



A növekedés és fejlődés géntechnológiai módosításaival foglalkozó VII. fejezet ötödik részében, a virág-színben módosított GM-fajták közül azokat ismertetjük, melyeket részben RNS interferenciával (RNSi) állítottak elő, és köztermesztésben voltak, illetve vannak.

Tanuljunk géntechnológiául (48.)

Növekedésben és fejlődésben módosított GM-fajok és -fajták (VII./5.)

A virág színének géntechnológiai módosítása (lila szegfű, kék rózsza)

Dr. Heszky László

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

Bevezetés

A növények virágainak színe általában az adott fajra jellemző. A dísznövények között gyakoriak azok a fajok, amiknek különböző virágszínű változatait is előállították. Vannak azonban olyan színek, amiket egy adott fajban sohasem sikerült előállítani. Ilyen például a lila, vagy kék szegfű, rózsza, krizantém és gerbera. A molekuláris genetikai kutatások napjainkban feltárták ennek okait. A rózsában például hiányzik a kék színanyagok bioszintézisében résztvevő egyik enzim génje, emiatt sejtjei képtelenek előállítani a kék színért felelős antocián pigmentet. A géntechnológia eszköztára viszont lehetőséget ad, az evolúció ilyen típusú „hiányosságainak” korrigálására. A virágkertészek „szent Grálja” évszázadokon keresztül a kék rózsza volt. Kék színű rózsát a világon senkinek sem sikerült előállítania. A sikertelen próbálkozások, arra sarkallták a virágkertészeket, hogy egyszerűbb és könnyebb megoldást, a festést alkalmazzzák, amiről egy, a 12. századi arabul írt mű már említést tesz. A módszer viszonylag egyszerű és napjainkban is használatos. Fehér rózsaszálakat kék festék oldatába kell helyezni és abban órákig tartani. A fehér szirmlevelek néhány óra után elkezdnek kékülni. A virágok kék színe annál sötétebb lesz, minél hosz-

szabb ideig tartjuk a rózsaszálakat a festékben (1. kép).

A növényi színanyagok

A virágok színét meghatározó legfontosabb pigment-összetevők a flavonok, a karotinoidok és a betalainok. A **karotinoidok** zsiroldékony sárga színt adó vegyületek, melyeket a növény fotoszintetizáló szövetei termelnek. A **betalainok** vörös és sárga színű pigmentek, aromás indolszármazékok. A *Caryophyllales* rendbe tartozó fajoknál az antocianinokat helyettesítik. A három csoport közül a növények esetében a legfontosabb színanyagok a flavonok. A **flavonok** (flavonoidok) szintelen pigmentek. Különböző komponensei tízféle osztályba sorolhatók. Szintézisük a dihidroflavonból kettős kötés létrehozásával indul, melyet a flavon-szintáz (FLS) katalizál. A flavonoid bioszintézis során keletkeznek az antociánok. Az antociánok, vagy **antocianinok** (gör., virág+kék szavakból) a növényvilágban legelterjedtebb színanyagok gyűjtőneve.

Antocianinok bioszintézise

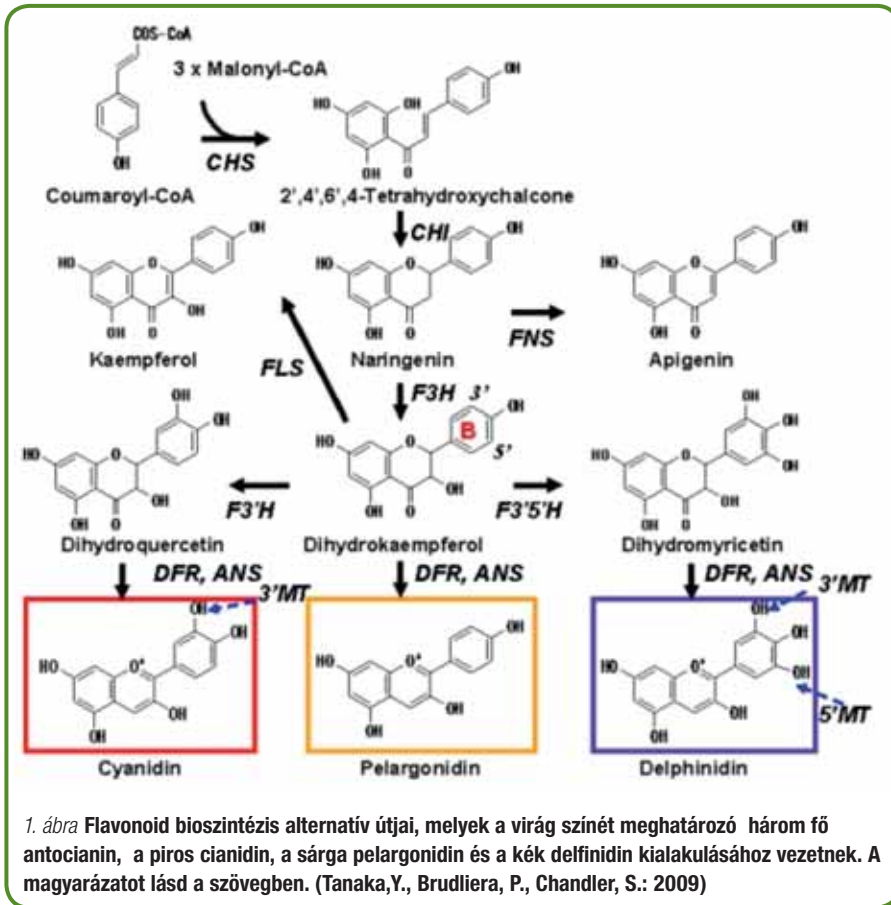
Az antocianinok különböző növényi szervek, szövetek sejtjei vakuólumában találhatóak. Ezek legtöbbször a szövetek külső sejtsoyai, mint pél-

dául az epidermisz vagy a külső mezofilium sejtjei. A sejtnedv kémhatásától függően színük savanyú közegben narancsvöröstől pirosig, lúgos közegben kék és kékeszöld között változik. (A pH-nak különös jelentősége lesz a kék rózsza esetében).

Az antocianin bioszintézise során stabil glikozilált formák (antocianidinek) keletkeznek. Kémiai szempontból ezért fenolos glükozidoknak tekinthetők. Szerke-



1. kép Festett kék rózsza. A levágott fehérvirágú rózsaszálak virágai, néhány óras kék festékbe való helyezést követően (nyíl), megkékülnek.
(http://www.123tagged.com/Comments/Most_Used/9/Blue_Roses.html)



(dihidroflavon-reduktáz). A kék pigment termelés alternatív útját az F3'5'H (flavonoid 3'5' hidroxiláz) és a delfinidin specifikus DFR (dihidroflavon-reduktáz) enzimek jelentik (1. ábra).

A virágok színének kialakításában a különböző antocianinek külön, illetve együttesen vesznek részt. A végső szín kialakulását azonban sok külső tényező is befolyásolja: a fémionok típusa és koncentrációja, a vakuólum pH-értéke, az antocianinok kémiai módosulásai (glikoziláció, aciláció, metiláció) stb. Ennek következtében a legkülönbözőbb színek és színárnyalatok alakulhatnak ki a virágokban, amiknek legfontosabb célja, a megporzó rovarok csalogatása.

Delfinidin alapú kékeslila szegfű előállítása

A 19 lila színárnyalatban kereskedelmi forgalomba került Moon™ márkajelű GM-szegfűváltozatokat a japán Suntory Csoport tagjaként a Melbourne-ban működő Florigene Ltd. állította elő. A GM-fajták között megtalálhatók a feketétől, a sötét lilán keresztül a világos ibolya színű virágú változatok (2. kép). Ezeket az eredményeket, különböző molekuláris genetikai megközelítésekkel, valamint az alapanyagok és a génkonst-

zetüket illetően különböző mértékben hidroxilált és metilált flavonvázis, vízben oldódó vegyületek. Napjainkig több száz féle antocianint írtak le, amik hat fő csoportba sorolhatók: pelargonidin, cianidin, peonidin, delfinidin, malvidin és petunidin. Ezek közül három a pelargonidin, cianidin és a delfinidin tekinthető a legfontosabbaknak (1. ábra).

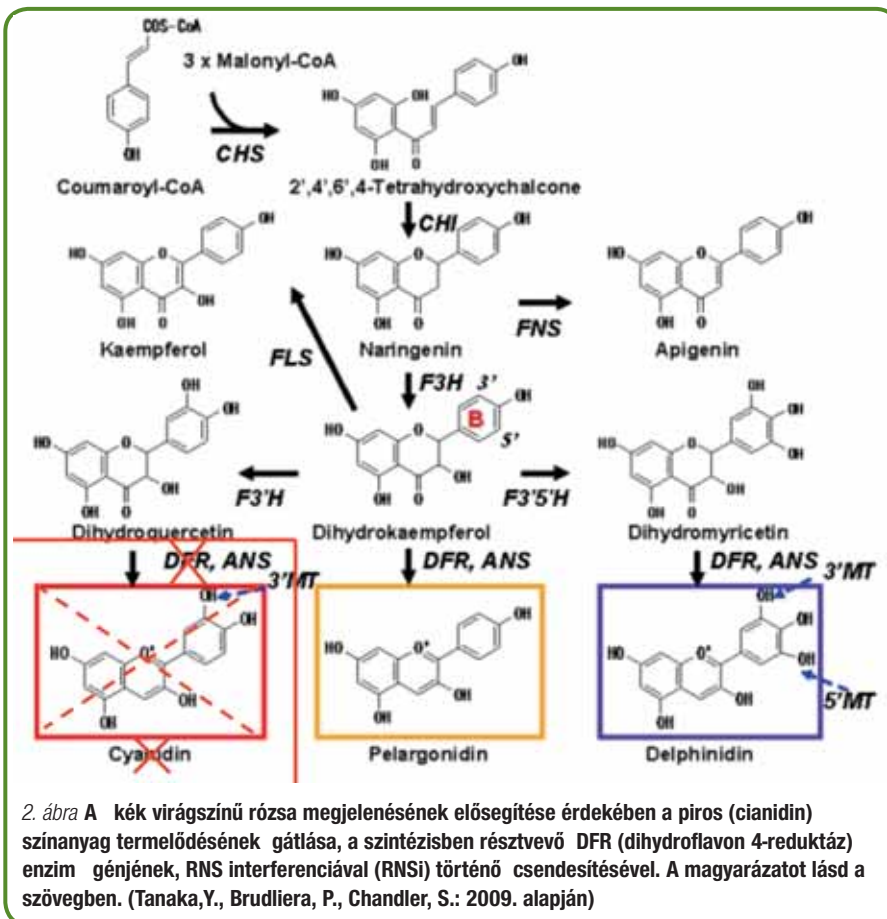
Az antocianinok bioszintézise a malonil-CoA-val és kumaroil-CoA-val indul. A különböző antocianinok bioszintézisének közös lépéseit a csalkon-szintáz (CHS) és a csalkonizomeráz (CHI) enzimek katalizálják (1. ábra). A két enzim génjeinek antiszensz gátlásával, az összes színanyag szintézise gátolható, ezért a transzgénikus növények (pl. GM-peónia) virágai fehérek lesznek.

Géntecnológiai módosítás szempontjából, a kulcsfontosságú bioszintetikus út központjában - a CHS és CHI által katalizált lépéseket követően kialakuló közttestermék - a DHK (dihidrokaempferol) áll. A szintézis itt elágazik. A különböző enzimatis utak eltérő színeket meghatározó antocianinokat, pontosabban antocianidineket eredmé-

nyeznek: a cianidin 3-glükozid = piros szín, a pelargonidin 3-glükozid=sárga szín, a delfinidin 3-glükozid = kék szín). A vörös színanyag termelésének kulcsenzimjei az F3'H (flavonoid 3'hidroxiláz), majd a cianidin specifikus DFR



2. kép A Florigene (ausztrál) és a Santory (japán) cégek által előállított és kereskedelmi forgalomba került „lila virágú” „Moon” szegfű sorozat virágszín változatainak legjellegzetesebb színárnyalatai: Moondust (1), Moonshadow (2), Moonlite (3), Moonshade (4), Moonvista (5), Moonaqua (6) (<http://ucce.ucdavis.edu/files/repository/calag/img5802p89.jpg>, carnations moon series)



2. ábra A kék virágszínű rózsza megjelenésének elősegítése érdekében a piros (cianidin) színanyag termelődésének gátlása, a szintézisben résztvevő DFR (dihydroflavon 4-reduktáz) enzim génjének, RNS interferenciával (RNSi) történő csendesítésével. A magyarázatot lásd a szövegben. (Tanaka, Y., Brudliera, P., Chandler, S.: 2009. alapján)

rukció módosításaival érték el.

Első megközelítés során a pelargonidin antocianint termelő fajtába, a kék pigment mennyiségének növelése céljából, a petúniából származó *F3'5'H* gént jutattak be, ami elé egy konstitutív promotert kapcsoltak. A transzgenikus szegfű összes antocianinjainak 70 %-át, a delphinidin és származékai tették ki. Ennek ellenére virágai csak gyenge kékes elszíneződést mutattak. Ennek okát abban látták, hogy GM-szegfűben az eredeti antociánokat (piros, sárga) termelő enzimek (*F3'H*, valamint a vörös és sárga pigment specifikus DFR) is működtek, és azok színanyagai gátolták az új kék szín megjelenését (1. ábra).

Másik megközelítésben olyan fehérvirágú mutáns változatot kerestek, amiben gátolt volt a vörös és sárga színanyag specifikus DFR (dihydroflavon-reduktáz) gén működése. Ezt a fehérvirágú mutáns szegfűt két gént tartalmazó konstrukcióval transzformálták. Egyik vektor petúnia eredetű *F3'5'H* gént tartalmazta, az oroszországi izolt *CHS* (csakon szintáz) gén promotérével, a másik vektor pedig petúnia eredetű

delfinidin specifikus DFR gént, konstitutív promotérral. Az így előállított eredetileg fehérvirágú szegfű színe már meghatározó kékes árnyalatú lett. Ez a mályvakék GM-szegfű 1996-ban, a világon első genetikailag módosított dísznövény volt, és FLORIGENE®Moondust™ fajtanévvel került forgalomba Ausztráliában (2./1. kép).

Harmadik esetben, a sikeres konstrukciót tovább tökéletesítették úgy, hogy a petúnia helyett árvácskából származó *F3'5'H* gént használtak és a petúnia DFR gén elé a saját promotérét építették be. Ezt a génkonstrukciót tartalmazó GM-szegfű színe sötétkék (ibolyakék) lett. Az így előállított ibolyakék színű új GM-fajta FLORIGENE®Moonshadow™ néven 1998-ban került kereskedelmi forgalomba (2./2. kép). Ausztráliában a Moonshadow fajtából 2012-ig, 4,5 millió szálát adták el.

Ezt követő években összesen 19-féle különböző ibolyakék és lila színárnyalatú fajtát állítottak elő Moonshade™, Moonlite™, Moonaqua™, Moonvista™ stb. néven (2. kép).

A Moon-sorozat fajtái a módosított virágszín mellett, toleránsak a szulfonilurea típusú herbicidekkel szemben is, mert a génkonstrukció mutáns ALS gént is tartalmazott. (A szulfonilurea toleráns transzgenikus növény előállítását lásd az Agrofórum 2013, 24./9. számában az 110-112. oldalakon). A Moon sorozat különböző változatait Ausztrálián kívül termelik még Ecuadorban és Columbiában is. Ezekből az országokból szállítják a friss vágott GM-szegfűket Észak-Amerikába, Európába és Japánba.

A szabadalmaztatott GM-szegfűváltozatok 2007-ben az ausztrál Géntechológiai Hatóságtól megkapták a hivatalos hatósági engedélyt. Ez azt jelenti, hogy termesztésük nem jár környezetbiztonsági kockázattal. Emiatt napjainkban nemcsak vágott virágként, hanem gyökeres növényként is értékesíthetők. (A virágszínben módosított GM-szegfűfajtákkal kapcsolatos további kereskedelmi célú kép látható az Agrofórum 2011, 22./12. számában a 66. oldalon).

Delfinidin alapú kék rózsza előállítása

A természetben kialakult vadrózsza virágszíne eredetileg fehér vagy piros volt. A piros szín a cianidin antocianintól származik. A rózsza nemesítése során számos fajkereszteztést végeztek (*Rosa hybrida*) sárga virágú fajokkal. Ezzel a módszerrel állították elő a sárga virágú (karotinoid pigmentet tartalmazó) és narancsszínű (pelargonidin származékokat termelő) változatokat. Hagyományos nemesítéssel is megpróbálták a kék rózsát előállítani, de kapott változatok nem a kék, hanem lila és szürke színűek voltak, a piros és sárga színanyagok speciális keveredése miatt. Az elmúlt évszázadok során rendkívül sokféle színű és színárnyalatú fajtát nemesítettek, azonban senkinek sem sikerült kék rózsát előállítani. Ennek oka, hogy a rózsza, mint faj, nem rendelkezik a kék antocián, a delfinidin szintéziséért felelős enzimek génjeivel (*F3'5'H* és delfinidin specifikus DFR) ezért a delfinidin alapú antociánokat a rózsza sejtjei nem tudják előállítani (2. ábra).



3. kép A Suntory és a Florigene 'APPLAUSE' nevű kék rózsájának színváltozatai: világos mályvaszínű (A és B), világos kékeslila színű (C és D) (suntory-blue-rose-applause)

A Suntory Ltd. és a Florigene Ltd. 2004-ben jelentette be, hogy sikerült előállítani a világon az első kék rózsát, pontosabban azt a rózsát, ami képes volt a kék pigment a delfinidin termelésre. Ez a rózsza azonban nem kék, hanem inkább mályvalila, szürke, illetve levendula színű lett.

Az ausztrál kutatók többféle stratégiát dolgoztak ki.

Az első próbálkozások során petúnia eredetű F3'5'H enzim génjével transzformálták a rózsát. A GM-növényekben nem, vagy alig működött a transzgén, emiatt nagyon kevés kék színanyag volt a szirmlevelekben (2. ábra).

Második módosítás során egy új faj az árvácska (*Viola* sp.) kék színérét felelős F3'5'H enzim génjét jutatták be. A gént a 'Cardinal Richelieu' lilászörös színű fajtába transzformálták. A GM-növényekben a kék antocián megjelent, és mennyisége a petúnia F3'5'H génhez képest jelentősen növekedett. A GM-növények virága mégis sötétvörös lett. Ennek az volt az oka, hogy a GM-növények sejtjei tovább termelték az eredeti piros színt kialakító antociánt a cianidint.

Harmadik lépésben a kutatók úgy gondolták, hogy ha sikerül GM-növényekben gátolni a vörös színanyagért (cianidin) felelős DFR gént, akkor a GM-rózsza nagy valószínűséggel kék színű lesz. A gátlást az ausztrál

CSIRO Kutató Intézet által kidolgozott RNS interferencia alkalmazásával végezték (2. ábra). (Az RNSi leírását lásd az Agrofórum 2014./11. 99-102. számában „Növényi gének működésének gátlása (antiszensz technika, RNS interferencia)” címmel). A gátlás azonban nem lett tökéletes, tehát a vörös pigment – ha jelentősen kisebb mennyiségben is –, de termelődött. Emiatt a GM-rózsza színe a várt kék helyett levendula, illetve mályvaszínű lett (3. kép A-B). Ez részben azzal volt magyarázható, hogy a kék pigment megnyilvánulása függ a vakuólum pH-jától. Az árvácska vakuólumának pH-ja, amiből a delfinidin szintézisért felelős DFR gént izolálták, lúgos, szemben a rózsza savas pH-jával. A delfinidin kék antocián és származékainak színe savas közegben megváltozik. A további feladat tehát a rózsza vakuólum pH-ja savasságának csökkentése, vagy pH inszenzitív, tehát stabilabb színanyag termelése volt.

Negyedik próbálkozás során, a már előállított GM-változatok közül a legjobbakat választották ki. Azokat, melyekben az árvácska (*Viola wittrockiana*) F3'5'H gén (flavonoid 3'5' hidroxiláz) expressziója kiváló, továbbá a vörös színanyag (cianidin) termelésének gátlása sikeres volt. A szelektált növények szirmleveleinek antociánin tartalmában a delfinidin

aránya elérte a 95 %-ot és színük ezért az eredeti GM-változathoz képest, kékebb lett. Ezt követően a toreniából (*Torenia* sp.) az 5AT gént (antociánin 5-aciltranszferáz) építették be a konstrukcióba, azzal a céllal, hogy javítsák a termelő delfinidin és származékainak stabilitását. A kapott GM-növények közül sikerült két vonalat kiválasztani, amik végül kereskedelmi forgalomba kerültek (WKS82-130-1 és WKS82-130-9-1). Az egyiknek 'Applause' fajtanevet adtak.

A Florigene 2009-ben engedélyt kapott az Applause™ „kék” rózsza forgalmazására (3./B-D. kép). A Suntory Ltd. bejelentette, hogy Japánban, 2010-ben 10 ezer szálát adtak el az új fajtából, ára 22-35 USD/db volt.

Összefoglalva, a fenti két eredmény is bizonyítja, hogy a géntechnológia napjainkban már képes komplett bioszintetikus utak információjának módosítására, a hiányzó gének izolálására és pótlására. Ez óriási távlatokat nyit meg az emberiség számára, mert lehetővé teszi kultúrnövények további javítását, olyan problémák megoldását, melyekre az evolúció nem volt képes, legalább is nem az adott kultúrnövényben.

A következő részben ezért a karotint termelő ún. „arany rizs”, és az antioxidáns tartalomban növelt ún. „lila paradicsom” előállításával és felhasználásának helyzetével kapcsolatos eredményeket ismertetjük.

Források:

- 📖 *Agricultural Biotechnology Council of Australia: 2012 GM Carnations in Australia: a resource guide.1-4.*
- 📖 *Heszky L., Fésüs L., Hornok L.:2005. Mezőgazdasági biotechnológia. Agroinform Kiadó, Budapest, p. 366.*
- 📖 *Tanaka, Y., Brudltera, P., Chandler, S.: 2009. Recent Progress of Flower Colour Modification by Biotechnology. International Journal of Molecular Sciences 10/12, 5250-5369.*
- 📖 <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>
- 📖 <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/crop/default.asp?CropID=18&Crop=Rose>
- 📖 <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/crop/default.asp?CropID=4&Crop>

