

Ćwiczenie 09: GMO

Organizmy transgeniczne. Rośliny transgeniczne i ich wykorzystanie. GMO w medycynie.

Kornelia Polok

1. Organizmy transgeniczne

1.1. Definicje biologiczne i prawne

- ➔ **Pojęcie GMO.** Organizm modyfikowany genetycznie może być mylące, gdyż wiele konwencjonalnych technik, w tym krzyżowanie, introgresji, mutageneza także prowadzą do modyfikacji genetycznych. Dlatego właściwszym terminem byłoby określenie: organizm otrzymany w wyniku metod inżynierii genetycznej. Przy czym wprowadzony gen musi dziedziczyć się zgodnie z prawami mendla. Niestety przestrzeń publiczna została zdominowana przez termin GMO, co powoduje, że definicje są pełne szczegółów. A te są różnie interpretowane przez prawników.
- **Ustawa o mikroorganizmach i organizmach genetycznie modyfikowanych z dnia 22 czerwca 2001 r. z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2019, poz. 706; z 2020 r. poz 322).**
 - ▶ Dawca: organizm, z którego pobiera się kwas nukleinowy.
 - ▶ Biorca: organizm, do którego wprowadza się kwas nukleinowy.
 - ▶ Organizm: każda jednostka biologiczna, komórkowa lub niekomórkowa, zdolna do replikacji lub przenoszenia materiału genetycznego. *(Uwaga: definicja nie odpowiada biologicznej definicji organizmu jako istoty żywej charakteryzującej się procesami, które tworzą funkcjonalną całość zdolną do samodzielnego życia. Celem ustawodawcy było włączenie wirusów, ale w efekcie prawnicy zaliczają do organizmów także wektory czy konstrukty mRNA, co nie jest zgodne z sensem biologicznym i sensem ustawy).*
 - ▶ Organizm genetycznie zmodyfikowany: organizm inny niż ludzki, w którym materiał genetyczny został zmieniony w sposób niezachodzący w warunkach naturalnych.
 - ▶ Wektor: cząstka kwasu nukleinowego pozwalająca na wprowadzenie i stabilne utrzymanie cząstek kwasu nukleinowego biorcy. *(Uwaga: wektor to nie organizm, jednakże część prawników utożsamia wektor z organizmem, gdyż wektor przenosi materiał genetyczny. Dla biologa wektor i organizm to różne pojęcia).*
 - ▶ Wprowadzenie do obrotu: udostępnienie osobom trzecim.

- ▶ Zamknięte użycie GMO: prowadzenie modyfikacji genetycznej organizmów w jednostce inżynierii genetycznej (np. na uczelni), kontakt GMO z ludźmi i zwierzętami jest ograniczony.
- ▶ Otwarte użycie GMO: wprowadzenie do środowiska.
- Obecna ustawa wprowadziła rejestr jednostek zajmujących się organizmami GMO nawet, gdy ich otrzymywanie dotyczy jednostek naukowych i stanowi element procedur laboratoryjnych w innych procesach. Tym samym wszystkie jednostki prowadzące badania molekularne powinny być wpisane do rejestru oraz powinny zgłaszać wszelkie przypadki użycia GMO np. podczas sekwencjonowania (tworzenie wektorów, sztucznych chromosomów itd.).

1.2. Metody otrzymywania GMO

1.2.1. Aby otrzymać organizm genetycznie modyfikowany należy:

- ➔ ● znać gen, który chcemy wprowadzić;
- wyizolować gen z organizmu dawcy;
- wstawić gen do wektora wraz z promotorem oraz markerami selekcyjnymi i genami reporterowymi;
- wprowadzić wektor do organizmu docelowego;
- wyselekcjonować rośliny, które zawierają gen;
- określić dziedziczenie w kolejnych pokoleniach.

1.2.2. Pojęcia

- Transformacja: proces, który prowadzi do wprowadzenia obcego materiału genetycznego najczęściej na skutek pokonania bariery błony komórkowej. Transformacja może zachodzić naturalnie, np. za pomocą niektórych bakterii, wirusów. Stanowi ona główny mechanizm horyzontalnego transferu genów. W laboratoriach wykorzystuje się na potrzeby inżynierii genetycznej.
- Transformat (organizm transformowany): organizm, do którego wprowadzono obcy materiał genetyczny, ale nie potwierdzono jego dziedziczenia.
- Organizm transgeniczny: organizm, do którego wprowadzono obcy materiał genetyczny oraz potwierdzono jego dziedziczenie zgodnie z prawami Mendla.
- Transgen: gen, który wprowadzono metodami inżynierii genetycznej.
- Marker selekcyjny: geny wykorzystywane w inżynierii genetycznej, które pozwalają wyselekcjonować organizm, u których zaszła transformacja. Najczęściej są to geny odporności na antybiotyki lub herbicydy.
- Gen reporterowy: gen, który pozwala śledzić ekspresję wprowadzonego genu, np. gen lucyferazy.



Rys. 1.2.1. Przykład luminescencji pozwalającej obserwować brodawki korzeniowe u soi dzięki wstawieniu genu *nifD-luxAB*, który koduje lucyferazę.

2. GMO w medycynie

2.1. Rośliny jako bioreaktory

Rośliny stanowią wygodny bioreaktor do produkcji leków i szczepionek. Przykładem są transgeniczne ziemniaki, które w niektórych państwach azjatyckich wykorzystywane są do produkcji zrekombinowanych antygenów dla szczepionek przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B. W państwach europejskich białko wykorzystywane w szczepionkach przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby jest produkowane w komórkach drożdży. Technologia ta jest jednak droga i dlatego trudna do zastosowania w uboższych krajach. Produkcja białek w komórkach roślinnych ma dodatkowe zalety związane z obecnością białek opiekuńczych, homologicznych do tych obecnych u ssaków. Białka opiekuńcze kontrolują skuteczność syntezy białek strukturalnych oraz ich potranslacyjne modyfikacje. Zagrożenia związane z wykorzystaniem roślin to przede wszystkim niska efektywność i zagrożenia środowiskowe.

Produkt	Typ związku	Choroba	Roślina
Fragmenty przeciwciał Fv	Przeciwciało	Chłoniak nieziarniczy	Wektor wirusowy w tytoniu
CaroRx	Przeciwciało	Próchnica zębów	Transgeniczny tytoń
Lipaza	Enzym terapeutyczny	Mukowiscydoza, Zapalenie trzustki	Transgeniczna kukurydza
Czynnik wewnętrzny, Castla	Suplement diety	Niedobór witaminy B12	Transgeniczny rzodkiewnik (<i>A. thaliana</i>)
Laktoferyna	Suplement diety	Zakażenia przewodu pokarmowego	Transgeniczna kukurydza
Toksyna <i>E. coli</i> wrażliwa na temperaturę	Szczepionka	Ostra biegunka	Transgeniczna kukurydza, transgeniczny ziemniak
Antygen powierzchniowy WZW B	Szczepionka	Żółtaczkę typu B	Transgeniczna kukurydza, transgeniczna sałata
Białko kapsydu wirusa Norwalk	Szczepionka	Zakażenia przewodu pokarmowego spowodowane norowirusem	Transgeniczny ziemniak
Glikoproteina wirusa wścieklizny	Szczepionka	Wścieklizna	Wektor wirusowy w szpinaku

2.2. Szczepionki na bazie GMO

Szczepionki podjednostkowe to szczepionki zawierający jeden lub więcej antygenów. Można je pozyskać poprzez hodowlę szczepu mikroorganizmu i izolację określonego antygeny. Inną możliwością jest identyfikacja genów kodujących dany antygen i ekspresja tego genu w innym organizmie, np. komórkach *E. coli*, drożdży, owadów, roślin. W tym przypadku mamy do czynienia ze szczepionkami rekombinowanymi będącymi produktami inżynierii genetycznej.

- Szczepionka przeciw gorączce Zachodniego Nilu: białko E otoczki wirus podlega ekspresji w komórkach *D. melanogaster*.
- Szczepionka przeciw WZW B – geny kodujące antygen HbsAg wstawiono do komórek drożdży. Wprowadzona w 1986 r.
- NUVAXOVID: szczepionka przeciw COVID-19 – gen kodujący białko S wirusa SARS-CoV-2 wstawiono do kultury komórek ćmy, *Spodoptera frugiperda*.
- Szczepionki DNA: antygeny zostają wprowadzone do plazmidu bakteryjnego pod kontrolą silnego promotora wirusowego. Po przedostaniu się do organizmu gospodarza dochodzi do ekspresji genów zawartych w konstrukcji i produkcji antygenów.

2.2.1. Na podstawie materiałów internetowych proszę opisać po jednym przykładzie wykorzystania GMO

- W produkcji leków
- W poprawie jakości produktów żywnościowych.

W opisie proszę uwzględnić następujące elementy:

- A. Produkt (lek), który jest wytwarzany przez GMO.
- B. Nazwę polską i łacińską organizmu dawcy, z którego pochodzi gen kodujący produkt.
- C. Nazwę polską i łacińską organizmu biorcy, czyli organizmu, do którego wprowadzono obcy gen.
- D. Chorobę lub problem, który ma być rozwiązany poprzez wprowadzenie GMO.

Samodzielne wykonanie: 5 p

Termin: 11.06.2022, 23:59