

Nové trendy vývoje geneticky modifikovaných potravin a surovin

Kristýna Šimáková, DiS.

Bakalářská práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kristýna Šimáková, DiS.**
Osobní číslo: **T190114**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Nové trendy vývoje geneticky modifikovaných potravin a surovin**

Zásady pro vypracování

1. Geneticky modifikované organizmy – charakterizace, příprava, vlastnosti, legislativní předpisy.
2. Geneticky modifikované potraviny a potravin s podílem GMO – charakterizace, legislativní předpisy.
3. Nové trendy ve vývoji a výzkumu geneticky modifikovaných potravin a surovin.

Forma zpracování bakalářské práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] LENKOVÁ, L., ZDEŇKOVÁ, K. (2019). Trends of labelling of genetically modified foods. *Chemické listy*, 113(5): 282-291.
- [2] LOMBARDO, L., GRANDO, M.S. (2020). Genetically modified plants for nutritionally improved food. A promise kept? *Food Reviews International*, 36(1):58-76.
- [3] MARIA LANDETE, J. (2017). A review of food-grade vectors in lactic acid bacteria: from the laboratory to their application. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(3): 296-308.
- [4] Elektronické databáze dostupné z knihovny UTB ve Zlíně.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....

podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na nové trendy vývoje geneticky modifikovaných potravin a surovin. Poskytuje základní charakteristiku geneticky modifikovaných organismů, jejich vlastnosti a způsob přípravy. Jsou v ní představeny geneticky modifikované potraviny a nové metody pomocí kterých se dají měnit zejména jejich užitkové vlastnosti. Součástí práce jsou také konkrétní příklady nových geneticky modifikovaných potravin. Na konci práce jsou vymezeny legislativní předpisy související s danou problematikou.

Klíčová slova: geneticky modifikovaný organismus, geneticky modifikovaná potravina, genové inženýrství, editace genomu, transgenóza

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused on new trends in the progression of genetically modified food and raw materials. It provides the basic characteristics of genetically modified organisms, their properties and methods of their preparation. In this thesis there is described genetically modified food and new methods by which can be useful properties changed, with some examples of application. This thesis also includes specific examples of new genetically modified food. There are also defined the legislative regulations of genetically modified organisms.

Keywords: genetically modified organism, genetically modified food, genetic engineering, genome editing, transgenesis

Velice ráda bych poděkovala především své vedoucí práce, paní doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D., za odborné vedení práce, připomínky, veškerý čas věnovaný mé práci a ochotný přístup.

OBSAH

ÚVOD	9
1 GENETICKY MODIFIKOVANÉ ORGANISMY	10
1.1 CHARAKTERIZACE	11
1.2 PŘÍPRAVA	11
1.2.1 Tvorba geneticky modifikovaných rostlin	11
2 GENETICKY MODIFIKOVANÉ POTRAVINY A POTRAVINY S PO- DÍLEM GMO.....	16
2.1 BEZPEČNOST A RIZIKA.....	16
2.2 PĚSTOVÁNÍ GM ROSTLIN V ČR.....	17
2.3 VLASTNOSTI.....	18
2.3.1 Rezistence vůči hmyzím škůdcům	18
2.3.2 Rezistence vůči herbicidům.....	19
2.3.3 Rezistence k virům	20
2.3.4 Rezistence vůči chladu, oxidativnímu stresu a zasolení	21
2.3.5 Plodiny nutričně obohacené	21
3 NOVÉ TRENDY VE VÝVOJI A VÝZKUMU GENETICKY MODI- FIKOVANÝCH POTRAVIN A SUROVIN.....	24
3.1 KAŽENÍ POTRAVIN	24
3.2 CRISPR.....	25
3.3 TALEN	27
3.3.1 TAL efektorová DNA vazebná doména.....	28
3.3.2 Nukleázová doména	28
3.3.3 Mechanismus TALEN	28
3.4 ZINKOVÉ PRSTY	29
3.5 NOVÉ GENETICKY MODIFIKOVANÉ POTRAVINY A SUROVINY	30
3.5.1 Řepkový olej s omega-3 mastnými kyselinami	30
3.5.2 Cizrna odolná vůči suchu.....	30
3.5.3 Biotechnologické sladidlo	31
3.5.4 Transgenní prasata	31
3.5.5 Kultivované maso	32
4 LEGISLATIVNÍ PŘEDPISY	34
4.1 LEGISLATIVA GENETICKY MODIFIKOVANÝCH ORGANISMŮ	34
4.1.1 Národní legislativa.....	34
4.1.2 Evropská legislativa	36

4.1.3	Mezinárodní smlouvy	37
4.1.4	Instituce zabývající se GMO	37
4.2	LEGISLATIVA GENETICKY MODIFIKOVANÝCH POTRAVIN	38
4.2.1	Minimální vzdálenost pěstování GMO od hranic	39
4.2.2	Označování geneticky modifikovaných potravin a potravin s GMO ..	40
ZÁVĚR	41
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	42
SEZNAM OBRÁZKŮ	48
SEZNAM TABULEK	49

ÚVOD

Vlivem exponenciálního růstu populace přestává být konvenční zemědělství, a s tím spojená produkce potravin, dostačující. Počet lidí trpících hladem je kolem 12 %, další dvě miliardy lidí nemají přístup k potravinám s dostatečným množstvím nutričních hodnot a trpí tak podvýživou. Současně se ale asi třetina potravin vyhazuje a to především z důvodu znehodnocení kažením. Další problém s produkcí a konzumací potravin nastává jako následek stále zvyšujícího se sucha nebo kontaminace potravin chemickými látkami.

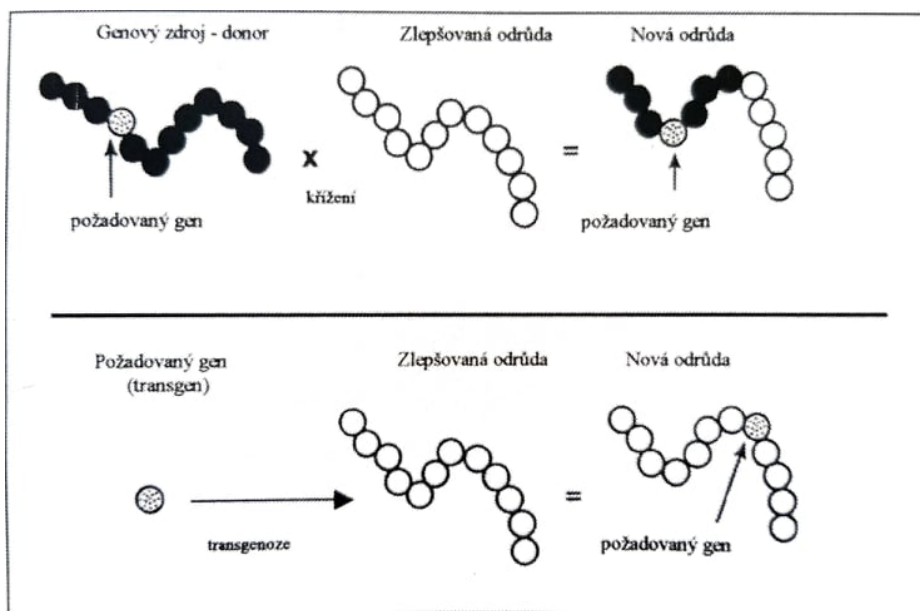
K řešení těchto problémů může přispět genové inženýrství jako neodmyslitelná součást moderní vědy. Prostřednictvím úprav genového kódu vznikají geneticky modifikované organismy (GMO) a geneticky modifikované potraviny (GMP). První kapitola této práce je věnována charakteristice a přípravě GMO. Druhá kapitola je zaměřena na GMP a jejich vlastnosti. Příkladem takových vlastností je rezistence plodin vůči suchu. Editací genomu rostlin je možné snížit hladinu cytokininů, tedy rostlinných hormonů zodpovědných za regulaci růstu kořenů. Což vede k prodloužení a většímu větvení kořenů. Rostlina se pak stává odolnější na suchu, protože může získávat vodu z větší hloubky půdy. Dalšími pozměněnými vlastnostmi rostlin a živočichů mohou být rezistence vůči virům, rezistence vůči herbicidům, zvýšená nutriční hodnota a další změny vlastností, které mohou vést k vyšším výnosům plodin a zvířat.

Moderní systémy CRISPR, TALEN nebo ZFN, jež jsou blíže specifikovány ve třetí kapitole, mohou být využity k přesným genetickým modifikacím, které vedou právě k výše zmíněným požadovaným vlastnostem. Endonukleázy tvořící tyto systémy jsou totiž schopny štěpit DNA v přesně definovaných specifických místech. Každý z těchto systémů se pak liší především svou specifitou a místem, které je je schopen rozeznat.

Nakládání s GMO/GMP podléhá velmi přísné legislativní regulaci z důvodu zamezení možného negativního dopadu na životní prostředí a zdraví člověka i zvířat. O legislativních předpisech souvisejících s touto problematikou pojednává poslední kapitola bakalářské práce.

1 Geneticky modifikované organismy

Se začátkem zemědělství se začala chovat zvířata a pěstovat rostliny, které nejvíce vyhovovaly lidským potřebám. S cílem zvýšení výtěžku a získání požadovaných vlastností začali lidé jednotlivé druhy mezi sebou záměrně křížit a šlechtit. Dnešní kulturní rostliny a domácí zvířata, tak jak je známe, jsou tedy výsledkem mnoholetých přirozených i záměrně vyvolaných mutací. Mezi konvenční metody šlechtitelství patří výběr, hybridizace, polyploidizace, indukovaná mutagenese a techniky explantátových a buněčných kultur. Na konci dvacátého století byly tyto metody rozšířeny o techniky genového inženýrství, při kterém se pracuje s izolovanými definovanými úseky dědičného materiálu organismu (DNA) [41].



Obr. 1.1 Přenos genu pomocí šlechtění (nahore) a genového inženýrství (dole).[38]

Na obrázku 1.1 můžeme vidět rozdíl v přenášení genu pomocí tradičního šlechtění (nahore) a genového inženýrství (dole). Při tradičním šlechtění obvykle dochází k současné kombinaci více genů, nová odrůda tak může kromě požadovaných vlastností získat i vlastnosti nežádoucí. Při genovém inženýrství je do nové odrůdy vnesen pouze požadovaný gen [38].

Genetické modifikace jsou definovány jako přímé a cílené zásahy do DNA[45]. Základem těchto modifikací je transgeneze, což je vnášení jednotlivých genů do genomu. Jde o cílenou změnu jednoho znaku, tedy vlastnosti a umožňuje rekombinovat DNA mezi jednotlivými druhy, které nejsou příbuzné. Výsledkem toho jsou pak geneticky modifikované organismy (GMO) [38].

1.1 Charakterizace

Geneticky modifikovaný organismus je takový organismus, kromě člověka, jehož dědičný materiál byl úmyslně změněn genetickou modifikací [32].

Geneticky modifikované rostliny (GMR) neboli transgenní rostliny jsou takové rostliny, do jejichž dědičného základu byl vnesen jeden nebo několik genů metodami genového inženýrství. Tyto geny mohou být z dědičného základu samotné rostliny nebo jiného i systematicky vzdáleného organismu [38].

Geneticky modifikovaná potravina je taková potravina, která obsahuje geneticky modifikované organismy, sestává z nich nebo je z nich vyrobena [2].

Geneticky modifikované krmivo je takové krmivo, které obsahuje geneticky modifikované organismy, sestává z nich nebo je z nich vyrobeno [2].

Transgenní organismy jsou takové organismy, jejichž genetická informace byla pozměněna přidáním genetického materiálu z nepřibuzného organismu [38, 53].

1.2 Příprava

Při tvorbě geneticky modifikovaných plodin závisí úspěšnost především na účinnosti transformace, výběru vhodných plodin a znaku, který má být pozměněn a riziku uvedení GMR do prostředí [38],

1.2.1 Tvorba geneticky modifikovaných rostlin

Tvorba geneticky modifikovaných rostlin sestává z 5 základních kroků [38]:

- izolace genů,
- klonování genů,
- transformace rostlinných buněk,
- detekce geneticky modifikovaných rostlin,
- kontrola stability procesu transgenozy.

Izolace genů

Izolace a identifikace rostlinných genů se provádí vyhledáváním v genových bankách pomocí heterologní hybridizace nebo v expresních knihovnách cDNA (komplementární DNA). Genové banky nebo také genové knihovny jsou v podstatě místa, kde se uchovávají dané genové zdroje. Dále se pro vyhledávání genů využívají sekvenční techniky, případně navození inzerční inaktivace s využitím transponovatelných elementů nebo

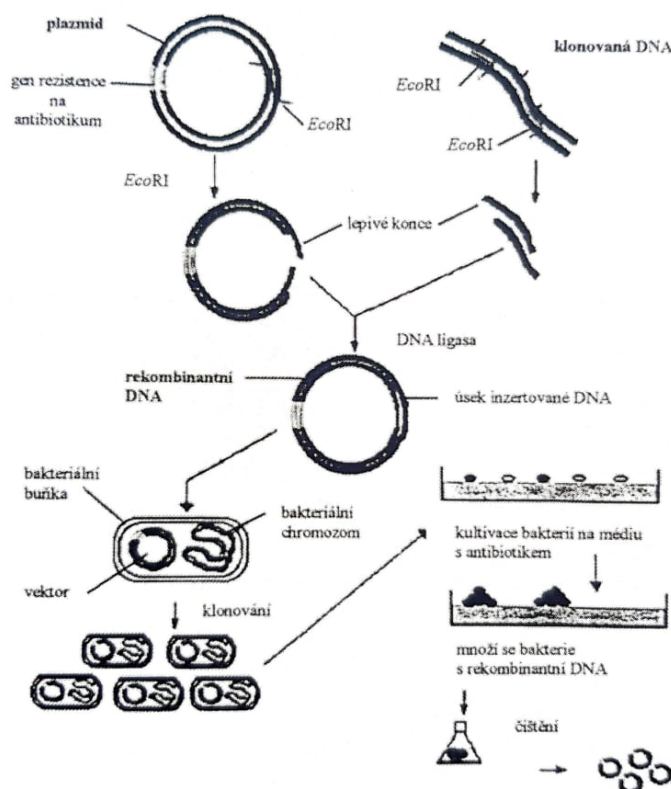
T-DNA tagging pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Pro zajištění exprese je nutno přenášet kompletní gen (promotory na 5'konci, vlastní strukturní gen i polyadenylační signál na 3'konci) [38].

Klonování genů

Klonování genů slouží k amplifikaci genů, tedy jejich namnožení. Klonováním můžeme z jedné molekuly DNA připravit libovolné množství kopií. Geny můžeme klonovat nepřímo pomocí vektorů (přenašečů) nebo přímo bez nich [38].

Klonování genů ve vektorech

Izolovaný gen, který chceme naklonovat, se vloží do vektoru a replikuje se v hostitelské buňce [38]. Vektory mohou být plazmidové, odvozené například od bakteriogága Lambda, dále to mohou být hybridy mezi plazmidy a fágy (tzv. kosmidy) a pro eukaryotní buňky se využívají vektory kvasinkové, rostlinné a živočonošné [72]. Jako hostitelské buňky se nejčastěji využívají kvasinky nebo bakterie. Klonovaný fragment DNA je vložen do vektoru (plazmid) ligací na homologních volných koncích, které vznikly štěpením restriktázou. Vektor s DNA fragmentem je následně vpraven do hostitelské buňky (bakterie), kde se pomnoží nezávisle na replikaci bakteriálního chromozomu [38].



Obr. 1.2 Klonování DNA ve vektorech. [38]

Klonování genů bez vektorů

Namnožit určitý gen můžeme také pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR, z anglického Polymerase Chain Reaction). PCR je metoda určena k rychlé amplifikaci úseku DNA pomocí termostabilní DNA polymerázy [38], která se nejčastěji izoluje z bakterie *Thermus aquaticus* přirozeně žijící v horkých vřídlech [48]. Termostabilita je zde důležitá vlastnost, protože je při reakci využíváno cyklických změn teplot, které umožňují denaturaci DNA, přilnutí primerů a následnou syntézu DNA [12]. Proces klonování tedy probíhá ve třech fázích [38]:

1. rozvláknění DNA = denaturace ohřátím na teplotu vyšší než 95 °C,
2. připojení primerů = krátké snížení teploty na 40 - 50 °C,
3. nakonec probíhá syntéza komplementárního úseku vymezeného primery = opětovné zvýšení teploty na 70 °C - při této teplotě dobře pracuje DNA polymeráza.

Tento cyklus se běžně opakuje až 30x, tím dosáhneme namnožení vymezeného úseku DNA až na 10^5 [38].

Transformace rostlinných buněk

Klonované geny lze do rostlin vpravit buď nepřímo přes vektory jako jsou viry, bakteriální plazmidy nebo bakteriofágy nebo přímou transgenozí (mechanickým přenosem) [38].

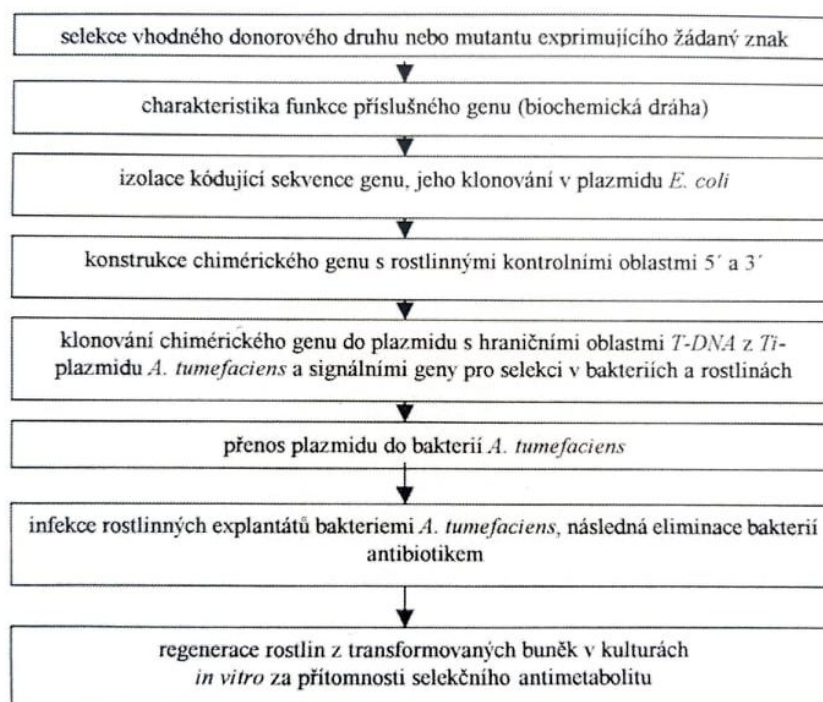
*Transgenoze prostřednictvím *Agrobacterium tumefaciens**

V principu jde o využití přirozeného procesu patogeneze bakterií *Agrobacterium tumefaciens*. *Agrobacterium* je patogenní bakterie vyskytující se v kořenovém systému bobovitých rostlin, kde se projevuje tvorbou tumorů. Tato transgenoze není účinná u jednoděložných rostlin [70]. Posloupnost jednotlivých operací je vykreslena na obrázku 1.3 [38].

Přímá transgenoze

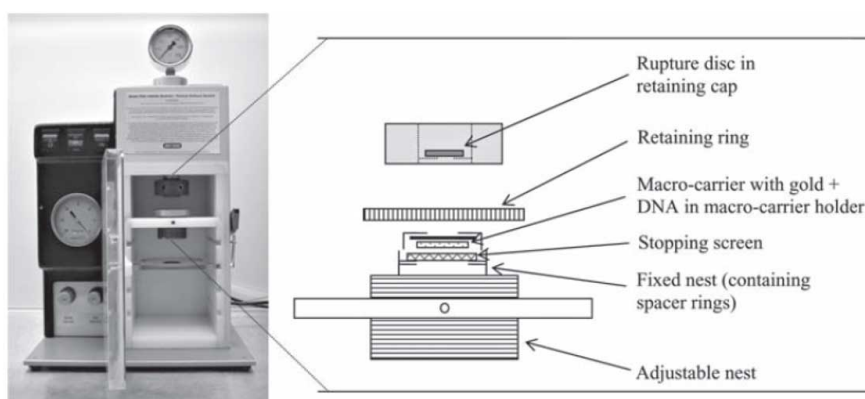
Přímá transgenoze je prakticky uplatňována pomocí těchto metod [38]:

1. Mikroinjekce - fyzické vstříknutí DNA do jádra nebo celých pletiv mikrožehlou [53].
2. Kultivace mikrospor nebo pylových láček s exogenní DNA.
3. Metoda mikroprojektil (particle bombardment, biolistická metoda) - jde o univerzální perspektivní metodu, kde se mikroskopické kuličky (asi 1 mikrometr) z inertního kovu (např. zlato) nejprve ponechají v roztoku vektorové DNA a následně se vysuší, DNA tak zůstane lpět na povrchu. Tyto kuličky jsou poté



Obr. 1.3 Transgenoze prostřednictvím bakterií-posloupnost operací. [38]

za vysokého tlaku helia “nastřeleny” do rostlinných buněk nebo tkání. V určitých případech je zasaženo jádro, tehdy se DNA ulpělé kuličky spojí s rostlinným genomem. Využívá se k tomu vysokotlakých zařízení (viz obrázek 1.4). Tuto metodu můžeme aplikovat i u jednoděložných rostlin, kde by využití Ti-plazmidu agrobakterií bylo problematické.



Obr. 1.4 Genové dělo PDS 1000/He od firmy BioRad, [46]

Detekce geneticky modifikovaných rostlin

Po vpravení genů do rostlin je předpokladem růst transgenních pletiv za selektivních

podmínek. Může dojít k fyziologické adaptaci nebo genové mutaci. Důkaz přináší až metody detekce transgenů v rostlinném genomu. Transgeny mohou mít dva odlišné typy působení [38]:

1. jejich expresí vzniká nový protein a znak,
2. jejich expresí dochází ke snížení či eliminaci funkce některého genu či viru.

Pro detekci integrace transgenů do rostlinného genomu je využíváno metod založených na stanovení nukleových kyselin nebo na stanovení bílkovin, případně mohou být využity také metody chromatografické či infračervená spektroskopie. Každá z těchto metod má svá omezení. Zde je přehled nejpoužívanějších metod [38]:

- biochemický důkaz exprese selekčního genu,
- fyzikální důkaz přítomnosti intaktního transgenů (DNA/DNA-hybridizace, PCR),
- průkaz transkripčního produktu (RNA, DNA-hybridizace, PCR s reverzní transkripcí),
- histochemická/cytochemická lokalizace transkriptu in situ,
- sledování funkce enzymu kódovaného transgenem,
- fenotypový projev transgenů,
- sledování strukturní a funkční stability (segregace) transgenů v semenném potomstvu

Detekce nukleových kyselin	Detekce DNA	PCR a její aplikace (multiplex PCR, nested PCR)
		Kvantitativní kompetitivní PCR (QC PCR)
		Real-time PCR
		Southernův přenos
		Mikročipy
	Detekce RNA	Reverzní transkripce – PCR (RT-PCR)
		Nothern hybridizace
		RPA (ribonuclease protein assay)
Detekce proteinu	Imunometody	ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)
		Western přenos (imunoblot)
		Určení aktivity produktu transgenů
		Chromatografie
Ostatní techniky		Infračervená spektroskopie

Obr. 1.5 Techniky používané pro detekci GMO. [38]

2 Geneticky modifikované potraviny a potraviny s podílem GMO

Geneticky modifikované potraviny jsou potraviny vyrobené z geneticky modifikovaných organismů [62]. Obecným cílem je modifikovat plodiny tak, aby byly odolné vůči škůdcům a chorobám, tolerantní k herbicidům a/nebo měly sníženou potřebu hnojiv a vody, což je čím dál větší problém vzhledem k rychle zvěšujícímu se suchu. Dále se pomocí genetických modifikací zvyšuje nutriční hodnota plodin, prodlužuje se jejich trvanlivost, zlepšuje se jejich chuť, upravují se estetické vlastnosti nebo se eliminují přirozené toxiny a alergeny [36].

2.1 Bezpečnost a rizika

Geneticky modifikované potraviny a suroviny byly přezkoumány jak Světovou zdravotnickou organizací, tak mnoha dalšími významnými vědeckými institucemi a žádné negativní účinky na lidské zdraví dosud nebyly prokázány. Nejsou žádné důkazy o nemocech nebo škodách na životním prostředí způsobených geneticky modifikovanými plodinami. Tyto plodiny či potraviny jsou tedy podle aktuálních výzkumů stejně bezpečné jako běžné potraviny. Existuje však celá řada organizací i individuálních jedinců, kteří proti těmto plodinám bojují navzdory vědeckým výzkumům o bezpečnosti. Nevědecká kritika ovšem bezpochyby zpožďuje vývoj biotechnologických aplikací zvyšujících produktivitu v méně rozvinutých ekonomikách [15, 36].

Pro prokázání naprosté bezpečnosti GM plodin a především přesvědčení společnosti je však zapotřebí mnohá dlouholetých výzkumů. Například v rámci projektu MARLON (Monitoring of Animals for Feed-related Risks in the Long Term), který se zabývá zjišťováním zdravotního stavu zvířat, která jsou dlouhodobě krmena krmivem vyrobeným z GM plodin, byla vytvořena on-line databáze IPAFeed [15, 36].

Projekt G-TwYST (Genetically modified plants Two Year Safety Testing), který probíhal v letech 2014 až 2018 měl za hlavní cíl potvrdit či vyvrátit výsledky velice kontroverzních pokusů na potkanech francouzského profesora Gilles-Éric Seraliniho. Tito potkani měli být krmení kukuřicí NK603, což údajně vedlo ke zjištění karcinogenity této kukuřice. Výsledky projektu G-TwYST ovšem ukázaly, že po podávání geneticky modifikované kukuřice NK603 nebo geneticky modifikované kukuřice NK603 plus Roundup krysám po 90 dnů nedošlo k žádným histopatologickým nálezům [29, 59].

Česká republika se do výzkumů ohledně bezpečnosti GM rostlin zapojila také a to ještě před přijetím prvního zákona České republiky o nakládání s geneticky modifikovanými organismy v roce 2001. Nejprve se studie zaměřovaly na činnost mapovací, kontrolní a na vytváření podkladů pro národní legislativu. Později se zajišťovaly detekční metody, kontroly polních pokusů, získávala se data o možnosti přenosu genů

do sousedních porostů a také se zkoumal vliv na necílové organismy. Studie zaměřené právě na necílové organismy potvrdily, že nebyl nalezen žádný negativní vliv genetických modifikací na členovce či hmyz. Byla také získána celá řada dalších poznatků, které jsou předávány do databází mezinárodních sítí o bezpečnosti geneticky modifikovaných organismů, jako je např. EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) nebo EK (Evropská komise). Výzkumů v České republice ohledně GMO, GM potravin a jejich bezpečnosti se účastní několik vysokých škol, kontrolní instituce nebo ústavy Akademie věd České republiky a další pracoviště [59].

2.2 Pěstování GM rostlin v ČR

Celosvětově nejvíce pěstovanými geneticky modifikovanými plodinami jsou bavlník, kukuřice, řepka a sója. Z těch se dále vyrábí potraviny jako je kukuřičný sirup, používaný jako sladidlo v mnoha potravinách a nápojích, kukuřičný škrob, sójové, kukuřičné a řepkové oleje nebo cukr z cukrové řepy. Mezi další plodiny patří rýže, jablka, brambory nebo papája [15].

V Evropské unii mohou být v současnosti uvedeny na trh produkty z kukuřice, brambor, bavlníku, řepky, sóji a cukrové řepy [28].

V České republice je v registru GMO pro uvádění do životního prostředí, aktuálně Ministerstvem životního prostředí České republiky povolen hrách setý, ječmen jarní, ječmen s peptidem LL37, slivoň a sója s genem LTB. U kukuřice a brambor je již ukončena doba oprávnění [1].

GM kukuřice se v České republice pěstovala především kvůli její odolnosti vůči zavíječi kukuřičnému.

Od roku 2005 po rok 2008 počet pěstitelů i ploch pro pěstování poměrně hodně narůstal. V roce 2008 byla geneticky upravená kukuřice pěstovaná na ploše o více jak 8300 hektarech a pěstovalo ji 167 subjektů. Tato kukuřice se však nevyužívala přímo jako potrava, ale jako krmivo pro zvířata a surovina pro bioplyn a bioethanol. Od roku 2009 začaly osevnické plochy i počet pěstitelů vzhledem k problematickému odbytu a administrativní zátěži klesat. V roce 2016 klesl počet ploch o 92 %, kdy geneticky modifikovanou kukuřici zasel pouze jeden pěstitel. V roce 2017 už nebyl oset jediný hektar a stejně tak tomu bylo také v roce 2018 [4, 34].

V roce 2019 byly provedeny pouze polní pokusy s GM rostlinami na celkové ploše s obsevem 5910 m². Na této ploše byly vysety celkem 3 rostliny. Slivoň klon C5 s odolností k šarce, sója luštinatá s genem LTB a ječmen jarní produkující peptid LL37 [26].

Tab. 2.1 Vývoj ploch a počtu pěstitelů GM kukuřice v ČR. [4]

Rok	Plocha [ha]	Počet pěstitelů
2005	150	51
2006	1290	82
2007	5000	126
2008	8380	167
2009	6480	121
2010	4680	82
2011	5090	64
2012	3050	41
2013	2560	31
2014	1750	18
2015	997	11
2016	75	1
2017	0	0
2018	0	0

2.3 Vlastnosti

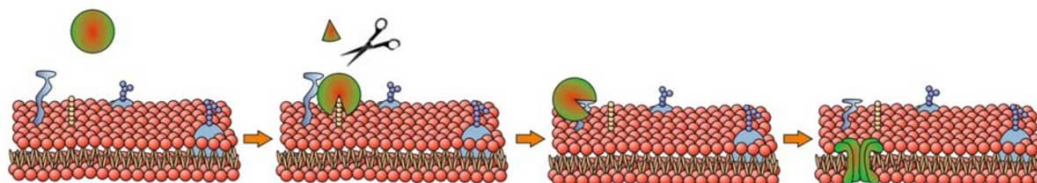
Pomocí genetických modifikací můžeme měnit vlastnosti libovolných organismů. Mezi nejpoužívanější změny vlastností patří nutriční obohacování rostlin, rezistence rostlin vůči škůdcům, herbicidům nebo jejich odolnost proti nemocem [71].

2.3.1 Rezistence vůči hmyzím škůdcům

I přesto, že nejsou vědecky ani ze zkušeností podloženy žádné negativní vlastnosti GM plodin má Evropa oproti ostatním kontinentům zatím k transgenním rostlinám spíše negativní postoj [71]. Jediná geneticky modifikovaná rostlina, která se v České republice pěstovala za jiným účelem než jsou polní pokusy, byla kukuřice setá MON810. V současné době se už v ČR nepěstuje, jako krmivo či potravina, ani tato kukuřice [24].

Kukuřice MON810 má v sobě zabudovaný gen Cry 1A(b) z bakterie *Bacillus thuringiensis* (Bt) [30]. Gen Cry produkuje bílkoviny s insekticidními vlastnostmi, tzv. delta toxiny. Larvy zavíječe kukuřičného, které rostlinu mechanicky poškozují, tuto bílkovinu pozřou a následně postupně snižují příjem potravy až za několik hodin či dnů zemřou [38]. Nejprve je pro-toxin díky vysokému pH ve střevech hmyzu rozložen na aktivní formu toxinu, která se naváže na kadherinový receptor. Po interakci s tímto receptorem je odštěpen N-terminální helix ze struktury Cry toxinu, což umožní zformování oligomeru, který postupuje membránou a vzniklý pór pak způsobuje úmrtí buňky. Účinek Cry toxinu je zjednodušeně znázorněn na obrázku 2.1 [54, 71]. Všechny doposud popsané Cry toxiny mají druhově či řádově specifická vazebná místa, to znamená, že

jsou pro necílové organismy, včetně člověka, neškodné. Většina pěstitelů zaznamenala s Bt kukuřicí větší výnosy. Další výhodou je především to, že zemědělci nemusí používat chemické insekticidy, celosvětově už tak bylo ušetřeno stovky tun pesticidů. Ve světě je rozšířeno také pěstování transgenního Bt bavlníku, který je prostřednictvím produkce Cry 1AC rezistentní k makadlovce bavlníkové, která rozežírá bavlník zevnitř. Dalšími příklady transgenních rostlin rezistentních ke škůdcům jsou brambory či rajčata [71].



Obr. 2.1 Mechanismus účinku Cry toxinu [71]

2.3.2 Rezistence vůči herbicidům

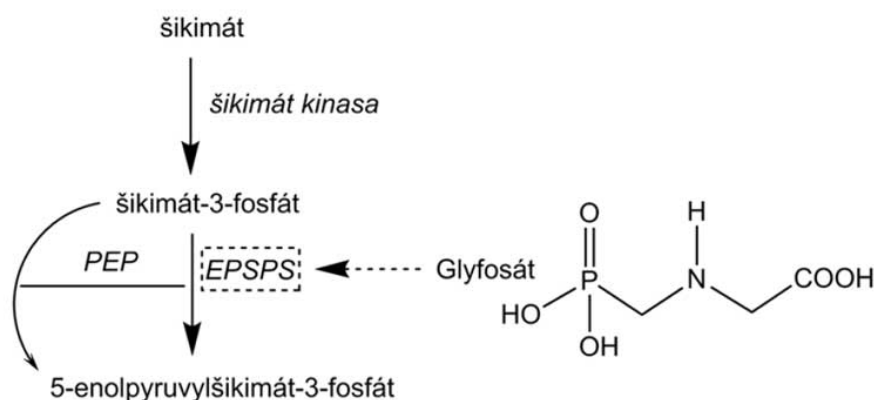
Transgenní rostliny tolerantní k herbicidům mají ve svém genetickém základu zabudovaný gen, který produkuje enzym cíleně odbourávající a detoxikující látku herbicidu. Tento enzym v rostlině syntetizují všechny buňky rostliny. Výsledkem je, že po aplikaci herbicidu hynou všechny plevely a transgenní rostliny přežívají. V současnosti je nejrozšířenější systém Roundup Ready a Liberty Link [38].

Systém Roundup-ready

Už několik desítek let je jedním z nejpoužívanějších herbicidů na světě Roundup-ready®. Aplikuje se postřikem na list, následně se vstřebává a díky pozvolné inhibici šikimátové dráhy je transportován floémem až do kořenů, díky tomu odumře celá rostlina. Vyznačuje se nízkou toxicitou vůči živočichům, netěkavostí, poměrně rychlou degradací v půdě a především vysokou účinností proti velkému spektru rostlin. Účinnou látkou je zde glyfosát (N-(fosfonomethyl)glycin, jediná látka, která je schopna inhibovat enzym EPSP syntázu (5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntasa). Tento enzym působí v rámci šikimátové dráhy, která je esenciální pro tvorbu aromatických aminokyselin [71].

Glyfosát blokuje vazebné místo EPSPS (5-enolpyruvylšikimát-3-fosfátsyntasa) určené pro fosfoenolpyruvát a tím dochází k nahromadění šikimát-3-fosfátu a šikimátu [71].

Živočichové šikimátovou dráhu nepoužívají, proto na ně glyfosát takto nepůsobí. Přesto se během některých pokusů dokázalo, že glyfosát na zvířatech může působit jako endokrinní disruptor a byl tedy zařazen Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny



Obr. 2.2 Šikimátová dráha v rostlinách. [71]

do kategorie karcinogenity 2A (pravděpodobně karcinogenní pro člověka). Vzhledem k tomu, že je glyfosát v půdě rychle mikrobiálně rozkládán a má nízkou mobilitu (váže se v půdě na menší složky), je riziko jeho průniku do podzemních vod malé, přesto jsou určité hodnoty glyfosátu ve spodních vodách zaznamenány. Rezistenci ke glyfosátu mohou rostliny získat dvěma způsoby; rekombinantně syntetizovat EPSPS, který nemá vazebné místo pro glyfosát nebo syntetizovat enzym, který dokáže glyfosát degradovat. Nejvíce produkovanou Glyphosát rezistentní Roundup-ready® plodinou je sója, ta produkuje CP4 EPSPS z bakterie *Agrobacterium*. K produkci enzymu dochází nepřetržitě ve všech pletivech rostliny. Mezi další transgenní rostliny patří kukuřice a bavlna [71].

Systém Liberty-link

Glufosinát (fosfinitricin) se přirozeně vyskytuje u *Streptomyces hygroscopicus*, která ho umí také inaktivovat pomocí enzymu PAT (fosfinitricinacetyltransferasa). Je druhým nejpoužívanějším herbicidem, obdoba glyfosátu. Metabolismus účinku je takový, že inhibuje glutaminsyntázu, která v rostlinách katalyzuje detoxikaci amoniaku. Po aplikaci herbicidu se hromadí amoniak, degradují plastidy a následně celé buňky. Gen bar pro syntézu PAT byl transformován do rostlin pod značkou Liberty Link (Bayer). Používá se u rýže, kukuřice, řepky a jiných známých plodin [71].

2.3.3 Rezistence k virům

Rezistence transgenních rostlin k virům je založena na přerušení životního cyklu viru v buňce nebo přerušení replikace virové nukleové kyseliny. Do rostliny jsou vpraveny geny odpovídající genům virových patogenů nebo geny odvozené. Produkty těchto genů způsobují zamezení šíření viru v buňkách rostlin či zabraňují přenosu přes hmyzí vektory [38]. Příprava rostlin rezistentních k virům není v současnosti nijak rozšířená,

zůstává zde totiž problém šíření GM pylu na netransgenní rostliny. Nejznámější případ vytvoření rezistentní plodiny byl v 50. letech minulého století, kdy se na Havajských ostrovech objevila nekrotická kroužkovitost papáji (Papaya ringspot virus, PRSV). PRSV virus se díky mšicím velice rozšířil a způsobil začátkem 90. let velký pokles produkce s negativním dopadem na celosvětový trh [43]. V důsledku toho byla vytvořena GM odrůda papáji Rainbow s genotypem nesoucí gen řídící tvorbu proteinového obalu virové částice. Transgenní rostlinné buňky s tímto genem produkují protein neustále, když dojde k pokusu napadení virem, buňka vypadá již jako napadená a virus se zde nedokáže rozmnožit. Dnes Rainbow tvoří více než 80 % havajské produkce papáji [71]. Mezi další viry, vůči nimž jsou vyvinuty transgenní rostliny, patří například TMV virus (virus tabákové mozaiky) rajčat, CMV virus okurek, nebo PLVR, X a Y virus brambor [38, 40].

2.3.4 Rezistence vůči chladu, oxidativnímu stresu a zasolení

Rajče je považováno za rostlinu citlivou k chladu. Expres transkripčního faktoru C-repeat/dehydration response element binding factor 1 (CBF1) způsobuje zvýšenou toleranci k chladu, oxidativnímu stresu a vodnímu deficitu [40].

K odstranění oxidativního stresu se využívá například superoxid-dismutáza, která má schopnost odstraňovat kyslíkové radikály. Využívá se například u vojtky, kam se vkládá gen z tabáku [40].

V rostlinách je přirozeně vyskytující se protein, který vycytává sůl a shromažďuje ji v oddělených kompartmentech uvnitř buněk. Pokud je ale soli mnoho, nestačí protein všichni sůl vycytat a volná sůl v rostlině naruší její biochemické pochody, rostlina pak usychá. Aby se tomuto zabránilo, byl do rajčete vložen gen AtNHX1 izolovaný z *Arabidopsis*. Tím bylo vytvořeno geneticky modifikované rajče, které vytváří více proteinu transportujícího sůl a rajče nevysychá ani v případě, že jej zaléváme až 50 krát slanější vodou než je běžné [40].

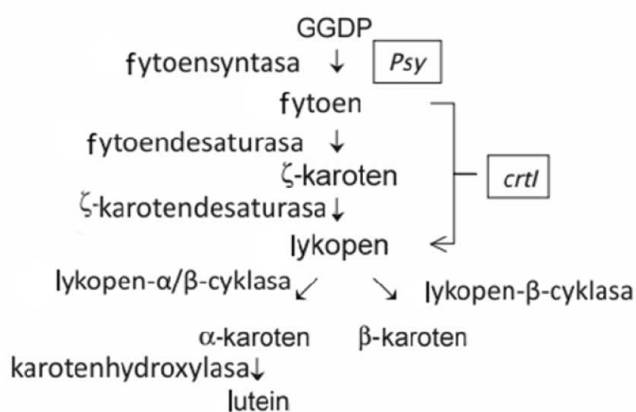
2.3.5 Plodiny nutričně obohacené

Nutriční obohacování je vhodné především u běžných potravin, které konzumují lidé s nedostatečným nutričním příjmem, tedy zejména v rozvojových zemích. Jejich využití však může být uplatněno ke zlepšení skladby jídelníčku celé populace.

Zlatá rýže

Zlatá rýže je geneticky upravená konvenční rýže s vysokými hodnotami beta-karotenu, prekursoru vitamínu A. Kvůli deficitu vitamínu A podle WHO (Světové zdravotnické organizace) ročně ztratí zrak až 500 tisíc dětí a polovina z nich do roka zemře [51].

Je to zapříčiněno tím, že se zejména v Africe a Asii stále velké procento lidí stravuje velice jednotvárně, tedy převážně rýží [71]. Rýže obohacená o provitamin A je jedním z možných řešení tohoto problému. Prototyp byl vyvinut v 90. letech evropskými vědci Ingem Potrykusem a Peterem Beyerem a byl uvítán s velkým nadšením. Tento prototyp však neobsahoval dostatečně vysoké hladiny β -karotenu, aby byl účinným zdrojem vitamínu A [51]. Současná Zlatá rýže má v sobě vloženy dva transgeny; rostlinný gen *Psy* pro syntézu fytoensynthasy a druhý pocházející z běžné půdní bakterie, gen *crtI* fytoendesaturasy. Tyto dva geny aktivují metabolickou karotenoidovou dráhu rýže, která produkuje betakaroten [66, 71].



Obr. 2.3 Syntéza karotenoidů z geranylgeranyldifosfátu (GGDP) [71]

Ukázalo se, že takto geneticky upravená rýže je účinná i ve srovnání s působením vitamínu A v kapslích [68]. Ovšem než se geneticky upravené plodiny dostanou do oběhu je potřeba, oproti konvenčním plodinám, značné množství času a peněz. Průměrná doba potřebná k tomu, aby se nová biotechnologická plodina dostala na trh, je podle průmyslového průzkumu 13 let [6]. Navíc všechny země, které GM plodiny povolují, mají přísné předpisy upravující jejich používání a vyžadují hodně testování včetně polních pokusů. Zlatá rýže byla již několikrát schválena v různých státech, bohužel kvůli ekologickým aktivistům docházelo k ničení polních pokusů, díky mediálním kampaním byl čínský vědecký tým zrušen a čínská vláda projekt zrušila kvůli neetičnosti [35]. V roce 2016 dokonce vznikla protikampaň z vědecké společnosti, podepsaná 113 laureáty Nobelovy ceny a tisíci dalšími vědci, vyzývající ekologické organizace k ukončení destruktivní činnosti [71]. Z mnoha provedených studií neexistuje žádná, která by naznačovala zdravotní problémy spojené s konzumací geneticky upravené rýže obohacené o vitamíny. Naopak karotenoidy jsou obecně spojovány s poskytováním důležitých zdravotních přínosů [51].

Molekulární farmaření

Jako molekulární farmaření se nazývá výroba léčiv prostřednictvím rostlinných transgenů. Geneticky modifikované rostliny nemusí sloužit pouze jako produkt zemědělství určený k obživě, ale také se mohou využívat k výrobě terapeuticky významných proteinů. Molekulární farmaření má široké uplatnění například při vakcinaci proti neštovicím, tuberkulóze, žloutence typu B nebo na produkci lidských protilátek účinných proti HIV či viru ebola. Příkladem jsou tzv. jedlé vakcíny, které mají mnoho pozitiv; nízké náklady, přijatelný způsob aplikace pro pacienty (například ve formě lyofilizovaných ovocných chipsů). Zatím je ale produkce problematická, například není úplně možné získat stabilní koncentrace proteinu pro navození celkové imunity, většina studií s jedlými vakcínami je tedy zatím ve stádiu preklinických nebo klinických testů [67, 71].

Změny ve složení mastných kyselin v olejninách

Hlavními plodinami pro produkci olejů jsou řepka olejná, slunečnice, palma olejová a sója. Celoročně se vyprodukuje až 100 milionů tun rostlinných olejů, ze zdravotního a potravinářského hlediska je však podstatné složení mastných kyselin. Základní výstavba mastných kyselin probíhá v chloroplastech, v jedlých olejích převažují mastné kyseliny, které mají 18 uhlíků a jeden až tři dvojně vazby. Hlavním prekurzorem všech olejových kyselin je kyselina palmitová, ke vzniku dalších mastných kyselin dochází buď prodlužováním uhlíkatého řetězce nebo desaturací. Při desaturaci vznikají mastné kyseliny s jednou až třemi dvojnými vazbami. Pro potravinářství je žádoucí snížení obsahu kyseliny erukové (22:1) a linolenové (18:3) za současného zvýšení obsahu kyseliny olejové. Obohacení mastné kyseliny se provádí prostřednictvím enzymu desaturáza, kyselina olejová tak může navýšit koncentraci na větší než 90 %. Toho bylo dosaženo u řepky, podobného výsledku bylo dosaženo také u sóji. Ke zvýšení podílu kyseliny olejové vedlo i vnesení genu pro acetyl-CoA karboxylasu z *Arabidopsis thaliana*, který byl opatřen signálním peptidem specifickým pro chloroplasty [38, 40].

3 Nové trendy ve vývoji a výzkumu geneticky modifikovaných potravin a surovin

V roce 2015 Organizace spojených národů (OSN) přijala 17 Cílů udržitelného rozvoje (SDGs) na následujících 15 let (2015-2030). Mezi tyto cíle patří, mimo jiné, jeden poměrně odvážný cíl: "Konec hladu - Vymýtit hlad, dosáhnout potravinové bezpečnosti a zlepšení výživy, prosazovat udržitelné zemědělství". Bod 2.1 : "Do roku 2030 vymýtit hlad a zajistit přístup všem lidem, zejména chudým a ohroženým, včetně malých dětí, k bezpečné, výživné a dostačující stravě po celý rok." Bod 2.2 : Do roku 2030 odstranit všechny formy podvýživy a do roku 2025 dosáhnout mezinárodně dohodnutých cílů ohledně zakrnění a hubnutí dětí mladších pěti let a vyřešit výživové potřeby dospívajících dívek, těhotných a kojících žen a starších osob"[5].

Významný hospodářský a zemědělský vývoj nás za posledních 5 let posunul k cíli o zajištění potravin o něco blíže. Například rozšířený přístup ke GMO plodinám zvýšil výnosy plodin v desítkách rozvojových zemí, zvýšil příjmy potravinovým producentům a poskytl více potravy hladovým lidem. Bohužel ale zatím není problém hladovění a podvýživy zdaleka vyřešen. Podle OSN je celosvětově podvyživeno více než 830 milionů lidí, což je od roku 2015 se 784 miliony podvyživovaných výrazný nárůst. Tyto statistiky jsou často používány k ospravedlnění tvrzení, že se v rostoucím světě musí i nadále zvyšovat produkce potravin. A ačkoliv je toto tvrzení pravdivé, hlavní příčinou hladu na celém světě je kažení potravin. Proto musí být využívány nejnovější vědecké nástroje nejen pro zvýšení úrody plodin, ale také pro zachování bezpečnosti, kvality a trvanlivosti potravin, které již vyrábíme [50].

3.1 Kažení potravin

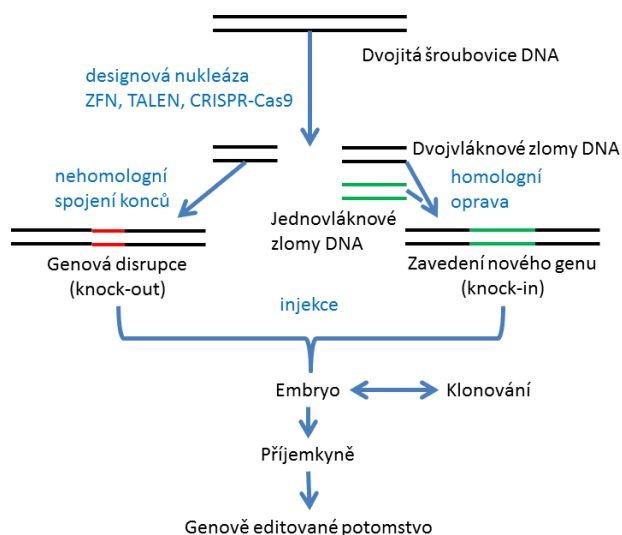
Dr. Olumide Odeyemi je vědecký pracovník s doktorským titulem na Australské univerzitě University of Tasmania. Se svým týmem se zaměřuje na pochopení mechanismů, které způsobují kažení potravin způsobené mikroorganismy, což pomáhá vědcům navrhovat preventivní zásahy, které prodlužují trvanlivost potravin. To je důležité například při produkci mořských plodů. Ryby a mořské plody jsou důležitým zdrojem bílkovin a dalších důležitých živin, ale zároveň se velmi rychle kazí. Dr. Odeyemi uvádí, že pro udržení kvality balených mořských plodů má zásadní vliv stabilní teplota skladování, která by měla být 4°C. V jiné publikované studii zjistili, že voda, která se přidává do obalů s mořskými plody a má je tak chránit, by mohla být právě zdrojem bakterií (*Shewanella* a *Asidaminococcus*), které způsobují kažení ryb a mořských plodů. Výsledky těchto a mnoho dalších studií poukazují na to, že ke kažení potravin přispívá mnoho faktorů. Je proto třeba najít taková řešení, která pomohou jídlo déle uchovat v dobrém stavu. Jedním takovým jsou třeba biosenzory. Biosenzory jsou ve formě pa-

píru či filmu a mohou snadno detekovat přítomnost chemických nebo biologických látek prostřednictvím signálů. Autoři tohoto projektu uvádí, že je možné tuto technologii využít také při detekci kontaminantů, například mykotoxinů. V potravinářském průmyslu však biosenzory zatím příliš využívány nejsou z důvodu vysoké výrobní ceny zařízení [50].

Dalším řešením pro zmírnění kažení potravin se nabízí použití genové inženýrství. Podle Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) může být genové inženýrství v budoucnu použito pro odstranění rostlinných složek, které způsobují zhoršení či znehodnocení úrody. Byla například patentována technika vložení genu, který sníží produkci enzymu polygalakturonázy v rajčatech. Tento enzym způsobuje změkčení rajčat [50].

Pomocí genového inženýrství jsme schopni dělat různými metodami cílené modifikace na genomu libovolného organismu. Důraz se klade na co největší jednoduchost, specifčnost a účinnost. Základem je vytvoření dvouřetězcových zlomů na DNA a následnou opravou. Oprava je možná dvěma způsoby, pomocí homologních oprav nebo přes nehomologní spojení konců [60].

V současnosti se používají 3 typy DNA vázajících proteinů. Je to systém CRISPR, TALEN a ZFN [60].



Obr. 3.1 Obecné schéma editace genů.[63]

3.2 CRISPR

CRISPR je moderní cílená metodika genetických modifikací, současně je ale také přirozenou součástí procesů v bakteriích. Zkratka pochází z anglického “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats”[69]. Jde tedy o sestavu pravidelně rozmístě-

ných repetice s délkou 21 až 37 nukleotidů. Tyto repetice jsou prokládány mezerníky, tzv. spacer DNA, což jsou krátké segmenty získané z předchozích setkání s příslušnými bakteriálními viry či plazmidy. Vkládáním a odstraňováním spacerů si tak buňka vlastně upravuje rezistenci. Součástí CRISPR lokusů jsou také Cas geny obklopující repetice se spacers. Existuje jich několik typů a zastávají různé funkce [65].

CRISPR lokusy se spolu s Cas geny dále dělí na tři hlavní typy: I, II, III, kde každý z těchto typů obsahuje svůj specifický protein. Například typ I obsahuje gen Cas3 a typ II Cas9. Pro získání nové spacer DNA do CRISPR lokusu jsou potřebné také geny Cas1 a Cas2, ty jsou proto obsaženy ve všech typech lokusů [49].

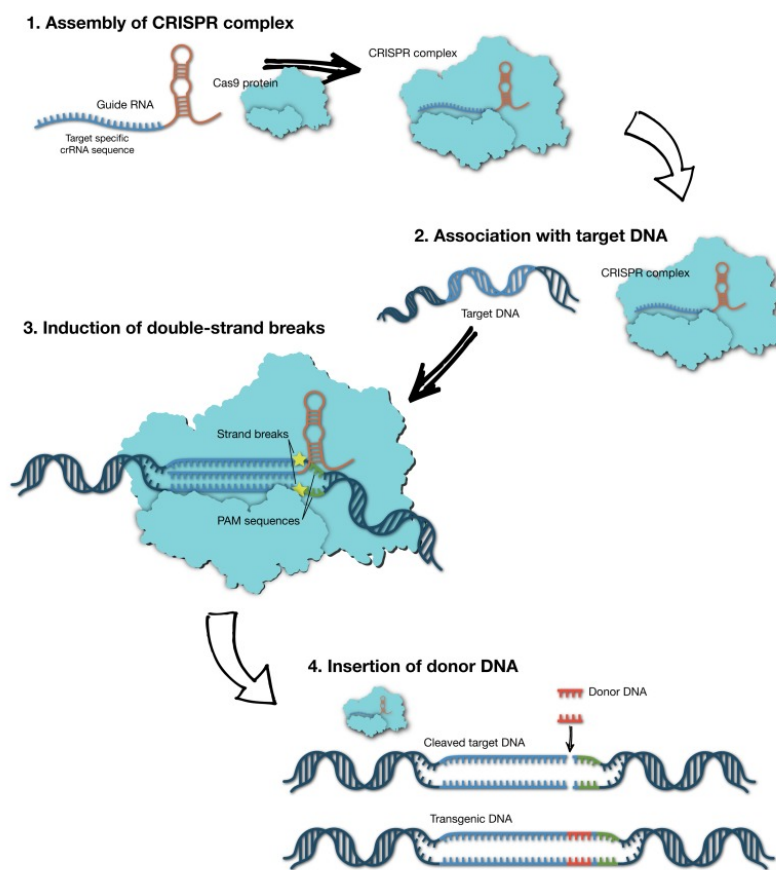
CRISPR lokusy byly nalezeny například u termofilních bakterií, archeí, sinic i několika gram pozitivních bakterií. Není to ovšem taxonomickou charakteristikou [65].

Biologicky je CRISPR v podstatě prokaryotický adaptivní imunitní systém, který prokaryota chrání před cizorodou DNA (např. nechtěnými bakteriofágy) analogickým mechanismem jako je RNA interference v eukaryotických organismech. Při opětovném setkání s virem (či plazmidem) se oblast spacerů přepíše do dlouhého transkriptu. Ten je následně Cas proteiny štěpen na krátké crDNA, které se naváží na DNA viru (plazmidu). Vzniklý komplex je rozpoznáván a dále štěpen dalšími Cas proteiny, což vede k likvidaci cizorodé DNA [53].

CRISPR lze tedy využít k cílenému zaměřování nukleáz na konkrétní cílovou sekvenci, tedy k odstranění konkrétního genu nebo přidání genu nového do přesně definovaného místa.

Technologie CRISPR by mohla být nápomocná například při snižování globálního problému znehodnocení a plýtvání potravin. FAO odhaduje, že se každoročně třetina potravin v celém potravním řetězci vyhodí. V rozvojových zemích je znehodnocení potravin důsledkem nedostatečné infrastruktury, kapitálových investic a základních potřeb. Plodiny zde čelí škůdcům z důvodu nedostatku ochranných prostředků, špatnému skladování a také podléhají velkým ztrátám při cestě na trh. V západních zemích dochází k plýtvání potravin většinou až během prodeje nebo po něm. Častou příčinou plýtvání potravin je jednoduše to, že jsou pro zákazníky vizuálně nepřítažlivé nebo nakoupené potraviny z různých důvodů nezkonzumují a následně je vyhodí [58].

Společnost JR Simplot, Boise, Idaho, nedávno oznámila, že licencovala technologii CRISPR-Cas9 od společností Corteva Agriscience a Broad Institute of MIT and Harvard University. JR Simplot plánuje použití této nové populární technologie k prodloužení trvanlivosti ovoce a zeleniny. Pokud se jim zadaří, mohou tak pomoci zabránit plýtvání potravin z důvodu znehodnocení poškozením a stářím. Současně ale můžeme očekávat velký odpor "anti-GMO" skupin. Někteří tvrdí, že použití genetiky k řešení potravinového odpadu je plýtvání penězi a časem. Systém CRISPR má však mnoho



Obr. 3.2 Mechanismus CRISPR. [21]

výhod, mezi největší patří, kromě vysoké účinnosti a širokého rozmezí jeho působení, především jednoduchost s jakou lze zaměřit cílovou sekvenci [58].

Další využití CRISPR může být i v boji proti koronavirům. Vědci pod vedením Neville Sanjana, Ph.D., v New York Genome Center a New York university, vyvinuli nový druh technologie CRISPR. Pomocí nově objeveného enzymu Cas13 budou cílit namísto DNA na RNA. Vzhledem k tomu, že nový virus Covid-19 je právě RNA virus, pravděpodobně bude možné využít tohoto systému na terapii a diagnostiku v souvislosti s koronaviry [10, 25].

3.3 TALEN

TALEN, “*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*”, je široce používaná technologie pro přesnou a účinnou editaci genů v živých buňkách. Funguje v různých hostitelských systémech včetně bakterií, kvasinek, rostlin, hmyzu a savců. V podstatě jde o umělé restriční enzymy, které mohou být po zavedení do buněk použity pro editaci genů nebo pro editaci genomu in situ, což je technika známá jako editace genomu pomocí upravených nukleáz [47]. Restriční enzymy jsou složeny ze dvou domén. První

doménou je TAL efektorová DNA vazebná doména. Slouží pro vazbu na konkrétní specifické místo DNA. Druhá doména je nukleázová a je určena pro štěpení DNA, na kterou se váže enzym [53].

3.3.1 TAL efektorová DNA vazebná doména

TAL efekторы jsou odvozeny z bakterie *Xanthomonas*. DNA vazebná doména obsahuje opakovanou, vysoce konzervovanou, sekvenci 33-34 aminokyselin s divergentní 12. a 13. aminokyselinou. Tyto dvě polohy, označované jako “Repeat Variable Di-residue” (RVD), jsou vysoce variabilní a vykazují silnou korelaci se specifickým rozpoznáváním nukleotidů [3, 53].

3.3.2 Nukleázová doména

Nukleázová nebo také štěpná doména je odvozena z endonukleázy FokI (*Flavobacterium okeanokoites*). Může být použita pro konstrukci hybridních nukleáz, které jsou aktivní u mnoha různých typů buněk. Pro dosažení vysoké aktivity je důležitý jak počet aminokyselinových zbytků mezi vazebnou doménou TAL DNA a štěpnou doménou FokI, tak počet bází mezi dvěma jednotlivými vazebnými místy TALEN [3, 53].

3.3.3 Mechanismus TALEN

Vhodnou sekvenci TAL domény navrhne software na základě známé sekvence, kterou chceme editovat. Pomocí PCR je následně vytvořen umělý konstrukt, který se začlení do plazmidů. Cílové buňky jsou poté transfekovány plazmidy, genové produkty jsou exprimovány a vstupují do jádra, kde editují samotný genom. Alternativním řešením je dodání konstruktů do buněk pomocí mRNA [3, 47].

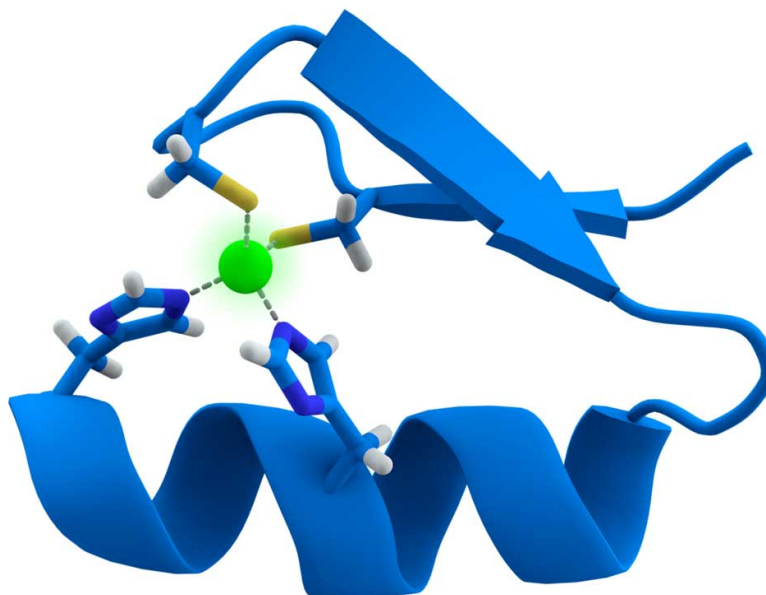
Technologii TALEN lze použít pro úpravu genomů indukci dvouřetězcových zlomů (DSB), na které reagují buňky opravnými mechanismy. Tyto opravné mechanismy indukují chyby v genomu prostřednictvím inserce, delece nebo chromozomálního přeusmyku. Chyby mohou způsobit nefunkčnost genových produktů kódovaných v tomto místě. Aktivita se může lišit v například v závislosti na druhu a typu cílové buňky, měla by být proto při navrhování nových systémů sledována [39].

TALEN má takřka univerzální použití, protože se může přizpůsobit k rozeznání prakticky jakékoliv sekvence. To stejné platí i pro “zinc finger nukleázy” (ZFN). Tyto dvě technologie mohou být kombinovány s různými efekty tak, aby ovlivnily funkci a strukturu genomu [65].

3.4 Zinkové prsty

Zinc finger nukleázy, chimerické endonukleázy, jsou možným nástrojem jak provést zásah do genetické informace s přesným výběrem místa. Jsou složeny ze dvou domén, obdobně jako TALEN. Štěpení DNA je zajištěno pomocí endonukleázy FokI, nespecificky štěpící místo, které druhá, vazebná, doména rozezná. Vazebná doména je zde nahrazena proteinem typu “zinc finger” (zinkové prsty). Ty ve své struktuře obsahují dva cysteiny a dva histidiny a jsou složeny asi ze 30 opakujících se sekvencí aminokyselin. Každá ze sekvencí na sebe váže zinečnatý ion, což udává potřebnou “prstovou”, konfiguraci. Zinkové prsty jsou přirozenou součástí bílkovin, které se váží na dvoušroubovici DNA a regulují aktivitu genů [56, 65].

Zinkový prst se váže na určitou kombinaci 3 písmen genetického kódu závisle na pořadí aminokyselin. Pokud je skupina (čtveřice) těchto zinkových prstů propojena, je získán vyhledávací aparát, který je schopen najít kombinaci 12 písmen genetického kódu. Tento aparát tedy vybírá místo, kde následně připojený enzym FokI přestřihne vlákno DNA. Buňka toto vystřížení zjistí a zahájí opravu, tedy zacelí “díru” a zničí odstříženou část genetické informace. Tím se gen vyřadí z činnosti. Takto lze tedy z genetické informace vyjmout část genu nebo i gen celý. V případě, že je do rostlinné buňky vpraven zároveň i jiný gen, buňka jej použije jako záplatu. Cizí genetická informace je tak dopravena na vybrané místo a konkrétní gen je nahrazen [42, 56].



Obr. 3.3 Schéma funkce zinkových prstů, Zdroj: Wikipedie

Pomocí zinkových prstů byla získána například kukuřice a tabák, které jsou odolné vůči herbicidům. Využití je ale možné také v boji proti AIDS, kdy se využívá schopnosti zasáhnout právě v přesně vybraném místě genetické informace. Při poškození struk-

tury kódované genem CCR5, jež je součástí povrchu lidských buněk, se nedokáže virus HIV na buňku navázat a následně ji infikovat. Pacientům jsou odebrány buňky kostní dřevě, které jsou následně ponechány účinku zinkových prstů napojených na enzym. Výsledkem je poškození DNA dvoušroubovice v genu CCR5, podle kterého je vyrobena molekula, kterou HIV virus využívá k tomu, aby se dostal do buňky. Vybrané buňky, u kterých se to povede, jsou zmnoženy a vráceny pacientovi. Kostní dřevě poté vyrábí krvinky s chybějící vazebnou bílkovinou a HIV virus není schopen se zde uchytit. V Německu se dokonce podařilo vyléčit nemocného AIDS tím, že mu byla transplantována kostní dřevě dárce s absencí genu CCR5 [42, 56].

3.5 Nové geneticky modifikované potraviny a suroviny

Příklady nových geneticky modifikovaných potravin.

3.5.1 Řepkový olej s omega-3 mastnými kyselinami

Společnost Nuseed, spolu s australskou organizací Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation a Grains Research and Development Corporation, vyvinula novou odrůdu řepky Nuseed Omega-3. Z této řepky bude připravován olej bohatý na omega-3 mastné kyseliny [8]. Jde tedy o první rostlinný zdroj omega-3 mastných kyselin s dlouhým řetězcem. Má se za to, že jeden hektar řepky Nuseed Omega-3 poskytne stejné množství omega-3 mastných kyselin jako 10 tun volně žijících ryb. To může být dobrým řešením v celosvětově nadměrné spotřebě ryb. Na trh by tento olej mohl přijít už letos (2020) [20, 22].

3.5.2 Cizrna odolná vůči suchu

Pro obyvatele Indie je hlavním zdrojem bílkovin z potravin cizrna. Ta se pěstuje převážně v polosuchých regionech v období po monzunu a během květu dochází k suchu, což vede k velkému poklesu výnosu. Vědci z Národního ústavu pro výzkum rostlinných genomů v New Delhi ovšem dokázali vyvinout odrůdu cizrny s vysokou tolerancí vůči suchu. Semena této rostliny mají zároveň vysoký obsah železa a zinku, což pomáhá snížit hladinu cytokininu v kořeni. Cytokinin je jedním z rostlinných hormonů, který reguluje vývoj hlavních kořenů. Vědci exprimovali gen pro enzym cytokinin oxidáza 6 (CKX6), který degraduje cytokinin v cizrně. Výsledky studie ukázaly, že snížení hladiny cytokininů vedlo ke zvýšení délky kořenů a většímu větvení kořenů. To rostlině umožňuje získat vodu a živiny z větší hloubky půdy i během sucha [52].

3.5.3 Biotechnologické sladidlo

Centrum genetického inženýrství a biotechnologie (CIGB) na Kubě vyvinulo nové biotechnologické sladidlo jako náhradu za cukr. Jedná se o ovocný oligosacharid (FOS), skládající se ze 2 až 4 jednotek fruktózy spojené s glukózou. FOS by měl být vyrobený ze sorbitolu a enzymu vyvinutého GIBS. Technologie výroby toho enzymu by měla být letos odhalena veřejnosti. Obecně je sladidlo v podstatě prebiotická a hypokalorická vláknina, která má příznivé účinky na lidské zdraví, především pak na střeva produkcí bifidobakterií a laktobacilů [9].

3.5.4 Transgenní prasata

Experimenty s transgenními prasaty probíhají už více než 30 let. V současnosti jsou však k dispozici nové nástroje (viz CRISPR, ZFN, TALEN), s jejichž využitím můžeme dosáhnout ještě lepších výsledků. Transgenní prasata mají ve svém genomu vloženy jiné cizí geny konstruované *in vitro*, které jim mění jejich vlastnosti. Cílem je tedy zlepšení jejich užitkových vlastností. Pomocí úpravy genomu se například zvyšuje odolnost prasat vůči nemocem, zintenzivňuje se nárůst svalové tkáně nebo dochází za pomoci rostlinné desaturázy k desaturaci kyseliny olejové za vzniku kyseliny linolové v bílé tukové tkáni. Pomocí jiné desaturázy z hlístice (*Caenorabditis elegans*) je dále možné desaturovat kyselinu linolovou na omega-3 mastné kyseliny. Další příklady editace genů prasat jsou v tabulce 3.1 [64].

Tab. 3.1 Transgenní prasata s editovaným genomem. [64]

Editovaný gen	Cílová tkáň	Projev
rostlinná desaturáza MK	tuková tkáň	desaturace kyseliny olejové za vzniku kyseliny linolové
desaturáza z hlístice	tuková tkáň	desaturace kyseliny linolové na omega-3 MK
myostatin	kosterní svalstvo	zvýšení počtu kosterních svalových vláken, zlepšení ukládání bílkovin
bílkovinný růstový hormon	tkáň	zvýšení růst svalové tkáně, snížení obsahu tuku v celém těle, snížení koncentrace cholesterolu v krvi
UCP1	tkáň	zvýšení termogeneze a přežití selat, snížení narůstání bílé tukové tkáně, zvýšení obsahu libových částí jatečně upraveného těla
CD163	tkáň	zvýšení odolnosti vůči viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat

Za použití systému TALEN byl u prasat vyřazen negativní regulátor myogeneze (tvorba svalové tkáně), myostatin. Prasata s vyřazeným myostatinem mají na rozdíl od běžných prasat až jednou tak velký obsah svalových vláken a celkově pak větší tělesnou hmotnost [64].

Nástroj CRISPR-Cas9 byl využit k editaci genu UCP1 (uncoupling protein 1), který u dnešních prasat přestává být funkční [64]. Gen UCP1 se vytváří výhradně v hnědé tukové tkáni a je důležitý pro tělesnou termoregulaci, brání především mladým selatům prochládnout [61]. Prasata s tímto funkčním genem si lépe udržují tělesnou teplotu, nejsou tak citlivá na chlad a mají zvýšené množství svalů a snížené množství tuku. CRISPR-Cas9 se využilo také pro vytvoření prasat s chybějícím genem CD163. Tento gen kóduje buněčný receptor pro virus reprodukčního a respiračního syndromu prasat. Další populace prasat bude tedy rezistentní k tomuto onemocnění. V současnosti bohužel dochází k velkému procentu úhynů embryí ještě před narozením, což nese značné náklady [64].



Obr. 3.4 Kultivované maso. [44]

3.5.5 Kultivované maso

Kultivované nebo také “čisté” maso je termín používaný k označení skutečného masa získaného kultivací živočišných buněk in vitro aniž by bylo nutné porazit jakékoliv zvíře [37].

Buňky pro výrobu masa se získávají biopsií z živého zvířete a dále se už dělí v laboratorních podmínkách mimo jeho tělo [44]. Jde o tzv. nediferencované kmenové buňky, které mají vynikající schopnost se množit. Z jedné kmenové buňky může vzniknout až 10^{14} nových. Tyto buňky ovšem nestačí jen namnožit, nediferencované buňky je třeba přetvořit na buňky svalové (myocyty) k čemuž je zapotřebí růstových hormonů nebo anabolických steroidů. "Zrání" svalové hmoty u zvířat trvá měsíce až roky než dojde k jatečné zralosti, v bioreaktoru jsou stanoveny požadavky maximálně na týdny, proto je jejich přidavek nutný. Důležitá jsou také antibiotika z důvodu zamezení mikrobiální kontaminace [44, 55].

Přesné složení média pro růst těchto buněk není známo. Podle předpokladů však bude složeno ze sacharidů, mastných kyselin, esenciálních i neesenciálních aminokyselin, cytokinů, peptidů, nukleosidů, transferinu, vitamínů, stopových prvků, tzv. Earliho solí (chlorid sodný, chlorid draselný, chlorid vápenatý, síran hořečnatý, dihydrogenfosfát sodný) a dalších látek [55].

V současnosti je snaha o zavádění velkopěstíren buněk, aby se cena masa přizpůsobila. Zatím je výroba kultivovaného masa velmi nákladná a je třeba více času pro doladění výzkumu [44].

4 Legislativní předpisy

Pěstování, prodej a další nakládání s GMO a GMP podléhá na národní, evropské i mezinárodní úrovni velmi přísné regulaci. Důvodem je zamezení možného negativního dopadu jak na lidské či zvířecí zdraví tak na životní prostředí [57].

Podle Zákona č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, v znění pozdějších předpisů, je [33]:

genetická modifikace - cílená změna dědičného materiálu spočívající ve vnesení cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo vynětí části dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozenou rekombinací,

geneticky modifikovaný organismus - organismus, kromě člověka, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací provedenou některým z technických postupů stanovených v bodu 1 přílohy č. 1 k tomuto zákonu ,

geneticky modifikovaný mikroorganismus - mikrobiologická jednotka schopná rozmnožování nebo přenosu dědičného materiálu, včetně virů, viroidů, živočišných a rostlinných buněk v kultuře, jejíž dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací,

genetickým produkt - jakákoli věc obsahující jeden nebo více geneticky modifikovaných organismů, která byla vyrobena nebo jinak získána bez ohledu na stupeň jejího zpracování a je určena k uvedení na trh.

4.1 Legislativa geneticky modifikovaných organismů

Nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty vyrobenými z geneticky modifikovaných surovin je upraveno na národní úrovni, evropské i mezinárodní [17].

4.1.1 Národní legislativa

V České republice jsou GMO upraveny:

- zákonem č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, v znění pozdějších předpisů,
- vyhláškou č. 209/2004 Sb., o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty.

Zákon č. 78/2004 Sb.,[33] zapracovává příslušné předpisy Evropské unie, zároveň navazuje na přímo použitelné předpisy Evropské unie a upravuje práva a povinnosti osob a působnost správních orgánů při nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty [33].

S GMO a genetickými produkty lze podle tohoto zákona nakládat pouze na základě oprávnění. Oprávnění k uzavřenému nakládání a k uvádění GMO a genetických produktů do životního prostředí vzniká na základě konkrétních povolení. Při uvádění genetických produktů na trh je třeba oprávnění, které vzniká “dnem nabytí právní moci rozhodnutí o provedení zápisu geneticky modifikovaného organismu nebo jeho genetického produktu do Seznamu pro uvádění na trh nebo vydáním písemného souhlasu k jeho uvedení na trh příslušným orgánem jiného členského státu Evropské unie nebo povolení podle přímo použitelného předpisu Evropské unie upravujícího geneticky modifikované potraviny a krmiva.” Žádosti o udělení výše uvedených povolení podává žadatel ministerstvu, které je povinno rozhodnout do 90 dnů od obdržení žádosti. Žádost je možno podat prostřednictvím datové schránky, v elektronické podobě s elektronickým podpisem nebo v listinné podobě [19].

Pro zákon č. 78/2004 Sb.,[33] jsou uděleny výjimky, na které se nevztahuje. Jde například o nakládání s geneticky modifikovanými organismy, které splňují kritéria bezpečnosti pro zdraví lidí, zvířat a složky životního prostředí a které jsou stanovené v příloze č. 2 tohoto zákona. Při pochybnostech, zda jde o výjimku, rozhoduje Ministerstvo životního prostředí [33].

Kritéria bezpečnosti geneticky modifikovaných organismů [33]:

- (a) geneticky modifikovaný mikroorganismus musí být jasně definován, identita kmene musí být určena a ověřena, modifikace musí být známy a ověřeny,
- (b) musí být poskytnut důkaz bezpečnosti organismu a doložen potřebnou dokumentací,
- (c) musí být prokázána genetická stabilita, jestliže by nestabilita mohla nepříznivě ovlivnit bezpečnost,
 - 1. vytvářet zvýšenou toxinogenitu jako výsledek genetické modifikace ani u něj nesmí být známy toxinogenní vlastnosti,
 - 2. vytvářet zvýšenou alergenitu jako výsledek genetické modifikace, nesmí se jednat o známý alergen,
- (d) geneticky modifikovaný mikroorganismus nesmí být schopen způsobit onemocnění nebo újmu zdravému člověku, rostlině nebo živočichu; protože patogenita zahrnuje jak toxinogenitu, tak alergenitu nesmí geneticky modifikovaný mikroorganismus
- (e) nesmí v sobě obsahovat náhodně získané škodlivé prvky, jako jsou jiné mikroorganismy, aktivní nebo latentní, které existují vedle nebo uvnitř geneticky modifikovaného mikroorganismu a jež by mohly poškozovat zdraví lidí, zvířat, složky životního prostředí nebo biologickou rozmanitost,

- (f) je-li jeho změněný genetický materiál přenesen, nesmí vyvolat poškození ani nesmí být autoinfekční či přenosný s větší frekvencí než ostatní geny přijímajícího nebo rodičovského mikroorganismu,
- (g) nesmí mít bezprostřední ani následné nepříznivé účinky na životní prostředí nebo biologickou rozmanitost v případě, že dojde k úniku geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí.

Geneticky modifikované organismy mohou vzniknout mimo jiné při použití [33] :

- (a) techniky rekombinantní nukleové kyseliny vytvářející nové kombinace dědičného materiálu vložením úseku nukleové kyseliny připravené jakýmkoli způsobem mimo organismus do jakéhokoliv viru, bakteriálního plasmidu nebo jiného vektorového systému a jeho následným začleněním do organismu příjemce, ve kterém se normálně nevyskytuje, ale ve kterém je schopen dalšího množení,
- (b) techniky zavádějící dědičný materiál připravený jakýmkoli způsobem mimo organismus přímo do organismu příjemce, zahrnující mikroinjekce, makroinjekce, biolistické metody, mikroenkapsulace a umělé chromozomy, nebo
- (c) techniky buněčné fúze, včetně fúze protoplastů, nebo hybridizace buněk, při nichž jsou fúzí dvou nebo několika buněk vytvářeny životaschopné buňky s novou kombinací dědičného materiálu, a to metodami nebo prostředky, které se nevyskytují přirozeně.

4.1.2 Evropská legislativa

Pro evropskou unii jsou platná nařízení a směrnice [18]:

- nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1829/2003, o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech,
- nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1830/2003, o sledovatelnosti a označování GMO,
- nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1946/2003, o přeshraničních pohybech GMO,
- směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2001/18/ES, o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí,
- směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2009/41/ES, o uzavřeném nakládání s geneticky modifikovanými mikroorganismy.

Evropské směrnice 2001/18/ES a 2009/41/ES jsou transponovány do české legislativy zákonem č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty.

4.1.3 Mezinárodní smlouvy

Problematikou geneticky modifikovaných organismů na mezinárodní úrovni se zabývá Cartagenský protokol o biologické bezpečnosti. Cílem tohoto protokolu je zajistit bezpečnost a ochranu při zacházení, využívání a přenosu živých geneticky modifikovaných organismů, které mohou mít nepříznivý vliv na zdraví člověka a zachování biologické rozmanitosti [16].

V rámci Cartagenského protokolu byl zřízen tzv. Biosafety Clearing-House, tedy Informační systém biologické bezpečnosti. Tento systém je mezinárodním zdrojem informací o nakládání s modifikovanými organismy, který usnadňuje výměnu právních, vědeckých a jiných informací a zkušeností s GMO [27].

V roce 2019, po ratifikaci čtyřiceti smluvními stranami, byl vypracován Nagojsko-kualalumpurský doplňkový protokol o odpovědnosti a náhradě škod ke Cartagenskému protokolu, oficiálním názvem: “Nagoya – Kuala Lumpur Supplementary Protocol on Liability and Redress to the Cartagena Protocol on Biosafety” a to na základě článku 27 Cartagenského protokolu. Česká republika jej ratifikovala v roce 2012. Smluvní strany mají na základě tohoto protokolu povinnosti přijmout určitá opatření. Ratifikace této smlouvy po České republice nevyžaduje žádnou změnu legislativy v dané problematice [11].

Shrnutí - mezinárodní smlouvy:

- Cartagenský protokol o biologické bezpečnosti,
- Biosafety Clearing-House,
- Informační systém biologické bezpečnosti v České republice,
- Nagojsko Kuala-Lumpurský doplňkový protokol.

4.1.4 Instituce zabývající se GMO

V České republice GMO spadají pod [7]:

- Ministerstvo životního prostředí ČR,
- Ministerstvo zdravotnictví ČR a
- Ministerstvo zemědělství ČR.

Mezi kontrolní úřady v rámci GMO v ČR patří [7]:

- Státní veterinární správa,
- Státní zemědělská a veterinární inspekce,
- Ústřední kontrolní a zkušební úřad zemědělský,
- Státní ústav pro kontrolu léčiv,
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv,
- Státní rostlinolékařská správa.

Instituce Evropské unie [7]:

- Evropská komise,
- Evropský úřad pro bezpečnost potravin,
- Evropská agentura pro životní prostředí,
- Mezinárodní centrum pro genové inženýrství a biotechnologii,
- Informační centrum pro biologickou bezpečnost,

4.2 Legislativa geneticky modifikovaných potravin

V České republice je pěstování GM plodin upraveno [13]:

- Vyhláškou č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy
- Vyhláškou ze dne 29. listopadu 2016, kterou se mění vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, ve znění vyhlášky č. 58/2010 Sb.
- zákonem č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty.

V rámci EU je legislativa upravena těmito směrnici a nařízeními [14]:

- Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/412 ze dne 11. března 2015, kterou se mění směrnice 2001/18/ES

- Nařízení Komise (ES) č. 65/2004 ze dne 14. ledna 2004, kterým se zřizuje systém tvorby a přiřazování jednoznačných identifikačních kódů pro geneticky modifikované organismy
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1946/2003 ze dne 15. července 2003 o přeshraničních pohybech geneticky modifikovaných organismů
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1830/2003 ze dne 22. září 2003 o sledovatelnosti a označování geneticky modifikovaných organismů a sledovatelnosti potravin a krmiv vyrobených z geneticky modifikovaných organismů a o změně směrnice 2001/18/ES
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1829/2003 ze dne 22. září 2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES ze dne 12. března 2001 o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a o zrušení směrnice Rady 90/220/EHS

4.2.1 Minimální vzdálenost pěstování GMO od hranic

V příloze vyhlášky ze dne 29. listopadu 2016, kterou se mění vyhláška č. 89/2006 Sb., [31], jsou stanoveny minimální vzdálenosti místa pěstování geneticky modifikovaných odrůd od státních hranic České republiky, rozsah a lhůty [31].

Tato vyhláška udává, že [31]:

- Vzdálenost mezi dílem půdního bloku při poskytování informací v případě, že se nejedná o režim ekologického zemědělství je pro brambory do 20 m, pro kukuřici do 140 m, pro sóju do 20 m.
- Vzdálenost mezi dílem půdního bloku při poskytování informací v případě, že se jedná o režim ekologického zemědělství je u brambor do 40 m, kukuřice do 400 m, sója do 40 m.
- Minimální vzdálenost pěstování geneticky modifikované odrůdy od státní hranice České republiky je u brambor, kukuřice i sóji 400 m.
- Lhůta pro poskytování informací předpokládaným zahájením pěstování geneticky modifikované odrůdy je do 1. 3. příslušného kalendářního roku pro brambory, kukuřici i sóju.
- Minimální vzdálenost pěstování geneticky modifikované odrůdy v případě, že se nejedná o režim ekologického zemědělství, a mezi stejnými plodinami s odlišným

jednoznačným identifikačním kódem je u brambor 3 m; na začátku i na konci sázené partie nejméně 10 m v šíři sazeče, 70 m u brambor, 10 m u sóji.

4.2.2 Označování geneticky modifikovaných potravin a potravin s GMO

Potraviny, krmiva a produkty, které jsou uvedeny na trh a sestávají z geneticky modifikovaných organismů nebo je obsahují, musí mít na štítku od výrobce vždy uvedeno, že se jedná o produkt obsahující GMO. V případě nebalených potravin, krmiv nebo produktů musí být tato informace uvedena v jejich blízkosti. Toto označování je platné i pro dovozce. Osoba, která uvádí geneticky modifikovaný organismus na trh, musí dále v průvodním dokumentu uvést název GMO, obchodní název genetického produktu, jméno a adresu sídla a údaj o tom, kde lze nalézt další informace o produktu. Toto značení se ovšem nevztahuje na potraviny s obsahem GMO v podílu nižším než 0,9 % a to za předpokladu, že přítomnost tohoto podílu je nevyhnutelná [1, 23].

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat ucelený přehled nových trendů ve výzkumu a ývoji geneticky modifikovaných potravin a surovin.

První kapitola je zaměřena na GMO, jejich stručnou charakteristiku a přípravu. Tvorba geneticky modifikovaných rostlin sestává z pěti po sobě jdoucích základních kroků a to izolace genu, klonování genu, transformace rostlinných buněk, detekce geneticky modifikovaných rostlin a nakonec kontrola stability procesu transgenoze. Úspěšnost tvorby GMO je závislá především na účinnosti transformace a výběru vhodných plodin a znaku, který má být pozměněn.

Druhá kapitola popisuje GMP, především pak rizika související s jejich pěstováním a uváděním na trh. Dále jsou zde vymezeny jejich vlastnosti. Úpravou genomu je možné dosáhnout mnohdy velmi významných změn vlastností potravin. Mezi běžné geneticky pozměněné vlastnosti patří například rezistence plodin vůči herbicidům nebo nutriční obohacování. A právě nutriční obohacování nabízí velkou perspektivu z hlediska řešení nedostatku nebo špatné skladby nutričních hodnot potravin.

V úvodu třetí kapitoly je uveden problém potravinové nedostatečnosti a s tím související kažení potravin. Na to navazují samotné moderní techniky cílené editace genomů, systémy CRISPR, TALEN a ZFN. CRISPR se vyznačuje vysokou účinností, TALEN a ZFN mají zase takřka univerzální využití, protože se mohou přizpůsobit k rozeznání prakticky jakékoliv sekvence.

Čtvrtá kapitola vymezuje legislativní předpisy týkající se GMO a GMP na národní, evropské a mezinárodní úrovni. Ty jsou z důvodu předběžné bezpečnosti poměrně striktní.

Genetické modifikace nabízí řešení mnoha problémů spojených s potravinami, zároveň ale přináší nové. U některých případů není zcela vyřešen problém genetické kontaminace. S tím souvisí možné ohrožení biodiverzity nejen rostlin ale i hmyzu a jiných organismů. V České republice je to legislativně ošetřeno přesně definovanými minimálními vzdálenostmi pěstovaných jednotlivých GM plodin od hranic, ani to ale problém zcela neřeší. Dalším možným rizikem je samozřejmě bezpečnost konzumace geneticky upravených potravin pro člověka. Tato otázka se ve společnosti řeší už mnoho let. Existují i tzv. anti-GMO skupiny, jež ničí pole osetá geneticky modifikovanými plodinami nebo zveřejňují zfalšované výsledky výzkumů. Pro mnoho lidí je tato problematika nepřijatelná také z důvodů etických nebo náboženských. Prozatím ale nebyly pozorovány žádné negativní důsledky pěstování a konzumace geneticky modifikovaných potravin na člověka nebo životní prostředí. Doufejme, že se postoj veřejnosti bude v budoucnu odebírat kladným směrem a alespoň dalším generacím bude umožněno využívat genového inženýrství ve prospěch společnosti.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Geneticky modifikované potraviny a krmiva. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/geneticky-modifikovane-potraviny-a-krmiva.aspx?count=500>.
- [2] Geneticky modifikované potraviny a krmiva. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/geneticky-modifikovane-potraviny-a-krmiva.aspx>, 2008.
- [3] TALEN - Transcription activator-like effector nuclease. *Gene Therapy Net*.
- [4] Vývoj ploch a počtu pěstitelů GM kukuřice v ČR. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemdelstvi/roslinna-vyroba/gmo-geneticky-modifikovane-organismy/>.
- [5] Vymýtí hlad, dosáhnout potravinové bezpečnosti a zlepšení výživy, prosazovat udržitelné zemědělství. Dostupné z: <https://www.osn.cz/sdg-2-vymytit-hlad-dosahnout-potravinove-bezpecnosti-a-zlepseni-vyzivy-prosazovat-udrzitelne-zemdelstvi/>.
- [6] FIVE THINGS YOU NEED TO KNOW ABOUT AGRICULTURAL INNOVATION & INTELLECTUAL PROPERTY. Dostupné z: <https://croplife.org/news/five-things-you-need-to-know-about-agricultural-innovation-intellectual-property/>.
- [7] Odkazy na další informace o GMO. Dostupné z: <http://www.cizp.cz/Odkazy-na-a-informace-o-GMO>.
- [8] Omega-3 Canola Oil Bound for Market by Second Quarter of 2020. .
- [9] Cuba Produces Biotech Sweetener. Dostupné z: <http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/article/default.asp?ID=17959>, .
- [10] Nová CRISPR technologie cílí na RNA, včetně koronavirů. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/nova-crispr-technologie-cili-na-rna-včetně-koronaviru.aspx>.
- [11] NAGOJSKO-KUALALUMPURSKÝ DOPLŇKOVÝ PROTOKOL O ODPOVĚDNOSTI A NÁHRADĚ ŠKOD KE CARTAGENSKÉMU PROTOKOLU O BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI. Dostupné z: <http://bch.cbd.int/protocol/text/>, 2013.
- [12] PCR. Dostupné z: <https://labguide.cz/metody/pcr/>.

- [13] Legislativa ČR. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/legislativa/gmo/legislativa-cr/>, .
- [14] Legislativa EU. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/legislativa/gmo/legislativa-eu/>, .
- [15] Genetically engineered foods. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/ency/article/002432.htm>, 2018.
- [16] Sbírka mezinárodních smluv, 2005. ISSN 1801-0393.
- [17] Legislativa. Dostupné z: https://www.mzp.cz/cz/legislativa_gmo, .
- [18] Evropská legislativa. Dostupné z: https://www.mzp.cz/cz/evropska_legislativa_gmo, .
- [19] Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty § 4. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/legislativa/gmo/legislativa-cr/100093181.html>.
- [20] Nuseed Partners with ADM for Omega-3 Processing in the U.S. Dostupné z: <https://www3.nuseed.com/us/nuseed-partners-with-adm-for-omega-3-processing-in-the-u-s/>.
- [21] Mechanism of CRISPR/Cas9. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK464635/figure/gen_edit.F2/.
- [22] Řepkový olej jako významný zdroj omega-3 mastných kyselin. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/repkovy-olej-jako-vyznamny-zdroj-omega-3-mastnych-kyselin.aspx>.
- [23] Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty § 11. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/legislativa/gmo/legislativa-cr/100093188.html>.
- [24] GM plodiny - Pěstování geneticky modifikovaných plodin. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/roslinna-vyroba/gmo-geneticky-modifikovane-organismy/>, 2019.
- [25] New kind of CRISPR technology to target RNA, including RNA viruses like coronavirus. *Phys org*.
- [26] Přehled nahlášených polních pokusů s GM plodinami v ČR v roce 2019. Dostupné z: https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/aktualni_informace/\protect\T1\textdollarFILE/0ERES-polni_pokusy_2019-20191104.pdf, 2019.

- [27] Text of the Cartagena Protocol on Biosafety. Dostupné z: <http://bch.cbd.int/protocol/text/>.
- [28] EU Register of authorised GMOs. Dostupné z: https://webgate.ec.europa.eu/dyna/gm_register/index_en.cfm.
- [29] Final Report Summary - G-TWYST (GMP Two Year Safety Testing).
- [30] Rozhodnutí Ministerstva životního prostředí. Dostupné z: <https://www.mzp.cz/www/gmo.nsf/0/ea4f7719feeed143c1256e31003193ce/\protect\T1\textdol1arFILE/Rozhodnut%C3%AD%20MŽP-%20kukuřice%20MON%20810%20-%20uváden%C3%AD%20do%20oběhu.pdf>, 2003.
- [31] Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, ve znění vyhlášky č. 58/2010 Sb. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/legislativa/gmo/legislativa-cr/vyhlaska-2006-89-rostlinnekomodity.html>, 2006.
- [32] Zákon č. 78/2004 Sb. O nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, 2004. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-78>.
- [33] Zákon č. 78/2004 Sb. o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. Dostupné z: https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/538509B51D97A94FC125690B00263A23/%24file/Z%2078_2004.pdf, 2004.
- [34] V ČR se letos nebude pěstovat geneticky modifikovaná kukuřice. Dostupné z: <https://ekolist.cz/cz/zpravodajstvi/zpravy/v-cr-se-letos-nebude-pestovat-geneticky-modifikovana-kukurice>.
- [35] Retraction of Tang G, Hu Y, Yin S-a, Wang Y, Dallal GE, Grusak MA, and Russell RM. B-Carotene in Golden Rice is as good as B-carotene in oil at providing vitamin A to children. *Am J Clin Nutr* 2012;96. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2015-09-01, 102, 3, pp. 715–715. ISSN 0002-9165. doi: 10.3945/ajcn.114.093229.
- [36] ACOSTA, O. and CHAPPARO, A. GENETICALLY MODIFIED FOOD CROPS AND PUBLIC HEALTH. 2008. ISSN 0120-548X.
- [37] BANIS, D. 7 Predictions On The Future Of Clean Meat in 2019. *Forbes.com*.
- [38] BEDNÁŘ, J., KUCIEL, J. and VYHNÁNEK, T. *Genetika*. Mendelova univerzita, vyd. 2., nezměněná, 2010. ISBN 978-80-7375-448-8.

- [39] DAŇKOVÁ, M. *Metody editace genomu bakterií a jejich aplikace*, 2016.
- [40] CSC. *Genetika rostlin*. Vydala Masarykova univerzita, 1. edition, 2013. ISBN 978-80-210-6408-9.
- [41] DROBNÍK, J. Šlechtění a problematiky geneticky modifikovaných organismů. *Revue Politika*. 2008, , 5.
- [42] GAJ, T., GERSBACH, C. A. and III, C. F. B. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering.
- [43] GONSALVES, D. CONTROL OF PAPAYA RINGSPOT VIRUS IN PAPAYA. *Annual Review of Phytopathology*. 1998, 36, 1, pp. 415–437. ISSN 0066-4286. doi: 10.1146/annurev.phyto.36.1.415.
- [44] HAVEL, P. Umělé maso má být ekologické, humánní a zdravé. Realita je jiná. Dostupné z: <https://www.vitalia.cz/clanky/umele-maso-ma-byt-ekologicke-humanni-a-zdrave-realita-je-jina/>.
- [45] HLOUŠKOVÁ, L. Geneticky modifikované organismy jdou na náš trh.
- [46] HOLUBOVÁ, K. Genetická transformace obilovin. Dostupné z: <https://adoc.tips/queue/geneticka-transformace-obilovin.html>, 2015.
- [47] JOUNG, J. K. and SANDER, J. D. TALENs. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2013, 14, 1, pp. 49–55. ISSN 1471-0072. doi: 10.1038/nrm3486.
- [48] LERCH, S. Význam real-time PCR pro studium historické DNA, 2011.
- [49] MAKAROVA, K. S. et al. Evolution and classification of the CRISPR–Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*. 2011, 9, 6, pp. 467–477. ISSN 1740-1526. doi: 10.1038/nrmicro2577.
- [50] ODEYEMI, O. GMOs, biosensors and biopreservation Tools that can fight global hunger by reducing food spoilage. Dostupné z: <https://geneticliteracyproject.org/2020/01/06/gmos-biosensors-and-biopreservation-tools-that-can-fight-global-hunger-by-reducing-food-spoilage/>.
- [51] OPATRŇÝ, Z. Zlatá rýže. *Vesmír*. 2017, 2017, 6, pp. 3. ISSN 1214-4029.
- [52] PADMANABHAN, S. Nutrient-fortified, drought-tolerant chickpea could provide sustainable protein source for India. Dostupné z: <https://geneticliteracyproject.org/2020/04/01/nutrient-fortified-drought-tolerant-chickpea-could-provide-sustainable-protein-source-for-india/>.

- [53] PAPOUŠEK, I. Geneticky modifikované organismy. pp. 50.
- [54] PARDO-LÓPEZ, L., SOBERÓN, M. and BRAVO, A. Bacillus thuringiensis insecticidal three-domain Cry toxins. *FEMS Microbiology Reviews*. 2013-01-01, 37, 1, pp. 3–22. ISSN 1574-6976. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x.
- [55] PAZDERA, J. Ekologické Supermaso připravené buněčným zemědělstvím.
- [56] PETR, J. Zinkové prsty sahají do DNA. Dostupné z: <https://www.ose1.cz/4389-zinkove-prsty-sahaji-do-dna.html>, .
- [57] PETR, J. Cisgenní rostliny – ekvivalent produktů tradičního křížení? .
- [58] PORTERFIELD, A. Can CRISPR help us stop wasting so much food? *Genetic Literacy Project*.
- [59] RAKOUSKÝ, S. and DOUBKOVÁ, Z. Vědecké zkoumání rizik a účinků GMO.
- [60] SANDER, J. D. and JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology*. 2014, 32, 4, pp. 347–355. ISSN 1087-0156. doi: 10.1038/nbt.2842.
- [61] SHABALINA, I. G., VRBACKÝ, M., PECINOVÁ, A., KALINOVICH, A. V., DRAHOTA, Z., HOUŠTĚK, J., MRÁČEK, T., CANNON, B. and NEDERGAARD, J. ROS production in brown adipose tissue mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2014, 1837, 12, pp. 2017–2030. ISSN 00052728. doi: 10.1016/j.bbabi.2014.04.005.
- [62] SLIMÁKOVÁ, M. Geneticky modifikované potraviny. Dostupné z: <https://www.margit.cz/encyklopedie/geneticky-modifikovane-potraviny/>.
- [63] SMITAL, J. Genově editované potomstvo. Dostupné z: <http://infopigs.blogspot.com/2019/09/transgenni-prasata.html>, 2019.
- [64] SMITAL, J. Perspektivy transgenních prasat. Dostupné z: <http://infopigs.blogspot.com/2019/09/transgenni-prasata.html>.
- [65] SVOBODOVÁ, E. Metoda CRISPR/Cas9 a její využití pro genetické modifikace kmenových buněk, 2016.
- [66] TANG, G., QIN, J., DOLNIKOWSKI, G. G., RUSSELL, R. M. and GRUSAK, M. A. Golden Rice is an effective source of vitamin A. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009-06-01, 89, 6, pp. 1776–1783. ISSN 0002-9165. doi: 10.3945/ajcn.2008.27119.

- [67] YAO, J., WENG, Y., DICKEY, A. and WANG, K. Plants as Factories for Human Pharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, 16, 12, pp. 28549–28565. ISSN 1422-0067. doi: 10.3390/ijms161226122.
- [68] YE, X. Engineering the Provitamin A (-Carotene) Biosynthetic Pathway into (Carotenoid-Free) Rice Endosperm. *Science*. 287, 5451, pp. 303–305. ISSN 00368075. doi: 10.1126/science.287.5451.303.
- [69] YOSEF, I., GOREN, M. G. and QIMRON, U. Proteins and DNA elements essential for the CRISPR adaptation process in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*. 2012-07-01, 40, 12, pp. 5569–5576. ISSN 1362-4962. doi: 10.1093/nar/gks216.
- [70] ZUPAN, J., MUTH, T. R., DRAPER, O. and ZAMBRYSKI, P. The transfer of DNA from *Agrobacterium tumefaciens* into plants. *The Plant Journal*. 2000, 23, 1, pp. 11–28. ISSN 0960-7412. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00808.x.
- [71] ŘEHOŘOVÁ, K., VIKTOROVÁ, J. and MACEK, T. SOUČASNÁ SITUACE V OBLASTI UŽITÍ GENETICKY MODIFIKOVANÝCH ROSTLIN. In *Chemické listy*. VŠCHT Praha, 2017. pp. 307–313.
- [72] ŠMARDA, J. Využití vektorů při klonování DNA. pp. 132.

SEZNAM OBRÁZKŮ

1.1	Přenos genu pomocí šlechtění (nahore) a genového inženýrství (dole).[38]	10
1.2	Klonování DNA ve vektorech. [38]	12
1.3	Transgenoze prostřednictvím bakterií-posloupnost operací. [38]	14
1.4	Genové dělo PDS 1000/He od firmy BioRad, [46]	14
1.5	Techniky používané pro detekci GMO. [38]	15
2.1	Mechanismus účinku Cry toxinu [71]	19
2.2	Šikimátová dráha v rostlinách. [71]	20
2.3	Syntéza karotenoidů z geranylgeranyldifosfátu (GGDP) [71]	22
3.1	Obecné schéma editace genů.[63]	25
3.2	Mechanismus CRISPR. [21]	27
3.3	Schéma funkce zinkových prstů, Zdroj: Wikipedie	29
3.4	Kultivované maso. [44]	32

SEZNAM TABULEK

2.1	Vývoj ploch a počtu pěstitelů GM kukuřice v ČR. [4]	18
3.1	Transgenní prasata s editovaným genomem. [64]	31