

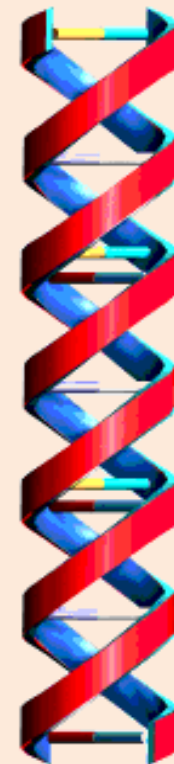
Bojíte se genů?

Fakta o Geneticky Modifikovaných Organismech (GMO)

Kateřina Demnerová
Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT, Praha

O čem budeme mluvit?

- **Geny v potravinách**
- **Jak to vlastně začalo?**
- **Definice GMO**
- **Trochu historie**
- **Něco málo z legislativy**
- **GMO je kolem nás**
- **GMO potraviny**
- **Reálné nebezpečí?**

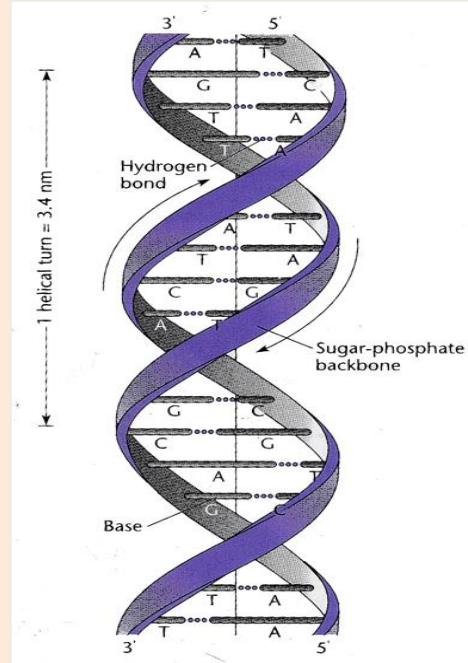
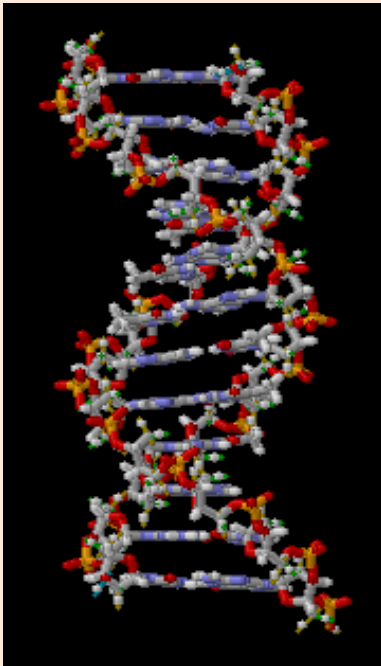




Obsahuje rajče geny?

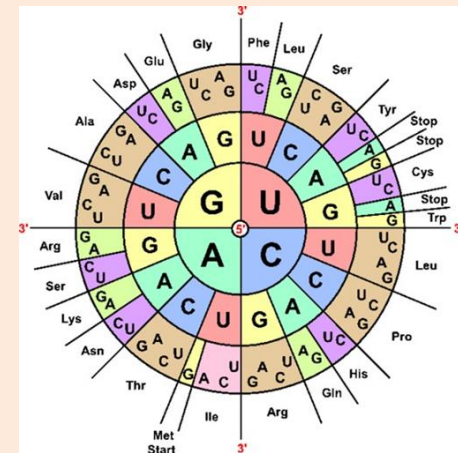
- **Ano**

DNA – univerzální nositelka dědičnosti



Snyder, L. and Champness, W., *Molecular Genetics of Bacteria* (Washington, D.C.: ASM Press, 1997)

- **genetický kód** představuje soubor pravidel, podle kterých se genetická informace uložená v DNA (respektive RNA) převádí na primární strukturu bílkovin
- je **univerzální**
- je **tripletový**

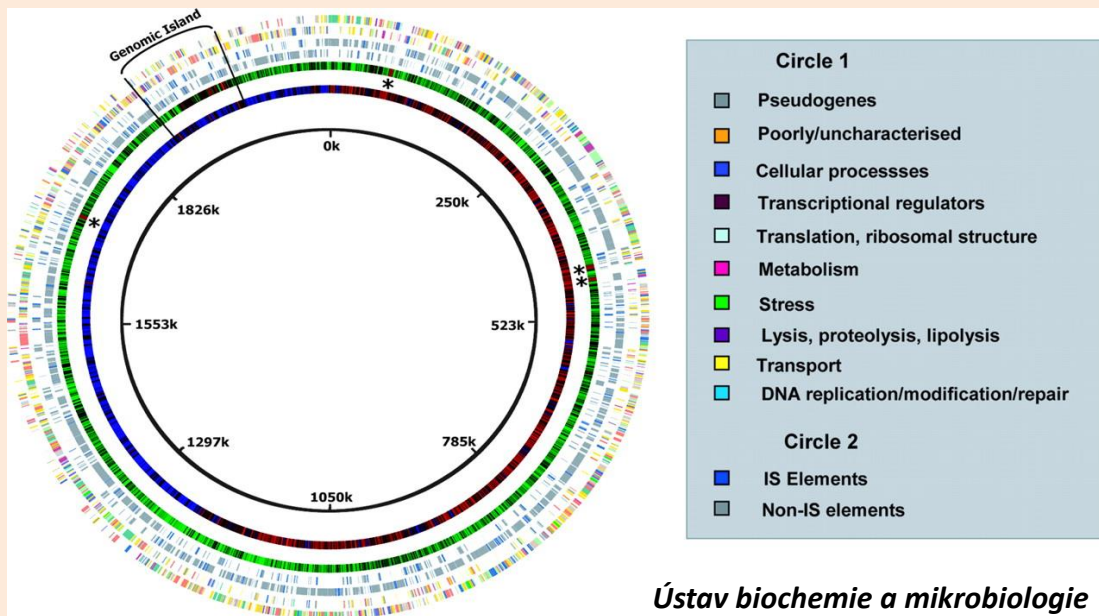
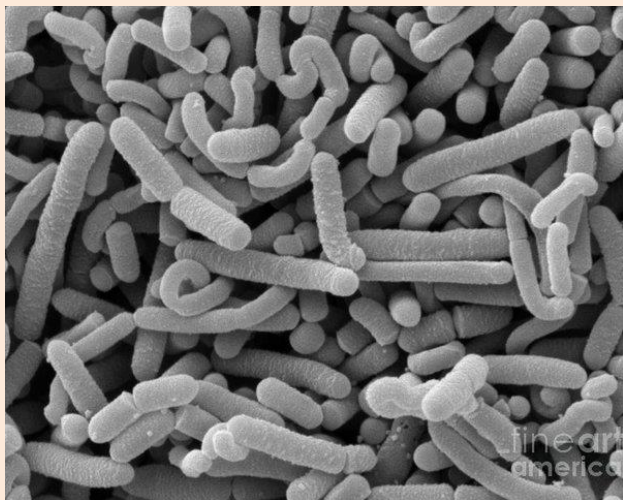


Jíme geny?

- Ano

Kolik asi?

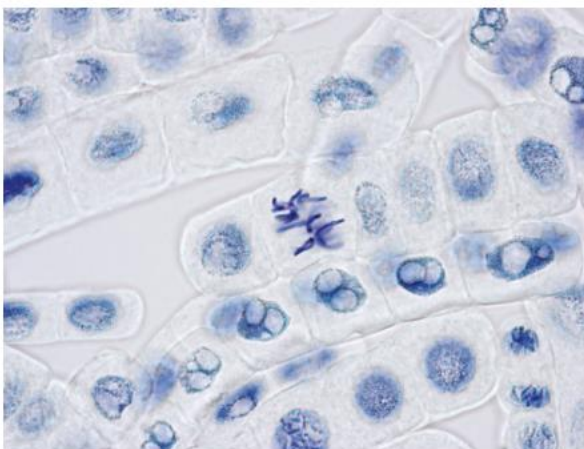
1 gram např. 10^7 bakterií 1 bakterie $3 \cdot 10^3$ genů
V gramu třeba jogurtu $3 \cdot 10^{10}$ genů



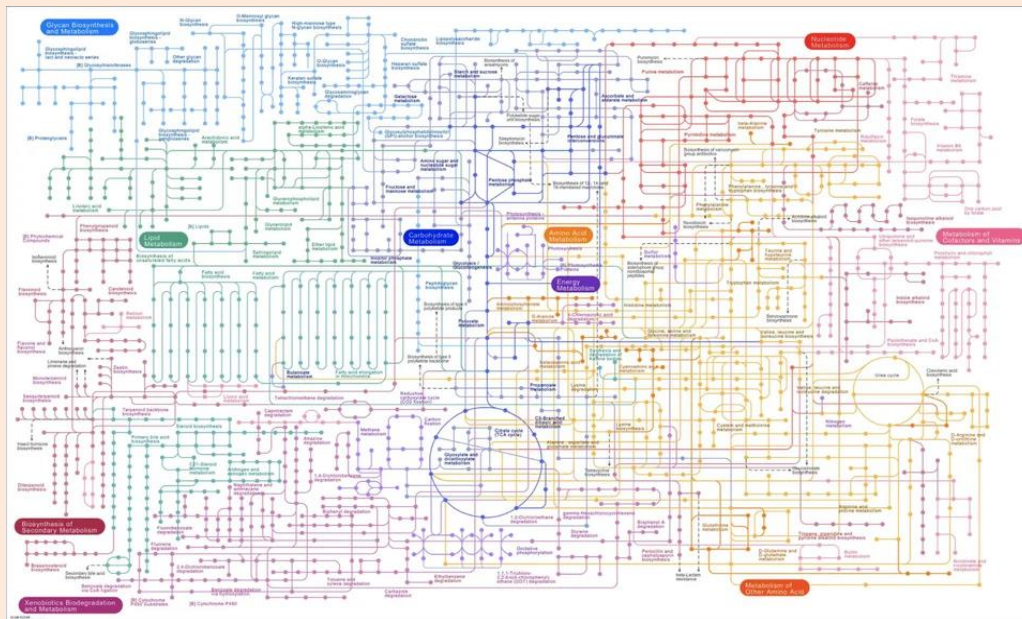
Geny v potravinách

- všechny potraviny obsahující geny (MO, rostliny nebo zvířata)
- vařené nebo zpracované potraviny, většina DNA degradována, geny jsou fragmentované
- když jíme jídlo (čerstvé nebo vařené), metabolizujeme živiny, z těch si pak vyrábíme vlastní geny, proteiny atd.

Map of the human metabolic pathways



Onion root tip cells showing chromosomes and nuclei of dividing cells. © Alan John Lander Phillips



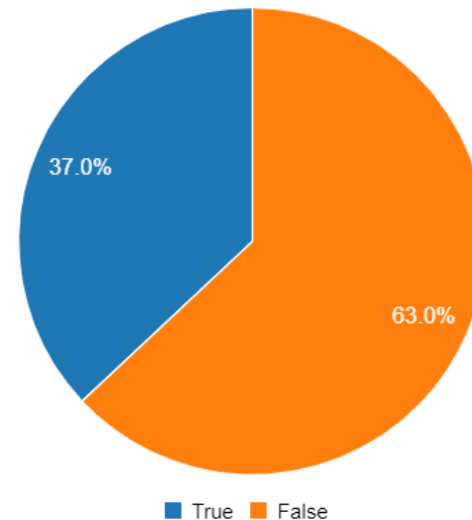
US - 2017



MICHIGAN STATE
UNIVERSITY

Please tell me whether you think the following statement is true or false: Genetically modified foods have genes and non-genetically modified foods do not.

True	37
False	63



Methodology

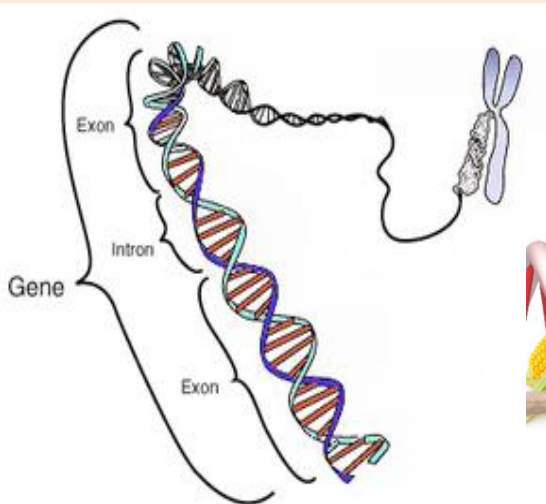
The Michigan State University Food Literacy and Engagement Poll was conducted online between July 6 and 8, 2017, among 1,059 U.S. residents aged 18 and over. Figures for age, sex, race/ethnicity, education, region and household income were weighted where necessary to bring them into line with their actual proportions in the population. A propensity score weighting approach was also used to adjust for respondents' propensity to answer online surveys. The poll is administered by Toluna, NA, a leader in online research that manages one of the world's largest internet-based research panels with more than 4.5 million registered and active users.

- rostlinné buňky obsahují asi 30 000 genů



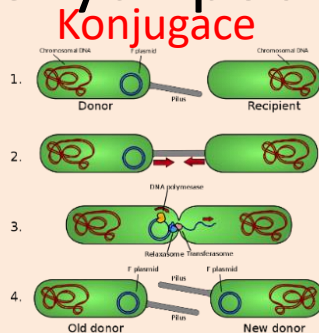
- u huseníčku *Arabidopsis* bylo předpovězeno více než 26 500 genových lokusů, zatímco u rýže až 41 000. Nedávná analýza genů topolu předpovídá více než 45 000 genů a částečná sekvenční data z tolice (*Medicago*) a leknín naznačují, že tyto rostliny obsahují více než 40 000 genů.

- GM obvykle zahrnuje přidání dalších **1-10 genů**
- odhaduje se, že každý den jíme mnoho miliard genů, které pocházejí hlavně z čerstvých potravin



Jak to vlastně začalo?

- využití přirozených pochodů v bakteriálních buňkách

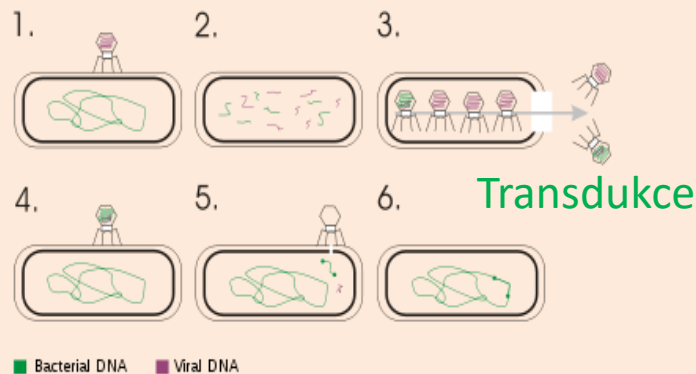


- konjugace

- transformace – příjem DNA z okolního prostředí

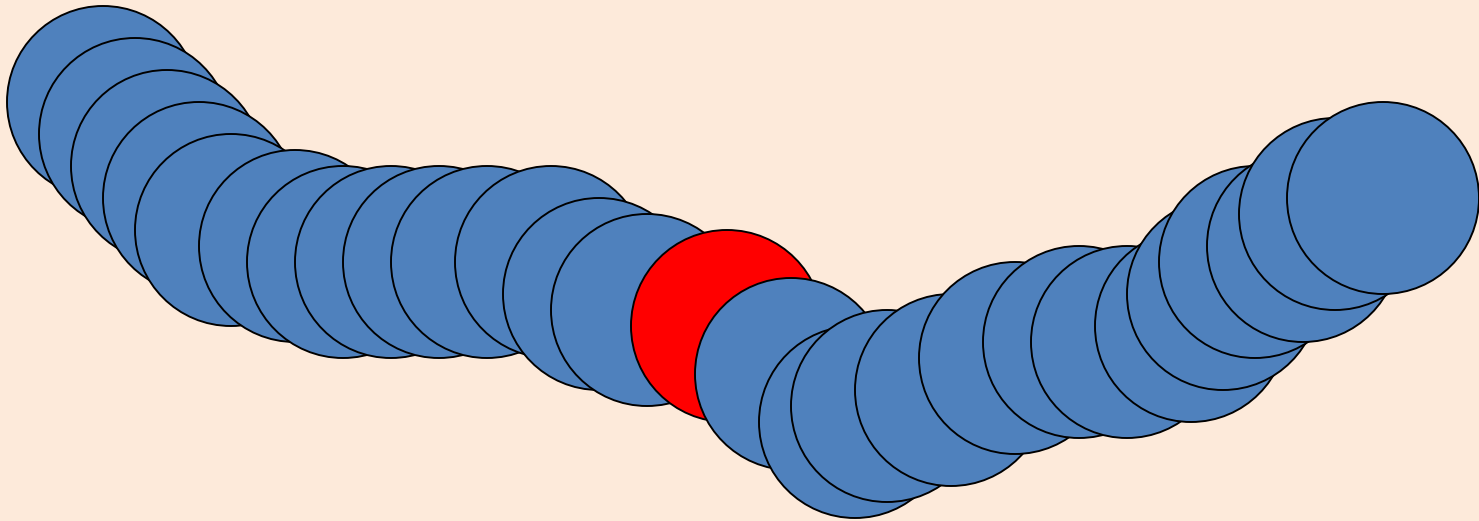
- transdukce

- Mutace – dědičná změna genotypu



- „přírodní genetická modifikace“: přenos genů z půdních bakterií *Agrobacterium tumefaciens* do DNA rostlin

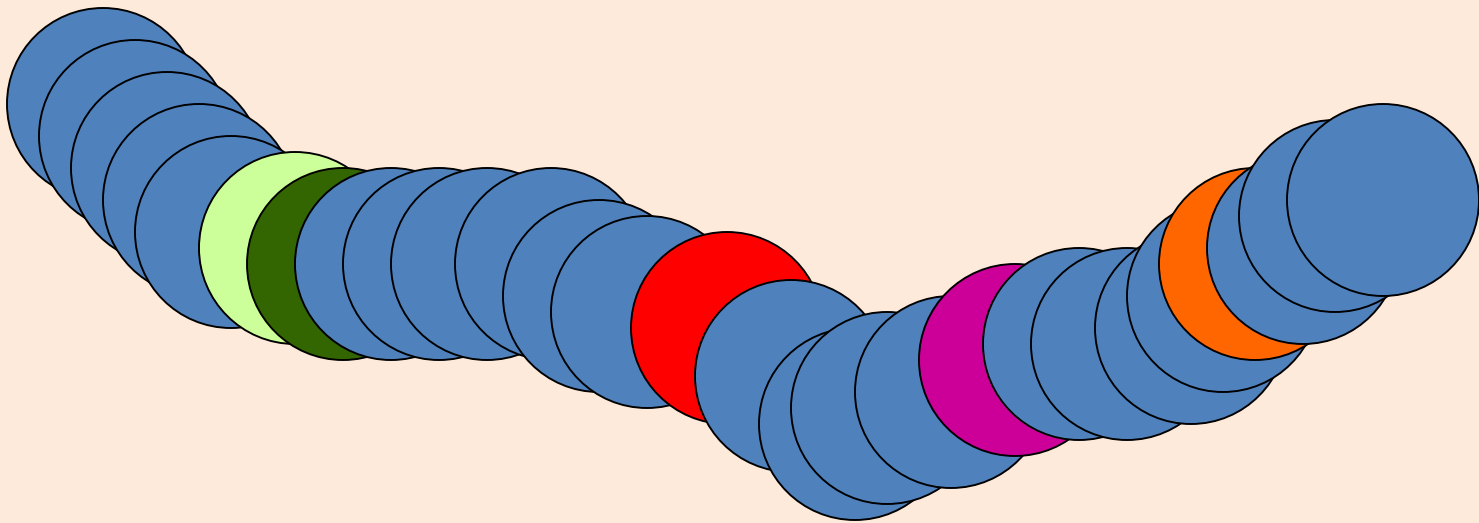
**MUTACE -
vytváří nové geny změnou existujících**



a) přirozená (spontánní)

NÁHODNÁ ZMĚNA V OMEZENÉ ČÁSTI DNA

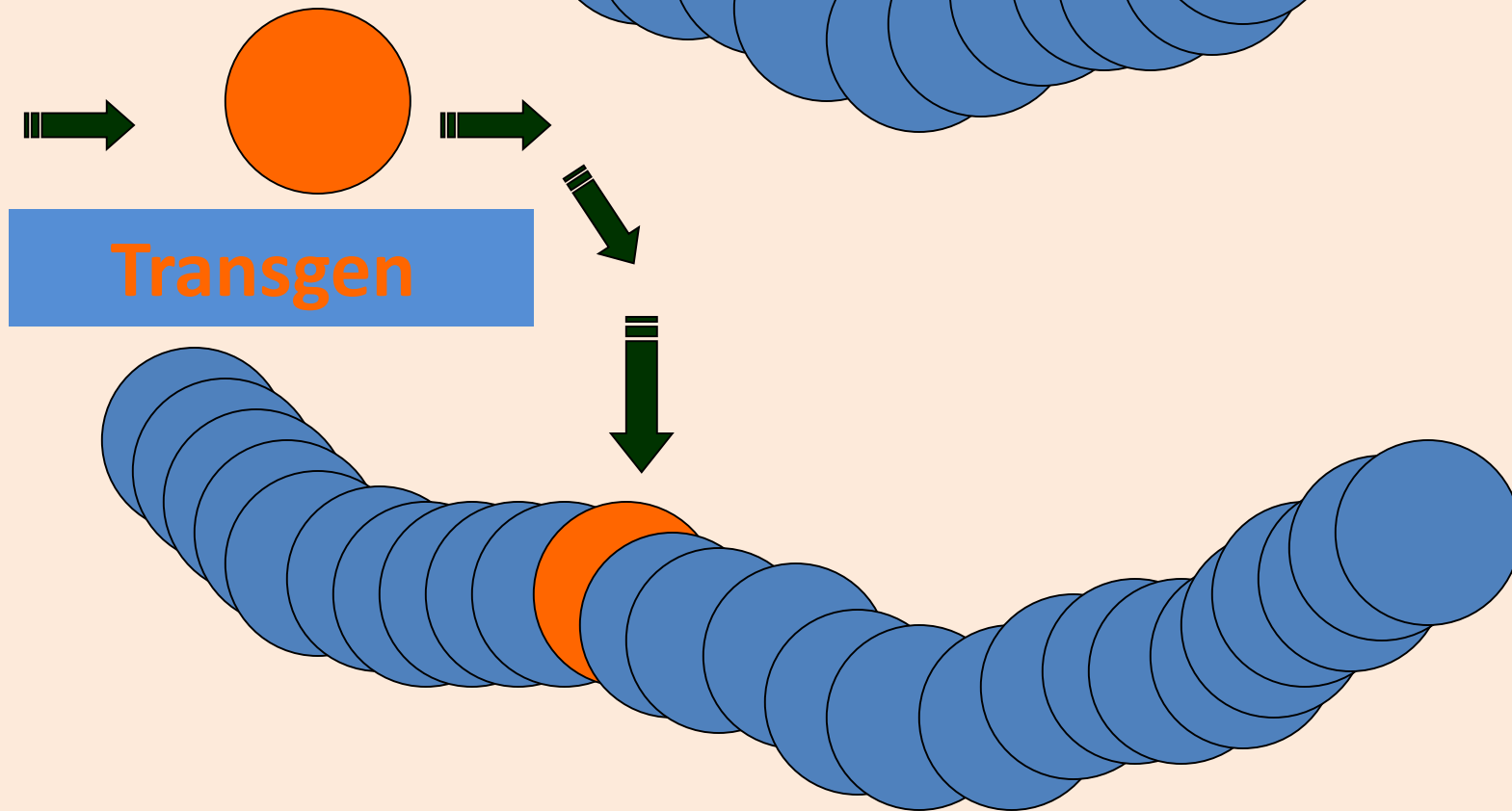
MUTACE



b) působení mutagenu (indukovaná mutageneze)

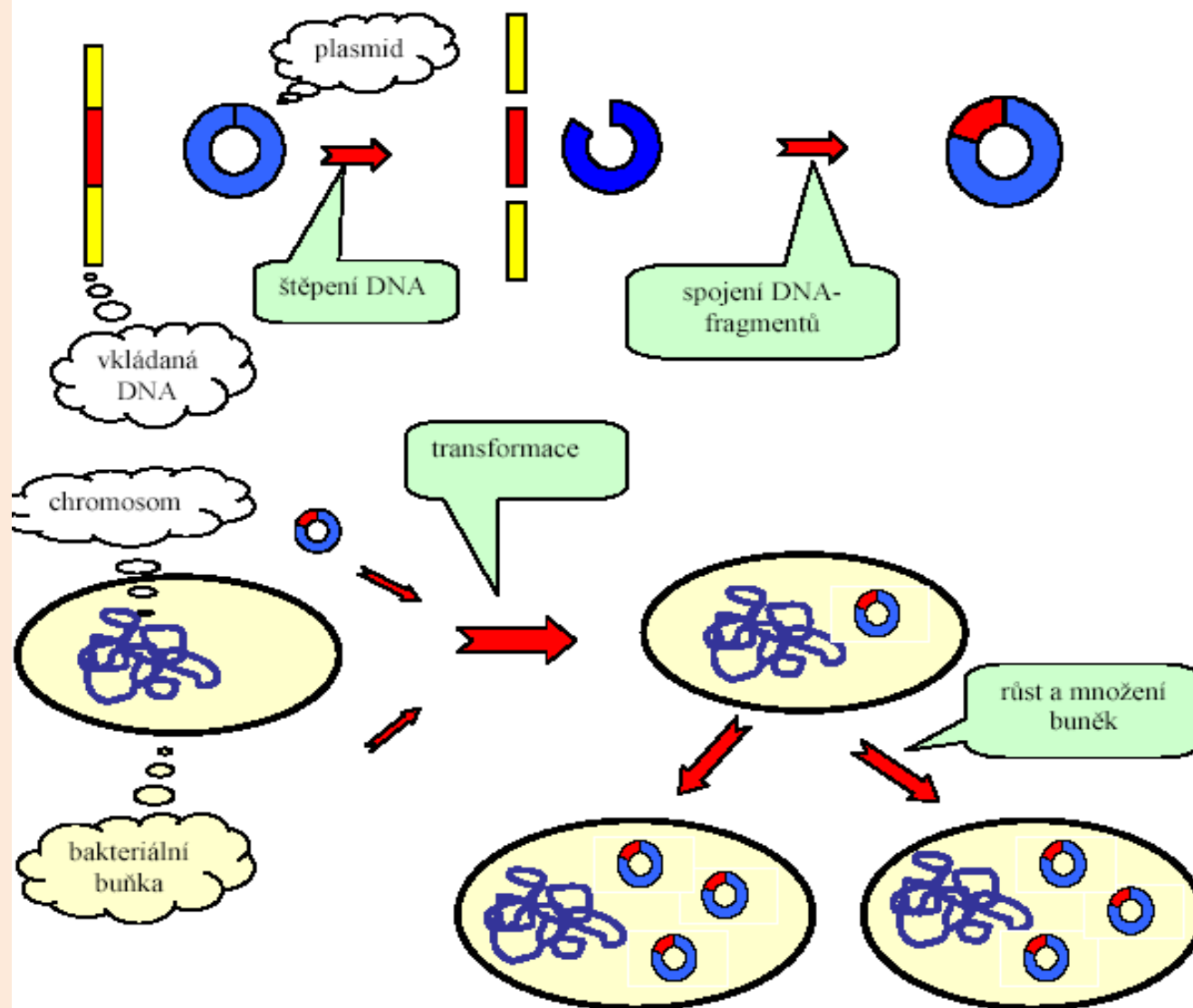
**NÁHODNÉ ZMĚNY V MNOHA MÍSTECH,
VZNIK ZCELA NEPŘIROZENÝCH SEKVENCÍ**

TRANSGENOZE



VLOŽENÝ GEN (TRANSKRIPČNÍ KAZETA)

1. štěpení DNA na požadovaných místech
2. rekombinace - spojení DNA-fragmentů
3. transformace – vpravení rekombinované DNA do buňky
4. selekce buněk obsahující cizí gen
5. analýza klonované DNA



Definice GMO

GMO

organismus, **kromě člověka**, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací*

Genetická modifikace

cílená změna dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozenou rekombinací, a to **vnesení** cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo **vynětí** části dědičného materiálu organismu

Výsledkem genetické modifikace může tedy být buď získání nové vlastnosti, nebo naopak potlačení vlastnosti nežádoucí*.

* Zákon č. 78/2004 Sb. (novela č. 371/2016 Sb.), o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty a o změně některých souvisejících zákonů ■
[http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/\\$pid/MZPMVF3V1K0U/\\$FILE/oer-zak_78_2004-20040122.pdf](http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/$pid/MZPMVF3V1K0U/$FILE/oer-zak_78_2004-20040122.pdf)

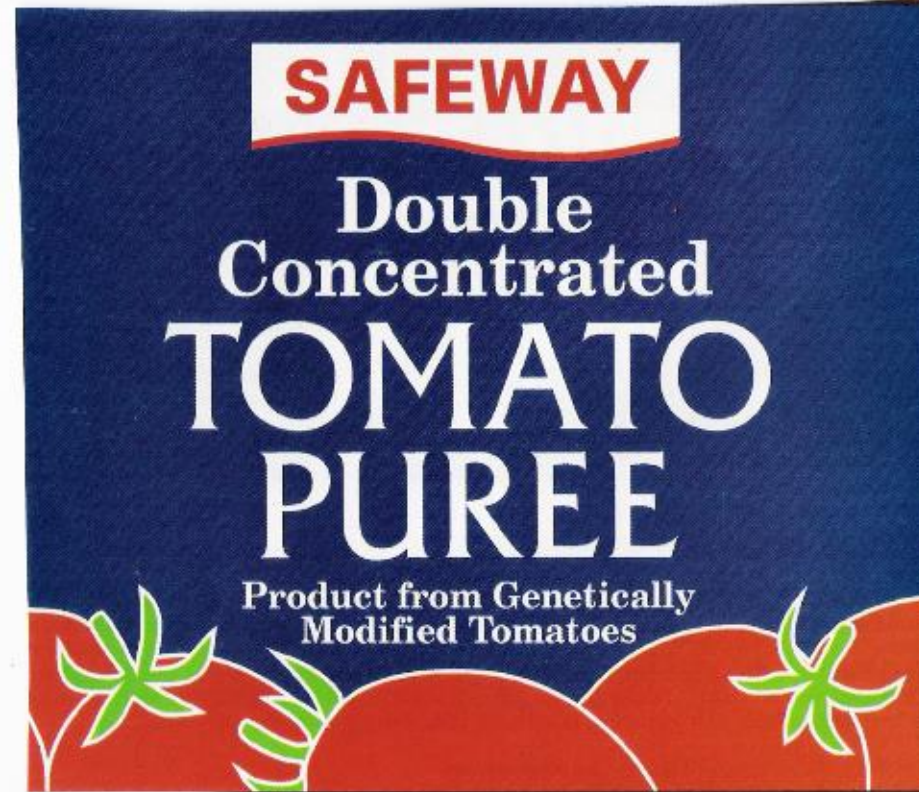
Mají GMO mimořádné postavení?

- zákon o „Odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin“ stejně jako příslušná směrnice EU uzná za novou odrůdu jen takovou, která je **odlišná alespoň v jednom znaku** od jiných, je uniformní a stálá
- to znamená, že každá nová odrůda má **nejméně jeden nový gen a jeden nový genový produkt**. V praxi je to vždy větší soubor
- Batista a spol. srovnávali změny v expresi proteinů u nových odrůd rýže získaných jednak transgenosí, jednak ozářením. U transgenní bylo **25 nových** proteinů u radiační **51**. Možnost zdravotních dopadů je tedy u radiomutanty 2x vyšší než u GM plodiny

Trochu historie

- **1973** USA - první pokusy s genovými manipulacemi u mikroorganismů
- **1983** - první GM plodina - tabák
- **1991** - první pěstování GM kukuřice (Bt kukuřice) na volném poli (USA, Argentina)
- **1994, 1995** - uvedeny na trh GM rajčata a kukuřice (USA)

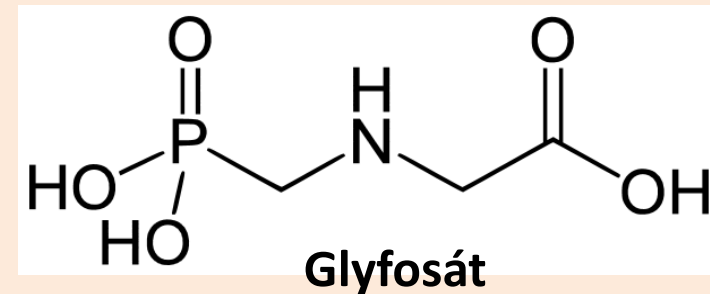
Etiketa první geneticky modifikované potraviny prodávané v Evropě



- odrůda rajčete „Flavr Savr“ s **prodlouženou trvanlivostí plodů**, která je výsledkem exprese RNA genu pro polygalakturonasu (PG). PG rozkládá pektin v buněčných stěnách plodů rajčat, což vede k měknutí plodů
- z marketingového hlediska projekt neuspěl z důvodu příliš vysokých nákladů na sklizeň plodů a jejich distribuci do prodejní sítě

Trochu historie

- **první GM plodina** byla uvolněna pro trh v r. **1994** - bylo to rajče s prodlouženou dobou skladování nazvané **FlavrSavr**
- další, k herbicidům tolerantní a ke škůdcům rezistentní GM plodiny, hlavně **sója, kukuřice, bavlník a řepka** se na trhu objevily v roce **1996**
- nejznámějším příkladem je **sója odolná vůči herbicidu Roundup**, tzv. Roundup Ready sója



„Ministerstvo zemědělství v současnosti nebude plošně zakazovat používání **glyfosátu**, protože nemá méně škodlivou náhradu. Zákaz tohoto herbicidu, který zemědělci používají k hubení plevelu, by mohl znevýhodnit české zemědělce proti pěstitelům z okolních zemí uvedl“, ministr zemědělství Miroslav Toman (za ČSSD). Plošný zákaz do budoucna nevyklučuje, ale podmínkou je právě nalezení náhrady.

27.1.2019

Česká republika

Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění **zákona č. 371/2016 Sb.**

Vyhláška č. 372/2016 Sb.

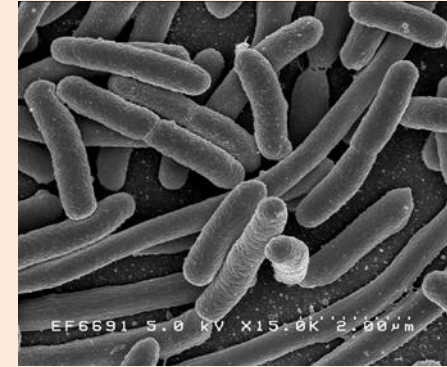
Vyhláška, kterou se mění vyhláška **č. 209/2004 Sb.**, o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů

***návaznost na předpisy
o léčivech, zemědělství,
potravinách atd.
podle použití***

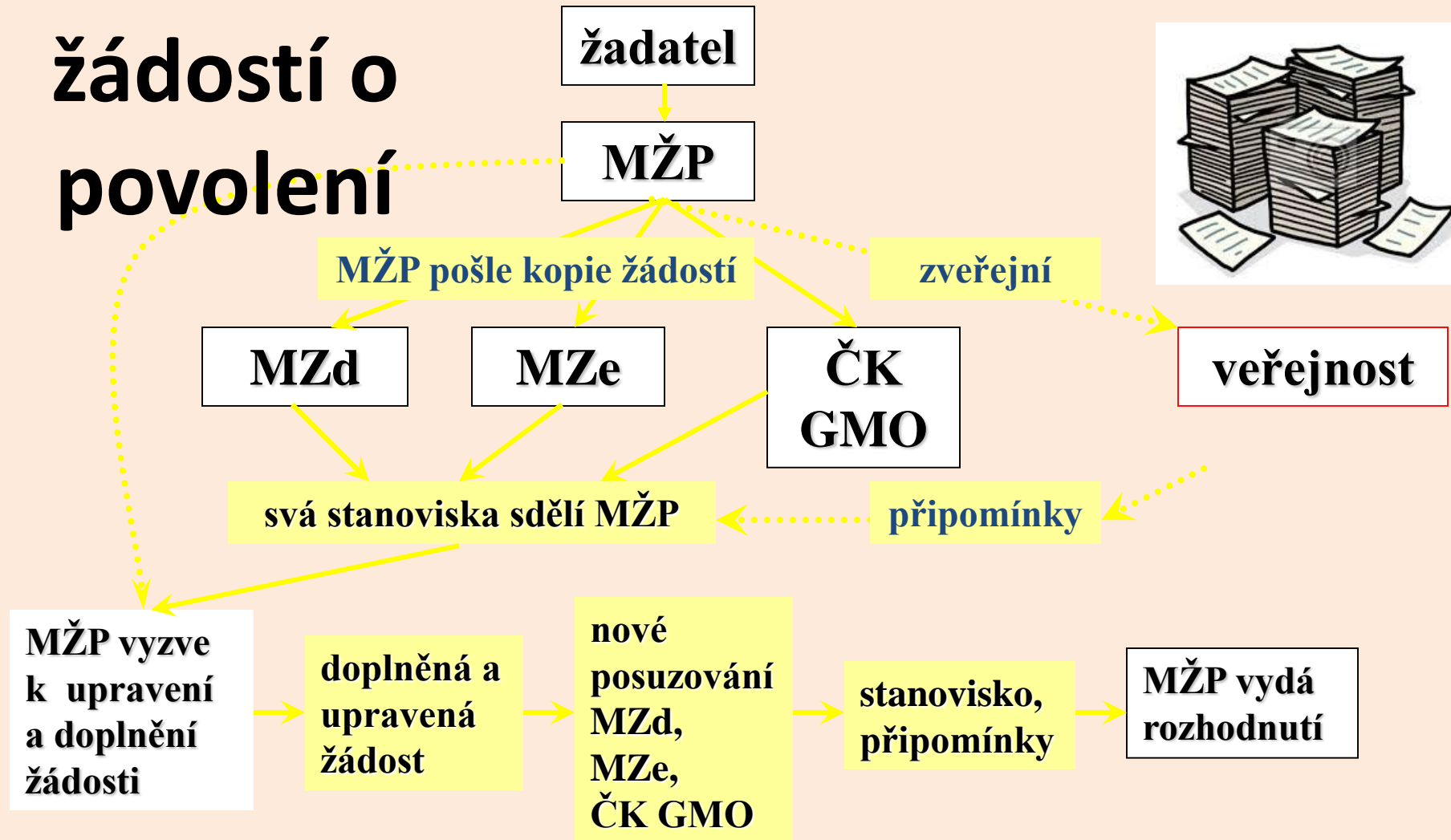


Typy nakládání s GMO

- v ČR definovány zákonem č. 78/2004 Sb.
 - **uzavřené** nakládání s GMO
(v uzavřeném prostoru – laboratoře, skleníky)
 - uvádění GMO do **životního prostředí**
(pokusy na poli, pěstování na malých plochách)
 - uvádění GMO do **oběhu**
(dovoz, zpracování, prodej, pěstování)



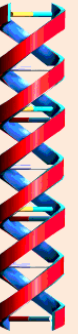
Posuzování žádostí o povolení



- **GMO mikroorganismy**



- » produkce insulinu, **chymosinu**
- » produkce vakcín
- » produkce interferonů
- » bioakumulace kovů
- » bioreportéry
- » biodegradace
- » **využití v potravinářském průmyslu (pivovarské kvasinky, BMK...)**



- **GMO živočichové**



- » laboratorní zvířata
- » záchrana ohrožených živočišných druhů klonováním (genetická informace ohroženého druhu + vajíčko bez DNA druhu příbuzného)
- » produkce protilátek, insulinu
- » produkce bílkovin
- » GloFish® - první GM mazlíček



- **GMO rostliny**

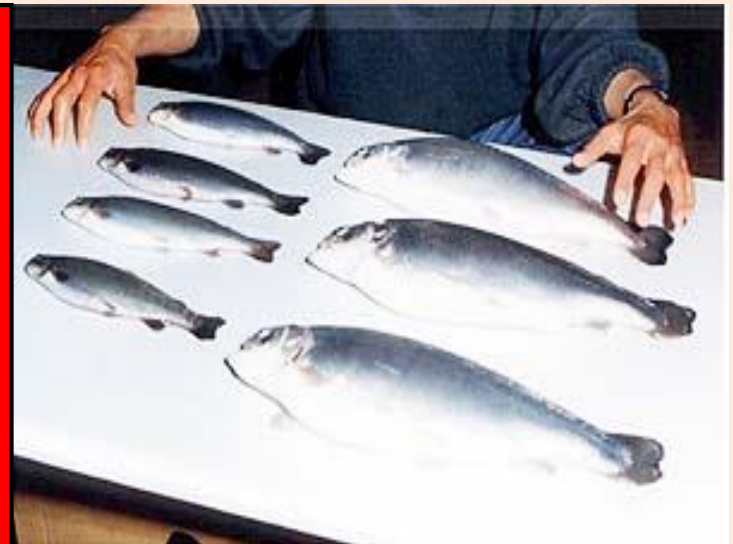


- » **zemědělské plodiny (rezistence k herbicidům, odolnost proti škůdcům, větší výnosy)**
- » využití v medicíně (protilátky, vakcíny)
- » fytoremediace (akumulace těžkých kovů, degradace organických polutantů)

<https://shop.glofish.com/products/glofish-deluxe-pack>

Potraviny získané z GM zvířat

- EU – žádné
- USA - Na sklonku roku **2015** schválil americký Úřad pro potraviny a léčiva geneticky modifikovaného lososa (AquaBounty Technologies) k uvedení na potravinový trh v USA. **Maso tohoto lososa se může ve Spojených státech volně prodávat a na rozdíl od Evropy nemusí nést na obalu upozornění: „Vyrobeno z geneticky modifikovaných organismů“.** Firma podala žádost o povolení chovu rychle rostoucího GM lososa už v roce 1995 a na výsledný verdikt čekala dlouhých dvacet let
- do dědičné informace lososa obecného vnesli gen pro růstový hormon pacifického lososa čavyči
- Kuba – tilapie (od r. 2009)



Pěstování GM plodin ve světě

- sója
- kukuřice
- bavlník
- řepka
- cukrovka
- brambor
- dýně
- papája
- vojtěška
- rajče
- paprika

- topol
- karafiát
- petúnie
- modrá růže

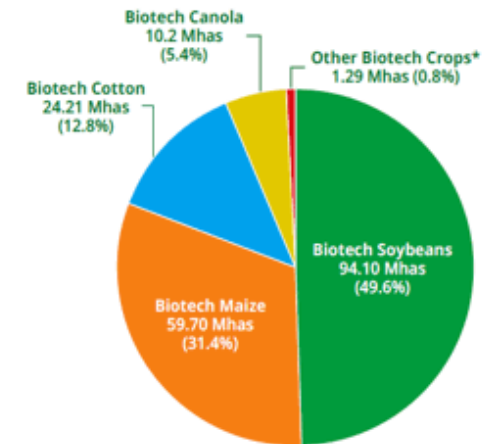




Figure 1. Global Map of Biotech Crop Countries and Mega-Countries in 2017

ISAAA

- mezinárodní služba pro získávání údajů o používání zemědělských biotechnologií, angl. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (gmaprovaldatabase)



* Biotech sugar beets, potato, apples, squash, papaya, and brinjal/eggplant.

BIOTECH CROPS IN 2017 (AREA AND ADOPTION RATE)

Source: ISAAA, 2017

Pěstování GM plodin v EU a ČR

- výjimkou je 97 geneticky modifikovaných plodin, které jsou však variantami pěti základních plodin – **kukuřice, sóji, bavlníku, řepky a cukrová řepy**
- pěstování ***Bt* kukuřice MON 810** (v ČR od roku 2005)
- od března roku **2010 (150 ha)** pěstování **GM brambory Amflora**, v dalších letech už se nepěstovala, od r. 2013 zakázané

GM KUKUŘICE V ČESKU

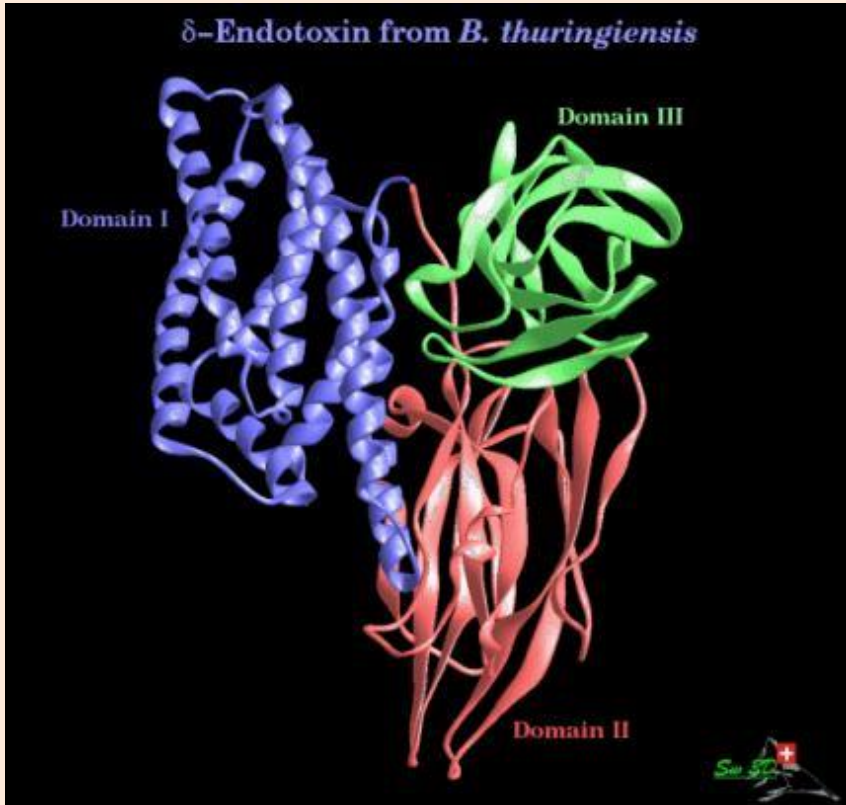
	plocha v ha	počet pěstitelů
2005	150	51
2006	1290	82
2007	5000	126
2008	8380	167
2009	6480	121
2010	4680	82
2011	5090	65
2012	3050	41
2013	2560	31
2014	1754	18
2015	997	11
2016	75	1
2017	0	0

Brambor Amflora

- žádost v r. 1996 → povolení v r. 2010
- omezení tvorby amylozy ve prospěch amylopektinu
- využití v papírenství, textilním průmyslu a v dalších průmyslových odvětvích
- NE jako potravina



GM kukuřice tvořící Bt-toxin



Bt-toxin

Srovnání nemodifikované a modifikované kukuřice



Klas napadený housenkou zavíječe



In **2017**, the **21st year of commercialization of biotech crops**, **189.8 million hectares** of biotech crops were planted by up to 17 million farmers in 24 countries. From the initial planting of **1.7 million hectares in 1996** ~**112-fold increase**

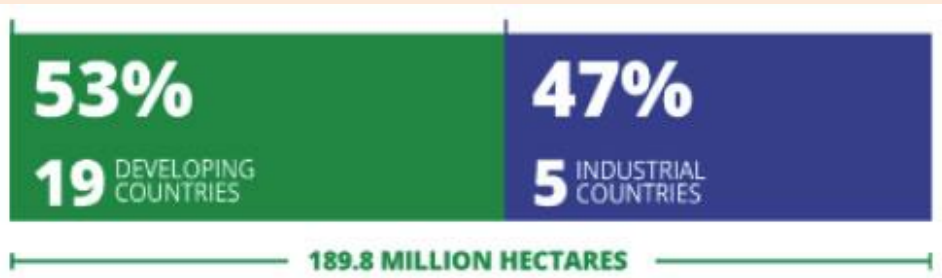


FIGURE 2.
DISTRIBUTION OF BIOTECH CROPS IN DEVELOPING AND INDUSTRIAL COUNTRIES IN 2017

Source: ISAAA, 2017

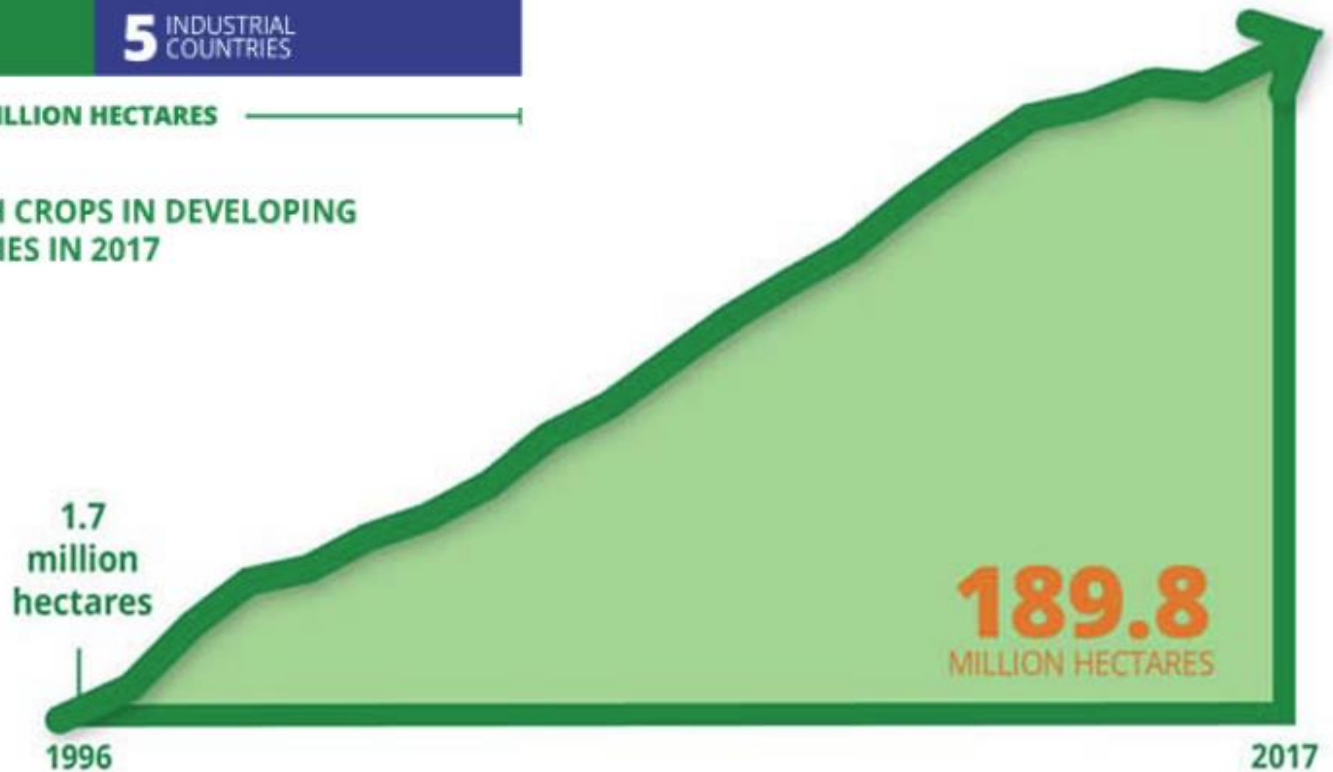


FIGURE 1. GLOBAL AREA OF BIOTECH CROPS, 1996 TO 2017 (MILLION HECTARES).

Source: ISAAA, 2017

Proč kontrolujeme GMO ?

- **EU Legislativa**
- **princip předběžné opatrnosti v EC (better safe than sorry)**
- **požadavek konzumentů**
- **možný únik a smíchání neprověřených GMO nebo GMO připravených pro speciální použití v budoucnosti**

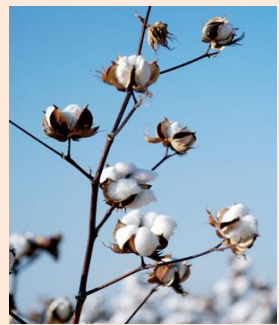
Odhad rizik GMO

- vložená DNA představuje **0,001%** vlastní DNA a nijak se od ní neliší. Je proto s ní **degradována**
- nová bílkovina je obvykle součástí naší potravy (GM sója, Bt kukuřice má bílkovinu půdních bakterií), nebo je podrobně testovaná
- složení bílkoviny se srovnává se známými **alergeny**
- necitlivost na lékařská antibiotika se již **nepoužívá**
- možnost ovlivnění jiných genů se kontroluje v **testech plodiny**
- zdravotní nezávadnost potvrdily **EFSA, WHO, FAO apod.**



„svítící“ rybičky nejsou povoleny !!

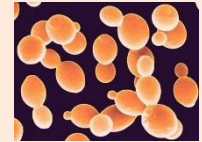
Děkuji za pozornost



Doplňující informace

Kategorie rizika

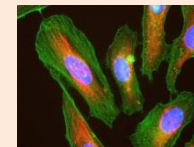
Kategorie rizika se vztahují k činnosti



První kategorie: činnost bez rizika nebo se zanedbatelným rizikem (např. klonování a kultivace *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, buněčných linií)



Druhá kategorie: činnost s nízkým rizikem škodlivého působení, které může být snadno odstraněno (např. klonování a kultivace patogenních bakterií *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella pertussis*, transdukce buněčných linií pseudovirovými částicemi s použitím retrovirových vektorů)



Třetí kategorie: činnost s rizikem, které může být odstraněno jen náročnými zásahy (např. příprava mutantů HIV)



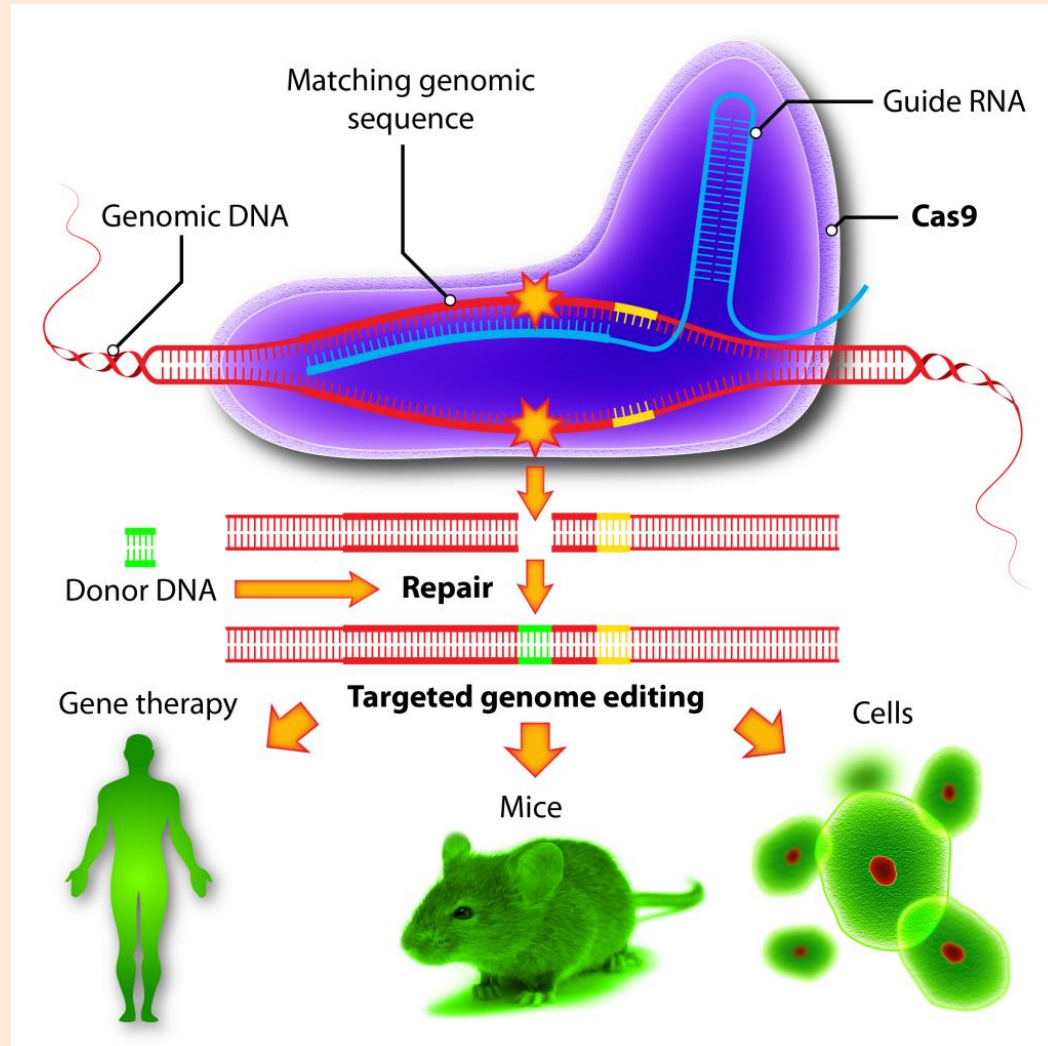
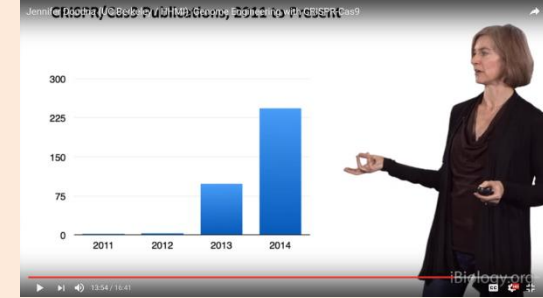
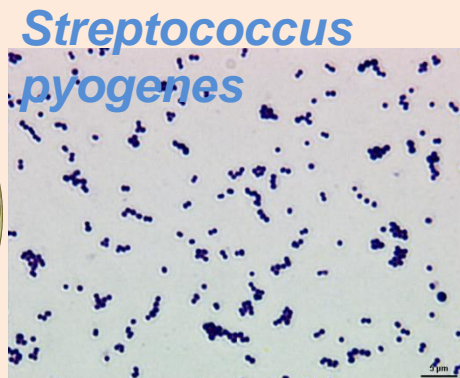
Čtvrtá kategorie: činnost s vysokým rizikem (např. ebola)



CRISPR/Cas9

- <https://www.youtube.com/watch?v=2pp17E4E-O8>
- Jeniffer Doudna: <https://www.youtube.com/watch?v=SuAxDVBt7kQ>

- **CRISPR-Cas9 system**
Streptococcus pyogenes
- použití proteinu (Cas9) a syntetické RNA
- změna v určitém místě/více místech genomu
- použito např. u *Streptococcus pneumoniae* či *E. coli*



CRISPR/Cas9

- velký multifunkční protein Cas9
- zpracování crRNA závislé na trans-aktivační crRNA (tracrRNA) kódované v blízkosti CRISPR úseku a obsahující 25 nt komplementárních k crRNA (CRISPR RNA)
- Cas9 usnadňuje párování bází tracrRNA s pre-crRNA → vzniká RNA duplex, který je následně rozštěpen endonukleasou a RNAsou III za vzniku **zralé crRNA**
- v posledním kroku štěpení virové dvoušroubovice vyžaduje přítomnost crRNA, tracrRNA a Cas9

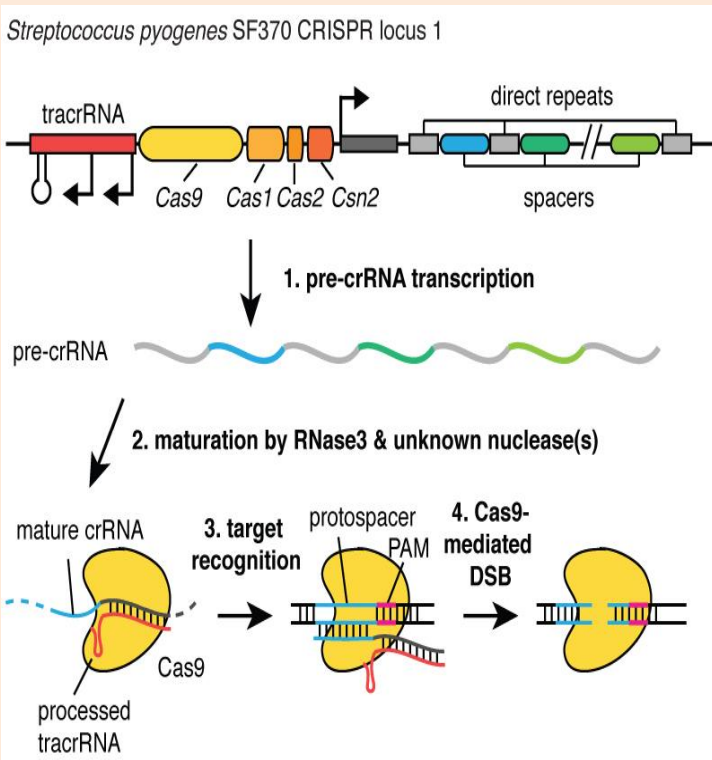
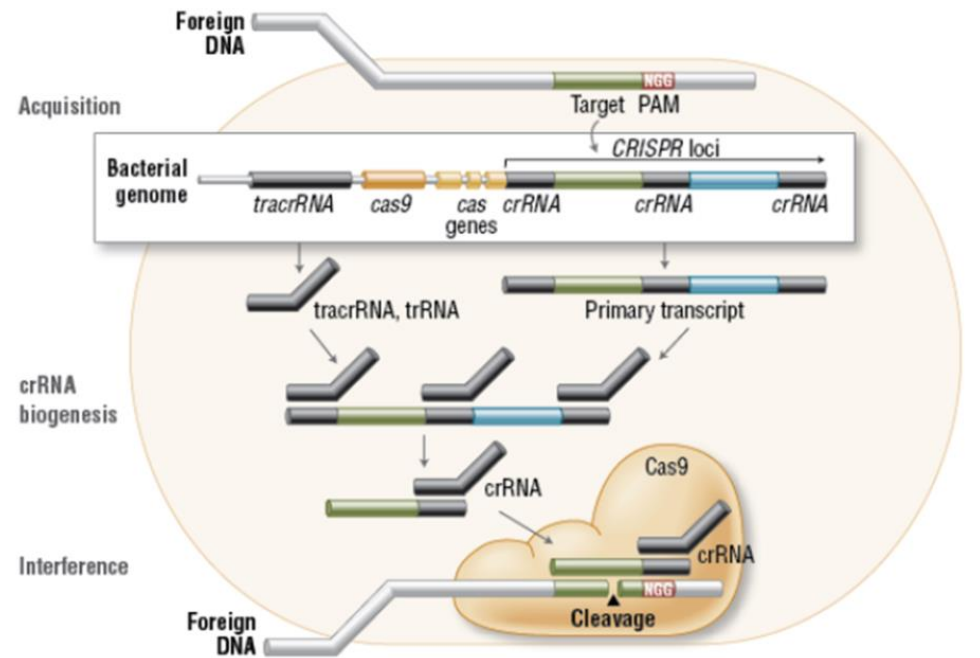


Figure 1. Cas9 *in vivo*: Bacterial Adaptive Immunity



ZDRAVOTNÍ DŮSLEDKY - ALERGIE

- Zdravotní důsledky potravin jsou přímo nebo nepřímo závislé na souboru bílkovin – enzymů a strukturních molekul – přítomných v použití plodině (zde se nezabýváme zpracováním).
- Pro potravinové alergie je významná štěpitelnost makromolekul a jejich epitopy. V obou případech jde buď přímo o **(glyko)proteiny**, nebo o **produkty enzymatické činnosti**.
- Nová potravina může přinést tyto problémy tehdy, když se liší v souboru bílkovin včetně enzymů od tradiční.

MÁME SE BÁT BAKTERIÁLNÍCH GENŮ V GMO?

- **Sója, řepa, řepka, kukuřice a další transgenní odrůdy nesou geny půdních bakterií.**
- **Těch je kolem miliardy v gramu ornice.**
- **Vyhl. MZd 294 ze 28.11.1997 povoluje až 100 milionů bakterií v gramu potravin. Jíme tedy až 100 miliard bakterií denně (= asi 300 bilionů genů).**
- **Z nich 5 až 15 % je rezistentní na antibiotika. Geny rezistence se snadno předávají bakterie-bakterie, ale přenos rostlina-bakterie je neprokázaný.**
- **Rezistence na lékařsky významná antibiotika se ve vývoji transgenních odrůd nepoužívají.**

ZDRAVOTNÍ KONTROLY GMO, živočišné produkty

- Několik podrobných nezávislých analýz potvrdilo, že **do svalů, mléka, vajec a jiných živočišných produktů se ani vnesená DNA ani nová bílkovina nedostává.**
- Tyto polymery jsou rozštěpeny v zažívacím traktu a do krve se dostávají **JEN ZLOMKY, KTERÉ NEMAJÍ INFORMAČNÍ VÝZNAM**
- Značení produktů zvířat krmených GMO **nemá důvod a nebylo by kontrolovatelné**
- Pravidlo ekologických zemědělců nepoužívat GMO má pouze **marketingový význam.**

ZDRAVOTNÍ KONTROLY GMO – celkové testy plodiny

- Ke srovnání se standardní plodinou se berou sklizně v **několika letech na několika místech**
- Srovnává se **chemické a biochemické** složení
- **Krmné pokusy** na savcích, ptácích, rybách v případě potřeby hmyzu (včely)
- **Testování alergenity**

ŽÁDNÉ JINÉ PLODINY SE TAKTO NETESTUJÍ

MÁME SE BÁT BAKTERIÁLNÍCH GENŮ V GMO?

- **Sója, řepa, řepka, kukuřice a další transgenní odrůdy nesou geny půdních bakterií.**
- **Těch je kolem miliardy v gramu ornice.**
- **Vyhl. MZd 294 ze 28.11.1997 povoluje až 100 milionů bakterií v gramu potravin. Jíme tedy až 100 miliard bakterií denně (= asi 300 bilionů genů).**
- **Z nich 5 až 15 % je rezistentní na antibiotika. Geny rezistence se snadno předávají bakterie-bakterie, ale přenos rostlina-bakterie je neprokázaný.**
- **Rezistence na lékařsky významná antibiotika se ve vývoji transgenních odrůd nepoužívají.**

PROČ TEDY OBAVY?

- Od konce 80. let min. století vedou militantní zelení a nátlakové organizace za podpory EU kampaň na vytvoření odporu veřejnosti ke GMO.
- Tím vznikla „GMO psychóza“ (David Byrne), která měla odstranit poptávku po výrobcích obsahujících GMO. Ty jsou **typické pro dovoz** levnějších a dotovaných produktů z amerického kontinentu.
- Naproti tomu radiační šlechtění se **běžně používá v Evropě**, proto je prohlášeno za bezpečné.
- Navíc vývoj GMO je finančně velmi nákladný – vyhrazen nadnárodním firmám – objekt levicových útoků.

„DŮKAZY“ AGITÁTORŮ

- 1) **Sója s alergenem para ořechů:**
 - Firma Pioneer chtěla zvýšit obsah methioninu v **KRMNÉ** sóji přenesením genu z para ořechů. Při testech se zjistilo, že byl přenesen i alergen para ořechu, takže další vývoj byl zastaven. **Nikdy se nedostala k pěstování a na trh.** Tento příklad ukazuje na důkladnost kontrol a zodpovědnost firem.
- 2) **Hrášek rezistentní k hmyzu:**
 - Pro obranu proti zrnokazu se do hrachu přenesl gen z fazole pro inhibitor α -amylázy. Testovala se možnost odlišné posttranslační úpravy. Skutečně se po orálním podání kaše z GM hrachu navodila imunitní odpověď prokazatelná kožním testem. **Také v tomto případě byl vývoj zastaven.**

V ČR JE JAKO POTRAVINA POVOLENA GM RR-SÓJA A Bt KUKUŘICE.

- **Sója má dnes několik GM odrůd, v EU je však povolena jen odrůda necitlivá na glyfosát (díky genu půdní bakterie), tzv Roundup-Ready sója firmy Monsanto.**
- **Bt kukuřice MON 810 se pěstuje u nás, loni na 5000 ha. Vesměs použita jako krmivo.**
- **RR-sóji se během 10 let pro potraviny a krmivo spotřebovalo kolem 800 milionů tun (v EU 30 mil t ročně), aniž byl dokumentován jediný případ zdravotních problémů spojených s transgenosí.**

Výroba potravin pomocí GMM

FAO/WHO/dokument

WHO/SDE/PHE/FOS/013

- **Potravina nebo potravní doplněk obsahuje živé GMM**
- **Potravina nebo potravní doplněk neživé GMM**
- **Potravina nebo potravní doplněk je produktem procesu využívajícího GMM, které byly z produktu odstraněny**