



VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE



Akademie věd
České republiky

Strategie AV21

Špičkový výzkum ve veřejném zájmu

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?

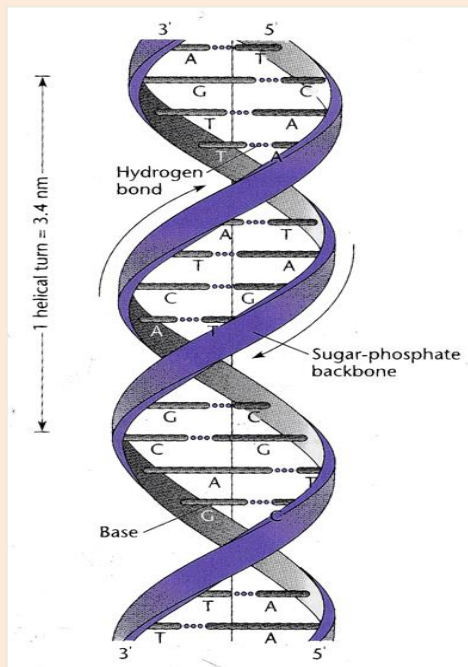
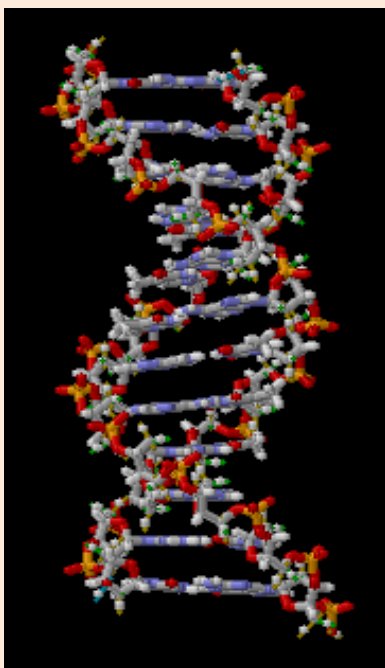




Obsahuje rajče geny?

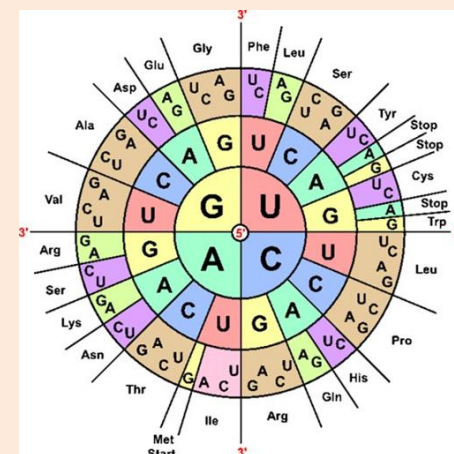
- **Ano**

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**

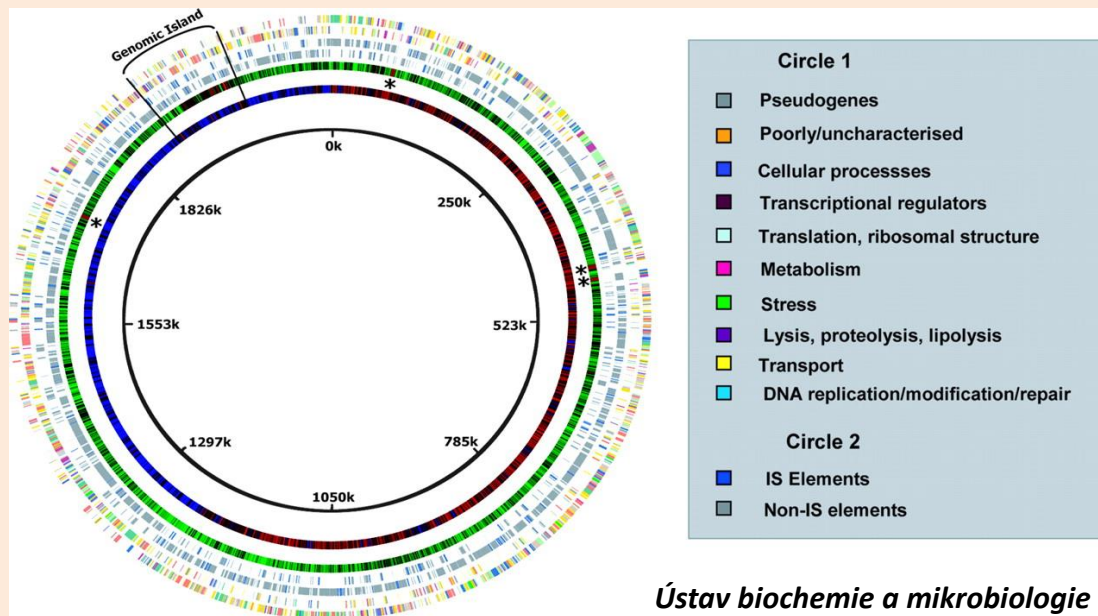
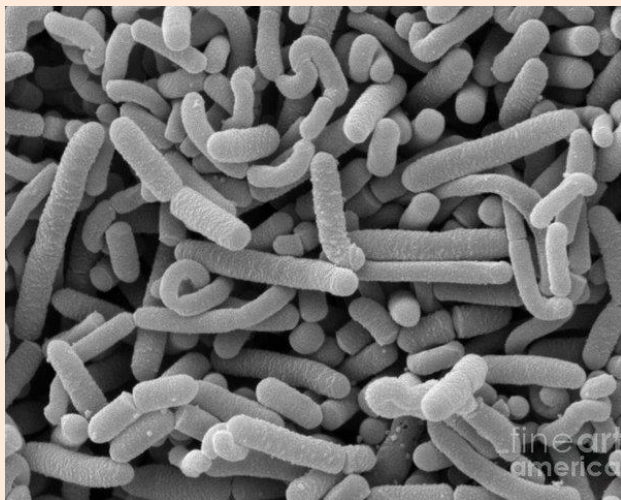


Jíme geny?

- Ano

Kolik asi?

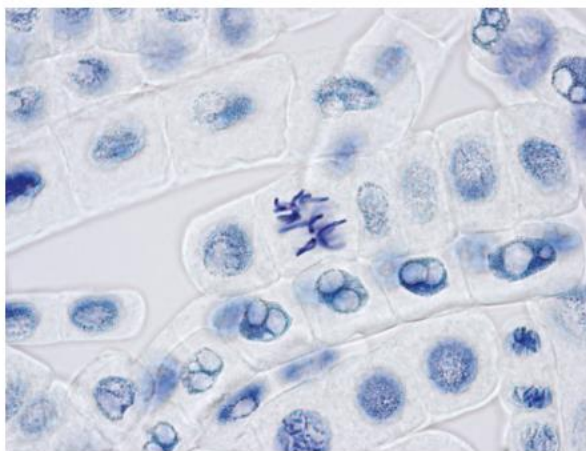
1 gram např. 10^7 bakterií 1 bakterie $3 \cdot 10^3$ genů
V gramu třeba jogurtu $3 \cdot 10^{10}$ genů



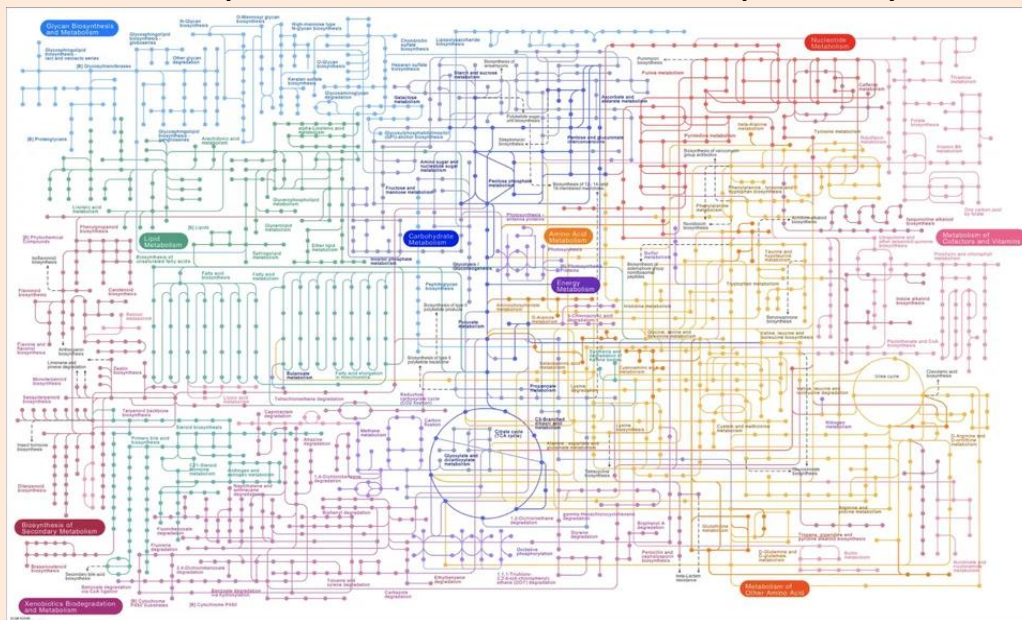
Geny v potravinách

- 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



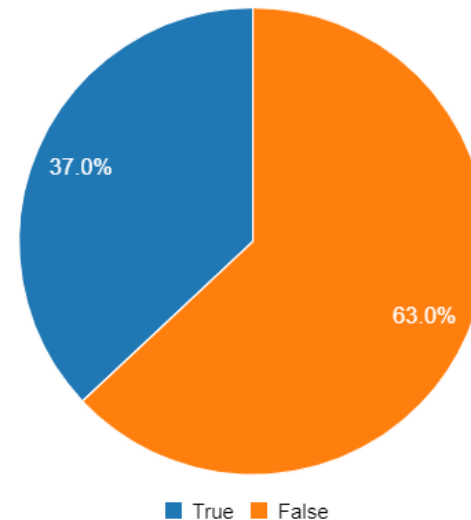
US - 2017



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

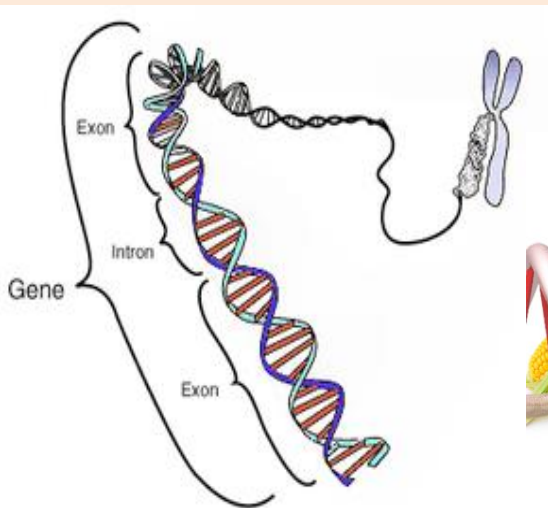
The Michigan State University Food Literacy and Engagement Poll was conducted online between July 6 and 8, 2017, among 1,059 U.S. residents aged 18 and over. Figures for age, sex, race/ethnicity, education, region and household income were weighted where necessary to bring them into line with their actual 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



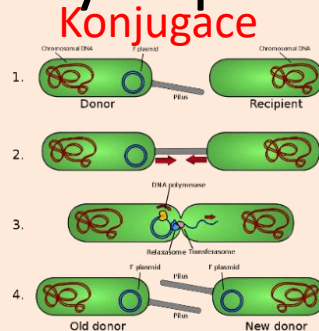
- u huseníčku *Arabidopsis* bylo předpovězeno více než 26 500 genových lokusů, zatímco u rýže až 41 000. Nedávná analýza genů topolu předpovídá více než 45 000 genů a částečná sekvenční data z tolíce (*Medicago*) a leknín naznačují, že tyto rostliny obsahují více než 40 000 genů.

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

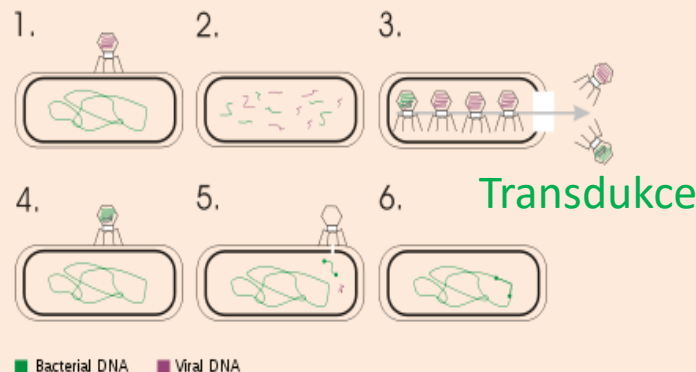


Jak to vlastně začalo?

- využití přirozených pochodů v bakteriálních buňkách

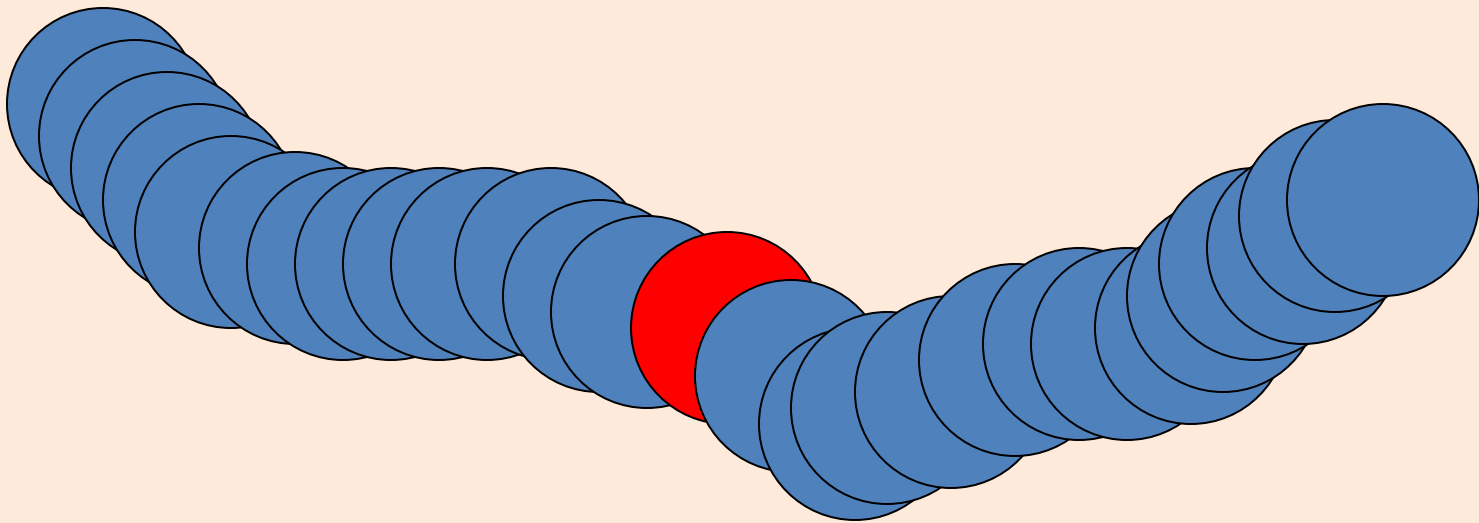


- konjugace
- transformace – příjem DNA z okolního prostředí
- transdukce
- Mutace – dědičná změna genotypu



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

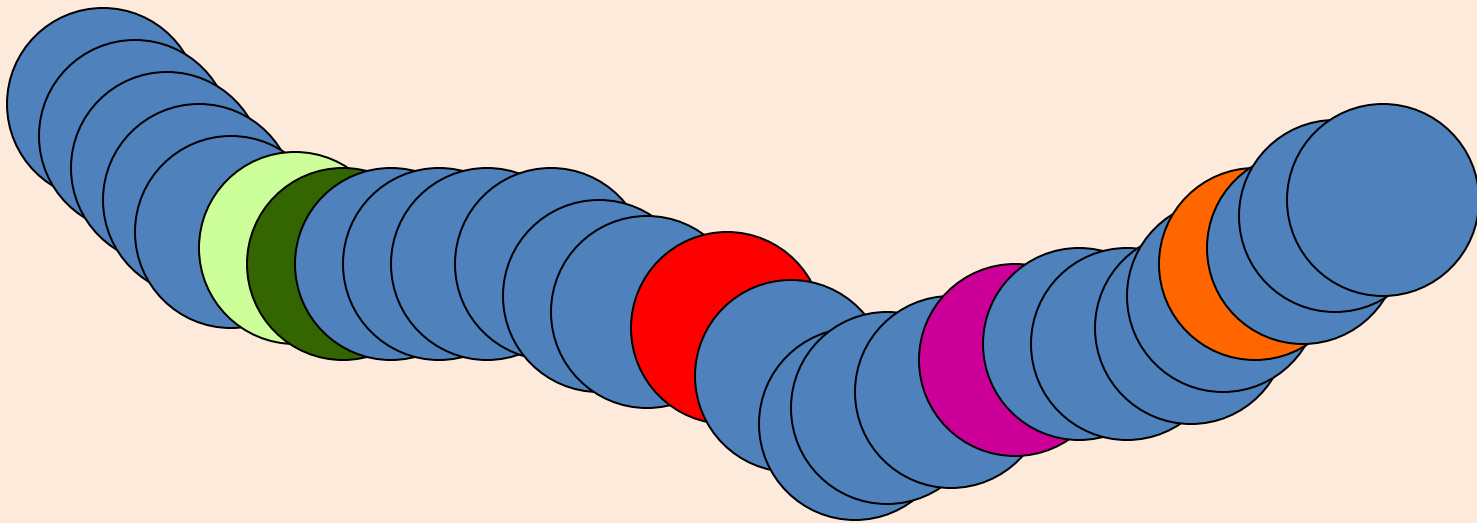
MUTACE - vytváří nové geny změnou existujících



a) přirozená (spontánní)

NÁHODNÁ ZMĚNA V OMEZENÉ ČÁSTI DNA

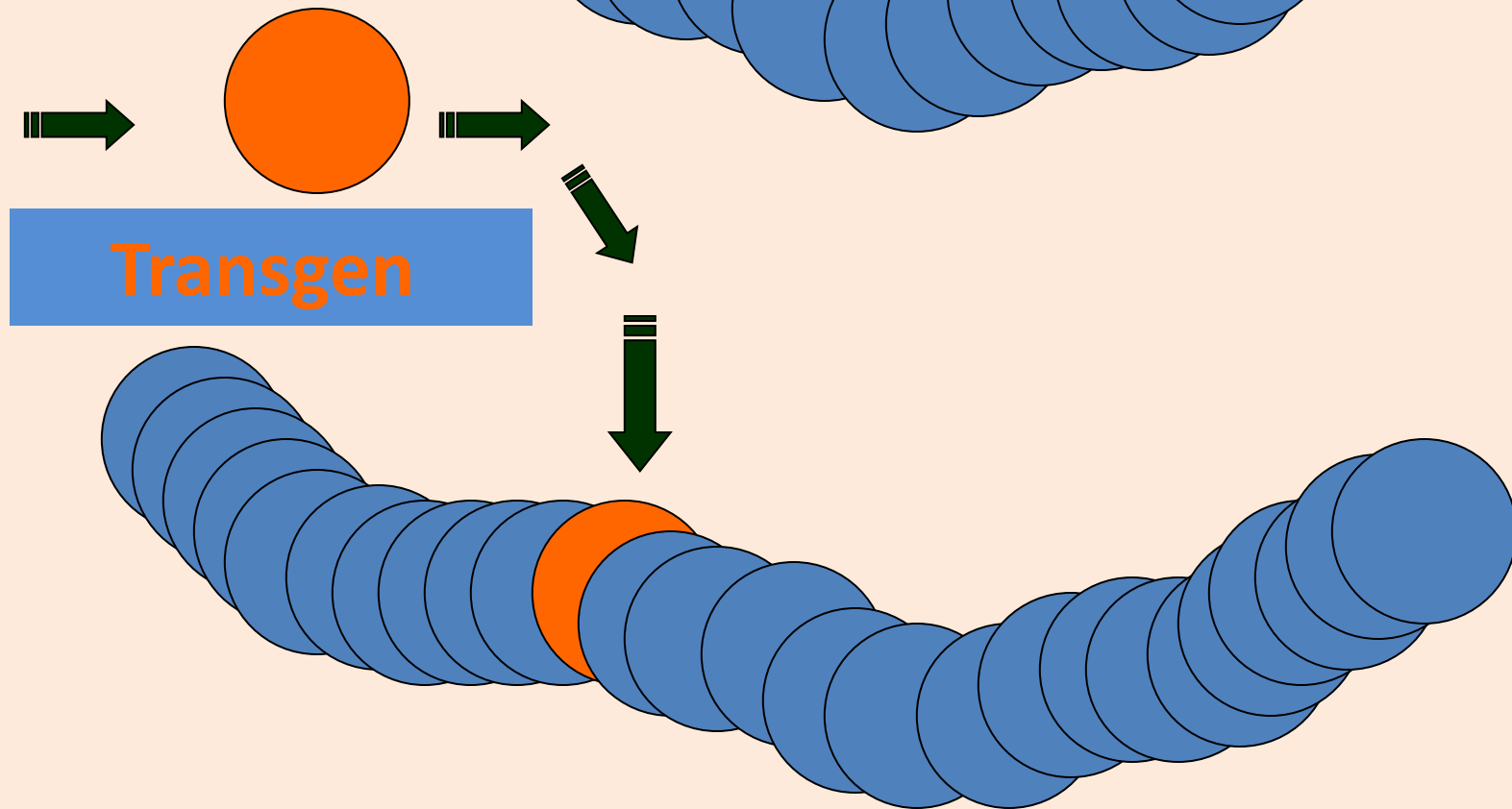
MUTACE



b) působení mutagenu (indukovaná mutageneze)

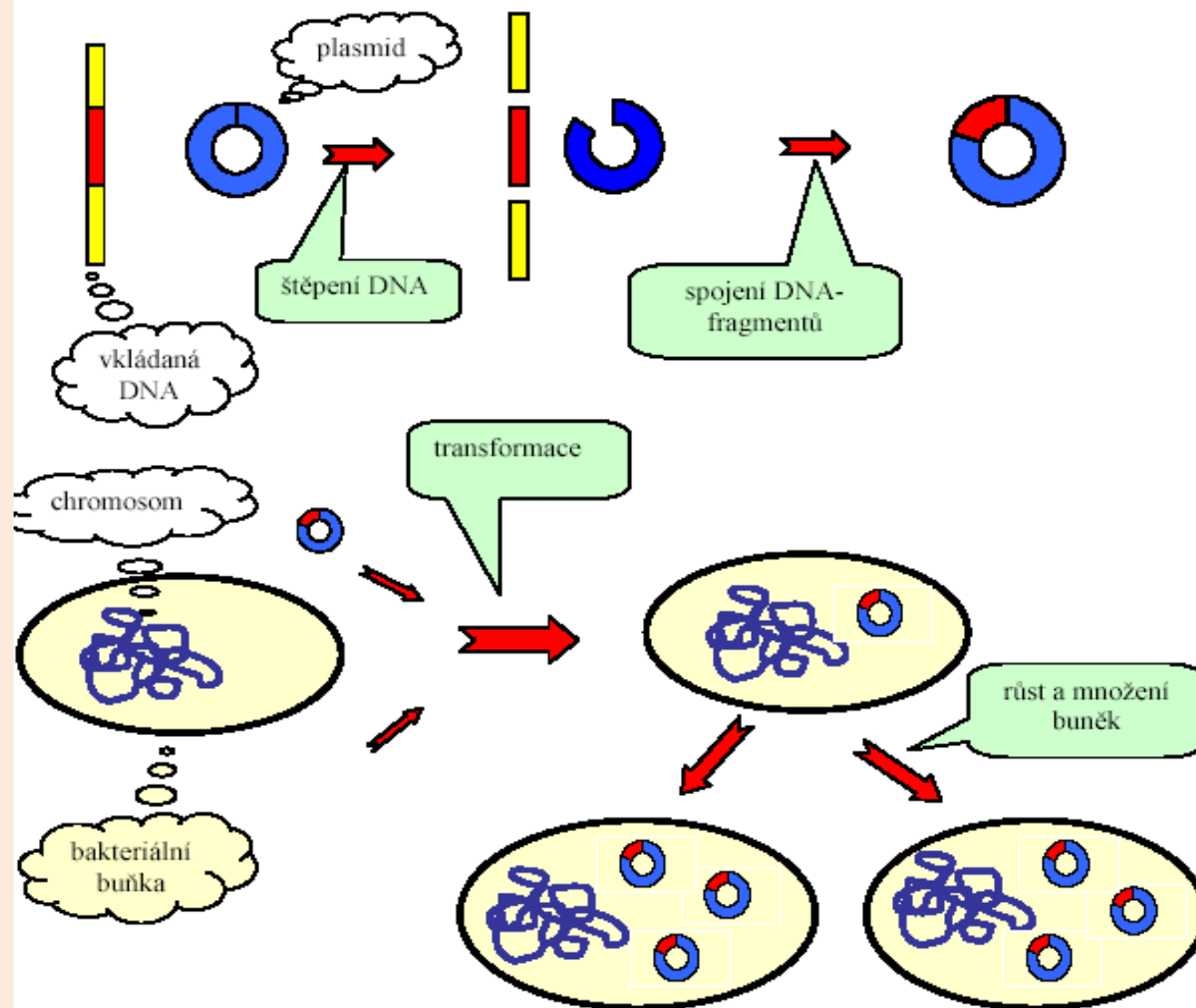
**NÁHODNÉ ZMĚNY V MNOHA MÍSTECH,
VZNIK ZCELA NEPŘÍROZENÝCH SEKVENCÍ**

TRANSGENOSE



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)

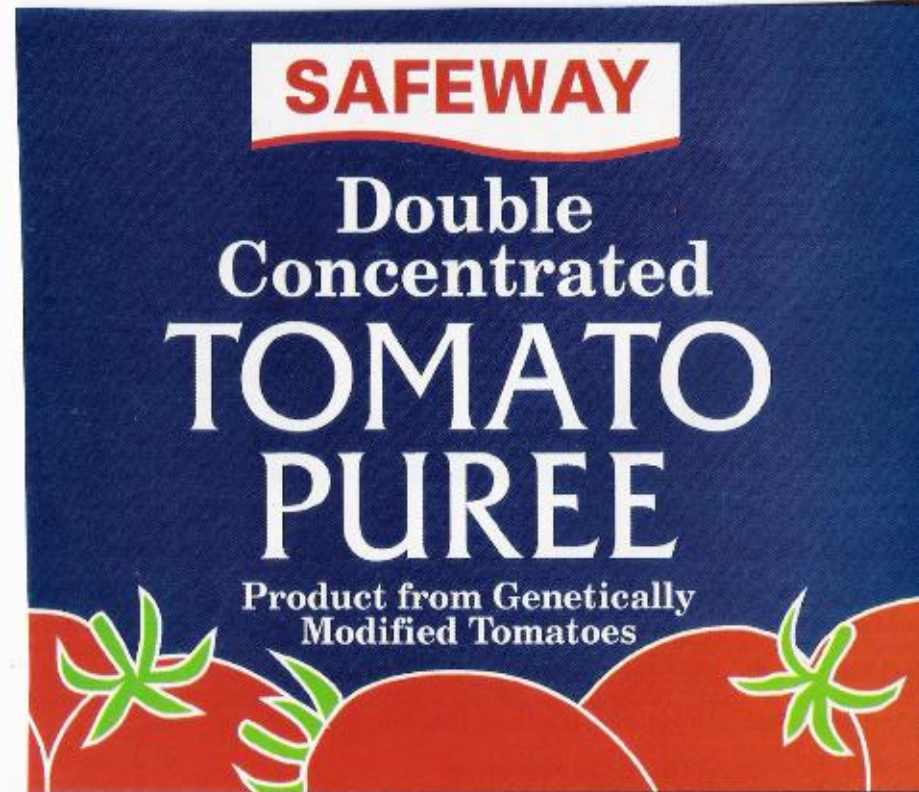
Mají GMO mimořádné postavení?

- 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)

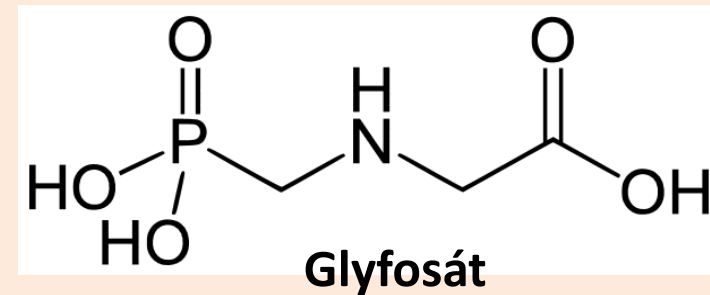
**Etiketa první geneticky modifikované
potraviný prodáváné v Evropě**



- 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 nevylučuje, ale podmínkou je právě nalezení náhrady.

27.1.2019

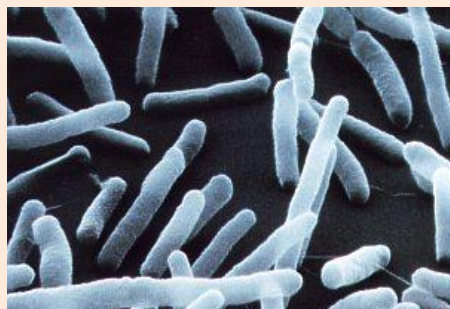
Česká republika

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.

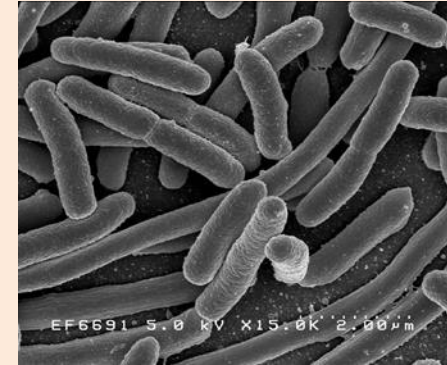
Vyhláška, kterou se mění vyhláška **č. 209/2004 Sb.,** o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů

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



Typy nakládání s GMO

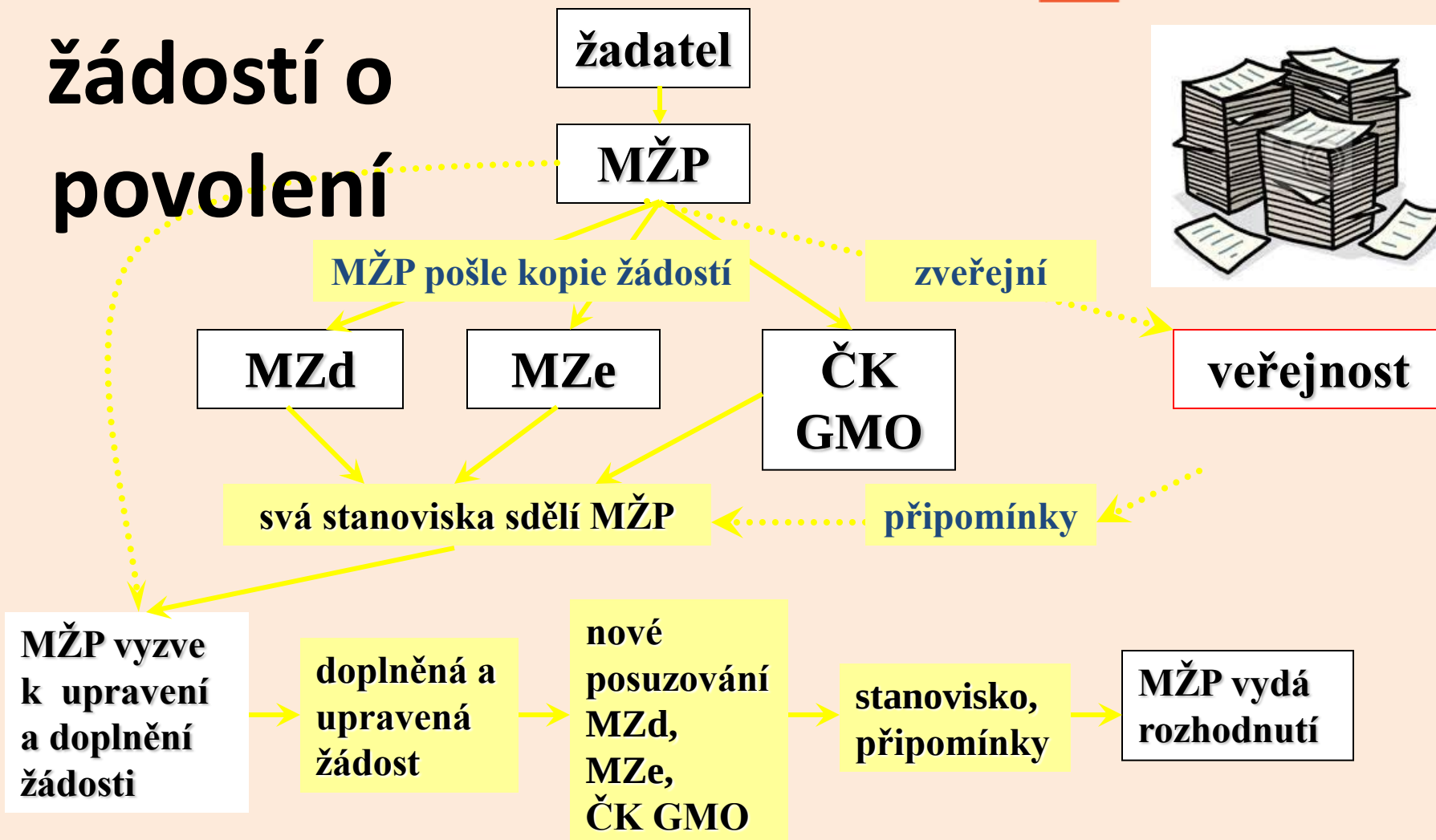
- v ČR definovány zákonem č. 78/2004 Sb.
 - **uzavřené** nakládání s GMO
(v uzavřeném prostoru – laboratoře, skleníky)
 - uvádění GMO do **životního prostředí**
(pokusy na poli, pěstování na malých plochách)
 - uvádění GMO do **oběhu**
(dovoz, zpracování, prodej, pěstování)



Posuzování žádostí o povolení



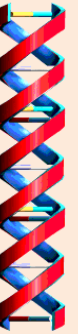
VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE



- **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



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

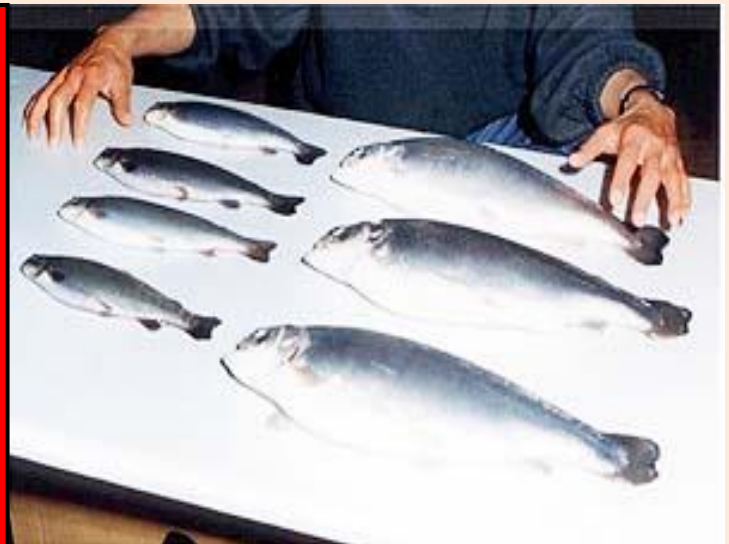
- **GMO rostliny**



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

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



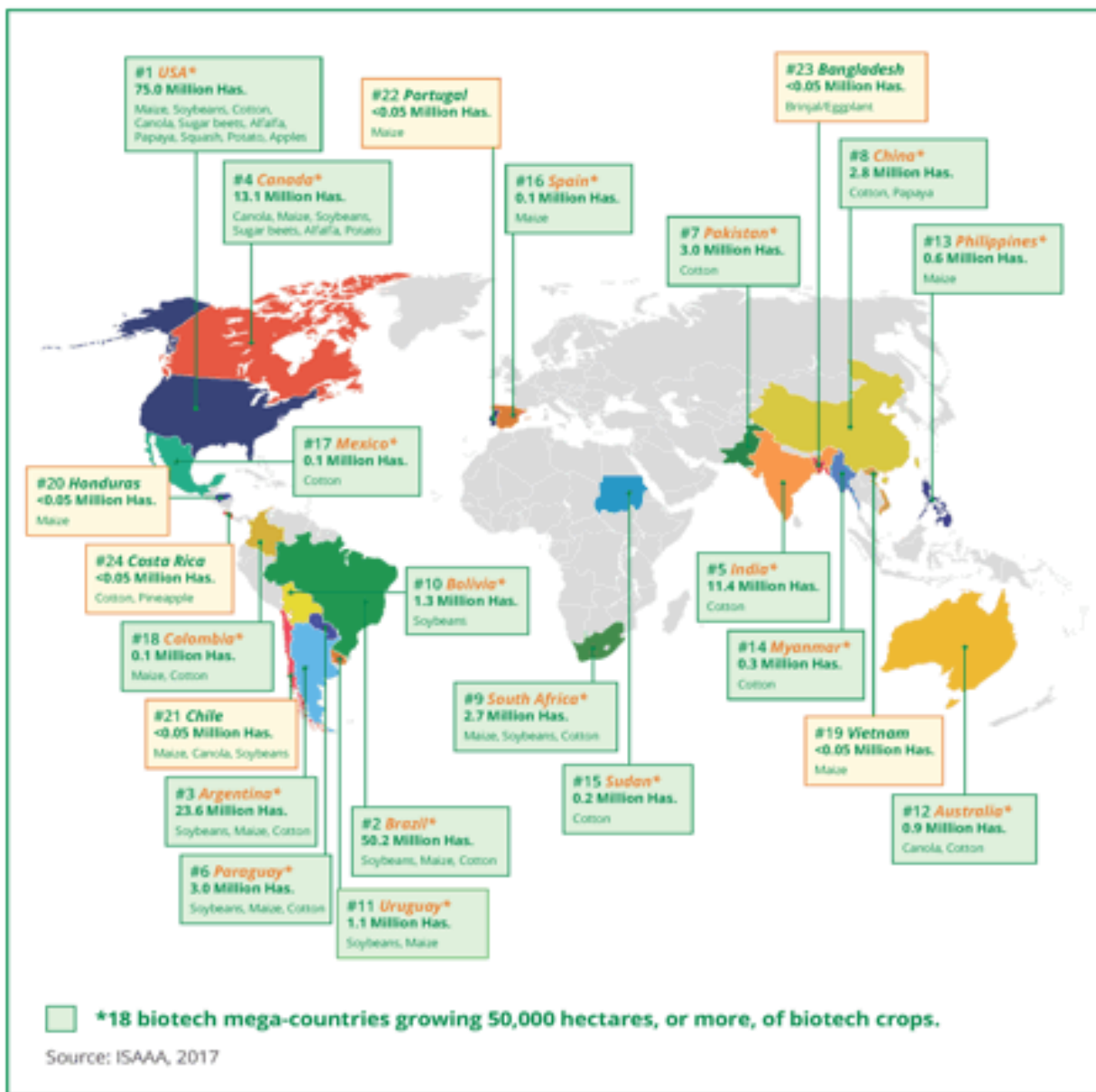
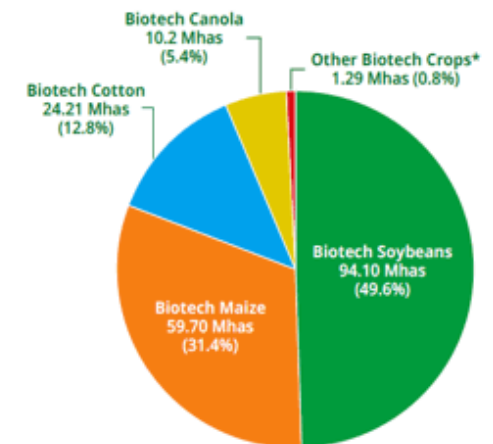


Figure 1. Global Map of Biotech Crop Countries and Mega-Countries in 2017

ISAAA

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



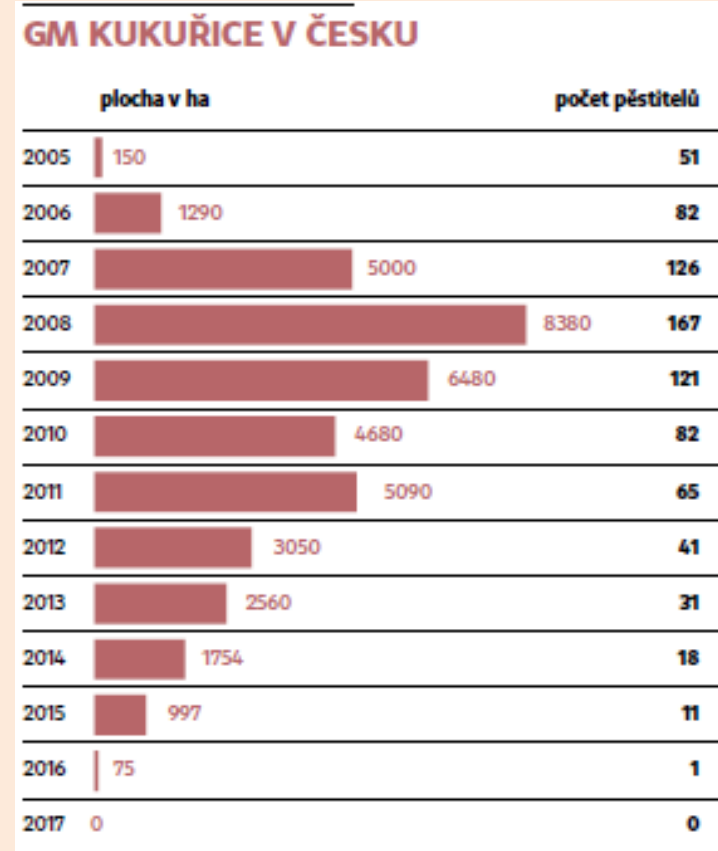
* Biotech sugar beets, potato, apples, squash, papaya, and brinjal/eggplant.

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

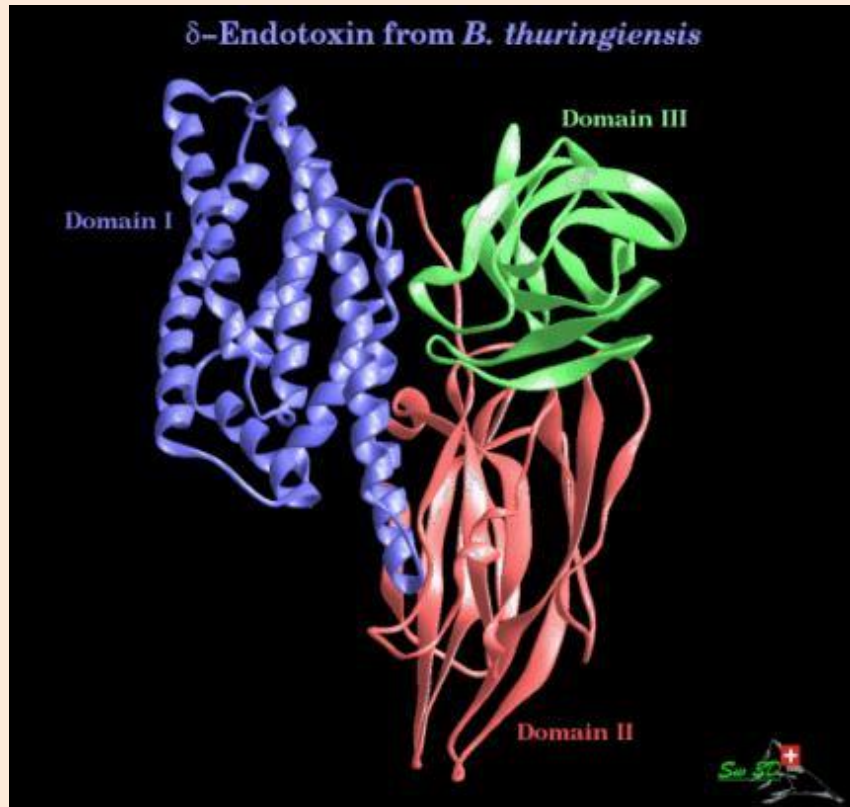


Brambor Amflora

- 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**

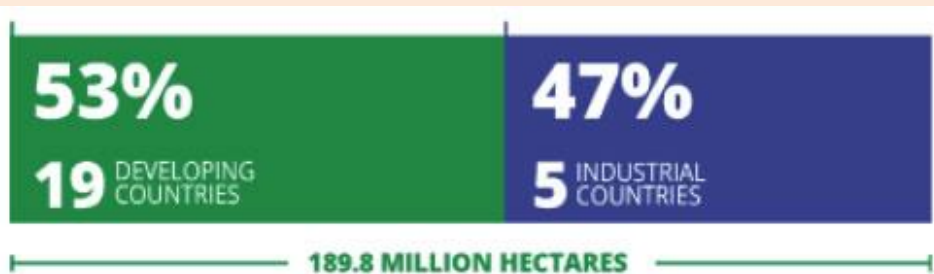


FIGURE 2.
DISTRIBUTION OF BIOTECH CROPS IN DEVELOPING
AND INDUSTRIAL COUNTRIES IN 2017

Source: ISAAA, 2017

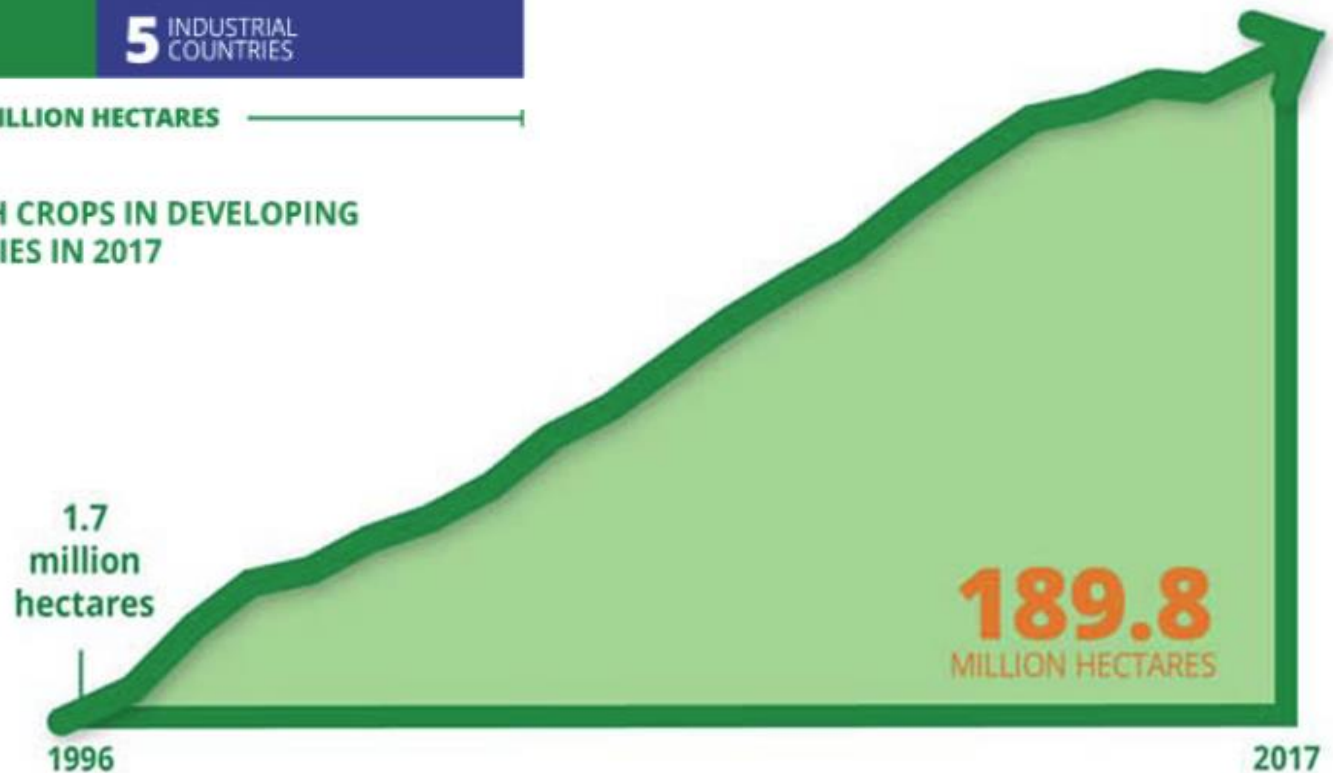


FIGURE 1. GLOBAL AREA OF BIOTECH CROPS, 1996 TO 2017 (MILLION HECTARES).

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

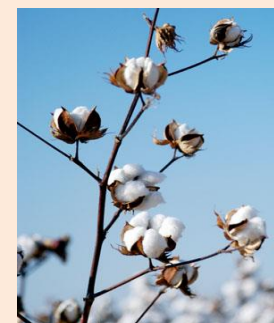
Odhad rizik GMO

- 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 !!

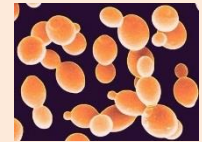
Děkuji za pozornost



Doplňující informace

Kategorie rizika

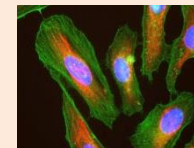
Kategorie rizika se vztahují k činnosti



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)

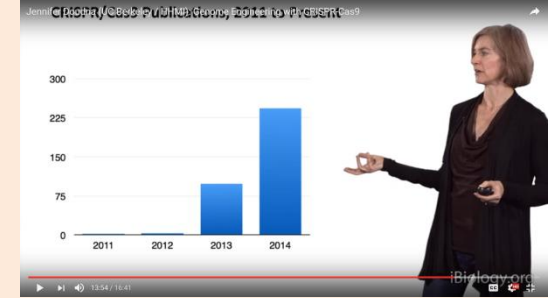


Čtvrtá kategorie: činnost s vysokým rizikem (např. ebola)

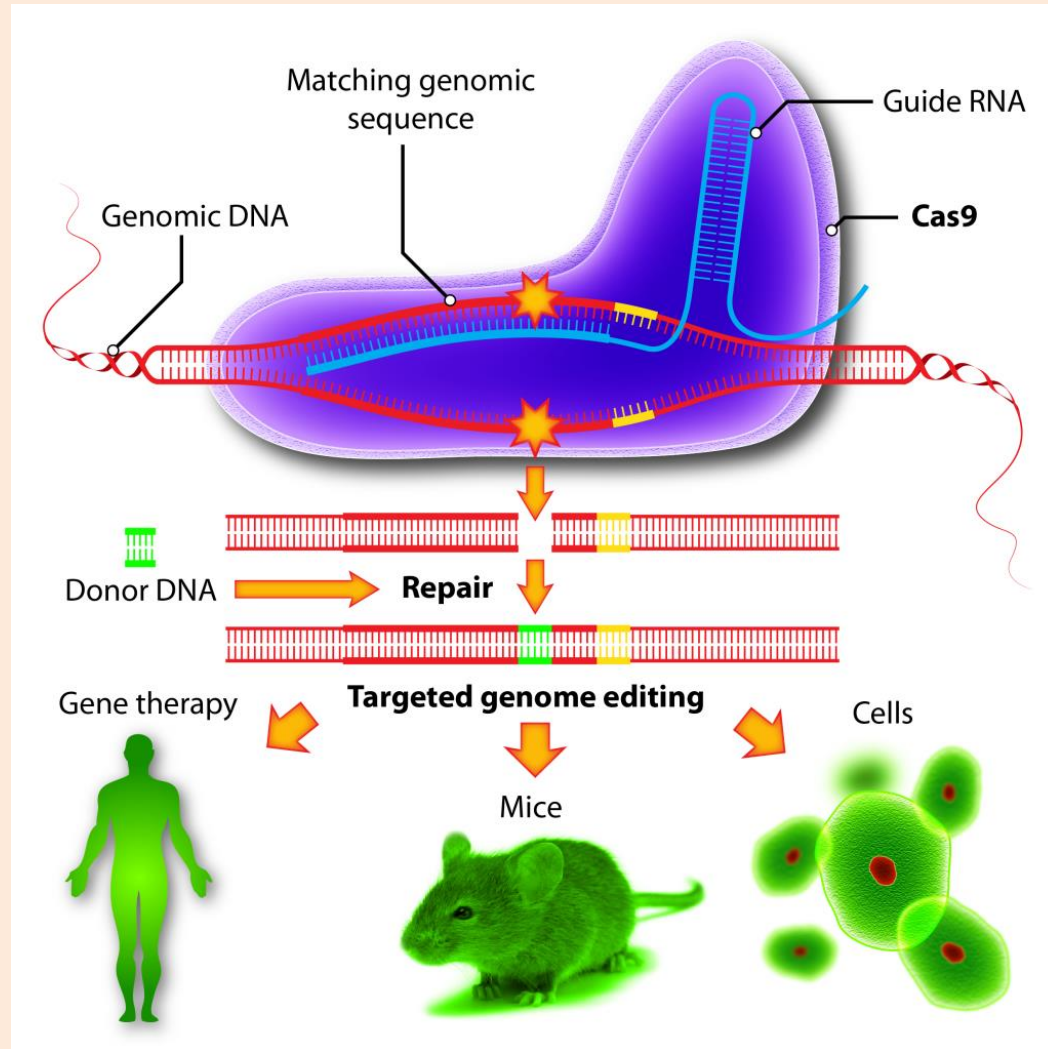
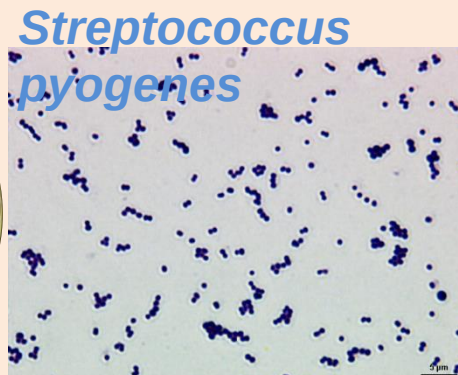


CRISPR/Cas9

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

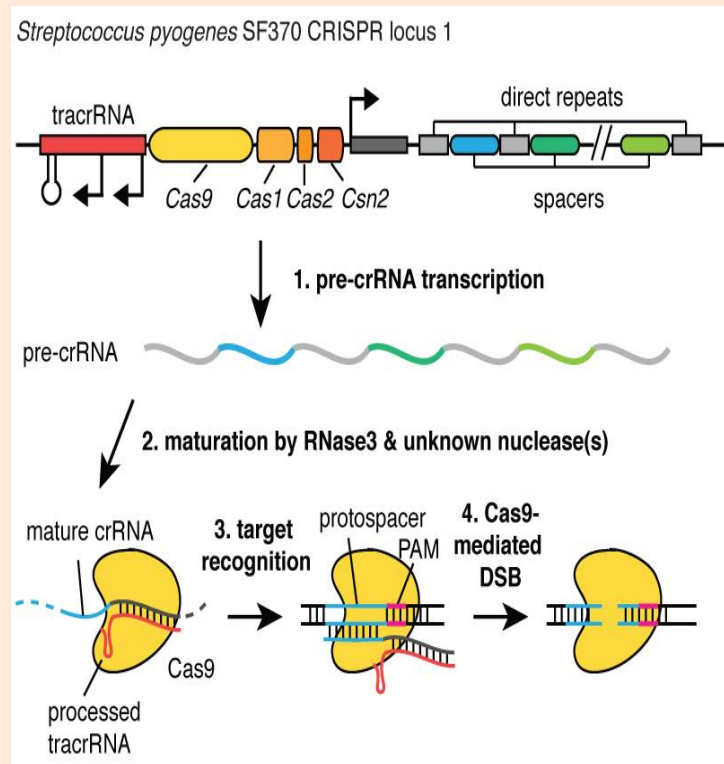
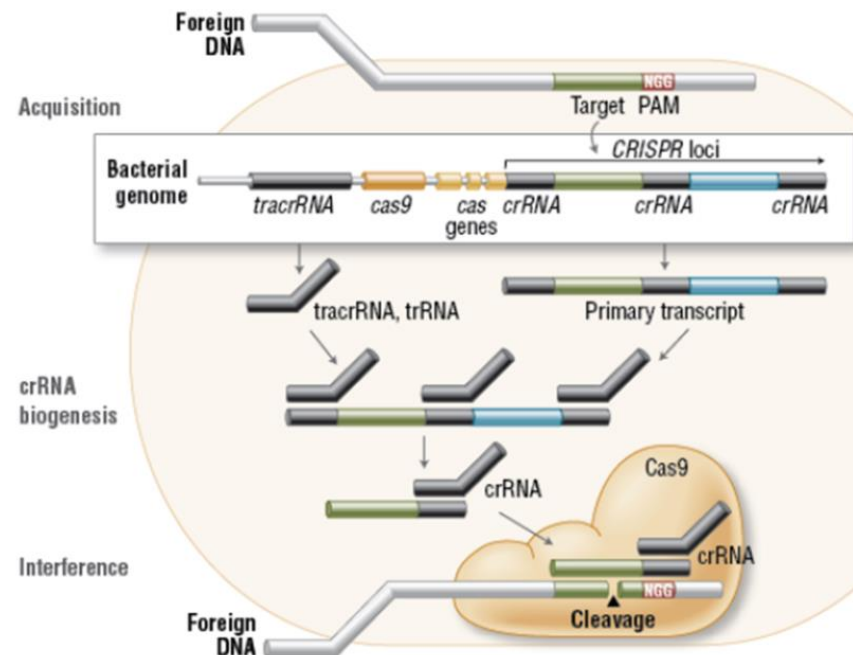


Figure 1. Cas9 *in vivo*: Bacterial Adaptive Immunity



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 nadnárodními 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**