

Nowe Techniki Genomowe – oferta nauki dla rolnictwa

Sławomir Sowa

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie (IHAR)

Warszawa 27.11.2024

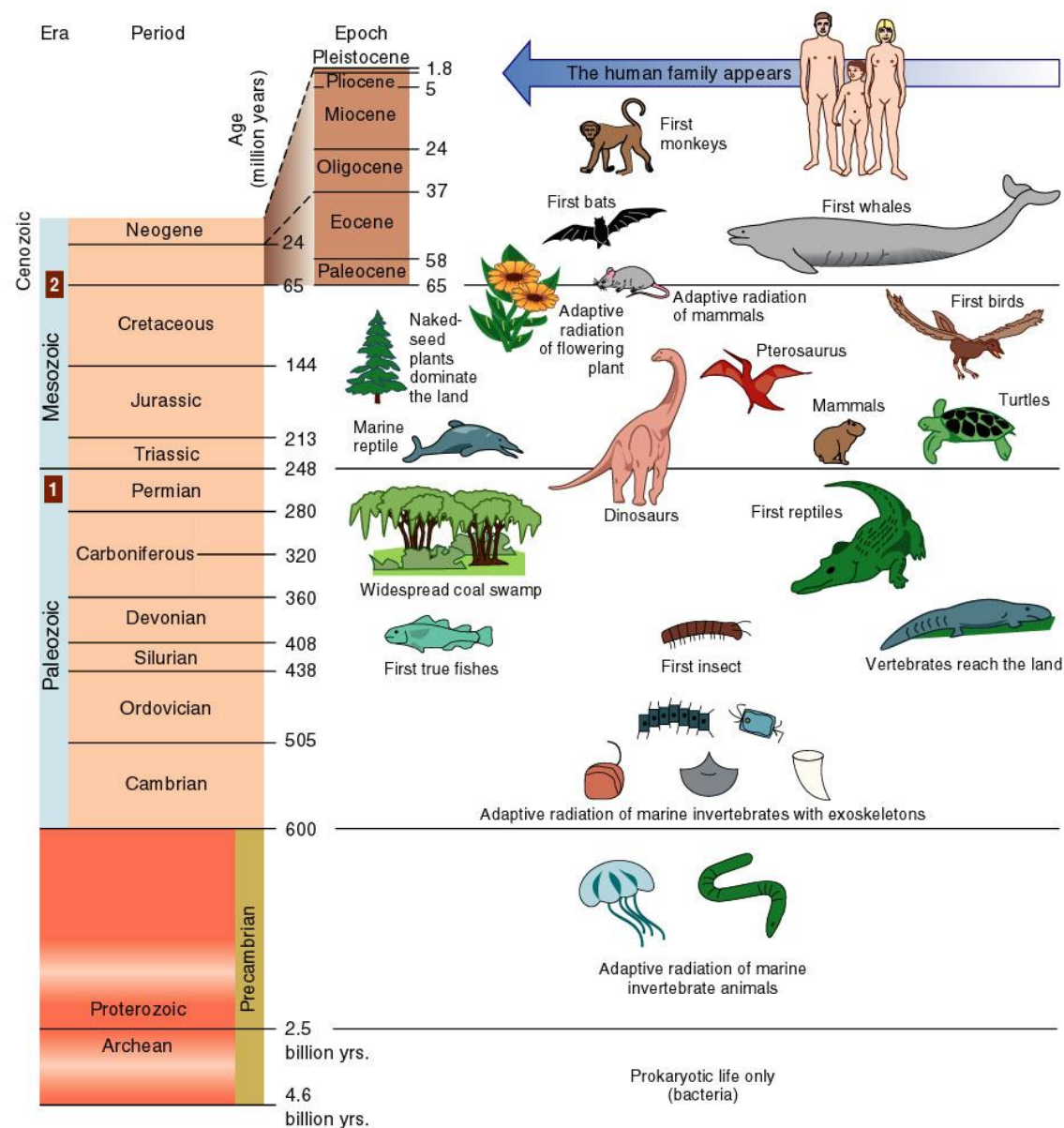
Układ prezentacji

- Mutageneza konwencjonalna (losowa)
- Mutageneza ukierunkowana (NGT)
- Zmiany klimatyczna
- NGT – badania aplikacyjne
- NGT – w obrocie
- Regulacje prawne
- Podsumowanie

Ewolucja

Różnorodność biologiczna

- mutacje
- selekcja naturalna
- migracje
- zróżnicowanie genetyczne



Hodowla



Modyfikacje genetyczne

Mutageneza naturalna i konwencjonalna



Inżynieria genetyczna (GMO)



Ukierunkowana mutageneza (Nowe Techniki Genomowe)



Przykład nienaturalnej selekcji – efekt hodowli roślin

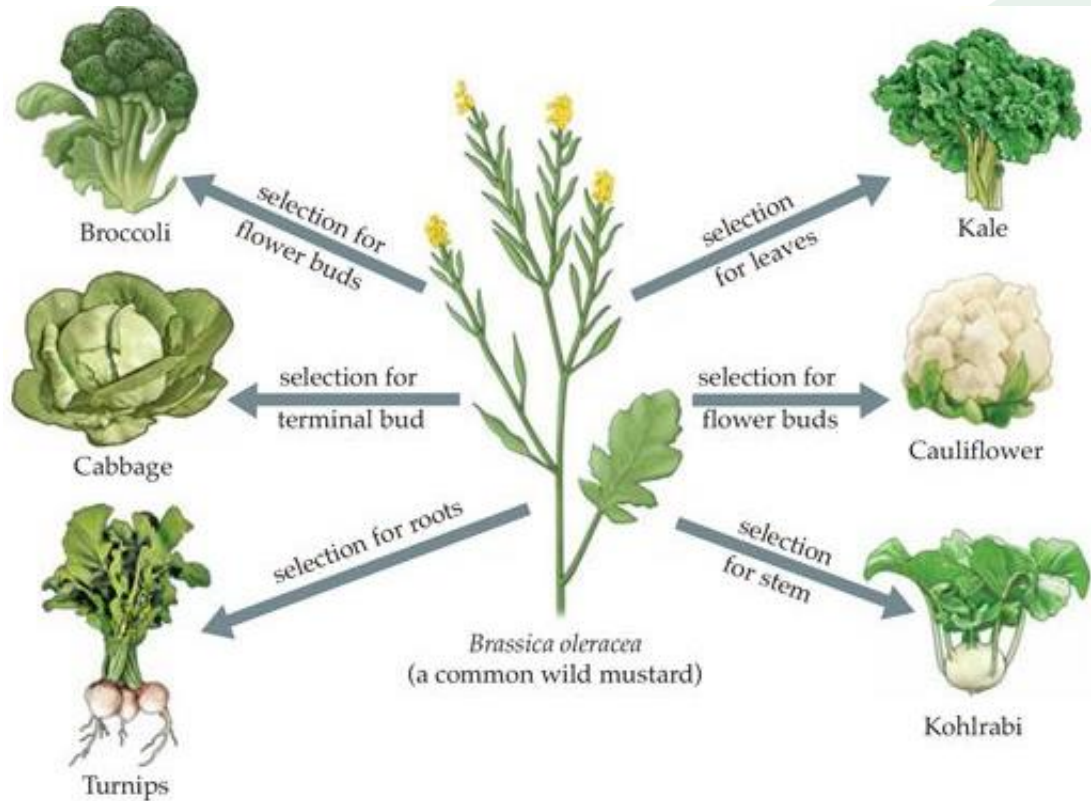


FIGURE 1.10 Evolution of Wild Mustard through Domestication

In artificial selection, humans are the selective agents. The many different varieties of cruciferous plants were created by humans through selective breeding of genetically varied wild mustard plants. Individuals with desired genetic characteristics were bred with each other until their descendants became distinctly different from the ancestor, the wild mustard.

W nienaturalnej selekcji to człowiek a nie środowisko stał się czynnikiem selekcyjnym

Tak powstały różne kierunki selekcji z kapusty i różne warianty roślin z rodziny kapustowatych



Różnorodność odmian pomidora



Różnorodność odmian kukurydzy – 35,370,939 mutacji pojedynczego nukleotydu z 1210 genotypów



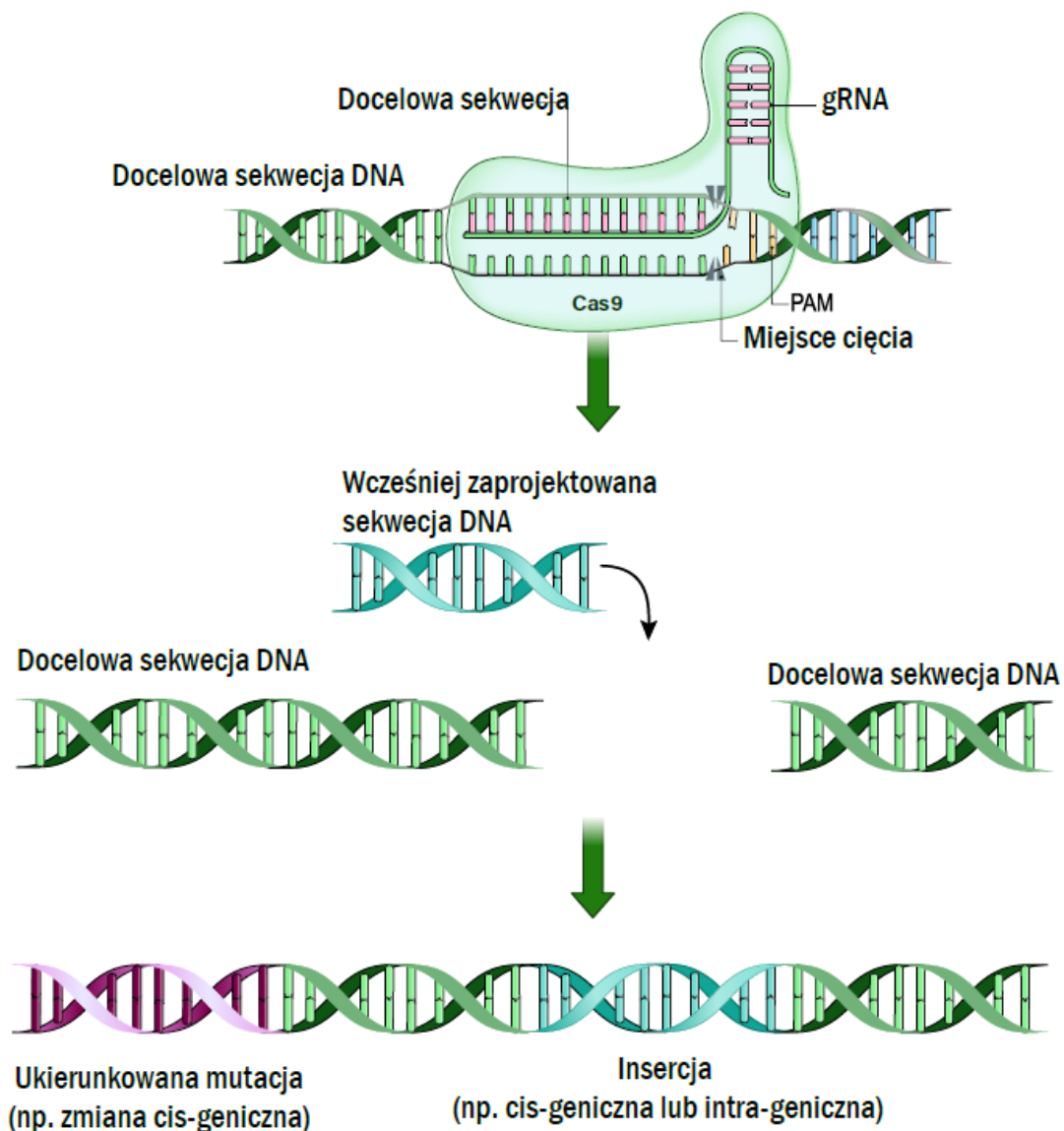
Fenotyp
Genotyp

Nowe Techniki Genomowe (NGT)

- **Ukierunkowana mutageneza - Nukleazy (CRISPR/Cas9, ZFN, TALENs, etc)**
- **Cisgeneza, Intrageneza,**
- **Mutageneza kierowana oligonukleotydami - (ODM)**
- *Metylacja DNA zależna od RNA (RdDM)*
- *Szczepienie na podkładce GM*
- *Hodowla odwrócona (Reverse breeding)*
- *Agro-infiltracja*
- *Syntetyczna biologia*

Studium Komisji Europejskiej z kwietnia 2021 roku

NGT - definicja zbiorcza używana do opisanie różnych technik, które mogą zmienić materiał genetyczny organizmu i które pojawiły się lub zostały opracowane po 2001 r., kiedy przyjęto przepisy Unii dotyczące GMO.



Nowe techniki genomowe precyzyjna mutagenезa (edytowanie genomu)

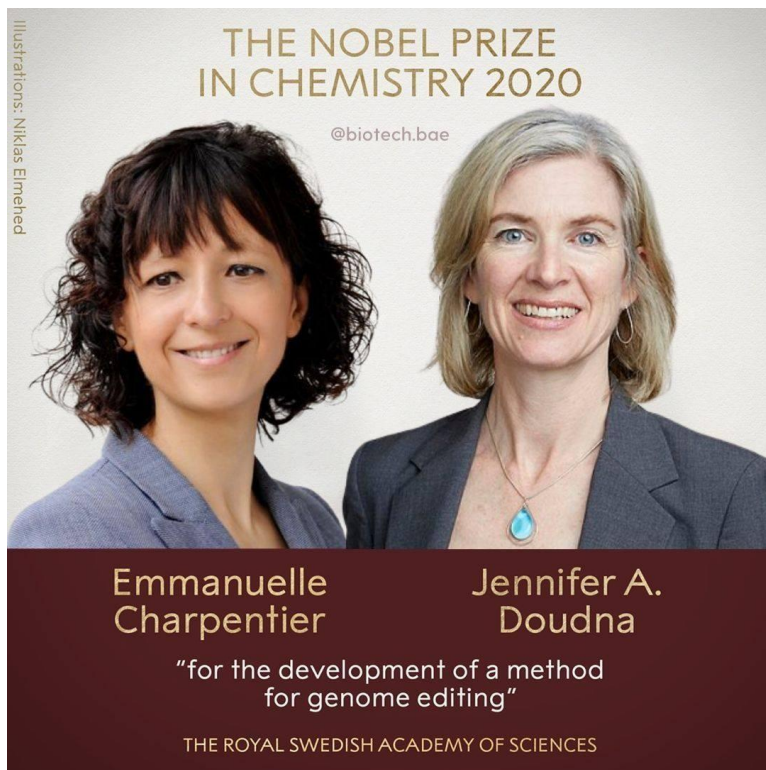
delecje, substytucje, insercje w genomowym DNA

Modyfikacje sekwencji DNA w ściśle określonych miejscach genomu organizmu;

Możliwe uzyskanie:

- małych zmian w sekwencji DNA (mutacje)
- wprowadzenie dłuższych fragmentów DNA (np. genów)

Genetyczne nożyczki CRISPR/Cas9



- Precyzyjne narzędzie technologii genowej – E. Charpentier i J. A. Doudna (2012)
- Umożliwia zmiany DNA zwierząt, roślin i mikroorganizmów z niezwykle wysoką precyzją.
- Rewolucyjny wpływ na nauki przyrodnicze, i medyczne (przyczynia się do nowych terapii przeciwnowotworowych, leczenia chorób dziedzicznych).
- wiele ważnych odkryć w badaniach podstawowych, a badacze roślin byli w stanie opracować odmiany, które są odporne na choroby grzybowe, szkodniki i suszę.



- W medycynie trwają badania kliniczne nad nowymi terapiami przeciwnowotworowymi,
- Genetyczne nożyczki przeniosły nauki przyrodnicze w nową epokę

Co to jest GMO?

Organizm, inny niż organizm człowieka, w którym materiał genetyczny został zmieniony w sposób niezachodzący w warunkach naturalnych, wskutek krzyżowania lub naturalnej rekombinacji.

(Ustawa o GMO i GMM i Dyrektywa 2001/18/WE)

- Rośliny
- Mikroorganizmy
- Zwierzęta

Definicja ma 30 lat !



GMO a techniki - Dyrektywa 2001/18/WE – Ustawa o GMM i GMO

Techniki , które prowadzą do uzyskania GMO

- 1) techniki rekombinacji kwasów nukleinowych obejmujące tworzenie nowych kombinacji materiału genetycznego
- 2) bezpośrednie wprowadzenie do organizmu materiału dziedzicznego przygotowanego poza organizmem, takie jak mikroiniekcja, makroiniekcja i mikroenkapsulacja;
- 3) fuzja komórek (w tym fuzja protoplastów) lub techniki hybrydyzacji, w których żywe komórki z nowymi kombinacjami materiału genetycznego powstają na skutek fuzji dwóch lub więcej komórek dokonanej w sposób, który nie występuje w warunkach naturalnych.

Techniki których nie uważa się za powodujące powstanie GMO

- 1) zapłodnienie in vitro
- 2) procesy naturalne, takie jak koniugacja, transdukcja i transformacja;
- 3) wywołanie poliploidii.

Technik/metod modyfikacji genetycznej wyłączone z zakresu dyrektywy

- 1) mutageneza
- 2) fuzja komórek (w tym fuzja protoplastów) pochodzących z roślin, które mogą wymieniać materiał genetyczny na drodze tradycyjnych metod hodowli.

Propozycja Rozporządzenia KE dot. roślin NGT

Definicja rośliny NGT

- Roślina zmodyfikowana genetycznie
- Uzyskana na drodze:
 - a) ukierunkowanej mutagenezy
 - b) cisgenezy (włączając intragenezę)
 - c) lub kombinacji ukierunkowanej mutagenezy i cisgenezy
- Niezawierająca materiału genetycznego pochodzącego spoza puli genetycznej w dyspozycji hodowców, który to materiał mógł zostać tymczasowo dodany w trakcie opracowywania rośliny NGT (brak konstruktywów genetycznych)

NGT Kategoria 1

NGT Kategoria 2

▶ Dlaczego w UE potrzebne są innowacje w rolnictwie?

- NGT są **intensywnie rozwijane na świecie**
Mogą przyczynić się do bardziej odpornego i zrównoważonego systemu rolno-spożywczego.
- NGT mogą produkować rośliny, które mogą:
 - ▶ **Być bardziej odporne** na szkodniki, choroby i niekorzystne warunki środowiskowe oraz skutki zmiany klimatu;
 - ▶ **wymagają mniej zasobów naturalnych, nawozów i pestycydów** przyczyniają się do zachowania różnorodności biologicznej;
 - ▶ **Poprawiają zawartość składników odżywczych** w żywności i paszy;
 - ▶ **Zmniejszają zawartość szkodliwych substancje** takich jak toksyny i alergeny.



- NGT mogą produkować **szerszą gamę roślin**, z małymi i dużymi zmianami.
- Niektóre rośliny uzyskane przez NGT są **tak samo bezpieczne jak rośliny naturalne i hodowane konwencjonalnie**.

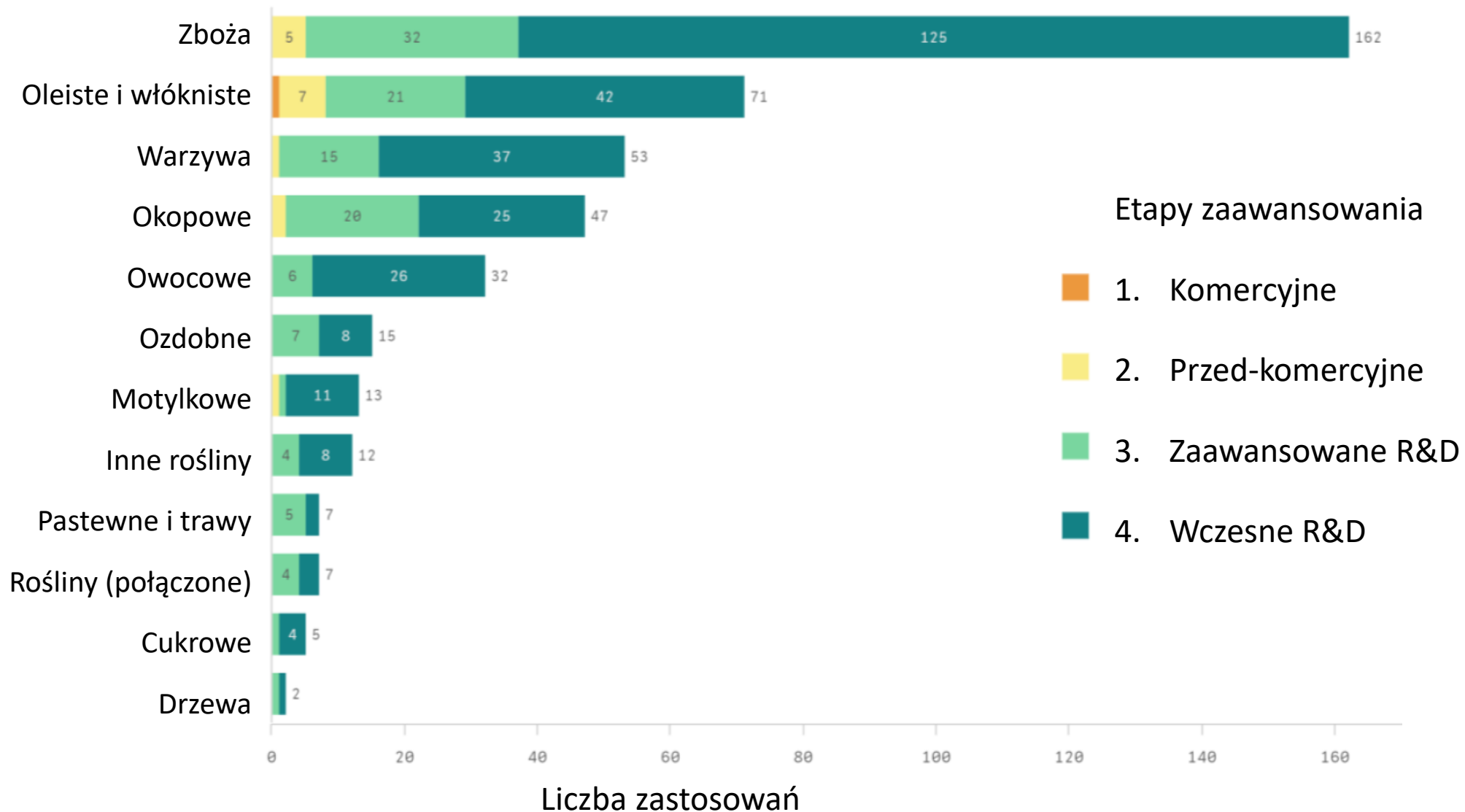
3. Obecne prawodawstwo dotyczące GMO nie jest odpowiednio przygotowane dla niektórych roślin NGT i produktów

- Konieczne jest **dostosowanie** do naukowego i technologicznego postępu
- **Obecne wymogi prawne** nie są dostosowane do różnych profili ryzyka.
- **Prawo** nie uwzględnia czy produkty mają potencjał do przyczynienia się do zrównoważonego rozwoju.

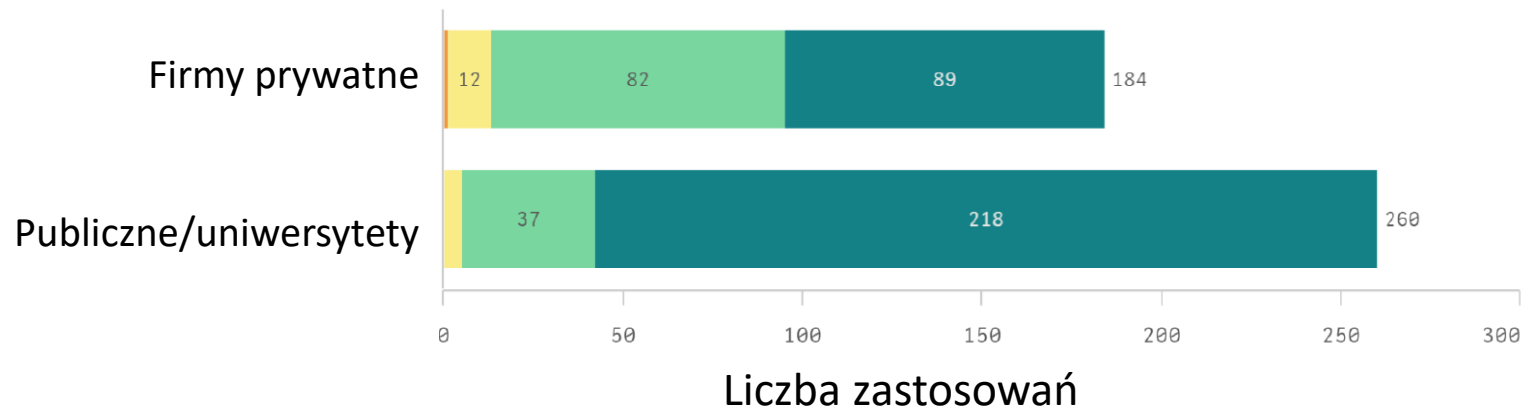
Nowe techniki genomowe (NGT) – badania w celach aplikacyjnych - Świat



NGT rośliny – grupy roślin i zaawansowanie prac



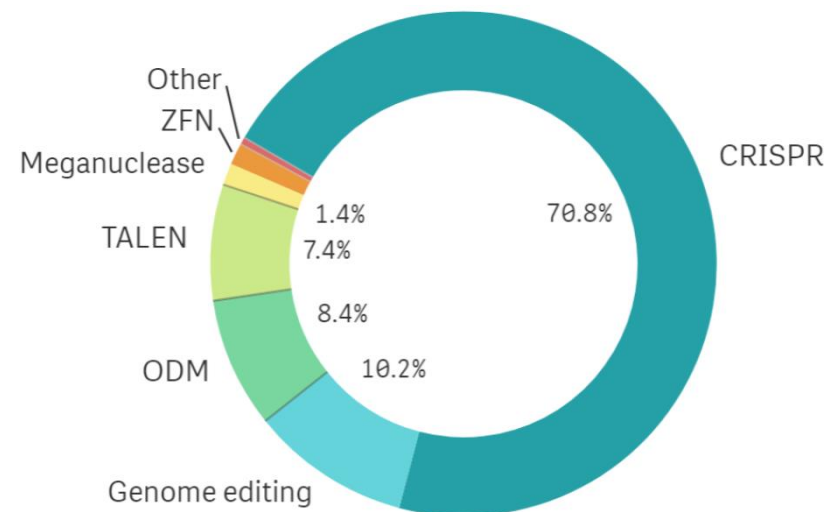
NGT rośliny – zaangażowanie firm i jednostek publicznych, metody



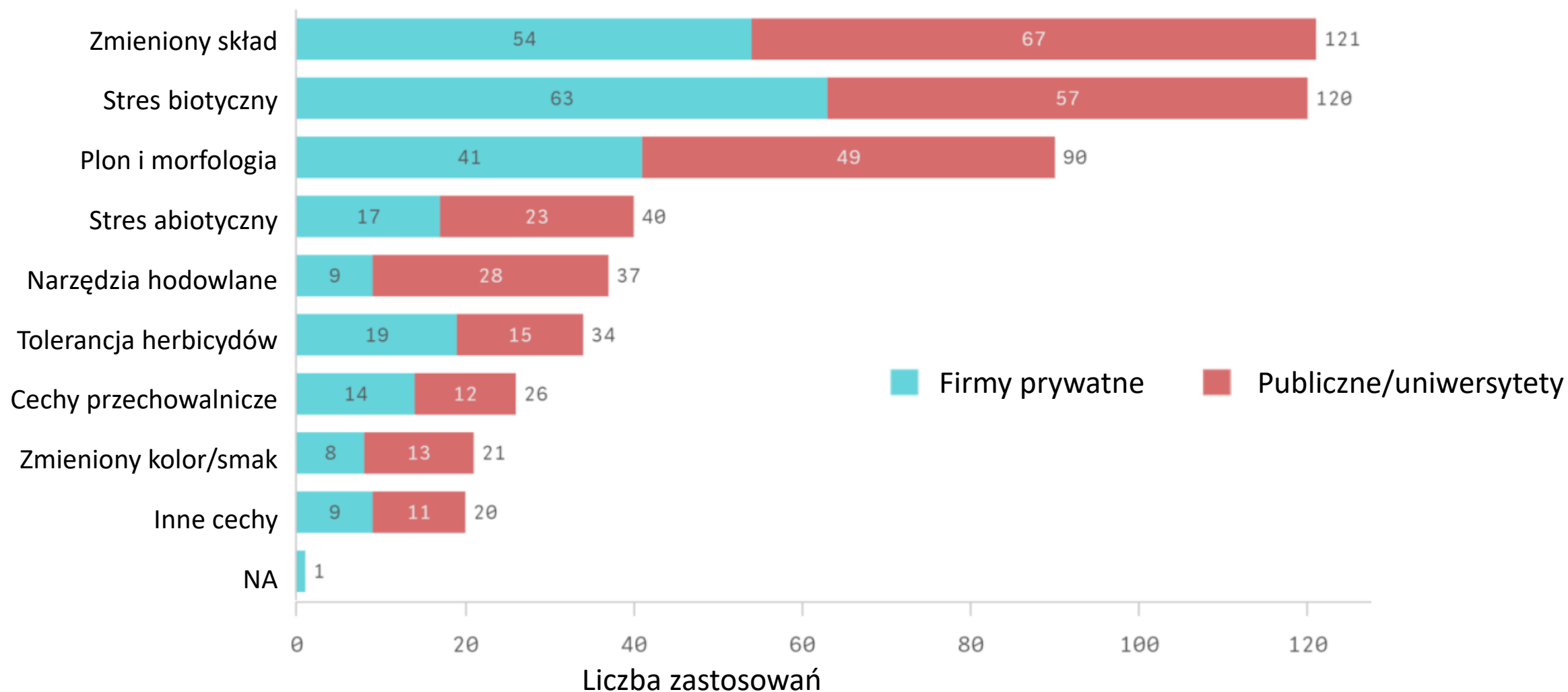
Etapy zaawansowania

- 1. Komercyjne
- 2. Przed-komercyjne
- 3. Zaawansowane R&D
- 4. Wczesne R&D

428 zastosowań



Modyfikowane cechy – firmy prywatne, publiczne



Produkty ukierunkowanej mutagenезy są już dostępne na rynku Pieczone *Agaricus bisporus*



- Faza zaawansowania: w obrocie
- Cecha: ograniczone brązowienie po przecięciu
- Technika: CRISPR/Cas9
- USA

2016r

- Naukowcy wykorzystali technikę CRISPR/Cas9 żeby wyciszyć gen odpowiedzialny za brązowienie pieczarki po przecięciu (enzym oksydaza polifenolowa)

Produkty ukierunkowanej mutagenезы

Olej sojowy Calyno



- Faza zaawansowania: w obrocie
- Producent: Calyxt (USA)
- Cecha:
wysoka zawartość kwasu oleinowego 80%
o 20% mniej nasyconych kwasów tłuszczowych
- Technika: TALEN

W USA reklamowany jako produkt nie-GMO!

Produkty ukierunkowanej mutagenety Pomidory z wysoką zawartością GABA



- Faza zaawansowania: w obrocie
- Producent: Sanatech Seed Ltd (Japonia)
- Cecha: 4-5 razy wyższa zawartość kwasu gamma-aminomasłowego (GABA)
- Technika: CRISPR
- Nazwa handlowa: Sicilian Rouge High GABA

Kwas γ -aminomasłowy jest dostępny jako suplement diety przyjmowany doustnie i reklamowany jako środek ułatwiający zasypianie i redukujący stres i obniżający ciśnienie krwi

Chiny dopuściły do obrotu kukurydzą NGT (2022) Pszenicę (2024)

- Odporność na choroby grzybowe
- Chińska Akademia Nauk



Brazylia i Kolumbia dopuściły do obrotu soję NGT (2023)

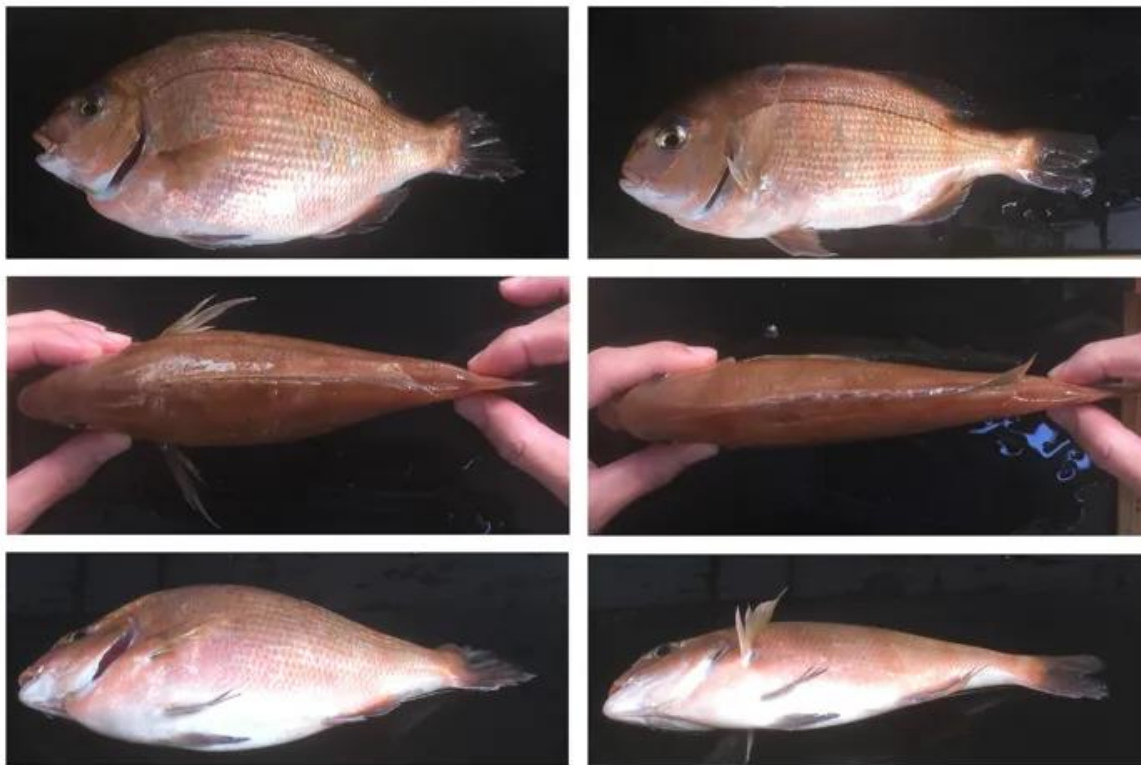
- Soja ze zwiększoną tolerancją na nasuszę



Produkty ukierunkowanej mutagenezy

Morlesz krwisty „Madai” (Red sea bream)

CRISPR

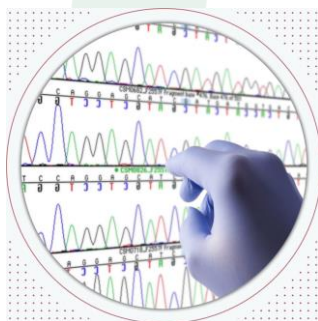


- Faza zaawansowania: w obrocie
- Producent: Regional Fish Institute razem z Kyoto University i Kindai University (Japonia)
- Cecha: szybszy wzrost 20% więcej mięsa, lepsze wykorzystanie paszy 14%,
- Technika CRISPR
- Zablokowanie białka, które ogranicza wzrost mięśni
- Październik 2021

NGT stosowane w modyfikacjach zwierząt - komercjalizacja

Blisko komercjalizacji są zwierzęta opracowane przez firmy prywatne :

1. Intrexon-AquaBounty - szybko rosnąca tilapia, (Argentyna)
2. Genus - świnie odporne na rozrodczo-oddechowy zespół chorobowy (zgłoszone w Wielkiej Brytanii, USA)
3. Acceligen-Recombinetics - bydło bezrogie (zgłoszone w Australii i Brazylii)
4. Acceligen-Recombinetics - bydło odporne na wysoką temp, TALEN. (zgłoszone w Argentynie, Australii i Brazylii, autoryzowane w USA w 2022).



www.fishfarmingexpert.com



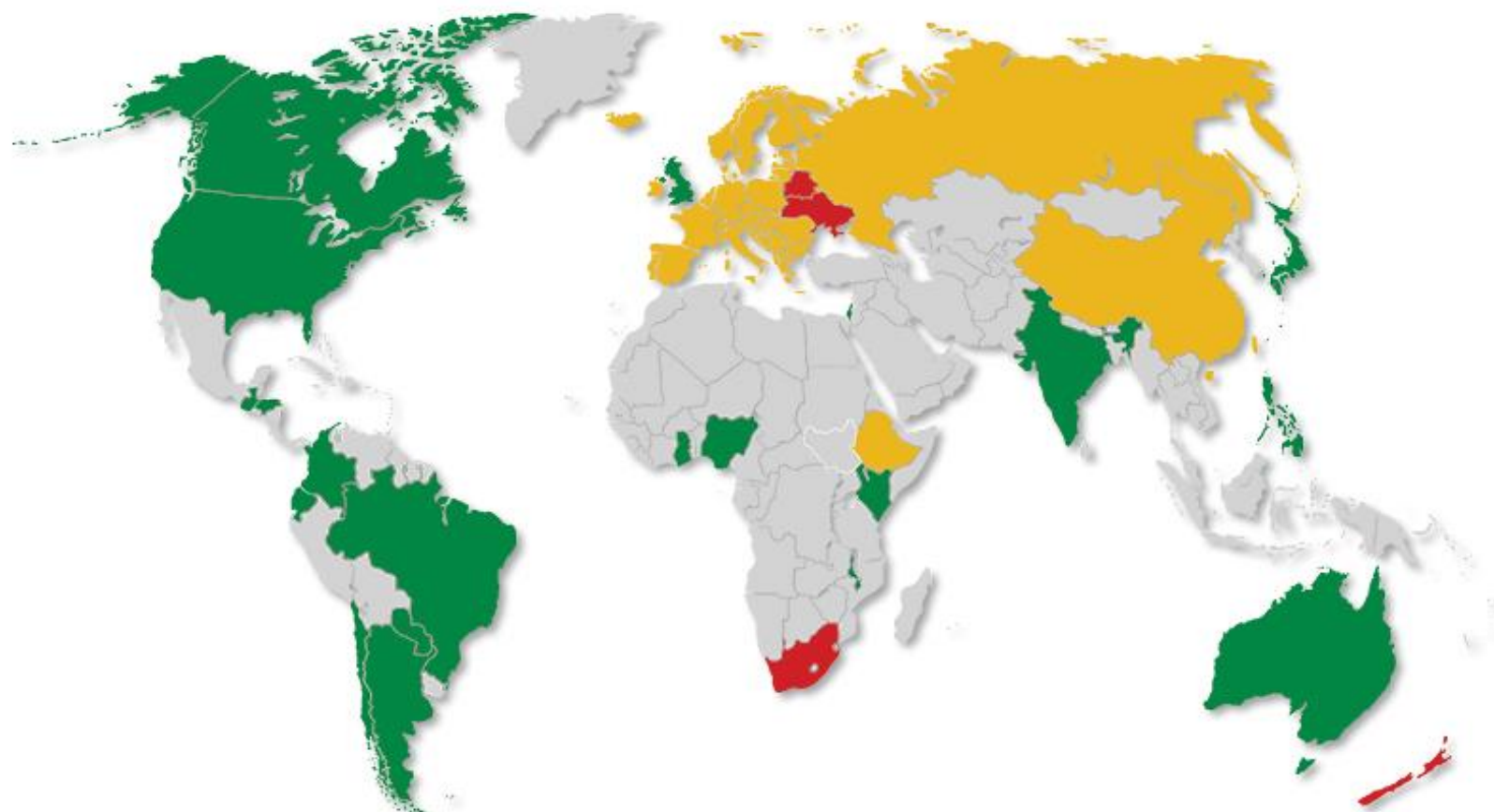
www.genengnews.com



<https://recombinetics.com/our-technology/>

Regulacje prawne NGT na Świecie

www.isaaa.org



Kraje, w których produkty NGT prawdopodobnie będą regulowane jako konwencjonalne nowe odmiany po ostatnich aktualizacjach polityki regulacyjnej.

Kraje, w których zauważalne są dyskusje polityczne na temat propozycji traktowania SDN1 jako konwencjonalnych nowych odmian.

Kraje, w których produkty SDN1 powinny być traktowane jako GMO zgodnie z interpretacjami sądowymi opartymi na starych przepisach.

Wspieranie badań naukowych i pobudzanie innowacji

- **Nowe technologie, trwałe rozwiązania i innowacje radykalne** mają kluczowe znaczenie dla generowania zmienności genetycznej szczególnie w czasie zmian klimatu.
- Tradycyjne podejście nie wystarczy **potrzeba impulsu technologicznego.**

Ukierunkowana mutageneza (NGT) to jeden z elementów precyzyjnej hodowli roślin

- Selekcja oparta o markery molekularne
- Wysokoprzepustowe fenotypowanie
- Wysokoprzepustowe genotypowanie
- Edytowanie genomów (NGT)
- Mapowanie genetyczne
- Modyfikacje epigenetyczne
- Regulacje transkrypcyjne i translacyjne
- Sztuczna inteligencja

NGT to dziś jeden z elementów precyzyjnej hodowli



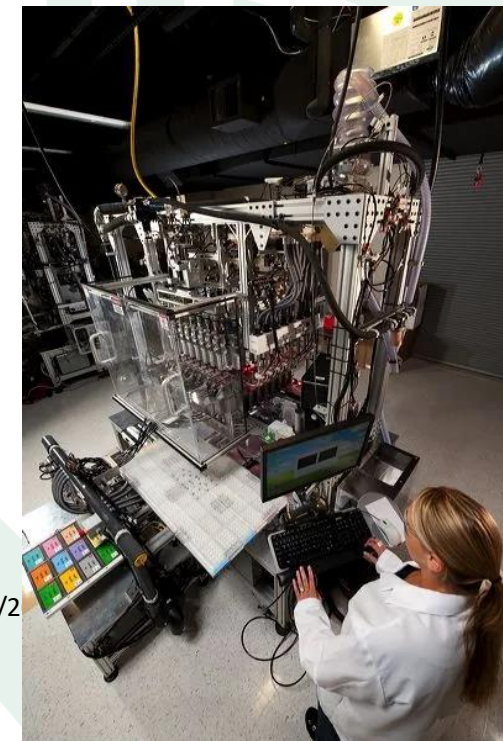
<http://www.zdhar.pl/nasiona.oferta02.htm>



<https://www.specim.com/case-phenotrait/>



<https://www.popsci.com/science/article/2-cycle-genetically-modified-seed/>



<https://www.popsci.com/science/article/2011-01/life-cycle-genetically-modified-seed/>



<https://www.labmanager.com/next-generation-sequencing-1009>



<https://us.misumi-ec.com/blog/pcr-technology/>

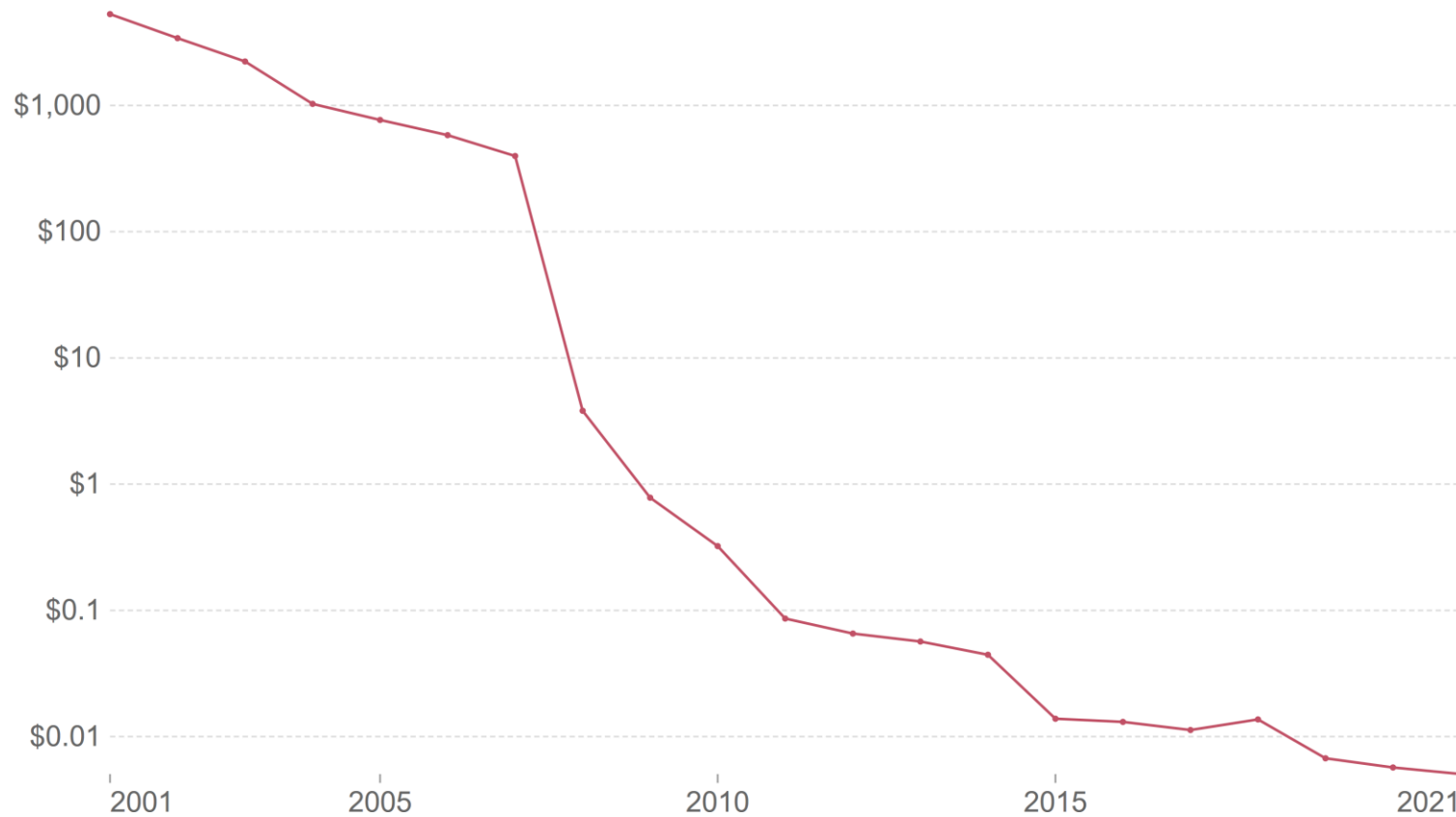


<https://www.specim.com/uav-hyperspectral-remote-sensing-enables-efficient-crop-phenotyping/>

Koszt sekwencjonowania DNA genomu człowieka

Cost per megabase of human genome DNA sequencing

The cost of sequencing one million base pairs of human genome DNA, measured in US\$. This data is not adjusted for inflation.



Projekt **Human Genome Project**, którego celem było zmapowanie kompletnego zestawu par zasad nukleotydowych, które tworzą ludzkie DNA (których łączna liczba wynosi ponad trzy miliardy), trwał 13 lat w latach 1990-2003.

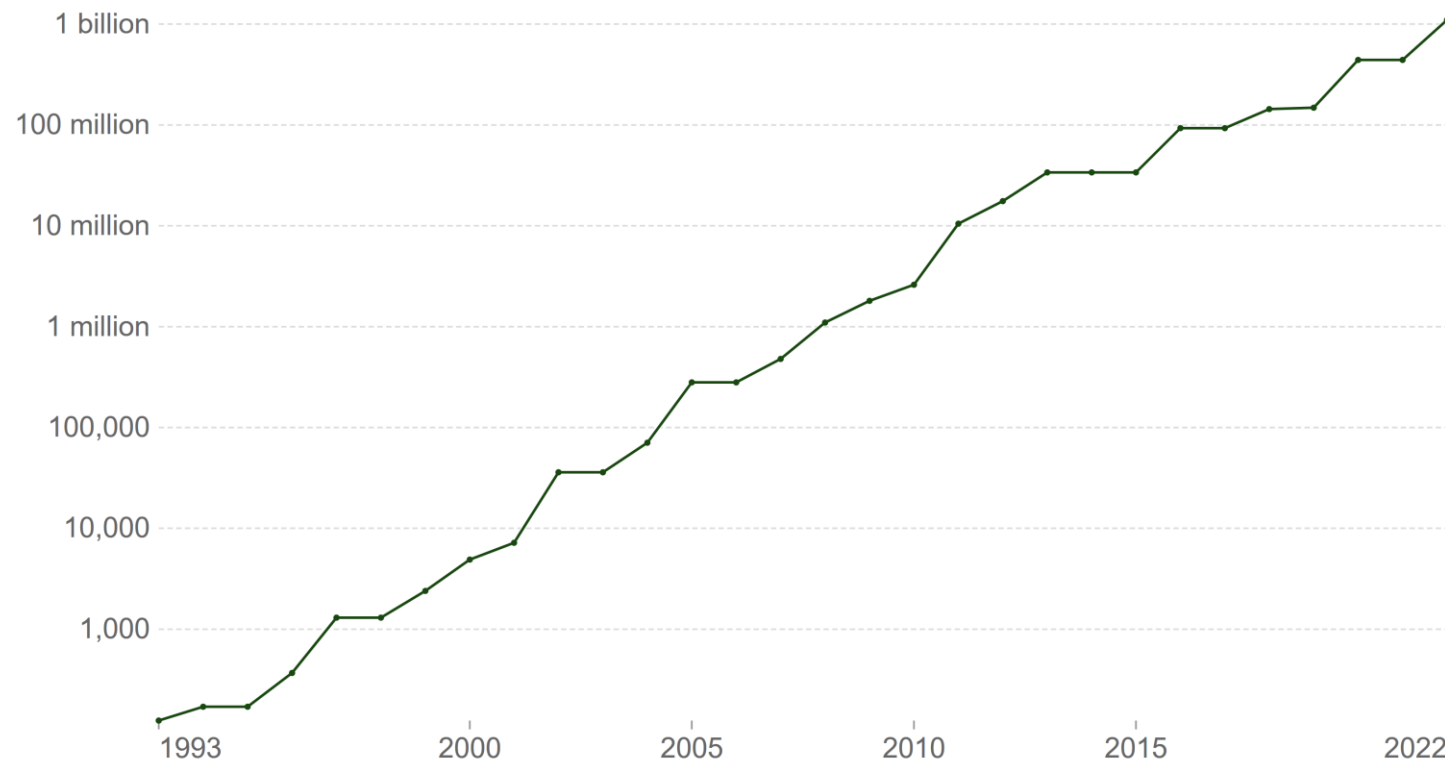
- To wstępne odkrycie i określenie sekwencji ludzkiego genomu było kluczowym punktem iniekcji w dziedzinie sekwencjonowania DNA
- koszt 3 miliardy USD
- Dziś 500-1000 USD

Moc obliczeniowa najszybszych komputerów

Computational capacity of the fastest supercomputers

Our World in Data

Number of floating-point operations¹ carried out per second by the fastest supercomputer in any given year. This is expressed in gigaFLOPS, equivalent to 10^9 floating-point operations per second.



- Wzrost wykładniczy.
- Podwojenie mocy obliczeniowej co 1,5 roku pomiędzy 1975 i 2009.

Source: TOP500 Supercomputer Database (2023)

OurWorldInData.org/technological-change • CC BY

Note: Floating-point operations are needed for very large or very small real numbers, or computations that require a large dynamic range. Floating-point operations per second are therefore a more accurate measure than instructions per second.

1. **Floating-point operation:** A floating-point operation (FLOP) is a type of computer operation. One FLOP is equivalent to one addition, subtraction, multiplication, or division of two decimal numbers.

Podsumowanie

- Komisja Europejska po ponad 10 latach podjęła inicjatywę w kierunku nowej legislacji nowych technik genomowych (rośliny)
- Zebrano opinie krajów członkowskich
- Przeprowadzono konsultacje społeczne
- Przygotowano projekt rozporządzenia regulującego rośliny NGT

Nowe rozwiązania są wspólnie opracowywane przez wszystkie kraje członkowskie!

Dziękuję za uwagę

Sławomir Sowa

e-mail: s.sowa@ihar.edu.pl

Radzików

05-870 Błonie

tel. +48 22 733 45 00

NIP: 5290007029

REGON: 000079480

e-mail: postbox@ihar.edu.pl

www.ihar.edu.pl