



A növekedés és fejlődés géntechnológiai módosításaival foglalkozó VII. fejezet negyedik részében, az érésben módosított GM-fajták közül azokat ismertetjük, melyeket szensz és antiszensz technikával állítottak elő, és korábban köztermesztésben voltak, illetve vannak.

Tanuljunk géntechnológiául (47.)

Növekedésben és fejlődésben módosított GM-fajok és -fajták (VII./4.)

A gyümölcs érésének és a virág vázaélettartamának géntechnológiai módosítása

Dr. Heszky László

SzIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Genetika és Biotechnológiai Intézet, Gödöllő

Bevezetés

A gyümölcserés, a klimakterikus növények (pl. paradicsom) húsos termései fejlődési periódusa végén, a végső alak és nagyság elérésével egy időben elinduló komplex biológiai folyamatok (légzésintenzitás erősödése) eredményeképpen megjelenő minőségi változások összessége. Jellegzetességei a **puhulás**, ami a sejtfalakat összetartó pektin enzimatisz elbontásának következménye, továbbá **cukrok, illat-, íz- és színanyagok** (karotinoidok, antociánok) **termelődése** és felhalmozódása. Az utóbbi folyamatokban kitüntetett szerepe van egy növényi „gázhormonnak”, az **etilén**-nek. Az érés molekuláris hátterének ismeretében a géntechnológusok kétféle stratégiát dolgoztak ki. Céljuk a paradicsom puhulási, illetve az érési folyamatainak gátlása (lassítása) volt. A stratégiák sikerét bizonyította, hogy az érésben módosított GM-paradicsomfajták elsőként kerültek kereskedelmi forgalomba a világon (USA, 1994), két évvel megelőzve a herbicid-toleráns és rovarrezisztens GM-fajták 1996-os termesztésének kezdetét. Az előállító a Calgene nevű kis cég volt, amit a Kaliforniai Egyetem (Davis) professzorai alapították egy garázsban.

A paradicsom puhulásának gátlása

Az USA-ban 1994-ben az első piacra kerülő transzgenikus termék a **Flavr Savr™** (későn puhuló) paradicsom volt, amiben a pektin elbomlásáért felelős enzim termelődését szensz/antiszensz orientációjú poligalakturonáz (**PG**) génnel gátolták, illetve lassították. A **Calgene Inc.** kutatói géntechnológiával kívánták elérni, hogy az amerikai fogyasztók kiváló ízű paradicsomot vásárolhassanak. Az USA-ban ugyanis a több millió tonna paradicsom 80 %-a íztelenül került a fogyasztók asztalára, mert a nagy szállítási távolságok miatt zölden szedték le, majd a hosszú szállítás után etilén-gázban (12-18 óra, 20 °C) váltották ki az érést. A későn puhuló GM-paradicsom ezzel szemben a szántóföldön, vagy az üvegházban beérhetett, és mivel puhulásért felelős PG-enzim génjének működése gátolva volt, kemény maradt és jól bírta a szállítást (1./1. kép).

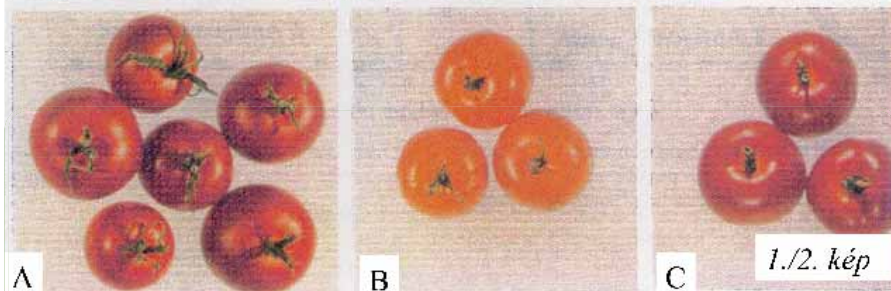
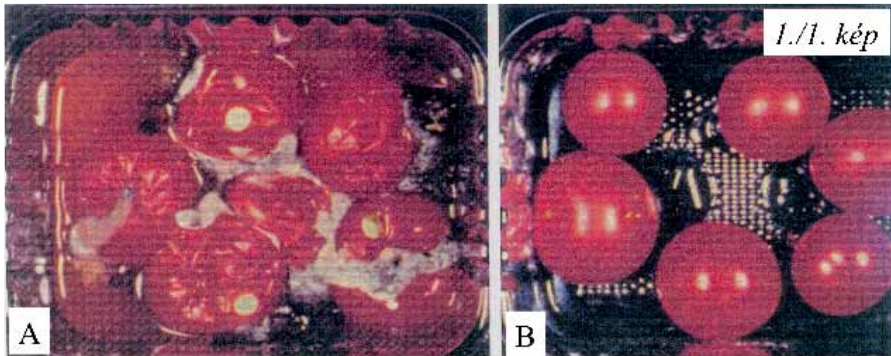
A **Flavr Savr™ GM-paradicsom** előállítására az antiszensz technikát használták (ld. Agrofórum 2014, 25./11., számában „Növényi gének működésének gátlása (antiszensz technika és RNS interferencia”). A transzgen konstrukció, paradicsomból származó poligalakturonáz enzim génjét tartalmazta antiszensz

orientációban. A transzgenikus paradicsom termésében a puhulásért felelős poligalakturonáz (PG) enzim génjének működése gátolva volt, a sejtekben ezért nem termelődött a PG-enzim. Az enzim hiányában a sejtfalakat összekötő pektin elbomlása nem következett be, és ezért a GM-gyümölcsök érett állapotban is kemények maradtak.

A **Flavr Savr™ génonstrukció** a következő elemekből állt:

- ▶ **Gazdaságilag jelentős gén:** karfiolmozaik vírus 35S promóter (CaMV 35S), paradicsom eredetű poligalakturonáz (PG) gén (szensz és antiszensz orientációban), *At* (*Agrobacterium tumefaciens*) oktopin-szintáz terminátor,
- ▶ **Markergén:** kanamicin-toleranciát biztosító neomicin-foszfotranszferáz (*nptII*) gén, *At*. mannopin-szintáz promóter és terminátor.

A **Flavr Savr™ GM fajta** 1991-ben került előállításra, és a sikeres szántóföldi kísérletek után a Calgene Inc. 1993-ban kérte a forgalmazási engedélyt az FDA-tól (Food and Drug Agency), amit 1994-ben meg is kapott. A Calgene Inc. engedélye a Flavr Savr™ paradicsom friss fogyasztású terméként való forgalmazását tette lehetővé az



1./1. kép **Flavr Savr GM-paradicsom (B) a világ első kereskedelmi forgalomba került GM-fajtája (USA, 1994)**

A: hagyományos fajta sérül és penészedik a rázatott tesztet követő napokban

B: GM-fajtán nincs sérülés a rázatott tesztet követően

1./2. kép **Endless Summer GM-paradicsom (USA, 1995)**

A: hagyományos fajta érés stádiumban betakarításkor

B: GM-fajta „érés” stádiumban betakarításkor

C: GM-fajta 1-2 napos etilén gázos kezelést követően

(Newbury, H. J.(2003): Plant molecular Breeding. Blackwell Publisher)

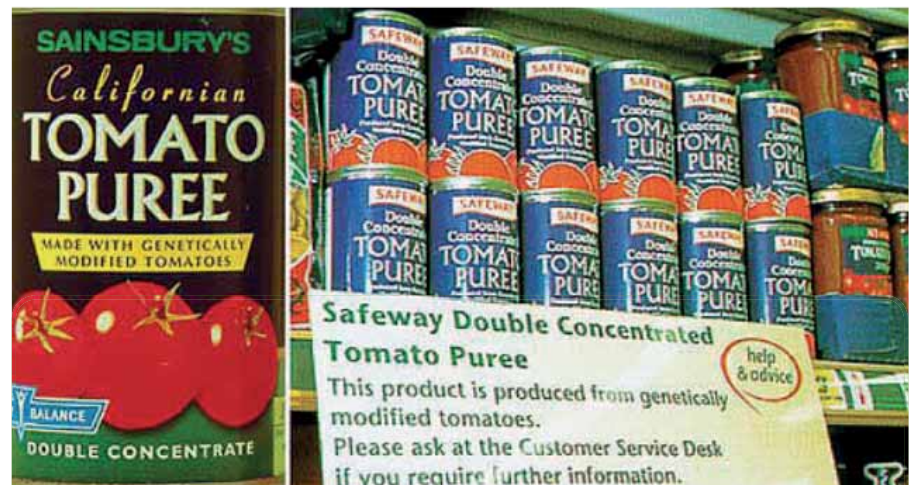
„Cry-génekre alapozott rovarrezisztens génkonstrukciók a világon és az EU-ban” című részben (Agroforum 2013, 24./11, 88-93.) ismertették. A GM-paradicsomban gátolt volt a pektint bontó PG-enzim génjének működése. A PG-enzim hiánya a GM-paradicsomban növelte a szárazanyag-tartalmat, ezért a cég, a Calgene céggel egyeztetve, nem a friss fogyasztásra, hanem a GM-paradicsom ipari feldolgozására és konzerv formában való forgalmazására helyezte a hangsúlyt. Az 1991-94 között végzett szántóföldi kibocsátási kísérletek sikeres befejezését követően, a GM sűrített paradicsomot tartalmazó konzervek 1996-ban jelentek meg a nagy bevásárlóközpontok polcain Kaliforniában (2. kép). A sűrített GM-paradicsom konzerveket a Zeneca Seeds az Egyesült Királyságban (UK) is árusította. A GM paradicsompüré-konzerv a legnagyobb mennyiségben eladott paradicsomsűrítmény volt az Egyesült Királyságban 1999-ben és 2000-ben.

A GM paradicsompüré-konzerv előnye, hogy olcsóbban lehetett előállítani, ezért a GM-termék 20 %-kal olcsóbb volt. Ennek ellenére forgalmazását 2001-ben megszüntették. Az előállító Zeneca Seeds cég ugyanis gazdaságtalannak ítélte a kaliforniai termelést és a UK-ba való szállítást, továbbá az EU-ban, az ezredforduló körüli években, GMO-moratóriumot vezettek be.

egész világon. Ennek ellenére Kalifornián kívül csak az USA középnyugati államaiban árusították. Ezekben az államokban viszont 1995-ben, 2500 áruházban forgalmazták. Ezt követően a fajta árusítása egy éven belül megszűnt. Az EU-ban sohasem került forgalomba. Ami az előállító Calgene Inc. céget illeti, a szabadalmi vitájukat a Monsanto, a cég megvásárlásával zárta le 1996-ban.

A friss fogyasztású Flavr Savr™ GM-paradicsom előnye, a kiváló íze (érett állapotban lehetett szedni), jobb szállíthatósága (érett állapotban is kemény maradt) és a hosszabb idejű árusíthatósága (érett állapotban lassabban puhult) volt. Ennek ellenére 1997-ben visszavonták a piacról. Legvalószínűbb okok, a víruseredetű promotérral (CaMV 35S) és az antibiotikum (kanamicin, neomicin) rezisztenciát adó marker génnel szembeni kifogások és támadások voltak.

Az 1980-as évek végén, a Campbell élelmiszer-ipari vállalat (USA) támogatást adott a Zeneca Seeds cégnek, GM-paradicsom előállításra. Az előállított GM-paradicsomba, szensz és antiszensz orientációban, a PG-gén csonkolt (az eredeti génnek csak egy részét tartalmazó) változatát építették be. A géncsonkolást a



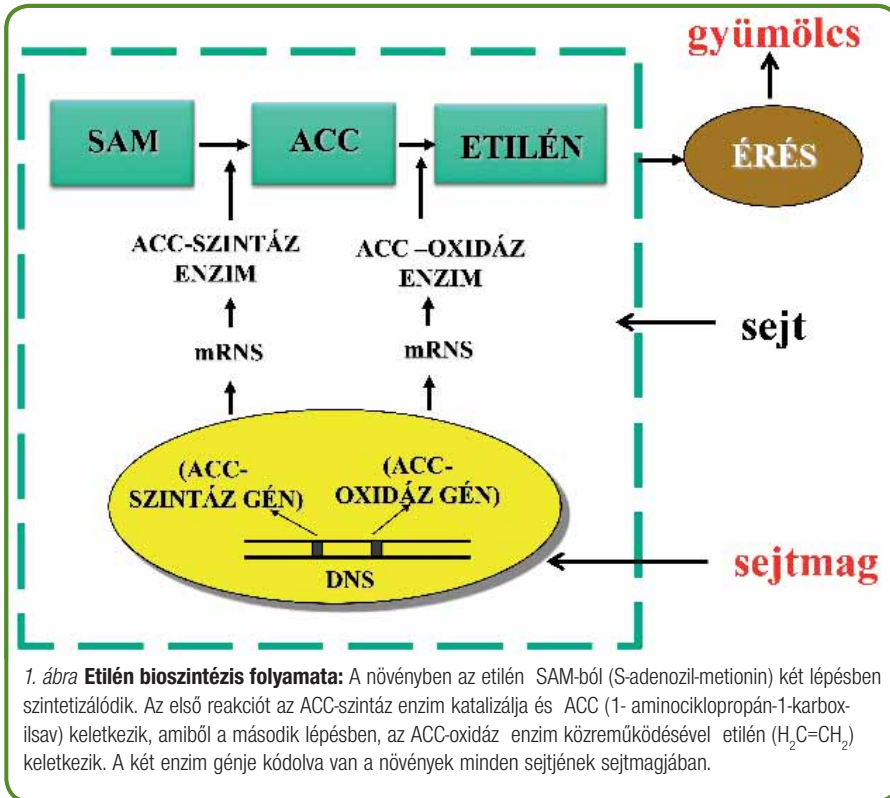
2. kép **A Flavr Savr paradicsomból készült püré konzerv az USA és a UK üzleteinek polcaira került**

A tájékoztató szöveg: Ez a termék genetikailag módosított paradicsomból készült. Amennyiben kérdése van kérem, forduljon az információs pulthoz.

(Redebaugh, K., McHughen, A.: California Agriculture 58(2):106-115).

GM paradicsompüré-konzerv





A 20. század utolsó évtizedében további cégek is (Agritope Inc., Aventis, DNA Plant Technology Corp., Seminis, Monsanto) próbálkoztak transzgenikus paradicsom előállításával. Ezek közül azonban egy sem került kereskedelmi forgalomba, viszont számos, szabaddalombitorlással kapcsolatos, perekhez vezetett. A Monsanto győzelme előtt, azonban a DNA Plant Technology Corporation, a New York-i piacokon, tesztelési célból, piacra dobta az Endless Summer GM-vonalat. Ez a géntechnológiával módosított paradicsom, azonban már az etiléntermelés gátlását, és azzal az érés lassítását célzó stratégia kereskedelmi célú terméke volt.

A paradicsom érésének gátlása

Az USA-ban 1995-ben a második piacra kerülő transzgenikus termék az *Endless Summer* (későn érő) paradicsom volt, miben az etilén termelődését a DNAP (DNA Plant Technology Corporation) az ACC-szintáz enzim, csonkolt szensz és antiszensz géneivel gátolták, illetve lassították.

Az etilén bioszintézis prekurzora az S-adenozil-metionin (SAM), amiből két lépésben keletkezik az etilén (1. ábra). A bioszintézisben

részvevő két enzim közül az első, az ACC-szintáz (1-aminociklopropán-1-karboxilsav-szintáz), ami az S-adenozil-metioninból az ACC átalakulást (konverziót) katalizálja. Az ACC a közbenső prekurzora az etilénnek ($H_2C=CH_2$), aminek szintézisét a második enzim az ACC-oxidáz (1-aminociklopropán-1-

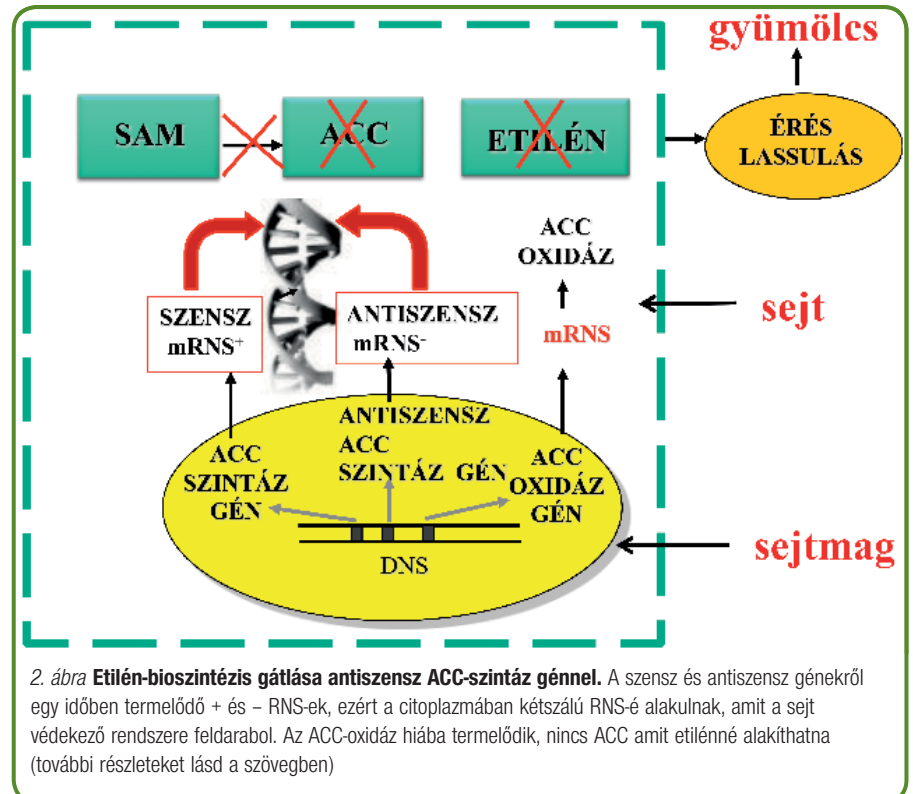
karboxilsav-oxidáz) katalizálja. Ezt az enzimet ezért, EFE-nek (Ethylene Forming Enzyme) is nevezik.

A géntechnológia stratégiája az antiszensz génnel való transzformációra alapult. A 2. ábrán az ACC-szintáz gén működésének, poszt-transzkripció gátlása látható. A PTGS részletes magyarázatát ld. az Agrofórum 2014, 25./11-es számában („Növényi gének működésének gátlása /antiszensz technika és RNS interferencia”).

Az *Endless Summer* génkonstrukció a következő elemekből állt:

- ▶ **Gazdaságilag jelentős gén:** kariofimozaik vírus 35S promóter (CaMV 35S), paradicsom eredetű csonkolt ACC-szintáz (1-aminociklopropán-1-karboxilsav-szintáz) gén (szensz orientáció), *At* (*Agrobacterium tumefaciens*) nopalin-szintáz terminátor,
- ▶ **Markergén:** neomicin-foszfotranszferáz (*nptII*, *neo*) gén, *At*. (*Agrobacterium tumefaciens*) nopalin-szintáz (nos) promóter és *At*. oktopin-szintáz terminátor.

Az érésben gátolt GM-növények gyümölcsében az etilén, mint az érést serkentő hormon (gázhormon) nem, vagy sokkal kisebb



mennyiségben termelődik. A GM-gyümölcsök etiléntartalma 1/50-ed része volt a kontroll nem módosított gyümölcsökének. Ennek következtében az etilénnel serkentett oxidációs érési folyamatok is jelentősen lelassultak. A GM-növény gyümölcse ezért hetekig, esetleg hónapokig sem tudott beérni. Az Endless Summer (végtelen nyár) elnevezés is, találón erre utal. A GM-gyümölcsök teljes éréséhez azonban mindenképpen etilén-gázban való tartás volt (12-18 óra, 20 °C-on) szükséges (1./2. kép).

Az Endless Summer GM-paradicsom kísérletképpen került a kereskedelmi fogalomba New York-ban, 1995-ben. Figyelemmel viszont a szabadalmával kapcsolatos kifogásokra és kockázatokra, a köztermesztésből 1997-ben visszavonták (3. kép).

Az etiléntermelés gátlásán alapuló, lassabban érő GM-paradicsomot az Agritope Inc. és a Monsanto is előállított. Az Endless Summer megközelítéssel szemben, a Monsanto stratégiája az ACC-deamináz génre, az Agritope-é pedig az S-adenozilmetionin-hidroláz génre alapult. Ezek szántóföldi kipróbálásra kerültek az USA-ban, a forgalmazási engedélyt is megkapták, azonban sohasem kerültek köztermesztésbe.

Érésben gátolt transzgenikus tök (*Cucumis melo* L.)

Az Agritope Inc. által alkalmazott transzgenben az etiléntermelést az S-adenozilmetionin (SAM) hidroláz génje gátolta. A stratégia lényege, hogy a gyümölcs sejtjeiben az etilén prekursorát, az S-adenozilmetionint, a transzgen által termelt hidroláz enzim elhasítja. Ezzel – SAM hiányában – gátlódik az ACC, illetve az etilénszintézis. Az USA-ban ugyan voltak szántóföldi kísérletek, de nem került kereskedelmi forgalomba.

A szegfű vázaélettartamának növelése

A virágok hervadásában (szeneszcencia) az etilén fontos szerepet tölt be, hasonlóan gyümölcs



3. kép A kaliforniai Berkeley Egyetem professzora Athanasios Theologis (A) kollégáival határozta meg és blokkolta a gyümölcsök érésében résztvevő géneket. Az etilén- bioszintézisben gátolt Endless Summer (B) paradicsom New York-ban, rövid időre kereskedelmi forgalomba került 1995-ben. (Wright, B.: 1998. California Agriculture 52(6):8-13. <http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/biotech/currentbenefits.htm>)

csök éréséhez. Ezt támasztja alá, a vágott virágok etilén-gázban való tartása során bekövetkező gyors hervadás is. Természetes körülmények között az etilént maga a virág termeli (1. ábra). Ez az oka annak, hogy a virágkereskedők olyan vegyületekkel kezelik a virágokat, amik vagy gátolják a virágban az etiléntermelődést, vagy megvédik a virágot az etilén hervadást gyorsító hatásától.

A vágott virágok hervadásának lassításával, tehát azok vázaélettartama növelhető. A hervadás lassítása pedig a virágok etiléntermelésének gátlásával érhető el. Ennek ismeretében a géntechnológia stratégiája nem lehetett más, mint az etiléntermelés gátlása. Ez pedig – a paradicsom éréséhez hasonlóan – az etiléntermelés egyik lépését katalizáló enzim (ACC-szintáz) génje működésének gátlásával érhető el.

Az etilén bioszintézisét és az abban résztvevő enzimeket az 1. ábra tartalmazza. Az etiléntermelés antiszensz gátlását az Endless Summer GM-paradicsomnál már leírtuk (2. ábra).

A vázaélettartamot növelő gének konstrukció a következő elemekből állt:

- ▶ **Gazdaságilag jelentős gén:** karfiolmozaik vírus 35S promóter, szegfű eredetű csonkolt ACC-szintáz (1-aminociklopropán-1-karboxilsav-szintáz) gén szensz orientációban, *At*

(*Agrobacterium tumefaciens*) nopalin-szintáz (nos) terminátor.

- ▶ **Markergén:** szulfonilurea herbicid (Glean™) toleranciát biztosító acetolaktát-szintáz (*ALS*, *AHAS*) gén, karfiolmozaik vírus 35S promóter (CaMV 35S), és *Nicotiana tabacum* dohány eredetű *surB* terminátor. A gének konstrukciót a Florigene Pty. Ltd. (Ausztrália) a szegfű (*Dianthus caryophyllus* L.) 'Ashley' fajtájába építették be.

A vázaélettartamban növelt szegfűt az USA-ban, az Egyesült Királyságban (UK), Hollandiában és Ausztráliában tesztelték. A kísérleti eredmények szerint, a GM-szegfű vázaélettartama 22 nap volt, szemben a kontroll növények virágai 10 napos élettartamával. A GM-vonalat (line66) vegetatív úton szaporították, majd a transzgent keresztezéssel vitték át más fajtákba. A növelt vázaélettartamú GM-szegfűfajták zárt rendszerű üvegházi termesztésben vannak 1995-től Ausztráliában, és 1998-tól az Európai Unióban.

Hazai eredmények a SZIE-ről

Hazánkban, Kiss Erzsébet professzor asszony (SZIE, MKK, Genetika és Biotechnológiai Intézet) az 1990-es években, együttműködve a Cornell Egyetem (USA) Hrazdina G. professzorával állított elő etilénter-



melésben gátolt transzgénikus almát. A termőre fordult GM-fák gyümölcsseiben az antiszensz ACC-szintáz gént és RNS termékét Galli Zsolt PhD hallgató vizsgálta a Cornell Egyetemen (Geneva, NY, USA), a GM-gyümölcsök etiléntartalmával együtt. Az almában elért eredményekre alapozva, ugyancsak a SzIE Genetika és Biotechnológiai Intézetében, Veres Anikó doktorandusz *ACC-szintázisben gátolt szegfűt* állított elő a vázaélettartam növelése céljából. Az elért eredményeket nemzetközi lapokban, sikerrel védett PhD disszertációkban és Hrazdina (2000) professzor által szerkesztett könyvben publikáltuk.



A következő részekben a virág és termés színében módosított GM-stratégiákat és -fajtákat mutatjuk be.

Források:

- 📖 Bruening,G., Lyons, J.M.: 2000 The case of the FLAVR SAVR tomato. *California Agriculture* 54/4, 6-7.
- 📖 Heszky L.: 2006. Érés- és virágzasmódosítás. in: Heszky L., Fésüs L., Hornok L. (szerk.) *Mezőgazdasági Biotechnológia*. Agroinform Kiadó, Budapest, 180-181
- 📖 Hrazdina,G (ed):. 2000. Use of Agriculturally Important Genes in Biotechnology. 1-252. IOS Press Amsterdam (NL).
- 📖 Slater,A., Scott,N.W., Fowler,M.R.: 2003. *Plant Biotechnology (The Genetic Manipulation of Plants)*. 1-346. Oxford Univ. Press, Oxford GB).
- 📖 Wright,B.: 1998. Public germplasm development at a crossroads: Biotechnology and intellectual property *California Agriculture* 52(6):8-13.
- 📖 Birth of the biotechnology industry
- 📖 http://lifesciencesfoundation.org/events-Calgene_Inc.html
- 📖 Florigene Flowers
- 📖 https://www.google.hu/?gws_rd=ssl#q=Florigene
- 📖 The FlavrSavr® tomato
- 📖 http://lifesciencesfoundation.org/events-The_FlavrSavr_tomato.html
- 📖 <http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/biotech/currentbenefits.htm>