

Vino pellite curas – Winem rozpraszajcie troski
(Horatius)

Ficum cupit – Chce figi, potrzebuje czegoś (dlatego
taki uprzejmy)



SPOTKANIE (2001 r.) - WITOLD PAŁKA
ur. Katowice 1928 r., olej na płótnie 50 x 70 cm

Wprowadzanie DNA do komórek eukariotycznych oraz rekombinacja DNA in vitro (metody transfekcji) możliwość rozwoju biotechnologii pozwalającej na świadome modyfikacje genotypów organizmów wyższych.

Organizmy transgeniczne – nosiciele heterologicznych genów we wszystkich komórkach, w tym rozrodczych oraz posiadających nowe pożądane cechy fenotypowe.

Rośliny transgeniczne

Zjawisko transfekcji w przyrodzie – u roślin dwuliściennych zainfekowanych bakteriami glebowymi z rodziny *Rhizobiaceae*.

Bakterie powodują powstanie :
nowotworowych narośli u podstawy pędów – *Agrobacterium tumefaciens*
rakowatych korzeni włośnikowych – *Agrobacterium rhizogenes*.

W chromosomach tych komórek są wbudowane obce odcinki DNA.

Klasa jednoliściennych – zboża niepodatna na infekcję bakteriami, inne metody.

Zwierzęta transgeniczne

Geny heterologiczne powinny zostać wbudowane do komórek rozrodczych.

Obcy DNA wprowadza się in vitro na drodze mikroiniekcji do jednego z dwóch przedjądrzy zapłodnionej komórki jajowej tzw. zygoty.

Inna metoda użycie plemników transfekowanych obcym DNA.

Wydajność transgenizacji zwierząt od 4% dla myszy do 1% u zwierząt hodowlanych.

Zwierzęta transgeniczne bardziej podatne na choroby i w wielu przypadkach bezpłodne.

Zwierzęta transgeniczne – zastosowanie jako bioreaktorów przy produkcji farmaceutyków.

Myszy o zmienionym w sposób kontrolowany genotypie – układy modelowe w laboratoriach badawczych.

Dz.U. 2001 nr 76 poz. 811
Ustawa z dnia 22 czerwca 2001 r.
o organizmach genetycznie zmodyfikowanych. [br]

<i>Status aktu prawnego:</i>	obowiązujący
<i>Data wydania:</i>	2001.06.22
<i>Data wejścia w życie:</i>	2001.10.26
<i>Data obowiązywania:</i>	2001.10.26
<i>Uwagi:</i>	Art. 9, art. 10, art. 12 i art. 13 wchodzi w życie z dniem 25 lipca 2001 r.
<i>Organ wydający:</i>	SEJM
<i>Akty zmienione:</i>	Dz.U. 1981 nr 6 poz. 23 2001.10.26 Dz.U. 1991 nr 77 poz. 335 2001.10.26 Dz.U. 1995 nr 90 poz. 446 2001.10.26 Dz.U. 1995 nr 149 poz. 724 2001.10.26 Dz.U. 1997 nr 141 poz. 943 2001.10.26 Dz.U. 2000 nr 109 poz. 1157 2001.10.26 Dz.U. 2000 nr 86 poz. 960 2001.10.26
<i>Akty uznane za uchylone:</i>	Dz.U. 1999 nr 86 poz. 962 2002.07.27
<i>Odesłania:</i>	Dz.U. 1995 nr 88 poz. 439 Dz.U. 1997 nr 23 poz. 117
<i>Akty wykonawcze:</i>	Dz.U. 2002 nr 19 poz. 196 Dz.U. 2002 nr 43 poz. 406 Dz.U. 2002 nr 73 poz. 674 Dz.U. 2002 nr 87 poz. 797 Dz.U. 2002 nr 107 poz. 944
<i>Akty zmieniające:</i>	Dz.U. 2001 nr 100 poz. 1085 2001.10.01 Dz.U. 2002 nr 25 poz. 253 2002.04.01 Dz.U. 2002 nr 41 poz. 225 2002.05.01

Akty zmieniające:

Dz.U. 2002 nr 41 poz. 365 Ustawa z dnia 20 marca 2002 r. o przekształceniach w administracji celnej oraz o zmianie niektórych ustaw.

Dz.U. 2001 nr 100 poz. 1085 Ustawa z dnia 27 lipca 2001 r. o wprowadzeniu ustawy - Prawo ochrony środowiska, ustawy o odpadach oraz o zmianie niektórych ustaw.

Dz.U. 2002 nr 25 poz. 253 Ustawa z dnia 1 marca 2002 r. o zmianach w organizacji i funkcjonowaniu centralnych organów administracji rządowej i jednostek im podporządkowanych oraz o zmianie niektórych ustaw.

Ustawa nie stosuje się do modyfikacji genetycznych genomu ludzkiego.

Organizm – każda jednostka biologiczna, komórkowa lub niekomórkowa, zdolna do replikacji i przenoszenia materiału genetycznego, łącznie z wirusami i wiroidami; przez organizm rozumie się również kultury tkankowe roślin i zwierząt oraz plazmidy.

Organizmy genetycznie zmodyfikowane – organizm inny niż organizm człowieka, w którym materiał genetyczny został zmieniony w sposób niezachodzący w warunkach naturalnych wskutek krzyżowania lub naturalnej rekombinacji.

Stosowane techniki:

Rekombinacja DNA z użyciem wektorów, w tym tworzenia materiału genetycznego poprzez włączenie do wirusa, plazmidu lub każdego innego wektora cząsteczki DNA wytworzonych poza organizmem i włączenie ich do organizmu biorcy.

Bezpośrednie włączenie materiału dziedzicznego przygotowanego poza organizmem techniką: mikroiniekcji, makroiniekcji i mikrokapsułkowania.

Metody niewystępujące w przyrodzie dla połączenia materiału genetycznego co najmniej dwóch różnych komórek.

Dawca – organizm, z którego pobierane jest DNA

Biorca – organizm, do którego wprowadzane jest DNA.

Wektor – cząsteczka DNA, która pozwala na wprowadzenie i stabilne utrzymanie cząsteczek DNA w organizmie biorcy.

Insercja – odcinek DNA włączony do genomu biorcy.

Plazmid – kolista pozachromosomowa struktura zdolna do niezależnej od biorcy replikacji cząstek DNA.

Za techniki prowadzące do otrzymania GMO, nie uważa się:
zapłodnienia in vitro,
klonowania komórek somatycznych i rozrodczych.



<http://www.connectotel.com/gmfood/>

MSZ

Niektóre z produktów GMO zaakceptowanych przez Komisję Europejską w drodze artykułu 16 dyrektywy nr 90/220 (Stan na 1 kwietnia 2001 r.)

Szczepionka przeciwko wściekliznie – 1993 r.

Nasiona tytoniu odpornego na herbicyd odmiana ITB 1000 OX – 1994 r.

Ziarna soi ze zwiększoną tolerancją na herbicyd glifosat – 1996 r.

Genetycznie zmodyfikowany rzepak (MS1, RF2) – 1997 r.

Test do wykrycia pozostałości antybiotyku w mleku – 1997 r.

Goździk o przedłużonym okresie trwałości w wazonie – 1998 r.

Goździk ze zmodyfikowanym kolorem kwiatu – 1998 r.

Cele modyfikacji stosowanych w roślinach

Wykorzystanie potencjału biologicznego roślin.

Zaniechanie stosowania środków zewnętrznych – herbicydów, insektycydów, etylenu do stymulacji dojrzewania.

Poprawienie parametrów technologicznych – np. odporności na szkodniki.

Obniżenie kosztów produkcji.

Zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska.

Typy modyfikacji stosowanych w roślinach

Wprowadzanie do roślin genów odpowiedzialnych za:

syntezę związków odstrasżających owady

syntezę enzymów rozkładających herbicydy

Rośliny najczęściej ulepszone przy pomocy biotechnologii

Soja tytoń

kukurydza

rzepak

bawełna

Brokuły

burak cukrowy

cykoria

groch

grusza

jabłoń

jęczmień

kalafior

kiwi

koniczyna

len

lucerna

marchew

melon

ogórek

orzech włoski

papaja

papryka

petunia

pomidor

pszenica

rzodkiew

sałata

seler

słonecznik

szparagi

topola

truskawka

trzcina cukrowa

ziemniak

Modyfikacje przeprowadzane w roślinach

Rzepak, soja, bawełna, pszenica – odporność na określony herbicyd

Rzepak – wyższa zawartość tłuszczu

Soja – obniżona zawartość kwasu palmitynowego

Jabłka, kukurydza – odporność na szkodniki

Brokuły – spowolnienie dojrzewania

Truskawka – mrozoodporność

Seler i marchew – zachowanie kruchości

Cykoria – zwiększenie dostępności cukrów

Kawa – lepszy aromat, obniżenie zawartości kofeiny

Ziemniaki – odporność na stonkę i wirusy

Pomidory, banany, kiwi uzyskuje się przedłużoną trwałość i poprawione cechy produkcyjne

Winogrona – odmiany bezpestkowe

Powierzchnia upraw genetycznie zmodyfikowanych roślin w skali globalnej

Rok	Powierzchnia upraw w ha (mln)	Wzrost (%)
1996	1,7	100
1997	11,0	647
1998	27,8	1635
1999	39,9	2347

Źródło: Clive James, *Global review of Transgenic Plants*, ISAA Briefs, Ithaca, 2000, USA.

Powierzchnia upraw roślin

Kraj	% powierzchni
USA	72
Argentyna	17
Kanada	10
Chiny	1
Australia	<1
Afryka Płd.	<1
Meksyk	<1
Hiszpania	<1
Francja	<1
Portugalia	<1
Rumunia	<1
Ukraina	<1
	=100

Clive James, Global review of transgenic plants , ISAA Briefs, Ithaca 2000, USA

Najczęściej uprawiane są:

Soja - 25,8 mln ha – 60% całej powierzchni
roślin genetycznie zmodyfikowanych

Kukurydza – 7 mln ha – 15%

Bawełna – 5 mln ha – 11%

Rzepak – 3 mln ha – 7%

Produkcja roślin transgenicznych w Polsce

2. Nie – jeżeli chodzi o uprawy komercyjne. Komercjalizacja jest możliwa w oparciu o ustawę o GMO z 22.06.2001 r.
3. Tak – uprawy eksperymentalne. Od 1997 r. w Polsce przeprowadzane są eksperymentalne uprawy roślin transgenicznych w wybranych ośrodkach pod nadzorem kuratorów z ramienia odpowiednich agend rządowych.

Żywność genetycznie modyfikowana

Jest to żywność wyprodukowana z roślin lub zwierząt lub za ich pomocą, które zostały wcześniej ulepszone za pomocą technik inżynierii genetycznej.

Są to artykuły spożywcze zawierające produkty modyfikacji genetycznej:

- żywność będąca GMO (np. świeże pomidory i ziemniaki),
- żywność zawierająca przetworzone GMO (np. koncentraty zup z pomidorów, frytki mrożone),
- żywność zawierająca przetworzone GMO (np. czekolada zawierająca lecytynę z transgenicznej soi),
- żywność produkowana z zastosowaniem GMO (np. chleb pieczony z wykorzystaniem transgenicznych drożdży, piwo i inne produkty fermentacji alkoholowej produkowane z zastosowaniem drożdży transgenicznych),
- produkty żywnościowe pochodne GMO, lecz nie zawierające żadnych komponentów „transgenicznych” (np. olej rzepakowy otrzymywany z transgenicznego rzepaku, cukier z transgenicznych buraków).

Znaczenie ekonomiczne roślin genetycznie zmodyfikowanych

Soja i kukurydza GM ma zasadnicze znaczenie jako składnik artykułów żywnościowych oraz jako pasze.

Produkty konsumpcyjne otrzymywane z roślin i organizmów GM (np. oleje, dodatki takie jak lecytyna, drożdże czy bakterie stosowane w przetwórstwie).

Wzrost znaczenia żywności funkcjonalnej, czyli wzbogaconej w cenne składniki, np. mikroelementy, otrzymywanej z zastosowaniem technik inżynierii genetycznej.

Występowanie żywności genetycznie zmodyfikowanej w Polsce

Na półkach sklepowych pojawiły się produkty (niektóre z nich są prawidłowo opisane), które zawierają soję genetycznie zmodyfikowaną, która została dopuszczona do obrotu na mocy wydanego zezwolenia przez ministra środowiska (dwa zezwolenia: pierwsze na import soi, drugie na mąkę sojową pochodzącą z genetycznie zmodyfikowanej soi) w myśl przepisów Rozporządzenia Ministra Ochrony Środowiska i Zasobów Naturalnych z 8 października 1999 r. *O organizmach genetycznie zmodyfikowanych*.

Główny Inspektor Sanitarny wydał zezwolenia na import następujących produktów genetycznie zmodyfikowanych:

- produkty z udziałem soi genetycznie zmodyfikowanej,
- produkty z udziałem kukurydzy genetycznie zmodyfikowanej,
- preparaty enzymatyczne otrzymywane z drobnoustrojów.

W wielu produktach spożywczych znajdują się produkty pochodne lub otrzymywane z soi lub kukurydzy (np. lecytyna, oleje).

Metody analityczne stosowane w identyfikacji żywności genetycznie zmodyfikowanej

Metody analizy białek – gdy występuje zwiększenie poziomu białka, określonej aktywności enzymatycznej, synteza nowego białka; elektroforeza na żelu poliakrylamidowym w obecności siarczanu dodecyłu (SDS-PAGE);

detekcja prążków białkowych po rozdiale elektroforetycznym i przeniesieniu na błonę z zastosowaniem specyficznych przeciwciał (Western blotting);

metoda enzymoimmunologiczna (ELISA).

Metody mało selektywne.

Metody analityczne stosowane w identyfikacji żywności genetycznie zmodyfikowanej cd.

Bardziej selektywne – jedno transgeniczne ziarno soi na 5000 nie modyfikowanych ziaren – 0,02%

Powszechnie stosowane techniki to porównanie ze wzorcem poprzez zastosowanie polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) i obrazu elektroforetycznego na żelu poliakryloamidowym (PAGE).

PCR umożliwia zwielokrotnienie ilości materiału (DNA), który jest wykrywany za pomocą czulej techniki analitycznej – PAGE.

Obie metody są bardzo wiarygodne i rutynowo stosowane w wielu laboratoriach. Ich wiarygodność została potwierdzona w dokumentach Komisji Europejskiej .

W szczególnych przypadkach stosowana jest również chromatografia gazowa połączona ze spektroskopią masową (GC MS).

Inna metoda – propozycja, wprowadzenie tzw. etykiety genowej, czyli odcinka DNA, który mógłby być wprowadzany do genetycznie modyfikowanych organizmów. Identyfikacja transgenicznej żywności – identyfikacja tego charakterystycznego odcinka

Problemy i zagrożenia związane z żywnością genetycznie zmodyfikowaną

Naruszanie zasad etyki – przeprowadzanie genów przez barierę płciową jest nienaturalne, niepożądane i stanowi naruszenie praw Boga.

Wprowadzanie genów zwierząt do komórek roślinnych – implikacje etyczno-religijne np. dla wegetarian (właściwe oznakowanie)

Zagrożenia molekularne wynikające z:

złożoności materiału biologicznego - niedokładności metod rekombinacji DNA

możliwości wzbudzenia mutacji niekontrolowanych poprzez inżynierowanie,

będące konsekwencją niejednoznaczności informacji genetycznej.

(Rutynowe badania przez wiele lat.)

Zagrożenia zdrowotne, wiążące się z możliwością wystąpienia:

- a) alergenów (gen orzecha brazylijskiego w soi – wycofano się),
- b) toksyn,
- c) odporności na antybiotyki.

Problemy i zagrożenia związane z żywnością genetycznie zmodyfikowaną cd.

Ryzyko dla środowiska – zapylenie naturalnych roślin pyłkiem pochodzącym z roślin transgenicznych. Wprowadzenie dodatkowych sekwencji DNA – tzw. blokującej i odblokowującej (blokująca sekwencja – uniemożliwia w naturalnych warunkach rozwój roślin hybrydowych. Odblokowywanie pod wpływem specyficznego czynnika chemicznego lub fizycznego – możliwość reprodukcji rośliny.)

Niecałkowita specyficzność białka Bt – toksyna Bt zabija dorosłe owady i ich gąsienice należące do rzędów motyli, muchówek i chrząszczy. Białko nie jest trujące dla innych owadów np. pszczoł.

Korzyść – stosowanie znacznie mniejszych ilości pestycydowych środków chemicznych.

WITAMINA A i Fe

Prace nad żywnością GMO były prowadzone przez japońskich naukowców oraz w ramach międzynarodowego programu naukowego finansowanego przez Unię Europejską pod nazwą „Carotene plus”.

Zgodnie z danymi WHO około 140-250 milionów dzieci na całym świecie cierpi z powodu braku witaminy A. Dostarczenie tylko tego jednego składnika mogłoby zmniejszyć śmiertelność wśród dzieci o ok. 25%.

Niedobór żelaza w organizmie to kolejna przyczyna problemów zdrowotnych w ponad 118 krajach świata. Jednocześnie ok. 30% ludności Azji cierpi na brak żelaza.

W tych krajach, gdzie występuje niedobór witaminy A i żelaza podstawowym składnikiem wyżywienia jest ryż. Dotyczy to prawie 2 miliardów ludzi.

Ryż nie zawiera łatwo bioprzyswajalnego żelaza ani witaminy A. Postanowiono przenieść geny odpowiedzialne za syntezę prowitaminy A oraz związków zdolnych do wiązania żelaza z takich organizmów, w których te procesy zachodzą samoistnie.

W przypadku **żelaza** dokonano tego w sposób następujący:

białko o nazwie ferrytyna, które występuje we wszystkich organizmach (ale w minimalnych ilościach w ryżu), jest odpowiedzialne za gospodarkę żelazem.

Białko to zdolne jest do związania nawet do 6000 tysięcy atomów żelaza dwuwartościowego (a zatem tego aktywnego biologicznie, uczestniczącego w procesie przenoszenia tlenu) w jednej cząsteczce białka.

Gen ferrytyny został wyizolowany przez japońskich naukowców z liści soi.

Za pomocą *Agrobacterium tumefaciens* gen ten został wprowadzony do genomu ryżu. Bakterie *Agrobacterium tumefaciens* charakteryzuje zdolność kolonizacji systemu genetycznego roślin.

Transformowane rośliny zawierały od jednej do kilku kopii genu ferrytyny. Cecha ta była stabilna (czyli przekazywana na kolejne generacje ryżu), jak również ulegała ekspresji, a zatem biosyntetyzowane było białko – ferrytyna, odpowiedzialne za przyswajanie żelaza.

Fe cd.

Cechy te potwierdzono poprzez immunodetekcję (czyli wykrywanie produktu ekspresji przez przeciwciała) na żelu poliakryloamidowym, w którym dokonywano rozdziału i wydzielenia produktów biosyntezy białka.

Wykryto w ten sposób, że najwyższe stężenie ferrytyny jest w bielmie nasion. W doświadczeniach polowych stwierdzono, że nasiona transgenicznego ryżu zawierają co najmniej trzykrotnie wyższy poziom żelaza, aniżeli „klasyczne” .

Badania prowadzone były przez grupę prof. Goto.

Witamina A

Grupa europejskich uczonych pod kierunkiem profesorów Petera Beyera (z Uniwersytetu we Freiburgu, Niemcy) i Ingo Potrykusa (z Wyższej Szkoły Technicznej w Zurychu) we współpracy z międzynarodowym zespołem (Włochy, Francja, Anglia, Hiszpanii i Holandii) w ramach programu badawczego „Carotene plus” podjęła prace nad przeniesieniem trzech genów odpowiedzialnych za biosyntezę prowitaminy A (czyli beta-karotenu) z żonkila (dwóch) oraz jednego z bakterii.

Badania były finansowane przez Komisję Europejską w ramach programu badawczego FAIR w latach 1994-1998.

Beta-karoten jest w organizmie ludzkim przekształcany w witaminę A.

Enzymy niezbędne do biosyntezy prowitaminy były dobrane w ten sposób, aby ich wbudowanie do genomu było proste, a jednocześnie gwarantowało sukces, czyli biosyntezę właściwego związku.

Beta-karoten jest syntetyzowany w ryżu, ale w częściach zielonych, a nie w endospermie, czyli w nasionach.

Problem polega przede wszystkim na tym aby uzyskać biosyntezę tkankowospecyficzną. Możliwa też jest inna droga, czyli spowodowanie transportu beta-karotenu do pożądaney tkanki, w tym przypadku do endospermy.

Wybrano takie promotory biosyntezy beta-karotenu, aby uzyskać ekspresję we właściwej tkance.

Sprawa jest jednak jeszcze bardziej złożona, bowiem ryż jest mielony przed konsumpcją, dla usunięcia bogatej w tłuszcze zewnętrznej tkanki, która jest również przyczyną szybkiego jęłczenia ryżu.

Zastosowana technologia umożliwiła uzyskanie transgenicznego ryżu, w którym biosynteza beta-karotenu następowała w wewnętrznej części endospermy.

Elementem charakterystycznym takiego transgenicznego ryżu jest jego żółty kolor; dlatego potocznie określany jest ten projekt badawczy jako „żółty ryż” (*yellow rice*); często stosowana jest również nazwa „złoty ryż” (*golden rice*).

Prace europejskich uczonych były realizowane w pełnej zgodności z bardzo surowymi przepisami biobezpieczeństwa Unii Europejskiej (podobne przepisy obowiązują w naszym kraju).

Zgodnie z tymi standardami wykonane były prace polowe, w których potwierdzono, że ryż jest trwale transformowany genetycznie, a w transgenicznym roślinach zachodzi ekspresja beta-karotenu.

Jednakże przepisy europejskie obowiązujące w latach 1994–2000 uniemożliwiają prowadzenie upraw polowych w celach komercyjnych w Europie.

Transfer tej technologii do krajów potrzebujących takiego ryżu uwarunkowany jest zatem spełnieniem europejskich norm prawnych. Następnie konieczne będzie wprowadzenie tej cechy, na przykład przy zastosowaniu tradycyjnych metod hodowli roślin, do odmian ryżu wydajnie plonujących w lokalnych warunkach.

Z doświadczeń Komisji Europejskiej jednoznacznie wynika, że po dokonaniu wszystkich niezbędnych analiz odmiany „żółtego ryżu” będą bezpłatnie dostępne dla rolników z krajów trzeciego świata.