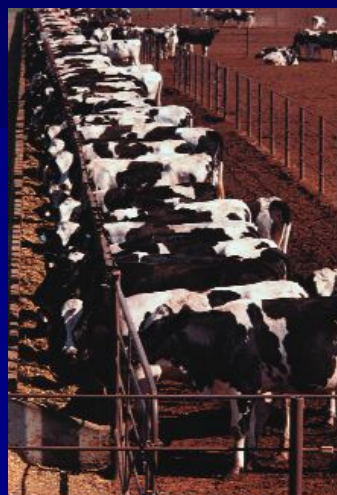
1998 – obchodní řetězec Iceland (Flintshire)
zákaz GMO v prodávaných potravinách



1999 – „samozákazů“ velkých obchodních řetězců
Sainsbury's – UK
Carrefour – Francie
Migros – Švýcarsko
Efelunga – Itálie
Superquin – Irsko



Ve druhé vlně



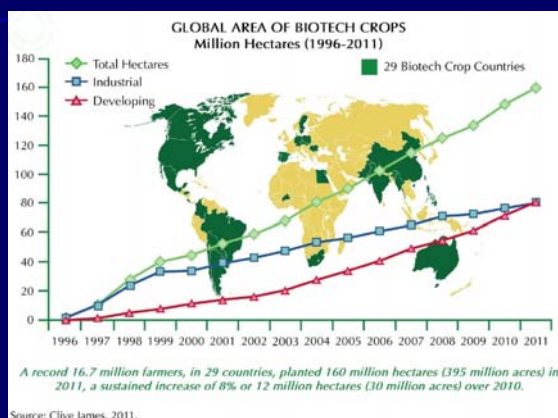
– „samozákaz“ potravin z produktů
zvířat krmených GMO

Není to reakce na obavy zákazníků



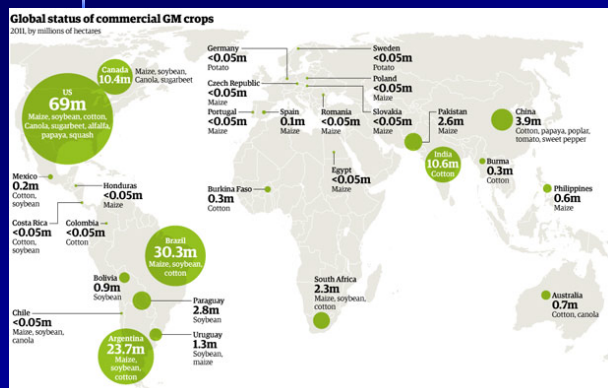
Jde o obchodní trik.

GMO ve světě stále přibývá



**Hlavní plodiny:
kukuřice, sója, bavlník**

GMO ve světě stále přibývá



Hlavní producenti:
USA
Kanada
Argentina
Čína


Kolik je DNA v krmivech a potravinách ?




**0,005 až 0,02 %
sušiny**



GM kukuřice



„cizí gen“ 4000 „písmen“



0,0004% DNA kukuřice

**Hypotetický příklad:
brojler**

Krmná dávka - jen kukuřice



Veškerá kukuřice jen GMO

Brojler zkonsumuje za celý výkrm



300 mg kukuřičné DNA
+
1 μ g „cizího genu“

Proč by měla kuřeti vadit „cizí“ DNA,
když mu nevadí DNA kukuřice?

Pokud byl zjištěn efekt GM krmiva na brojlerů či nosnice, pak je pozitivní



Blokáda enzymu mykotoxinem



Neobsahují mykotoxiny

DNA z potravy není jediná



Člověk má ve střevu



- 10^{14} ks bakterií
- 5000 druhů = 1,2 kg
- 1200 druhů virů
- ? druhů prvoků
- ? druhů hub
- atd.

DNA se rozkládá

- Kyselým prostředím
- Enzymy (DNáza I a DNáza II)

85 % DNA z potravy je rozloženo na „písmena“ genetického kódu ještě před vstupem do dvanáctníku.



Jaká jsou rizika potravin a krmiv z GMO?



Toxicita potravin a krmiv z GMO

I geneticky nemodifikované potraviny a krmiva obsahují toxiny.

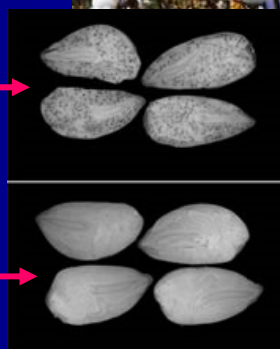
Sója – genistein
Brambor – solanin

GMO – toxikologicky prověřena
U GMO lze snížit „přirozenou“ toxicitu.



Genetické modifikace pro redukci toxinů

- Bavlina
 - na 1 kg vlákna
 - 1,65 kg semen
 - vysoký obsah proteinů
 - terpenoid gossypol
- RNA interference
 - klíčový enzym pro syntézu
- Redukce gossypolu o 98%



Toxikologické testy

- **Testuje se**

- 1) GM plodina

- 2) Odpovídají nemodifikovaná linie

- 3) Odpovídající nemodifikovaná linie s
přídavkem produktu genetické modifikace



Čím vším se liší plodiny?

- GM plodina a její nemodifikované kontroly nemohou být pěstovány ve stejných podmínkách

P
A
R
A
M
E
T
R

GM

K

Statisticky
průkazný
rozdíl

GM

K

Obvyklá
variabilita



Čím se liší testovaná zvířata?

- Dostávají krmivo, které se liší obsahem mnoha látek, přičemž všechny rozdíly nejsou důsledkem modifikace

Fyziologický ukazatel



Statisticky průkazný rozdíl

Fyziologické hodnoty

Alergenita krmiv a potravin z GMO

Alergení jsou i ostatní potraviny a krmiva.
Alergení potraviny – kiwi, ořechy, ryby atd.



Je třeba prověřovat alergenitu krmiv
snížit rizika při „zatoulání“ do potravin.

„Co se dá sníst, to lidé snědí!“

GM hrách inhibitor alfa-amylázy fazolu



Thomas Higgins

Vývoj ukončen 2006



Zrnokaz hrachový *Bruchus pisorum*



Šance přenosu genu na bakterie
v prostředí i ve zvířeti je extrémně nízká

10^{-11} až 10^{-13} / 1 kontakt vnímavé bakterie s
vhodnou DNA

Mutace – 1000krát pravděpodobnější

Krmení a léčba antibiotiky
- o několik řádů vyšší riziko!



Zdrojem rezistence jsou i akvakultury ve třetím světě



Při současné míře migrace neexistují proti šíření účinné bariéry.

Přenos genů z GMO potravy na zvíře a na člověka

Výjimečně
(velké množství DNA,
hypometylace apod.)
může malé množství zloček DNA
přejít přes střevní stěnu

Pohlí je bílé krvinky.



Pravděpodobnost zabudování genu do živočišné buňky

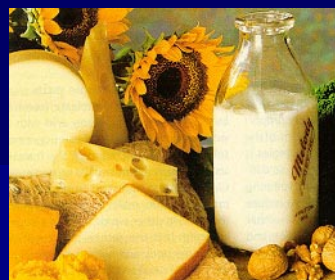
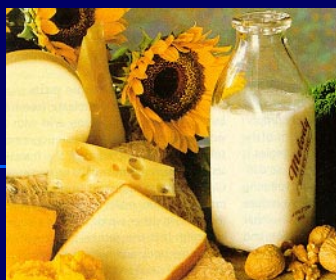


V genomu živočichů včetně člověka
nebyly nalezeny geny vyšších rostlin.
Produkty používaných genů jsou
prověřeny (toxikologicky apod.)

Rozklad DNA při zpracování krmiv

- Mletí – bez efektu
- Lisování oleje – výrazná degradace
- Zahřívání – 95°C po dobu 5 minut – degradace
- Pára i za nízkého tlaku - degradace





**Nelze od sebe odlišit
produkty zvířat krmených
GMO od produktů zvířat
krmených „GMO-free“
krmivy.**

**„GMO-free“ krmiva a
potraviny...**



... jako chodit jen po bílých dlaždicích

Závěry:

- GMO –zatím prospěch jen pěstitelům
- Velký potenciál pro spotřebitele
- Třetí svět – jedna z možností
- Vlivy na životní prostředí
- Každá zemědělská výroba ovlivňuje
- Je třeba hodnotit vlivy všech technologií

GMO pro krmiva a potraviny

- testovány a schvalovány

Přenos genů z krmiv a potravin na mikroorganismy - nepravděpodobný

GMO jako krmiva a potraviny

- bezpečné

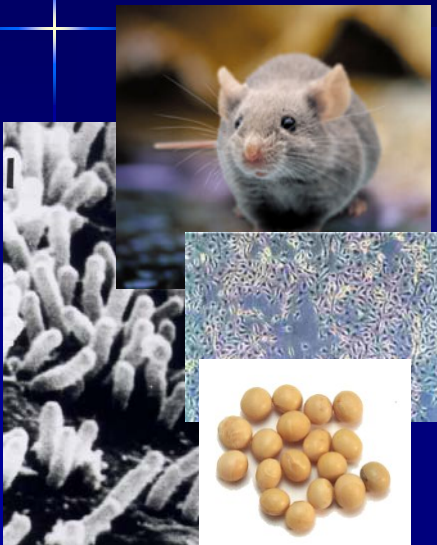
Produkty zvířat krmených GMO

- bezpečné




Kdo smí pracovat s GMO?

GMO



Ne- GMO



Jakákoli činnost s GMO = nakládání

- Uzavřené nakládání
- Uvedení do životního prostředí – polní pokusy
- Uvedení do oběhu
 - u nás RR sója (pro zpracování)
 - kukuřice MON810 (pro pěstování)



Zákon 78/2004 Sb.

- o nakládání se musí se žádat MŽP ČR
- nakládat se smí jen na povolení

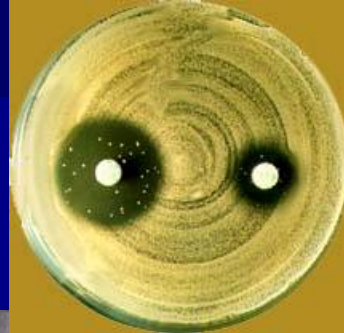
www.env.cz

- Neoprávněné nakládání
POKUTA až 5 MILIONŮ Kč !



Co do žádosti?

- Kdo nakládá?
- S jakým organismem?
- S jakým genem?
- K čemu to bude?
- Jak je na to vybaven?
- Jaká jsou rizika?
- Co se bude dělat, kdyby byl průšvih?



Hodnocení rizika

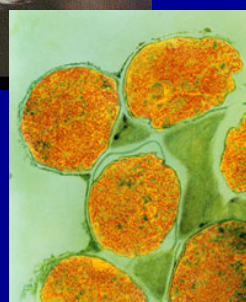
- Jak je rizikový sám organismus?
- Jak je rizikový gen?
- Jak se změní organismus genem?



Oblasti rizik

- Lidské zdraví
- Zdraví zvířat a rostlin
- Životní prostředí
- Biologická rozmanitost

Berou se v potaz i ekonomická, demografická a politická hlediska (MZe - řepka)



Třídy rizika pro uzavřené nakládání



- A - žádné nebo jen minimální riziko
- B – následky lze snadno odstranit obecně známými prostředky
- C - následky lze odstranit jen zvláště náročnými prostředky
- D – nechává trvalé následky



Havárie



Není to každá nehoda
na pracovišti s GMO



Je to únik GMO
mimo prostory určené k nakládání

Co se děje s žádostí?

- MŽP – předá MZd a MZe
- Každé ministerstvo má komisi expertů
- Posudky, žádosti o doplnění
- Žadatel přepracuje, doplní a vrátí na MŽP
- Další kolo hodnocení
- Stanovisko CK GMO
- Rozhodnutí ministra ŽP

