

Cílené genové editace zemědělských plodin



Akademie věd
České republiky



EU2022.CZ

Přestože se v současné době stále více mluví o technologických možnostech úpravy genomů nejen zemědělských plodin, organismy, které s námi jako s lidskou civilizací dlouhodobě žijí, jsme začali přetvářet už dávno procesem šlechtění a postupnou domestikací. Veškerá selekce a řízené křížení, jichž se člověk od té doby dopustil, se odráží na struktuře genomů a jednotlivých genů šlechtěných organismů. To, co se zásluhou možností současné biologie děje, je pouze urychlení celého procesu. S novými technologiemi máme možnost při šlechtění rostlin mnohem rychleji reagovat na potřebu změny vlastností jednotlivých odrůd např. v souvislosti se změnou prostředí. Díky našim aktivitám během předsednictví Evropské unie ohledně usnadnění nakládání s plodinami, které vznikly moderními metodami molekulární biologie, se může Česká republika opět stát progresivním a inovativním státem, jakým snad historicky bývala, nebo by se alespoň měla snažit být.

Předci dnešních pro lidstvo klíčových plodin, jako je kukuřice, pšenice, rýže, brambory a sója, jsou zcela k nepoznání od současných potomků a zcela jistě by nedokázali uživit ani desetinu nynější lidské populace. Šlechtitelství plodin lemuje plejáda bezejmenných vizionářů, ale Norman Ernest Borlaug je jedním z těch, jehož jmé-

no zůstane nesmazatelně vepsáno do dějin nejen zemědělství. V r. 1953 zkřížil pšenici odolnou ke rzi s „trpasličími“ japonskými pšenicemi, které velmi zjednodušeně řečeno lépe využívaly živiny ve prospěch klasu na úkor stébla. Nejen za tuto krátkostébelnou odrůdu rezistentní pšenice dostal v r. 1970 Nobelovu cenu míru. Již tento

fakt dává pocit, že jeho badatelské úsilí bylo prezentováno hlavně jako politický úspěch. Sám Borlaug bývá označován za otce tzv. zelené revoluce, která díky kombinaci šlechtění, využití nových technologií v zemědělství a pokročilé výrobě hnojiv udržela kapacitu pro potřeby rostoucí lidské populace. Potenciál první zelené revoluce se však v současné době do značné míry vyčerpává. V podstatě i Borlaugova pšenice udržela svou neporazitelnost v boji se rží „jen“ do r. 1999, kdy se objevil nový kmen rzi travní (*Puccinia graminis*) nazvaný Ug99, který bariéru rezistence prolomil. Proto mnozí upozorňují, že musíme reagovat novými způsoby na staré, ale i nové problémy zemědělství. Mezi největší výzvy v tomto ohledu patří udržení výnosu při nižší spotřebě hnojiv (jejichž výroba často závisí na fosilních palivech) a pesticidů. Další klíčovou potřebou je vyšlechtění rostlin rezistentních k biotickým a abiotickým stresům.

Klasické metody šlechtění spočívají zejména ve výběru rostlin s požadovanými (lepšími, zajímavými) vlastnostmi a křížení odlišných jedinců se specifickými vlastnostmi tak, aby potomstvo mělo požadované znaky obou rodičů. Je nasnadě, že změna vlastností dané rostliny, aby byla použitelná ve šlechtitelských programech, musí být dědičná. Již ve 20. letech 20. století bylo prokázáno, že různé typy záření mohou indukovat mutace u kukuřice a ječmene v mnohem větší míře, než se za normálních okolností přirozeně děje. Pomocí tohoto typu mutagenese později vznikla řada odrůd, které se dodnes hojně využívají. Genetické inženýrství v tom pravěm slova smyslu, kdy byla úmyslně přenesena genetická informace z jednoho organismu do druhého, se začíná uplatňovat až počátkem 70. let minulého století. Počátkem 80. let pak vzniká první rostlina upravená v laboratoři – tabák rezistentní k antibiotiku kanamycinu.

Velkou revolucí v manipulaci s DNA a potažmo s genomy rostlin *in vivo* je využívání programovatelných nukleáz. V tomto ohledu hraje roli objev čtyř těchto klíčových enzymů – Meganukleázy, zinc finger nukleázy, TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) a CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – CRISPR-associated protein). Zejména TALEN a CRISPR-Cas představují pro svou přesnost, relativní jednoduchost a časovou nenáročnost skutečnou revoluci v editování nejen rostlinných genomů. Ve světle cenové a politické nestability potravinových a energetických komodit se stávají tyto technologie hlavní součástí procesu nazvaného Druhá zelená revoluce. Základní princip je u TALEN i CRISPR-Cas stejný, v obou případech jde o nukleázu, kterou lze metodami genetického inženýrství upravit tak, aby rozpoznávala specifickou sekvenci DNA a v této

1 Moderní zemědělství přetvořilo nejen krajinu, ale nasměrovalo charakter vývoje lidstva velmi specifickým způsobem. Je iluzí si myslet, že se vývoj zastavil a my můžeme jen udržovat, co nám naši předci předali. Vyškovsko. Foto Z. Gorgoň, z archivu Asociace soukromého zemědělství ČR





2 Expres reportérového transgenu v klíčcích rostlinách. Modrá barva představuje pozitivní aktivitu reportérového transgenu (v tomto případě GUS – beta-glukuronidázy). Tento systém se využívá kromě jiného jako kontrola přítomnosti a zejména aktivity (expres) nově vložené molekuly DNA do rostliny.

3 Tkáňové kultury používané ke konstrukci transgenických rostlin.

Foto V. Hudzieczek (obr. 2 a 3)

oblasti genomu vytvářela zlomy. Opravy takových zlomů mohou zanechat na místě mutace, které naruší funkci genů, případně mohou být reparační mechanismy využity k cíleným opravám nebo vložení DNA fragmentů do genomu. Cílené změny genomu nabízejí velkou paletu možností, jež lze uplatnit nejen pro šlechtitelské aplikace, ale také v základním výzkumu. Editace genomu se proto stala jedním ze základních nástrojů experimentální biologie, především při objasňování funkce genů.

V současné době dochází k rozlišování plodin vzniklých pomocí přenosu DNA z nepříbuzného organismu, tedy transgenických rostlin – v pravém slova smyslu geneticky modifikovaných organismů (GMO) – a plodin, které vznikly pomocí tzv. nových metod šlechtění (New Breeding Techniques nebo též New Plant Engineering Techniques). Mezi nejčastější patří zejména využití zmíněných nukleáz, cisgenoze (přenos DNA ze stejného nebo blízkého příbuzného druhu), roubování nepříbuzného druhu na geneticky modifikovanou podnož a změna transkripční aktivity bez zásahu do vlastního genomu čili epigenetické metody.

K plodinám patřícím do skupiny transgenických se řadí zvláště plodiny rezistentní k herbicidům, známý je především glyfosát, a škůdcům – hlavně Bt plodiny (s vneseným genem bakterie *Bacillus thuringiensis* kódujícím protein toxický pro určité druhy hmyzu). Mezi transgenickými rostlinami najdeme např. i zlatou rýži (geneticky upravenou odrůdu obsahující beta-karoten, prekurzor vitamínu A) nebo papáju, první komercializované transgenické ovoce geneticky modifikované tak, aby bylo odolné vůči viru PRSV (Papaya Ringspot Virus). Přestože by se mohlo zdát, že jde zatím jen o experimentální počín, v některých státech, jako jsou např. USA, Brazílie, Kanada, Argentina a Indie, se pěstují na desítkách milionů hektarů a tvoří u některých plodin naprosto dominantní položku. V České republice byla komerčně pěstována Bt ku-



kuřice odolná vůči motýlímu škůdci zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*) a odrůda brambor Amflora, která má modifikovaný obsah škrobu pro nepotravinářské využití. Kvůli velkým nejen byrokratickým problémům už se ale s těmito plodinami na našich polích v podstatě nesetkáte. Zvláště absurdní je to v případě Bt kukuřice, kdy vlivem klimatických změn dochází k masovému šíření zavíječe v našich podmínkách. Co se týče výhod nových metod šlechtění a jejich využitelnosti, jasným příkladem je pšenice, která využitím CRISPR-Cas editace získala rezistenci k padlí. V tomto případě jde o paralelní vyřazení aktivity 6 kopií (pšenice je hexaploid) genu *EDR1*, které vede k rezistenci na tuto především ekonomicky nebezpečnou chorobu.

Během šlechtění se při klasických postupech víceméně sledoval jeden nebo jen několik klíčových znaků významných pro šlechtitele. Při tomto procesu byl minimální tlak na zachování dalších znaků, jako je např. odolnost vůči různým chorobám. To se odráží i na úrovni struktury genomů, kdy je náhodně ztracena funkce různých genů, které mohou časem z genomu až úplně zmizet. Moderní metody šlechtění nejenže mohou zabránit tomuto nežádoucímu efektu rychlou manipulací pouze se zájmovým genem, ale navíc umožňují vrácení ztraceného genetického materiálu plodinám, které o důležité geny během tisíců let domestikace přišly. Zároveň mohou být tyto metody včetně editace genomů nápomocny při domestikaci a šlechtění rostlin, jež se v zemědělství či potravinářství využívají jen okrajově. Nutričními vlastnostmi by takové plodiny mohly významně obohatit a zpestřit jídelníček, a to nejen v rozvojových zemích.

Věda a vědecké bádání bývají často prezentovány jako nepřimočaré, kdy k zásadním změnám (změně paradigmatu) dochází skokově. V případě editování genomů nastává spíše opak. Jde o kombinaci využití poznatků získaných díky velkým sekvenčním projektům, přenosu znalostí o biologii modelových rostlin na zemědělské plodiny a vývojem technik manipulace s DNA. K revoluci došlo a dochází na základě mnohaleté kumulace znalostí. Je třeba zdůraznit, že stejně jako genetická modifikace probíhá v přírodě běžně a přirozeně, tak i pro editaci genomů využíváme téměř výhradně nástroje, které v přírodě existují. Pouze jsme je adaptovali a mechanismy manipulace s DNA nebo

RNA vzniklé evolucí prokaryot i eukaryot přebíráme a napodobujeme.

Je trochu s podivem, že Evropa a Evropská unie jako jedna z nejprogressivnějších částí světa, co se týče např. péče o životní prostředí a trvale udržitelného rozvoje, nehraje prim v prosazování využívání vhodných plodin vzniklých novými metodami šlechtění. Mezi klíčové pozitivní dopady může patřit snižování množství používaných pesticidů, snížení spotřeby hnojiv a větší efektivitou pěstování rostlin také úspora významné části krajiny jinak potřebné pro zemědělské účely. Snahou vytvořit rostliny a plodiny rezistentní k suchu a dalším extrémům počasí by došlo i k optimalizaci hospodaření s vodou. A v neposlední řadě je určitě dobré zmínit zvýšení nezávislosti na vnějších politických a ekonomických tlacích, které se v poslední době nečekaně stupňují. Za necelých 40 let, kdy jsou geneticky modifikované plodiny komerčně pěstovány, nebyly zjištěny žádné negativní vlivy GMO technologií na životní prostředí, zdraví konzumentů nebo hospodářských zvířat, která byla GM plodinami krmena. Charakter změn genomu, k nimž dochází při použití nových metod šlechtění, je ještě mírnější, a lze tedy očekávat, že ani dopad na životní prostředí a konzumenty nebude nijak škodlivý.

Jeden z otců genetického inženýrství rostlin Marc Van Montagu tvrdí, že pro celý obor bylo nešťastné samotné pojmenování geneticky modifikované organismy. Název demonstruje lidskou dominanci a potřebu věci měnit. Ale vývoj nejen lidstva se děje neustálou změnou vnějších podmínek, kterým se daný druh přizpůsobí, nebo vyhyne. Postupně se legislativy jednotlivých států přiklánějí k názoru, že nové metody šlechtění negenerují a priori GM rostliny, zvláště v případě, kdy by daný genotyp mohl přirozeně vzniknout i bez zásahu člověka. Jako mnohokrát v dějinách se tak dostáváme na křižovatku, kdy naše vlastní schopnosti a možnosti narážejí na limity a bariéry politické, legislativní, etické a v neposlední řadě ekonomické.

Na počátku moderního zemědělství bylo inovativní chování pravděpodobně velmi malé skupiny lidí. Možná by v rámci předsednictví EU mohla Česká republika být takovou malou vizionářskou silou, která určí cestu ze současné mnohavrstevné krize.

K dalšímu čtení např. Živa 2012, 4: 155–157; 2016, 4 a 6; 2017, 1–4 a 6; 2017, 2: 70–72 a XLVII–XLIX.