

Geneticky modifikované organismy (GMO)



Molekulární biologie v hygieně potravin – Molekulárně biologická analýza potravin

Přednáška 6, 2021/22

Ivo Papoušek

Geneticky modifikované organismy

- definice GMO: obecně organismus, jehož genetický materiál byl pozměněn technikami genetického inženýrství
- **nezaměňovat pojmy GMO a transgenní organismus (o kterých se převážně budeme bavit)!**
- **transgenní organismy** – jejich genetická informace byla pozměněna přidáním genetického materiálu z jiného, nepříbuzného organismu
- další typy – např. **cisgenní modifikace** (změna genetické informace s využitím genu z jiných jedinců téhož druhu nebo blízce příbuzných druhů, se kterými by mohlo dojít i k přirozenému křížení)
- genetické modifikace v současnosti u všech organismů napříč taxonomickou klasifikací, od virů a bakterií až po savce a rostliny

GMO - význam

- **základní výzkum**

- vývoj a ověření funkčnosti technologií genového inženýrství
- studium funkcí genů, genové exprese
- v širším smyslu studium genetické podmíněnosti nemocí

- **aplikovaný význam**

- zvýšení užitkovosti potravinových zvířat a plodin (zvýšení výnosu, obsahu žádoucích látek)
- plodiny rezistentní k herbicidům, škůdcům (hmyz, viry), stresu
- produkce cizorodých látek *in vivo* (inzulin, léčiva, biopaliva)
- mikroorganismy schopné zpracovat škodliviny v prostředí, odpady
- biotechnologická produkce enzymů pro potravinářství, ale taky třeba molekulární biologii (polymerázy aj.)
- genové terapie – léčba geneticky podmíněných nemocí
- a mnoho dalších

Mechanismy genetických modifikací

- uvědomme si, že i **křížení/šlechtění je jiným nástrojem s tímtéž cílem**, také směřuje k získání jedinců s určitými znaky – a tedy určitými geny
- umělé zásahy: zejména cílená **mutace** genů, **inzerce** nových genů nebo **delece** (či vyřazení z funkce, tzv. genový knock-out)
- nejčastěji budeme mluvit o transgenozí (inzerce nových genů); některé z možných mechanismů jsou:
 - **transdukce/transinfekce**: vložení genu do genetické informace viru (např. lentiviry – sem patří i HIV), ten přenesení gen do buňky a začlenění do genomu
 - **mikroinjekce**: fyzické vstříknutí DNA do jádra mikrojehlou
 - **elektroporace**: elektrický pulz prorazí otvor do buněčné membrány, DNA následně pronikne dovnitř, otvor se po čase zacelí; riziko příliš velkého poškození a zániku buňky
 - **chemická transfekce**: např. pomocí fosforečnanu vápenatého (suspenze váže DNA, ne zcela jasným mechanismem buňka část suspenze i s DNA přijme dovnitř)

Mechanismy genetických modifikací

Další mechanismy:

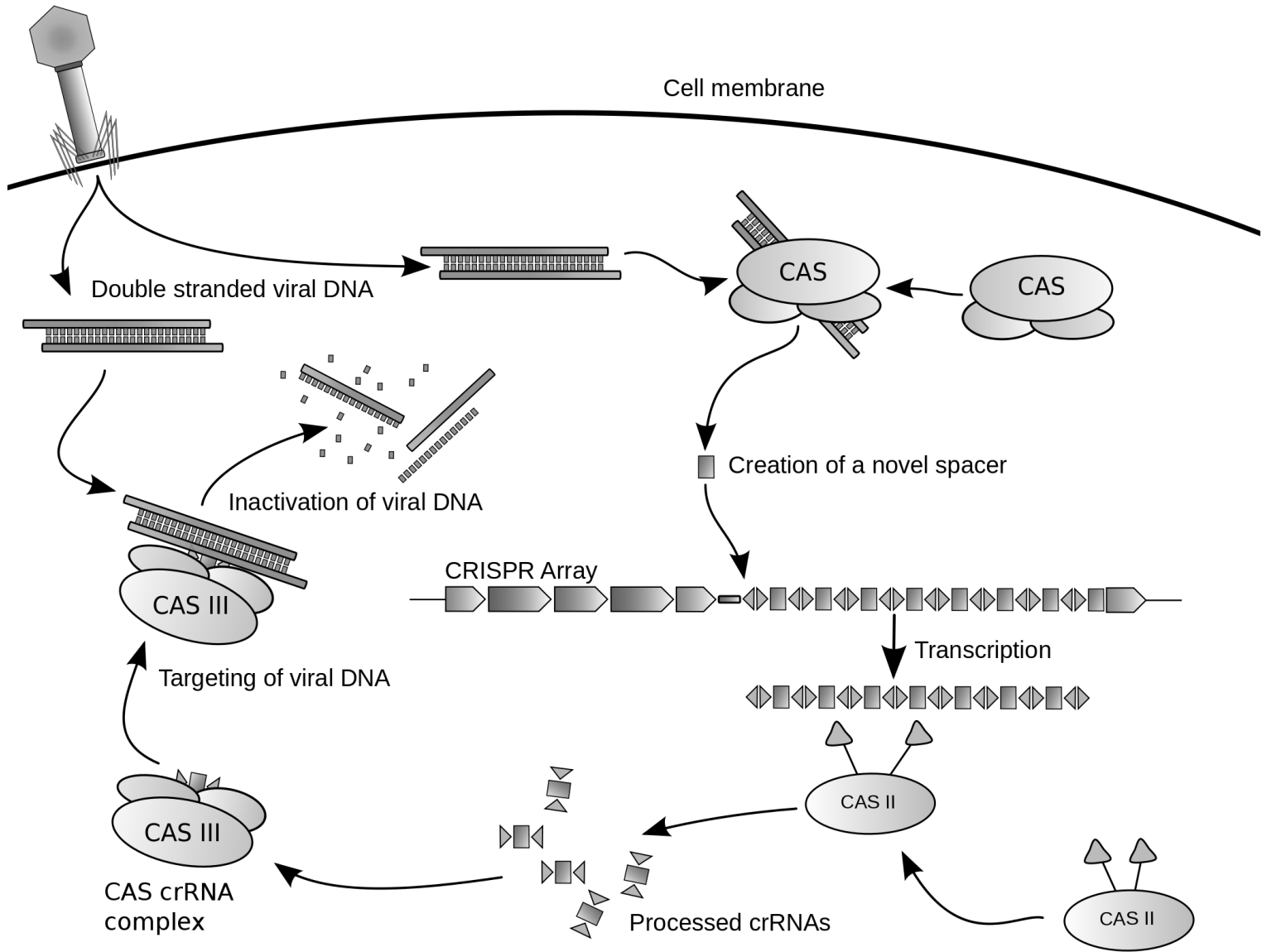
- **gene gun:** nastřelování molekul DNA vázaných na nanočástice zlata nebo wolframu; proniknou buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou a mohou se integrovat do nejaderné DNA; opět hrozí příliš velké poškození a zánik buňky; začlenění do cílové DNA zcela náhodné
- **lipofekce:** přenos genetického materiálu v lipozomech (fosfolipidové vezikuly, které se snadno spojí s buněčnou membránou, proniknou do buňky bez jejího poškození)
- ***Agrobacterium tumefaciens:***
 - přirozený symbiont/parazit některých rostlin, žijící u kořínků rostlin; má tzv. **Ti-plazmid** – nese genetickou informaci pro tvorbu hlízek/nádorků na koříncích – *tumor-inducing*; při infekci rostliny *Agrobacterium* přenesou část Ti-plazmidu, označovanou jako **T-DNA**, do rostlinného genomu
 - toho lze využít – zabudujeme do Ti-plazmidu transgen, bakterie nám ho přenesou do cílové rostliny (brambory, rajčata, tabák...)
- **moderní cílené metodiky – CRISPR, TALEN**

CRISPR

- Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
- biologicky něco jako prokaryotický adaptivní imunitní systém, ochrana před cizorodou DNA (nechtěné plazmidy, bakteriofágy) mechanismem podobným RNA interferenci
- sestava repetitivní prokládaná tzv. spacer DNA (krátké segmenty získané při předchozích setkáních s příslušným virem či plazmidem)
- s repetitivními asociují geny *cas* kódující nukleázy a helikázy

CRISPR

- při opětovném setkání s virem či plazmidem se přepíše oblast spacerů do dlouhého transkriptu, který je pak **Cas proteiny** štěpen na krátké tzv. **crRNA**, které se vážou na DNA viru/plazmidu
- vzniklý komplex rozpoznáván a štěpen dalšími Cas proteiny → likvidace cizorodé DNA
- tyto RNA-řízené CRISPR enzymy jsou někdy klasifikovány jako **restrikční endonukleázy třídy V** (v dřívější přednášce jsme si říkali jen o třídách I-III)
- systém lze využít v genovém inženýrství – cílené zaměřování nukleáz na konkrétní cílovou sekvenci -> **přesná editace genomu v konkrétním místě** (odstranění konkrétního genu, přidání nového genu do přesně definovaného místa, atd.)



TALEN

- Transcription Activator-Like Effector Nucleases
- jsou to vlastně umělé restriční enzymy, složené ze dvou domén: **TAL efektorová DNA-vazebná doména** (pro vazbu na konkrétní specifické místo DNA) a **nukleázová doména** (pro štěpení DNA, na kterou se enzym naváže)
- TAL efekторы jsou původně vlastní bakterii *Xanthomonas*, mají konzervovanou sekvenci 33-34 AK, z nichž dvě (12. a 13.) jsou naopak velmi variabilní, silná korelace s rozpoznáváním konkrétní sekvence nukleotidů (= řídí, kam se protein na DNA naváže)
- nukleázová doména odvozena z endonukleázy FokI (*Flavobacterium okeanoikoites*)

TALEN

Praktické použití:

- na základě známé sekvence, kterou chceme editovat, software navrhne vhodnou sekvenci TAL domény
- pomocí PCR se vytvoří kompletní umělý konstrukt, který pak začleníme do plazmidu
- přenesení plazmidu do hostitelské buňky, tam exprese enzymu
- enzym vstupuje do jádra, kde cíleně edituje genom
- alternativa: konstrukt dopraven do buňky v podobě mRNA (bezpečnější, nemůže se začlenit do genomu hostitelské buňky) a je rovnou exprimován

Historie – základní přehled

- Genetická manipulace lidmi začala už v pravěku (domestikace rostlin a živočichů umělou selekcí), následně výběr rostlin a živočichů s požadovanými vlastnostmi (šlechtění)
- 1973: **první geneticky modifikovaný organismus**: Herbert Boyer a Stanley Cohen z bakterie rezistentní ke kanamycinu izolovali příslušný gen, vložili jej do plazmidu a přiměli jinou bakterii, aby plazmid převzala -> získala fenotypovou rezistenci
- 1974: Rudolf Jaenisch vytvořil **prvního GM živočicha** – myš; vstříkl retrovirovou DNA do raných myších embryí; prokázal, že se DNA retroviru integrovala do myšího genomu; DNA se nepřenášela na potomstvo, to se podařilo až později
- 1976: **první produkce lidského proteinu bakterií** (*Escherichia coli*, somatostatin)

Historie – základní přehled

- 1982: **první geneticky modifikovaná plodina** – tabák rezistentní k antibiotikům (primárně pro ověření technologie)
- 1990: **první kus geneticky modifikovaného skotu**
 - býk Herman (Nizozemsko)
 - do jeho embryonální buňky byl mikroinjektován lidský gen pro lactoferrin
 - po změně zákona v roce 1992 speciálně pro tento účel mu bylo povoleno se rozmnožovat
 - telata, jejichž byl otcem, **všechna příslušný gen zdělila**
 - dnes vystaven v muzeu v Leidenu (kůže na modelu)
- 90. léta 20. století: velký boom genetických modifikací, podrobněji viz další příklady



Historie – základní přehled

- 2010: **první syntetický genom** – bakterie „Synthia“ (oficiálně *Mycoplasma laboratorium*) – do jisté míry stvoření umělého života
 - tým Craiga Ventera syntetizoval uměle genom odvozený z *Mycoplasma mycoides* (1079 kb),
 - vnesli jej do buňky *Mycoplasma capriolum* zbavené genetické informace (takže to není zcela umělý život), vzniklé buňky byly schopny se dál množit
 - 2016: **třetí verze (Syn 3.0)** - genom redukovaný na 531 kb (473 genů); asi u třetiny neznámá funkce (ale jsou pro život nezbytné – při jejich vyřazení bakterie nefungovala)

Příklady genetických modifikací

1) GFP myši

- intenzivně využívaný modelový organismus (savec)
- nesou **gen pro zelený fluorescenční protein** (původem z medúzy)
- při ozáření modrým nebo ultrafialovým zářením zeleně fluoreskuje
- praktické využití – reportér exprese: když studujeme funkci či lokalizaci exprese nějakého genu, připojíme k jeho sekvenci gen pro GFP (exprimují se společně, výsledný protein je prodloužený o fluorescenční část); ty části organismu, kde je gen exprimován, budou fluoreskovat
- přitom je neinvazivní, nijak organismus neovlivňuje, neinterferuje s buněčnými procesy, gen snadno předáván do dalších generací
- za objev a vývoj GFP dostali Roger Tsien, Osamu Shimomura a Martin Chalfie Nobelovu cenu za chemii 2008



Příklady genetických modifikací

2) Bakterie produkující lidský inzulin

- snaha nahradit původní náročné, drahé a eticky problematické zdroje (krávy, koně, prasata, ryby – u všech strukturně téměř identický s lidským), navíc problémy s čistotou
- 1982 - biosyntetický lidský inzulin (Humulin, firma Eli Lilly)
- do bakterie *Escherichia coli* vnesen drobně pozměněný gen pro lidský inzulin
- v některých dalších případech gen dále upraven tak, aby bakterie sekretovaly inzulin mimo buňku (do média)
- od lidského endogenního inzulinu se obvykle drobně strukturně liší, funkčně ne (i když v poslední době jisté pochybnosti)
- 2002: 70 procent celosvětového prodeje inzulinu biosyntetického původu
- USA: od roku 2006 sto procent

Příklady genetických modifikací

3) Produkce dalších léčiv

- např. ATryn
- antitrombin (antikoagulans) vyráběný s pomocí geneticky modifikovaných koz
- gen pro lidský antitrombin vpraven mikroinjekčně do jádra embryí koz
- syntetizovaný protein uvolňován do mléka
- v USA schválen 2009, v Evropě – kupodivu – už 2006
- kontroverze: některé organizace považují tuto produkci za „mechanistické využívání zvířat“; nejsou známy negativní efekty

Příklady genetických modifikací

4) GloFish

- geneticky modifikované ryby, první transgenní GMO coby mazlíčci
- výrazné fluorescenční zbarvení (červená, zelená, oranžová, modrá, purpurová)
- dánío pruhované (zebrafish, *Danio rerio*), tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*)
- zatím dostupné pouze v USA, firma Yorktown Technologies
- geny pro GFP z medúz, červené FP z korálů, další barvy také z korálů a jiných žahavců; oranžovo-žluté ryby nesou kombinaci Č+Z
- americkou FDA (Food and Drug Administration) schváleno v roce 2003, postupně přibývají další varianty
- Kanada a Evropská unie nepovolují dovoz, prodej a chov (což ovšem bývá individuálně porušováno)





Příklady genetických modifikací

5) modrá růže

- v přírodě neexistují, běžné jsou červené, bílé, žluté
- lze je obarvit modrým barvivem
- genetická modifikace – 2004: přidán gen pro pigment delphinidin z macešky – vznikla fialovo-purpurová růže
- v druhém kroku použita technologie RNA interference – potlačení endogenní produkce pigmentů - blokáce enzymu DFR (dihydroflavonol-4-reduktáza) – teoreticky by vedlo k modrému zbarvení
- v praxi nevyšlo – DFR není zablokovan úplně; navíc pH v okvětních lístcích růží kyselější než v maceškách
- výsledná barva levandulová až slézová



Příklady genetických modifikací

6) Genové terapie

- použití geneticky modifikovaných virů – do pacientových buněk v nich vnášíme příslušné geny
- alternativy – metody nevyužívající viry (elektroporace, gene gun...) jsou méně imunogenní (ale méně efektivní)
- dnes přesun ke CRISPR, TALEN
- dva hlavní přístupy – náhrada poškozeného genu funkčním nebo vypnutí poškozeného genu
- terapie buď cílena na somatické buňky (pak ovlivní pouze pacienta, ne potomstvo) nebo na buňky zárodečné linie (eticky kontroverzní, případná chyba má potenciálně horší důsledky; proto v některých zemích explicitně zakázáno u lidí)
- v současnosti většinou ve stadiu klinických zkoušek v USA
- cílové choroby: v první řadě jednoduché, monogenní (cystická fibróza, srpkovitá anémie, těžké kombinované imunodeficiencie SCID, Leberova kongenitální amauroza), v budoucnu snad i složitější choroby

GM potraviny a plodiny - příklady

1) sója – Roundup Ready Soybean

- Roundup – široce používaný herbicid vyráběný firmou Monsanto; účinná látka – glyfosát (interferuje s biosyntézou esenciálních AK Phe, Tyr, Trp; inhibuje příslušný enzym u rostlin)
- asi první masivně rozšířená GM plodina
- rezistentní ke glyfosátu – vnesen gen pro enzym EPSPS z bakterie *Agrobacterium tumefaciens* řízený promotorem z viru květákové mozaiky plus další pomocné sekvence
- 1994 komerčně schváleno v USA
- patent na první generaci vypršel v březnu 2015, od té doby „generické“ variety rezistentní sóji, mnohdy výrazně levnější (byť mírně nižší produkce)
- analogicky i kukuřice, další plodiny
- další varianty GM sóji: např. produkce zdravějšího oleje (změna profilu MK)
- Vistive Gold (Monsanto) – spojuje obojí (rezistenci ke glyfosátu a zlepšený profil MK), zatím neschválena k použití

GM potraviny a plodiny - příklady

2) Bt rezistentní plodiny

- kukuřice často poškozována housenkami **zavíječe kukuřičného** (*Ostrinia nubilalis*; původní rozšíření v Evropě, během 20. století invaze do Sev. Am.)
- housenky poškozují palice a stonky, usnadňují šíření houbových patogenů
- genetická modifikace: do genomu rostliny vnesen gen pro toxin, který produkuje bakterie ***Bacillus thuringiensis* (Bt)** (ve formě postřiků od 1930)
- toxin se uvolňuje do pletiv rostliny, způsobuje perforaci střeva housenky, ta přestává žrát a hyne; nemusíme používat neselektivní insekticidy
- Bt kukuřice (Monsanto) schválena 1996, pozdější varianty cíleny i na další škůdce
- možný problém: toxin může zabíjet nejen housenky zavíječe a jiných škůdců, ale také dalších druhů *Lepidoptera*
- studie výskytu lepidopter a dalších non-target bezobratlých na polích s Bt a non-GM plodinami nepotvrdily jasný rozdíl ve výskytu/početnosti
- také bavlna (ochrana proti mūrám rodu *Helicoverpa*), brambory
- další modifikace kukuřice: rezistence k suchu (Monsanto 2013); inserce genu *cspB* (cold shock protein z *Bacillus subtilis*, ochrana buněk před stresem)



GM potraviny a plodiny - příklady

3) zlatá rýže (golden rice)

- geneticky modifikována - zvýšení produkce beta-karotenu (prekurzor vitamínu A)
- idea: usnadnit příjem vitamínu A v oblastech s rozšířením hypo- a avitaminóz, kde je současně konzumováno velké množství rýže a je snadné dodat vitamín s ní
- princip: inzerce dvou genů (*psy* z narcisů a *crtI* z půdní bakterie *Erwinia uredovora*)
- geny kódují enzymy biosyntetické dráhy beta-karotenu; jsou pod kontrolou promotoru aktivního pouze v endospermu
- vtip je v tom, že bakteriální gen supluje funkci několika rostlinných genů (které sama rýže vůbec nemá) současně
- výsledkem je lykopen, který endogenní enzym rýže přemění na beta-karoten
- vývoj: 2000-2004



GM potraviny a plodiny - příklady

3) zlatá rýže (golden rice)

- 2005: Golden Rice 2 – až 23násobně vyšší produkce beta-karotenu než původní varianta; použit gen *psy* z kukuřice
- nutná denní dávka v asi 144 g rýže
- obrovská až hysterická opozice ze strany environmentálních a antiglobalizačních aktivistů:
 - prý nedostatečný obsah beta-karotenu (není pravda)
 - není jasné, jak dlouho v rýži po sklizni a vaření vydrží
 - Greenpeace je proti už z principu (otevření dveří pro další GMO)
 - údajně dostupné vhodnější cesty, jak vitamín A dodávat – přídavky do jiných potravin, potravinové doplňky atd.
- další kontroverze: výzkumný tým, který v roce 2012 zkoumal efektivitu zlaté rýže ve srovnání s podáváním beta-karotenu v oleji (a efektivitu prokázal!) podával zlatou rýži čínským dětem bez souhlasu jejich rodičů
- červen 2016: 107 nositelů Nobelovy ceny vyzvalo Greenpeace ke stažení námitek
- 2018: konečně schválena pro pěstování v USA, Kanadě; 2019 – schváleno pro použití v potravě a krmivech na Filipínách; ne komerční propagace!
- obdobně modifikována i kukuřice (A, C, kys. listová) a banány kultivaru Cavendish

GM potraviny a plodiny - příklady

4) rajče Flavr Savr

- Název odvozen z „flavor saver“
- 1992 – společnost Calgene; schváleno 1994 – **první komerčně pěstovaná GM potravina pro lidskou konzumaci**
- zpomalení procesu zrání, větší odolnost proti hnilobám – delší trvanlivost
- mechanismus: do genomu pomocí Ti-plazmidu vnesen gen, jehož transkript (mRNA) interferuje s produkcí polygalakturonázy (degraduje pektin v buněčných stěnách), enzym tak není produkován, resp. v menším měřítku
- Příliš neuspělo – jednak chuťově nezaujalo (pro přípravu použit chuťově nevýrazný kultivar), jednak subjektivní obavy spotřebitelů
- 1997 Calgene koupena Monsantoem, ten z prodeje víceméně stáhl

GM potraviny a plodiny - příklady

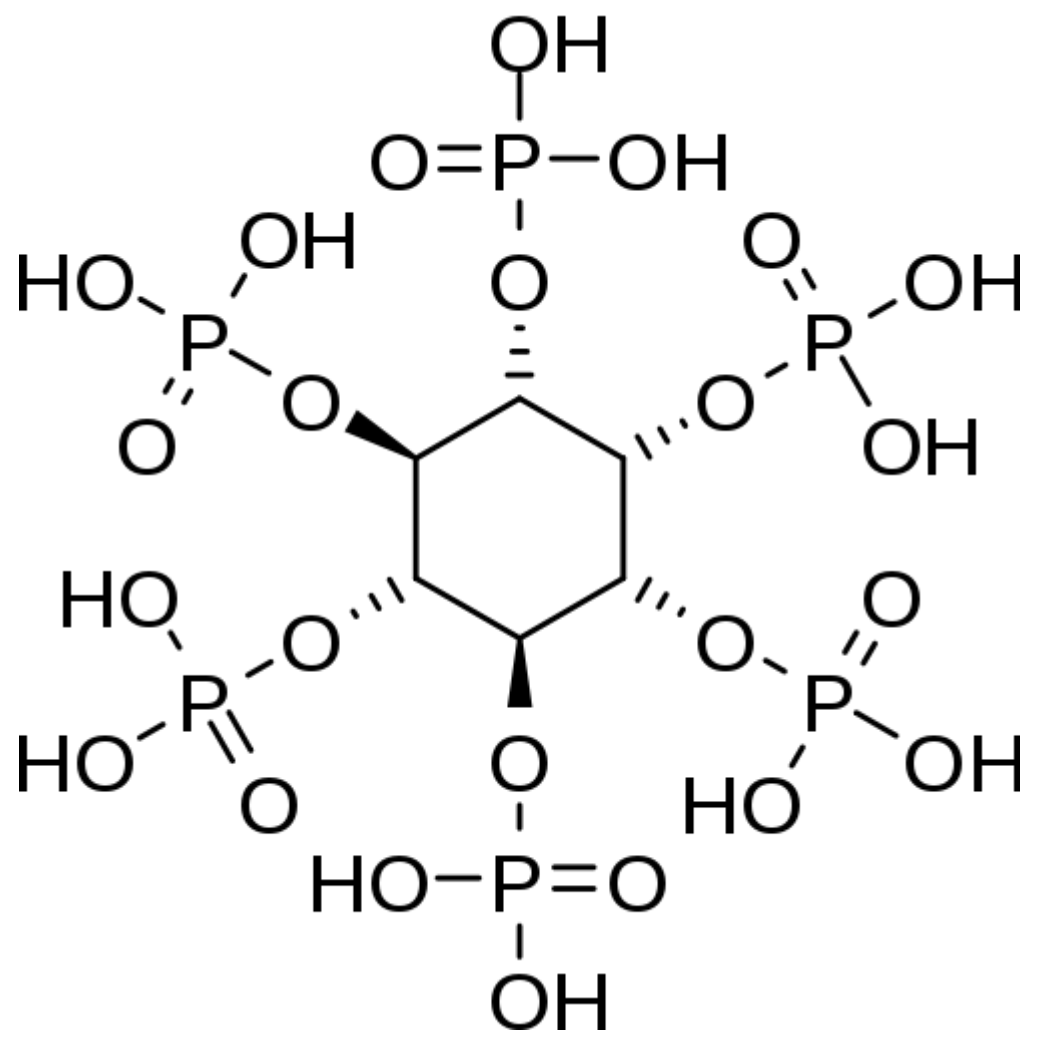
5) losos **AquAdvantage**

- AquaBounty Technologies, v USA schválen 2015, v Kanadě 2016
- losos obecný (*Salmo salar*) s genem pro růstový hormon z lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*) ovládaný promotorem ze slimule americké (*Zoarcetes americanus*, okounovitá ryba)
- výsledkem urychlení růstu ryby, navíc jsou tito lososi triploidní (tedy větší)
- zároveň je to bezpečnostní pojistka – jsou neplodní, chybějící reprodukční stres vede ještě k většímu růstu
- majitelé konvenčních chovů výhodnost přirozeně zpochybňují
- nebyla zjištěna zvýšená alergenicitá ve srovnání s normálním lososem
- známá negativa: zřídka morfologické abnormality rychle rostoucích ryb (zvětšená hlava aj., může interferovat s běžným příjmem potravy)
- (neprokázané) obavy z přítomnosti růstových hormonů v mase ryb
- Obdobně i další ryby s nadprodukcí růstového hormonu v akvakulturách (pstruh, tilapie)

GM potraviny a plodiny - příklady

6) Enviropig

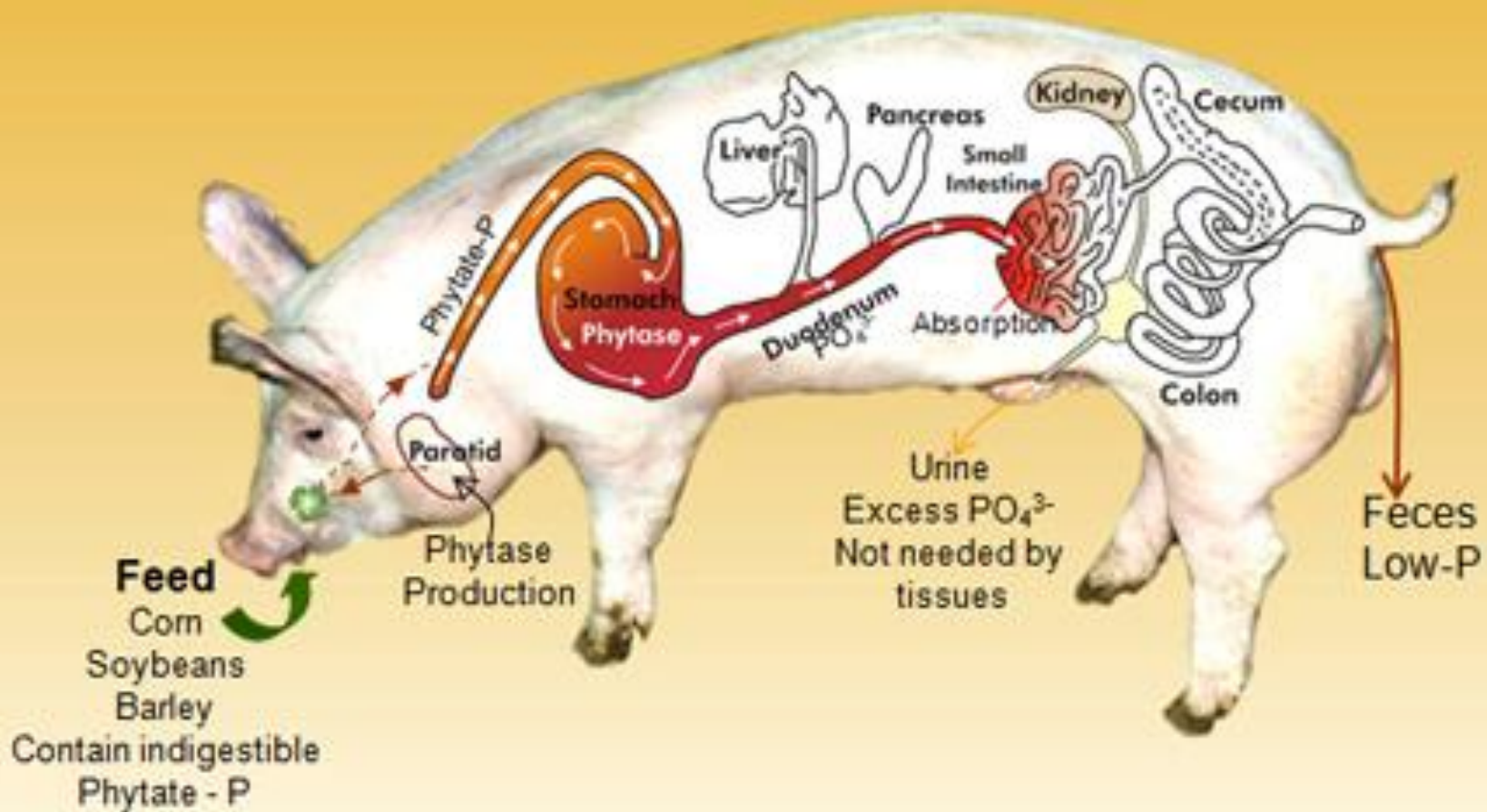
- GM linie yorkshirských prasat; zvýšená schopnost vstřebávat fosfor rostlinného původu
- Kanada (University of Guelph), projekt začal 1999
- modifikovaná zvířata produkují ve slinách enzym fytázu – v kyselém prostředí žaludku štěpí jinak nestravitelnou kyselinu fytovou obsaženou např. v kukuřici, sóji a ječmeni ve velkém množství
- fosfor ve vzniklé formě snadno vstřebatelný



GM potraviny a plodiny - příklady

6) Enviropig

- není tedy třeba dodávat fosfor ve formě minerálních doplňků či dodávat fytázu v potravě
- také snížení obsahu fosforu v kejdě (ekologický přínos)
- technicky jde o vnesení genu pro fytázu z *Escherichia coli*, řízeného promotorem z myších slinných žláz do genomu prasat
- program ukončen v roce 2012, přestože se prokázalo, že po deset generací gen úspěšně přenášen a přestože v Kanadě prasata schválena ke komerčnímu chovu...
- hlavní komerční partner totiž ukončil financování projektu
- genetický materiál prasat uchován



GM potraviny a plodiny - příklady

7) **Arctic Apples**

- jablka, která nehnědnou např. po mechanickém poškození
- umlčení exprese genu pro polyfenoloxidázu, která hnědnutí způsobuje
- umlčení není úplné, jen asi na 10 %, ale i to je výrazný pokrok, jiný vliv to na jablko nemá
- 2015 schválena pro produkci a prodej, letos by měla být dostupná
- Okanagan Specialty Fruits

8) **glyfosát rezistentní cukrová řepa**

- Monsanto, kolem roku 2000, komercializována 2007
- Dnes běžně pěstována v USA a Kanadě (v USA víc než 95 procent farmářů, kteří pěstují cukrovou řepu)

Rozšíření GM plodin

- samozřejmě rozdílné stát od státu, v závislosti na legislativě a regulacích
- celosvětově: v roce 2010 odhadováno, že 10 procent orné půdy oseto GM plodinami (dnes pravděpodobně už víc)
- zajímavá čísla z USA – podíl plochy, na které pěstovány GM varianty příslušné plodiny:
 - sója: 2000 – 54 procent, 2016 – 94 procent
 - bavlna: 2000 – 61 procent, 2016 – 93 procent (Bt, herbicidy, stacked)
 - kukuřice: 2000 – 25 procent, 2016 – 92 procent (Bt, herbicidy,...)

Rozšíření GM plodin

- Evropa: mnohem méně, s výjimkou Španělska a několika dalších zemí (uvidíme za chvíli, proč)
- ČR: v roce 2017 poprvé po dvanácti letech bez GMO plodin (2008: 167 pěstitelů na 8 380 ha – kukuřice MON810, Bt rezistentní, jediná registrovaná pro komerční využití)
- důvody?
 - administrativa
 - zavíječ kukuřičný tu není taková hrozba, větší problém - bázlivec kukuřičný (brouk); odrůdy odolné vůči němu nejsou v EU registrovány
 - subjektivní nechutí spotřebitelů
 - Vliv (i) přeshraniční – němečtí zpracovatelé mléka odmítali mléko od skotu krmeného GM kukuřicí (jakkoliv tam žádný vliv není)
 - paradoxně se sem dál krmná GM kukuřice pro prasata a drůbež dováží z USA a Číny
- 2013: asi 54 procent GM plodin pěstováno v rozvojových zemích

Kontroverze a negativa GMO

- Oblíbený omyl – neopodstatněný strach z GMO jen na základě toho, že jsou to cizí geny (je to jen DNA)
- Jako všude je třeba rozlišovat mezi principem, myšlenkou a případnou nesprávnou aplikací (když mi GMO uteče, není to chyba genetické modifikace, ale moje; nemá smysl modifikaci *a priori* zavrhnout)
- **Vědecký konsenzus, že dostupné GM potraviny nepředstavují ve srovnání s konvenčními potravinami zvýšené riziko**
- Neexistuje zatím žádný důkaz o tom, že by někdo konzumací utrpěl (POZOR! Mluvím o důsledku genetické modifikace jako takové, ne jiný mechanismus poškození – otrava špatně skladovaným jídlem, alergie atd.)
- Pro některé potraviny už existují studie na krysách/myších živených GM potravinami; zatím jich je málo, prováděny po schválení potraviny/plodiny, nejsou long-term, a ty, co už jsou, mají občas pochybnou metodiku (dvoustranný problém – zbytečný alarmismus vs. potenciální reálné nebezpečné výsledky špatnou metodikou degradovány)
- Vnímání veřejnosti (mimo objektivní obtíže, viz níže) často velmi vyhrocené, nejen na úrovni protestů, demonstrací, pochodů, ale i násilné narušení výzkumu, ničení polí s GMO (2011 Greenpeace v Austrálii, 2013 Filipíny, aj.)
- Dokonce konspirační teorie – ovládnutí/trávení lidí podsouváním GM potravin

Kontroverze a negativa GMO

Reálné hrozby/nevýhody:

- **nebezpečí alergenicity** – člověk, který není alergický na plodinu v „běžné“ podobě, může teoreticky vykazovat alergii k antigenům vzniklým z proteinu kódovaného transgenem; dosud sice neprokázáno prakticky, ale když se po roce 1960 dostalo na trh kiwi, také u něj nebyla známá alergie, dnes někteří lidé alergii vykazují
 - odbočka: ono to může fungovat i naopak, GM lze dosáhnout hypoalergenicity příslušné linie (testováno u sóji, trav rodu *Lolium*)
- rezistence plodin k herbicidům umožňuje používání v tak širokých měřítcích, že **ničí** nejen plevel na polích, ale i **chráněné/ohrožené rostliny v okolí**; dále **selekce rezistentního plevelu**; toxicita pro živočichy a člověka zřejmě nízké riziko, závislost na dávce
- Bt plodiny – potenciál **zabíjení nejen cílových bezobratlých** (byť studie to spíše nepotvrzují); **selekce rezistentních škůdců**

Kontroverze a negativa GMO

Reálné hrozby/nevýhody:

- **ztráta biodiverzity** – soustředěním na pěstování konkrétních variet GMO ztrácíme užitečné geneticky podmíněné vlastnosti jiných kultivarů
- **welfare?** – některé výzkumy bolesti u ryb ukazují, že některé GM mohou mít na welfare ryb negativní vliv
- není známo, zda jsou transgeny **dlouhodobě stabilní** (prostě ještě neuběhla dostatečně dlouhá doba)
- **šíření transgenů do přirozených ekosystémů**, nepříbuzných organismů - nutná regulace
- **potenciální ekonomické důsledky**
 - nutnost každoročně kupovat nové osivo/násadu u sterilních GMO
 - GM plodiny bývají patentované ->
 - hrozba monopolu/nepřiměřená kontrola trhu s potravinami (trh je kontrolován velmi malým počtem společností), nadsazené ceny (potenciálně kontraproduktivní)

Kontroverze a negativa GMO

- **Árpád Pusztai** – velmi kontroverzní postava počátku PR souboje o GMO
 - 1998: výzkum vlivu stravy GM brambor na trávicí a imunní systém krys
 - údajně zpomalený růst, reprimovaný imunitní systém, ztluštěná sliznice střeva
 - zastánci GMO tvrdě kritizován – oznámení výsledků před dokončením experimentů, kritika metodiky (data prý nepodporovala předložené závěry)
 - odpůrci GMO oslavován jako hrdina, který se postavil establishmentu, jeho kariéra byla kauzou zničena
- **Gilles-Éric Séralini** – obdobný případ v letech 2007-2011
 - reanalytické studie experimentů s krysami krmenými GM kukuřicí
 - údajné poškození jater, ledvin, srdce
 - EFSA uzavřela, že odchylky byly v normě, chybně použitá statistika
 - selektivní výběr dat, která se hodila?
 - vyvolal výraznou publicitu, spojení GMO-glyfosát-rakovina

Kontroverze a negativa GMO

- organizace jako **Organic Consumers Association, Union of Concerned Scientists, Greenpeace** aj. s větší či menší mírou a schopností argumentace zaujímají pozici, že rizika nejsou sledována dostatečně, zpochybňují autoritu regulačních autorit, atd.
- nejznámější objekt kontroverzí – firma **Monsanto**
 - částečně jistě oprávněně; nejen kvůli GMO, ale také výrobce DDT, PCB, Agent Orange – v očích veřejnosti GMO diskvalifikují
 - zdaleka ne jediná – BASF, Bayer, DuPont Pioneer atd.

Regulace GMO

Několik možných hledisek:

- GM plodiny/potraviny **nesmí být škodlivé pro spotřebitele**
- GMO či transgeny **nesmí uniknout do prostředí, narušovat přirozené ekosystémy** (ať už kvůli konkurenční výhodě GM organismů či pro nežádoucí přenos transgenů do třeba i nepříbuzných organismů) – tzv. **genetic pollution**
- **právo volby spotřebitele** nekonzumovat/nepoužívat potraviny a plodiny GM původu – **labelling**
- techniky detekce přítomnosti GM/transgenů - **traceability**

Legální a faktická regulace použití a šíření GMO tedy jistě nezbytná!

Legální a regulační status v různých zemích výrazně různý:

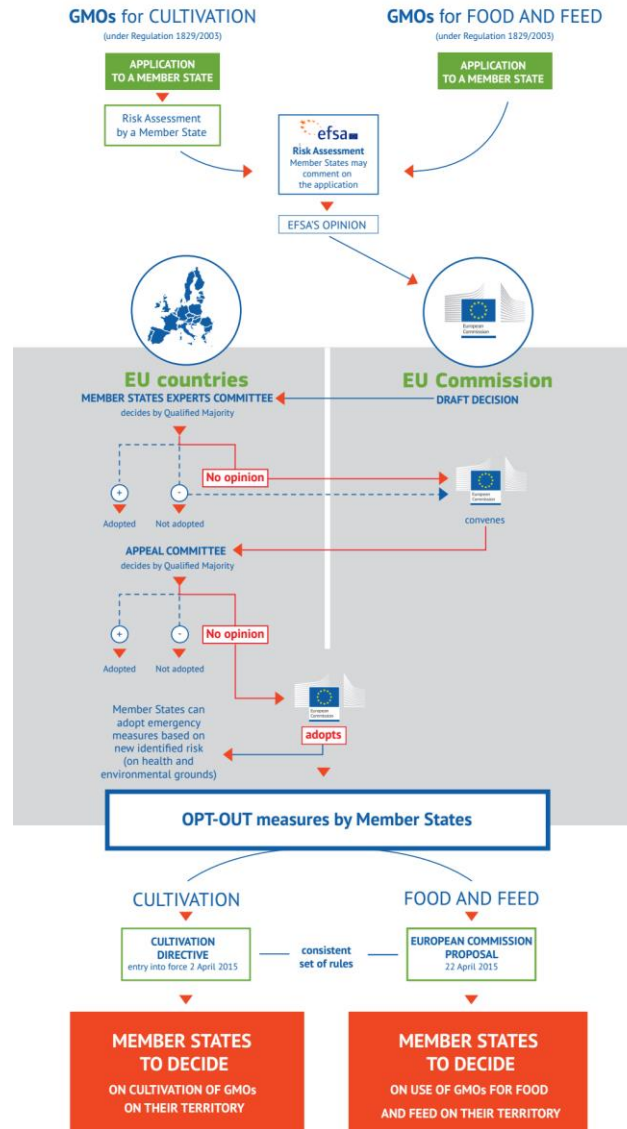
- v některých zemích zákazy či výrazná omezení
- 2015: 38 států zakázalo pěstování přinejmenším některých GM plodin
- v Evropě 19 států, některé dokonce úplný zákaz (Německo, Severní Irsko, Skotsko, Francie, Bulharsko aj).

Regulace GMO

Dva základní přístupy: **substantial equivalence** (USA, Kanada, Japonsko,...) a **case-by-case hodnocení GMO** (Evropská unie, Brazílie, Čína,...)

- *substantial equivalence*: princip, podle kterého bezpečnost nové potraviny (zejména GM) může být hodnocena srovnáním s podobnou tradiční potravinou, jejíž bezpečnost již byla prokázána
- *case-by-case systém* v EU: každý GMO či GM potravina/plodina považovány za novou potravinu, takže jednotlivě posuzovány
 - primární posuzovatel: European Food Safety Authority (EFSA)
 - zpráva předána Evropské komisi, ta vytváří návrh
 - návrh diskutován mj. Radou ministrů zemědělství – může, ale nemusí dospět k rozhodnutí (pak rozhoduje Evropská komise)
 - i v případě kladného rozhodnutí se členské státy mohou rozhodnout konkrétní variety zakázat, pokud shledají dostatečné důvody

GMOs: EU decision-making process explained



Regulace GMO

- v EU v tuto chvíli pro komerční využití registrováno přibližně **87 (2021: 78, 2020: 73, 2019: 62, 2018: 64, 2017: 53) GM plodin; ne pro pěstování (v tuto chvíli jen kukuřice MON 810), ale především zpracované potraviny, krmiva a další produkty z těchto plodin**
 - bavlna 15 (13, 13, 12, 12, 10)
 - kukuřice 39 (36, 34, 25, 27, 25)
 - řepka 7 (5, 5, 5, 5, 4)
 - sója 25 (23, 20, 19, 19, 13)
 - cukrová řepa 1 (1, 1, 1, 1, 1)
 - další stahovány z trhu, dalším licence vypršela, mnohé teprve v procesu autorizace
- https://webgate.ec.europa.eu/dyna/gm_register/index_en.cfm

Regulace GMO

- některé země povolují dovoz GM potravin, ale ne pěstování (Rusko, Norsko, Izrael); jiné nepovolují pěstování, ale povolují výzkum
- informovanost (labelling) opět v různých zemích různá, např. v USA po dlouhou dobu výrobky v podstatě nemusely na obalech nést informaci o obsahu GM potravin/plodin
- situaci paradoxně změnil Vermont – 2014 legislativa o povinném značení GM potravin; firmám se nevyplatí vyrábět nálepky speciálně pro Vermont, takže informovanost pro celé USA
- **v EU uvádění obsahu materiálu z GMO povinné**

Mechanismy regulace

- obecně principiálně jednoduchým mechanismem zábrany šíření GMO do prostředí/ekosystémů je **sterilita** – ať už na úrovni neschopnosti tvorby gamet nebo absence pohlavních orgánů – i takové modifikace existují
- konkrétnější příklady v rámci správné zemědělské praxe - omezení šíření pylu z GM rostlin:
 - pečlivé čištění strojů a nástrojů od případně zachyceného pylu
 - **isolation distances** – dodržování minimálních vzdáleností mezi GM a non-GM plodinami
 - **pollen barriers** – aktivní zachytávání pylu z GMO – fyzické bariéry (křoví, stromy)
 - sofistikovanější a spolehlivější metody: **úplné zamezení produkce pylu** (samčí sterilita), případně **produkce pylu, který ale neobsahuje transgen** (protože ten vnesen do chloroplastové DNA, která se dědí po mateřské linii)
 - v reálném světě bohužel tenhle teoretický koncept izolace GMO poněkud selhává, úniky existují (tj. zachycena přítomnost GM v non-GM prostředí)
 - mechanismy: např. **kontaminace** „non-GM“ osiva GM osivem; opylení GM pylem ze sousedních GM polí; na jiné úrovni kontaminace produktů, které měly být GM free, GM materiálem (např. ve zpracovatelském zařízení), aj.

Mechanismy regulace

Příklady úniků GMO do prostředí:

- **1997:** v Kanadě na poli farmáře **Percyho Schmeisera** řepka modifikovaná na toleranci ke glyfosátu, který přitom GM plodinu nezasel. Následující rok vysel semena sklizené řepky z předchozího roku a Monsanto ho žalovalo o porušení patentu. Dodnes není jasné, jak se semena na jeho pole dostala.
- **2000:** v USA nalezena v kukuřičných produktech přítomnost kukuřice **StarLink** (patří mezi Bt kukuřice) – v té době schválena jen jako živočišné krmivo! Následovalo široce publicizované stahování příslušných výrobků (např. tacos řetězce Taco Bell), tato varieta kukuřice pak úplně utlumena a nebyla dále používána

Mechanismy regulace

Příklady úniků GMO do prostředí:

- **2005:** prokázán horizontální přenos rezistence k pesticidům z pokusných polí s GMO na plevely; v další sezóně plevel už rezistenci nevykazoval
- **2013:** GM pšenice rezistentní ke glyfosátu, která ještě nebyla schválena k pěstování (byť shledána bezpečnou ke konzumaci) nalezena na polích v Oregonu; šlo o linii vyvinutou Monsantem koncem 90. let, rostla tam víceméně jako plevel (nebyla už sázena úmyslně, přežívala v okolí od 2001)
- **2014-2021:** GloFish pozorovány **ve volné přírodě!!**
- 2014: 1 rybka ve vodních kanálech blízko komerčních farem na Floridě
- 2015: celé skupiny ryb v Brazílii, v blízkosti největší akvakultury pro chov ozdobných ryb (přitom přímo v Brazílii je prodej zakázaný...)
- od roku 2017 pravidelně nalézány, reprodukují se průběžně celý rok (pohlavně dospívají zřejmě dříve než „přírodní“ ryby), nemají přirozené nepřátele
- zatím první fáze invaze, **zatím** ještě nevytlačují lokální druhy

Detekce GMO

- nejčastěji **detekce přítomnosti transgenu, příslušného promotoru či jiných pomocných sekvencí** v analyzovaném materiálu
- obvykle pomocí PCR nebo real-time PCR transgenu (tj. detekce i kvantifikace podílu GMO)
- požadavek: detekce možná na co největším počtu stupňů zpracování (např. Roundup ready sója – od čerstvě sklizené sóji přes jednotlivé kroky zpracování až po hotový olej)
- nevýhoda: musíme vědět, co hledáme, tj. nečekaný (nebo dokonce nedokumentovaný) transgen/GMO můžeme přehlédnout
- může se stát, že je více možností, jaký transgen plodina nese (sója, kukuřice – různé linie nesoucí různé transgeny; i kombinované linie s více transgeny, např. rezistence k herbicidu a dvěma hmyzím škůdcům)
- to detekci prodražuje
- alternativa: testování fyzických vlastností produktů kódovaných transgenem (hmotnostní spektroskopie proteinů, IR fluorescence, atd.)