



A növényi anyagcsere géntechnológiai módosításáról szóló VIII. fejezet harmadik részében a növényi szénhidrát-anyagcserével foglalkozunk. Áttekintjük, a géntechnológia lehetőségeit a növények által termelt keményítő összetételének javítására. Részletesen csak azokat a módosításokat mutatjuk be, melyekből fajtákat állítottak elő, és azok a világon köztermesztésben voltak, illetve vannak.

Tanuljunk géntechnológiául (51.)

Anyagcserében módosított GM-fajok és fajták (VII./1.)

A keményítő minőségében módosított transzgénikus (GM) fajták (burgonya, kukorica) előállítása és termesztése

Dr. Heszky László

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

Bevezetés

A növényekben a szénhidrátoknak két nagy csoportjuk van: a/ a nagy molekulású poliszacharidok (oligoszacharidok), pl. a cellulóz, keményítő és aa/ a kis molekulású cukrok (mono-, diszacharidok), pl. glükóz, fruktóz, szacharóz. A keményítő mint raktározó szénhidrát nagy mennyiségben található a növényekben, és általában a magvakban (gabonafélék és hüvelyesek), gyökerekben (répafélék), illetve gumókban (burgonya) halmozódik fel.

A keményítőnek, mint megújuló erőforrásnak nagy a gazdasági jelentősége. Meghatározó (2/3) részét az élelmiszeripar, szeszipar és az üdítőital-gyártás használja fel. A fennmaradó 1/3-ot alkalmazza a papíripar (papír, karton), az építőipar (műanyag lapok, rostlapok), a vegyipar (ragasztók, fóliák), a mosóipar (szappan, mosópor), a kozmetikai ipar (púder, száraz sampon, fogkrém) és a gyógyszeripar (tabletázás, antibiotikumok, C-vitamin), újabbán az olajipar (bioalkohol).

A keményítő bioszintézise

Abból a célból, hogy megértsük a különböző géntechnológiai stratégiákat,

meg kell ismernünk a keményítő-bioszintézis folyamatának főbb lépéseit a növényben. A mono- és oligoszacharidok szintézisének kiinduló vegyülete a fotoszintézis Calvin-ciklusában köztestermékként keletkező szabad fruktóz-6-foszfát (1./A. ábra). Ebből két lépésben alakul ki a glükóz-1-foszfát, mely a keményítő építőegysége. Először az energiában gazdag (aktívált) cukor-nukleotid UDP (uridindifoszfát-glükóz) formák keletkeznek, majd ezek kapcsolódva a fruktóz-6-foszfáthoz hozzájuk létre a szacharózt (szacharóz-6-foszfát), ami a szénhidrátok szállítható (transzit) formája a növényben.

A raktározott keményítő szintézise (1./B. ábra) a szacharózból indul, amiből több lépésben alakul ki glükóz-1-foszfát, aminek polimerizációja eredményezi a keményítőt, ami tehát glükóz molekulák sorozatából álló polimer. Két változata van, a nem elágazó, tehát lineáris polimer, az amilóz és az elágazó polimer, az amilopektin. Az amilóz, lineáris polimer molekula, mint poliszacharid, 300-1200 alfa-1,4 kötésű glükóz egységekből áll. Az amilopektin, elágazó polimer molekula, mint poliszacharid, pedig 1500-12000 alfa-1,4-alfa-1,6 kapcsolt glükóz egységekből áll. Az elágazás

általában minden 25. glükóznál alakul ki.

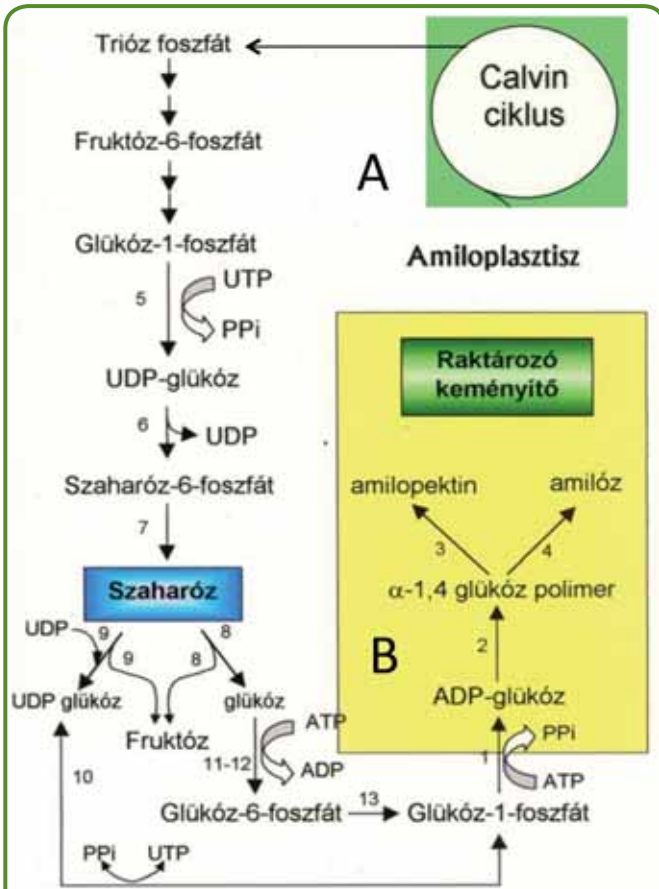
A keményítősintézisben a glükózt aktiváló, majd a polimerizációt katalizáló, és hidrolizáló folyamatokban különböző enzimek vesznek részt (1./B. ábra).

1. **Glükóz aktiválása:** kulcsenzim: ADP-Glükóz-Pirofoszforiláz, AGP-áz, (1./B. ábra, 1).
2. **Láncnövekedés** az aktivált glükóz molekulák összekapcsolásával. Kulcsenzim: keményítő szintáz /SS, Starch Synthase/ (1./B. ábra, 2).
3. **Amilopektin szintézis:** kulcsenzim az oldható keményítő szintáz /SSS, Soluble Starch Synthase/ (1./B. ábra, 3).
4. **Amilóz szintézis:** kulcsenzim a szemcséhez kötött keményítő-szintáz /GBSS, Granule-Bound Starch Synthase/ (1./B. ábra, 4).
5. **Keményítő hidrolízis** (lebomlás): kulcsenzim az α -amiláz. Az enzim a keményítő polimer molekulában, a glükóz lánc glikozid kötéseit bontja.

A különböző fajok a raktározó keményítőjében a két komponens aránya, amilóz 11-37 %, amilopektin 63-89 %.

A géntechnológia stratégiái





1. ábra A szaharóz és a raktározó keményítő bioszintézisének folyamata a növény sejteiben (Dudits-Heszky 2003 nyomán)

1./A. ábra Szaharóz-szintézis: A kloroplasztisban a fotoszintézis Calvin ciklusában termelődő trióz foszfátból a citoplazmában, több lépésben (5-8) szintetizálódik a fruktóz és glükóz molekulából álló szaharóz, ami a növényben a szénhidrátok szállítható formája és a raktározó keményítő kiinduló molekulája.

1./B. ábra A raktározó keményítő szintézis: a szaharózt alkotó monoszaharid molekulák aktiválásával (ATP-felvétel) indul (11-13), mely folyamat végén (1) az energia gazdag (aktivált) ADP-glükóz (adenozin-difoszfát glükóz) molekulák keletkeznek, amik a keményítő polimerizáció építőelemei. A szintézist (2-4) különböző enzimek végzik (lásd a szövegben).

- ▶ A keményítő-bioszintézisből kiindulva a géntechnológiai megközelítéseknek két fő célja van: a keményítő két komponense (amilóz, amilopektin) arányának módosítása az SSS, vagy a GBSS enzimek gátlásával.
- ▶ A keményítő és a cukor arányának módosítása, az AGP-áz enzim gátlásával (a glükózmolekulák polimerizációjának gátlása), vagy a keményítő α-amiláz enzim hidrolízisével.

Amilózmentes burgonya ('Amflora')

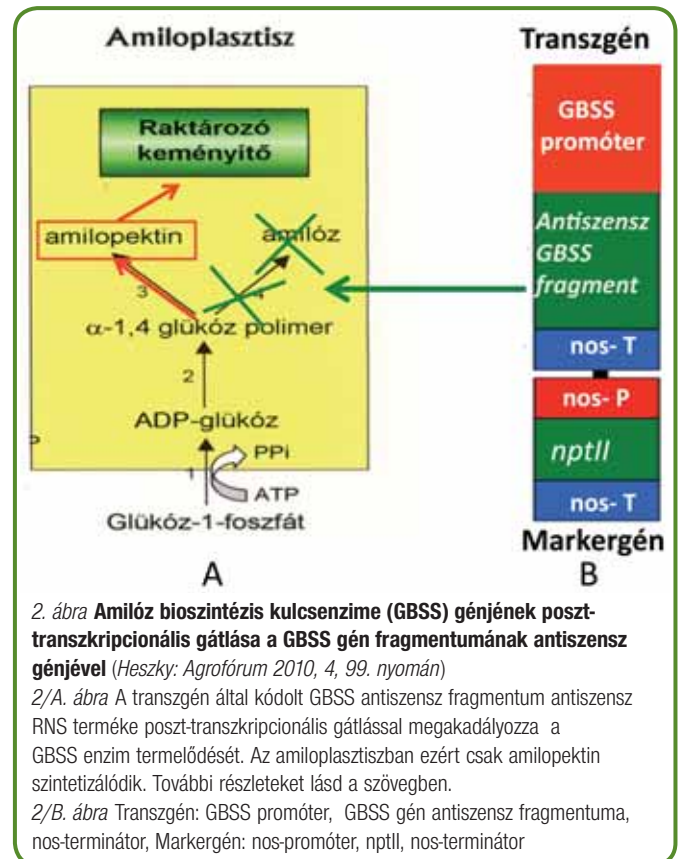
Az Európai Bizottság 2010-ben, a világon elsőként, ipari felhasználási célra engedélyezte a BASF kutatói által előállított, „keményítőben optimalizált” GM-burgonyafajta, az 'Amflora' kereskedelmi forgalmazását és termesztését (Heszky L.: AGROFÓRUM 2010/4, 99).

A GM-fajtában az amilóz-bioszintézist – a szemcséhez kötött keményítő-szintáz enzim (GBSS), antiszensz génnel, pontosabban a gén antiszensz fragmentumával

(antiszensz GBSS gén szakasszal) – gátolták (2. ábra). Mivel a szóban forgó GBSS gén, az amilóz szintézis kulcsenzimét kódolja, gátlásának következménye a GBSS enzim hiánya, ami az amilóztartalom jelentős csökkenését eredményezi. Az antiszensz génnel a hagyományos úton előállított 'Prevalent' fajtát transzformálták, aminek amilóztartalma 15% volt. A transzgenikus változatban (Amflora) az amilóztartalom 2 %-ra csökkent. Az antiszensz technika leírását és működését lásd. az AGROFÓRUM 2014/11. számában a „Növényi gének működésének gátlása (antiszensz technika és RNS interferencia)” cím alatt, a 99-102. oldalon.

A BASF a világ egyik vezető vegyipari vállalata 1997-ben, elismerés céljából jelentette be az unióban, az általa keményítőben optimalizált burgonyának nevezett GM-fajtát, 'Amflora' néven. 1998 és 2004 között, az európai moratórium miatt, az elismerési eljárás szünetelt. 2005 és 2009 között a beadott kérelmet az unió hivatalos szervei többször elbírálták és kifogásolták, hogy a génkonstrukció markergénként az *nptII* (neomicin-foszfo-transzferáz) antibiotikum rezisztencia gént tartalmazza (2. ábra). Ez a szelektációs markergén, az aminoglikozid antibiotikumokat (kanamicin, neomicin, geneticin) hatástalanítja. Az antibiotikum rezisztenciát kiváltó markergének használatát az unió 2005-től megtiltotta. A BASF bejelentés korábban történt, ezért az EFSA kénytelen volt pozitívan állást foglalni, ami alapján az Európai Bizottság 2010-ben kiadta a kereskedelmi és természetési engedélyt.

Az 'Amflora' (1. kép) genetikailag optimalizált keményítőtartalma azt jelenti, hogy a keményítő kétféle komponense (amilóz és amilopektin) közül csak amilopektint tartalmazza. A GM-fajtát emiatt



2. ábra Amilóz bioszintézis kulcsenzime (GBSS) génjének poszt-transzkripcionális gátlása a GBSS gén fragmentumának antiszensz génnel (Heszky: Agrofórum 2010, 4, 99. nyomán)

2./A. ábra A transzgén által kódolt GBSS antiszensz fragmentum antiszensz RNS terméke poszt-transzkripcionális gátlással megakadályozza a GBSS enzim termelődését. Az amyloplastisban ezért csak amilopektin szintetizálódik. További részleteket lásd a szövegben.

2./B. ábra Transzgén: GBSS promóter, GBSS gén antiszensz fragmentuma, nos-terminátor, Markergén: nos-promóter, nptII, nos-terminátor



1./A. és B. kép A keményítőben optimalizált 'Amflora' GM-burgonyafajta. A keményítő 98 %-a amilopektin.

amilopektin burgonyának is nevezik. *Gazdasági jelentőségét az adja, hogy a hagyományos burgonyafajták keményítőjében lévő amilóz, az ipari felhasználás szempontjából felesleges, és eltávolítása gazdaságtalan.* Az amilopektin tartalmú burgonyából ezért, a hagyományos fajtákhoz képest olcsóbb technológiával, jobb minőségű termékek állíthatók elő a papíriparban, textiliparban, ragasztószerek gyártásában. Étkezési szempontból az amilózmentes burgonya, mivel nem tartalmaz nehezen emészthető amilózt, könnyebben és gyorsabban szívódik fel. A cukorbetegség számára emiatt veszélyes lehet, ezért az étkezési burgonyától szigorúan el kell különíteni.

Az EU-tagországok közül, csak Németországban, Csehországban és Svédországban, összesen 17 hektáron került termesztésre. A GM-fajta azért sem tudott elterjedni, mert hagyományos mutációs nemesítéssel is elő lehet állítani a GBSS enzim génjében hibás, azért csak amilopektint tartalmazó úgynevezett waxy fajtákat. A BASF kétéves próbálkozás után visszavonta a fajtát, és a géntechnológiai kutatásait áthelyezte az USA-ba. Az már csak „hab a tortán”, hogy a magyar kormány az európai bíróságon az engedélyezés és termesztés ellen, Franciaország, Ausztria és Lengyelország támogatásával pert indított és azt 2014-ben megnyerte.

Minőségben módosított burgonya (Innate™)

Az USA Állat- és Növény Egészségügyi Szolgálat (APHIS, Animal and Plant Health Service) 2014-ben je-

lentette be, hogy engedélyezi az Innate™ génkonstrukciót tartalmazó transzgenikus burgonyafajták termesztését, és kereskedelmi forgalmazását az államokban. Természetesen ez a bejelentés azt követően történhetett, hogy a biotechnológiai termékeket engedélyező hivatalok és hatóságok, az FDA (Food and Drug Administration), az USDA (United States Department of Agriculture) és az EPA (Environmental Protection Agency) befejezték az élelmiszer- és környezetbiztonsági kockázatelemzéseket és megállapították, hogy az „Innate” fajták mind az emberi egészségre, mind a környezetre veszélytelenek.

Innate™ fajtákat a J.R. Simplot Company (USA) 10 éves intenzív kutató és fejlesztő munkával (nemesítés, szántóföldi és laboratóriumi tesztelés, kockázatelemzés stb.) állította elő (<http://www.simplotplantsciences.com>). Az USA-n kívül engedélyezésre jelentették be Japánban, Mexikóban és Kanadában. Az Innate™ 4 gént tartalmazó konstrukciót az USA-ban,

legnagyobb területen termesztett burgonyafajtákba is beépítették (pl. Russet Burbank, Ranger Russet, Atlantic stb.).

AJ.R. Simplot Company által előállított GM-burgonyafajtákban, az RNS interferenciára alapuló, poszt-transzkripcionális géncsendesítéssel, négy különböző gén működését gátolták. A poszt-transzkripcionális géncsendesítés folyamatát lásd. az AGROFÓRUM 2014/11. számában a „Növényi gének működésének gátlása (antiszensz technika és RNS interferencia)” cím alatt, a 99-102. oldalon. A gátlás azt jelenti, hogy a célzott gének termékei nem jelennek meg, az Innate™ GM-fajtákból készült termékekben.

Az Innate™ génkonstrukció négy gént tartalmaz:

- ▶ *pR1 és a pPhL* gének: A burgonyából (*Solanum tuberosum*) származnak. A gének működésének termékei kétszálú RNS-ek, amik az R1 és a PhL gének termékei termelődésének gátlásával *csökkentik a redukáló cukrok keletkezését a keményítő bomlásakor.*
- ▶ *asn1* gén: A burgonyából (*S. tuberosum*) származik. A gén működésének terméke kétszálú RNS, ami az Asn1 gén terméke termelődésének gátlásával lassítja az aszparagin keletkezését.
- ▶ *ppo5* gén: Vad burgonyafajból (*S. verrucosum*) származik. A gén működésének terméke kétszálú RNS, ami az Ppo5 gén terméke termelődésének gátlásával a megakadályozza a gumó,



2. kép A GM Innate 'Russet Burbank' és a hagyományos 'Russet Burbank' fajták gumói szürkülésének összehasonlítása, 30 perccel a felvágás után

<http://www.simplotplantsciences.com>

<http://geneticliteracyproject.org/2014/11/09/mcdonalds-mulling-embrace-of-simplots-bruise-reducing-innate-gmo-potato/>

sérülés/nyomódás okozta szürkülés (black spot) kialakulását (2. kép).

Innate™ burgonyafajták hagyományos technológiával termesztettek. A feldolgozó ipar számára nagy előnyt jelent, hogy a konvencionális fajtákhoz képest kevésbé hajlamosak, a betakarítás, a szállítás és tárolás alatt bekövetkező nyomás vagy mechanikai sérülés okozta szürkülésre. Az Innate™ fajtákban átlagosan 40 %-kal kevesebb szürke folt alakul ki. Ez a tulajdonsága előnyös a különböző termékeként való feldolgozása során is, mert a vágási felülete nem szürkül (2. kép). Ezen kívül az aszparagin és cukortartalmuk is alacsonyabb. A kisebb aszparagin-tartalom különösen előnyös a fogyasztók számára, mert a főzés során csökkenti a rákkeltő vegyület az akrilamid keletkezésének lehetőségét. Az Innate™-fajták magas hőmérsékleten való főzése, sütése stb. folyamán, a hagyományos fajtákhoz képest 70%-kal kevesebb akrilamid keletkezik.

Az Innate™ GM-burgonyafajták módosított tulajdonságai főleg a felhasználók (csipsgyártók) és fogyasztók (gyors éttermek) számára előnyösek. A McDonald's még nem nyilatkozott, annak ellenére, hogy az általa használt Russet Burbank fajta Innate™ változatát J.R. Simplot Company már előállította.

Etanolgyártásra alkalmas kukorica (SYN-E3272-5)

A Syngenta Seeds Inc. állította elő az α -amilázt termelő kukoricahibridet (3272). Célja az ipari etanol-gyártást (bioüzemanyag) elősegítő GM-kukorica előállítása volt. Az ezredfordulót követően a világ számos országában (pl. USA, Kanada, Oroszország, Mexikó, Ausztrália stb.) jelentették be elismerésre.

A kukoricakeményítő hidrolízise az első lépés a bioalkohol-előállítás folyamatában. A keményítő hidrolízisét az α -amiláz enzim katalizálja az alfa-1,4-glikozid kötések elbontásával dextrinné, amilózzá és glükózzá. A kukorica rendelkezik α -amiláz en-

zimmel, ez azonban alkalmatlan az ipari hidrolízisre, mert nem bírja az ipari hidrolízis magas hőmérsékletét. Ez volt az oka, hogy a Syngenta hőstabil α -amiláz gént épített be a génkonstrukcióba.

A 3272 génkonstrukció két új gént tartalmaz:

- ▶ *Gazdaságilag jelentős gén: amy797E* kiméra gén, a *Thermococcus nemzetség* három hőstabil α -amiláz génjének kombinációja. A gén promótere a kukorica *zein* génből, a 35S terminátora a karfiol mozaik vírustól származik. Ezen kívül tartalmazza a PEPC9 intront, a kukorica foszfoenol-piruvát karboxiláz enzim génjéből.
- ▶ *Szelektálható markergén: pmi gén az Escherichia coli* baktériumnak a mannóz-6-foszfát-izomeráz enzimjét kódolja. A gén promótere, a kukorica polyubiquitin-promóter (ZmUbilnt), NOS terminátora az *Agrobacterium tumefaciens*-ből származik.

A GM-kukoricahibrid 1-1 kópiát tartalmaz mind a két génből, amik stabilan integrálódtak és öröklődnek. A kiméra α -amiláz génről (*amy797E*) szintetizálódó enzim mennyisége az érett magban 838-1627 $\mu\text{g/g}$ friss súly, illetve 1004-3365 $\mu\text{g/g}$ száraz súly volt. Az enzim nem volt kimutatható a pollenben és a levelekben.

A hőstabil α -amiláz működése következtében a transzgenikus 3272 hibrid szemeiben – magas hőmérsékleten – csökkent a keményítő, és növekedett az egyes komponenseknek, a dextrinnek és a mono-, valamint diszacharidoknak a mennyisége. Mivel a kiméra α -amiláz hőstabil enzim, csak magas hőmérsékleten működik, élelmiszerként való fogyasztása esetén csak főzéskor vagy sütéskor jelentkezik a hatása. A kockázatelemzések bizonyították, hogy a hőstabil α -amilázt tartalmazó GM-kukorica élelmiszer-biztonsági szempontból veszélytelen. A génkonstrukciót tartalmazó hibridet azonban nem élelmiszer-ipari, vagy takarmányozási célra állították elő, hanem a bioüzemanyag-előállítás technológiájának könnyítésére és

gazdaságosabbá tételére.

Források

- 📖 *Heszky L.: 2003* A szénhidrát anyagszerkezetének módosítása, in Dudits-Heszky (szerk): Növényi biotechnológia és géntechnológia, Agroinform Kiadó, Budapest, 258-262.
- 📖 <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>
- 📖 <http://sustainablepulse.com/2013/12/13/eu-court-bans-cultivation-sale-gm-potato-amflora/#.VOivTi5gIVd>
- 📖 http://www.gmo-compass.org/eng/grocery_shopping/crops/23.genetically_modified_potato.html
- 📖 <http://www.wsj.com/articles/usda-approves-a-genetically-modified-potato-1415398524>
- 📖 <http://www.isaaa.org/resources/publications/default.asp>
- 📖 <http://geneticliteracyproject.org/>
- 📖 *Visser és mts.: 2003.* Potato Plant Producing Essentially Amylose-free Starch.US Patent No. 6,600,093 B1, 2003 jul. 29.