UPPSALA
UNIVERSITET

Genmodifiering av växter

Dennis Larsson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2011
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag
Växtförädling av viktiga grödor är något mänskligheten har hållit på med i århundraden för att skapa växter med egenskaper vi vill att de ska ha. Detta är en tidskrävande process som kan ta många år. Därför blev det ett stort genombrott när man började kunna modifiera växter och ge dem precis de egenskaper man ville genom att lägga till nya gener från utomstående källor. Med detta öppnades en mängd dörrar med vad man kan göra med växter samtidigt som man började oroa sig för vilka nackdelar som det skulle kunna leda till. I dag är genmodifiering av växter ett stort och aktivt forskningsområde med en mängd intressanta aspekter att undersöka.

Det finns en mängd olika metoder tillgängliga för att genmodifiera växter med olika grader av transformationsfrekvenser. De vanligaste innebär bombardering med mikropartiklar täckta med de önskade genfragmenten eller transformation via *Agrobacterium*. Andra möjliga metoder är mikroinjektion, elektroporering eller användningen av kiselkarbidnålar för att nämna ett fåtal.

Ett potentiellt problem inom genmodifiering av växter är användningen av selekterbara markörer. Dessa markörer finns kvar i växter som restprodukter efter transformationen. Man har spekulerat om det skulle så att bakterier har en möjlighet att ta dessa antibiotikaresistensgener och inkorporera dessa till sig själv. Om detta var fallet var man orolig att det skulle kunna leda till en antibiotikaresistensepidemi. Dock verkar det som att det ej är några chanser att detta skulle vara fallet.

På grund av oron med att bakterier skulle kunna ha användning av de tillsatta antibiotikagenerna i växter har man börjat leta efter gener med de önskade effekterna hos växter, oftast från närbesläktade arter. Man har hittat ett flertal sådana gener, till exempel en gen för resistens mot potatisbladmögel.

Det finns stora potentiella fördelar med genmodifierade växter. En av dessa fördelar är förmågan att kunna producera biofarmaceutiska ämnen så som antikroppar eller vaccin. Dessa växter kan massproduceras vilket skulle kunna leda till en billig och storskalig produktion av många viktiga mediciner som idag är långsamma att framställa eller dyra. Dock är sådana växter fortfarande i teststadiet och man har inte vågat börjat odla dessa på en stor skala än.

Genmodifiering av växter är hett debatterat i dagens läge, men det är säkert att säga att genmodifiering av växter är något vi kommer att ha mer och mer användning av i framtiden. Om det är inom odling av grödor för mat eller växter odlade för att kunna utvinna medicin så kommer det alltid att finnas ett behov av genmodifierade växter.

Introduktion – Vad är genmodifierade växter?
Kultiverade växter har varit en viktig del av vårt samhälle ända sedan civilisationens början. Huvudsakligen odlas de för föda men det finns många andra områden där de används, till exempel bränsle, material och medicin. Genom århundraden har människan modifierat grödorna vi odlar för att bättre passa de syften vi behöver dem till genom vad man kallar växtförädling. Med detta menas att man helt enkelt korsar två fenotypiskt olika grödor med varandra för att ge en avkomma med en förhoppningsvis önskad och användbar fenotyp. Detta är en helt naturlig process som vi har snabbat upp med växtförädling. Man kan också se det som en form av

genmodifiering för det man egentligen gör är att korsa olika genotyper med varandra. Idag talar man dock om en annan form av genmodifiering, en genmodifiering som anses som mindre naturlig. Genom att med laborativa metoder specifikt modifiera växtens gener kan vi direkt skapa de fenotyper vi vill ha. Oftast gör man detta genom att infektera växten med bakterier under fröstadiet som då överför delar av sitt genom till växten. I naturen gör bakterierna detta för sin eget gynnande då växterna blir deras matfabrik och det medför att växterna blir sjuka. Men med dagens teknik kan vi modifiera bakteriernas genom så att de inte gör växterna sjuka utan istället överför en specifik egenskap som vi har inplanterat i bakterien. Dessa egenskaper kan vara till exempel ökad resistens mot skadedjur, ökad stadga för att klara vind eller ge större avkastning (mer mat) och så vidare. När detta först etablerades var det en enorm agrokulturell revolution. Man fick ut mer mat för ytan och för pengarna vilket gjorde att de blev billigare att köpa och lättare att odla i svåra miljöer. Man såg potentialen att kunna föda större populationer som drabbas av svält vilket skulle rädda miljontals människor. Trots alla dessa potentiella fördelar var man mycket skeptiskt mot dessa genmodifierade grödor först. Man var orolig att de skulle utkonkurrera de naturligt förekommande växterna och sprida sig ohämmat vilket är väldigt dåligt för biodiversiteten. Man var också orolig att de modifierade generna på något sätt skulle ha en effekt på andra organismer. Många organisationer var strängt emot genmodifierade växter och orsakade stor mediahysteri om att genmodifierade växter kunde orsaka mutationer i människor och ha en förödande effekt på populationen. En effekt som forskarna dock oroar sig för nu är ifall växter som har genmodifierats för att odla antibiotika kan öka risken för antibiotikaresistens hos bakterier. En teori har varit att bakterierna kanske skulle kunna överföra generna som ger upphov till antibiotika produktion till sig själva och orsaka resistens.

I det här arbetet ska jag gå igenom olika frågeställningar inom genmodifiering av växter. Hur skapar man genmodifierade växter? Vad finns det för fördelar/nackdelar med genmodifierade växter? Vad finns det för framtidsplaner inom genmodifiering av växter? Och kanske det viktigaste, kan genmodifierade växter vara skadliga för mänskligheten?

Verktyg för genmodifiering av växter

Det finns många olika vägar att gå om man vill modifiera generna hos en växt varav de vanligaste metoderna är via bakterietransformation eller genom att bombardera växtcellerna med mikropartiklar täckta med genfragment (Barampuram och Zhang 2010). Andra mindre vanliga metoder kan vara uppluckring av cellmembranet med elektroporering eller tillsättning av polyetylenglycol (PEG) för att lättare kunna införa ny DNA till cellen eller helt enkelt spruta in ny DNA med en spruta (Barampuram och Zhang 2010). Vad som följer är en genomgång av ett antal metoder som kan användas för att genmodifiera växter.

Agrobacterium-förmedlad transformation

Den absolut vanligaste metoden för indirekt transformation i växter är med hjälp av olika arter av *Agrobacterium*, *Agrobacterium tumefaciens* (Bild 2.) och *Agrobacterium rhizogenes*. *A.tumefaciens* är en gram-negativ jordlevande bakterie som orsakar tumörer på växter (galler)(figur 1) med tumörinducerande plasmider (Ti-plasmider) (Barampuram och Zhang 2010). *A. rhizogenes* är också en gram-negativ jordlevande bakterie men istället för att orsaka tumörer på växter påverkar de rötterna och ger upphov till rothårssjuka (figur 2) via rotinducerande plasmider (Ri-plasmider)

(Barampuram och Zhang 2010). Båda dessa former av plasmider innehåller en del som överför DNA och inkorporerar det i växtens DNA. Denna del kallas för T-DNA (”transferred DNA”) och innehåller de gener som vanligtvis skulle orsaka till exempel tumörer. Detta är den viktiga delen när det gäller genmodifiering eftersom det är här man sätter in den önskade genen. Med hjälp av en grupp *vir* gener (virulenta gener, *virA, virB, virC, virD, virE, virF* och *virH*) tillsammans med andra operon (*chvA, chvB* och *chvF)* överför bakterierna dessa plasmider över till värdväxten och via en icke homolog rekombination för de in DNA i växtcellens genom (Barampuram och Zhang 2010).

Denna form av transformation fungerar huvudsakligen på dikotelydona (tvåhjärtbladiga) växter och gymnospermer (nakenfröiga växter) vilket är ett problem om man vill genmodifiera olika sädesslag för matproduktion eftersom dessa är monokotelydoner. Detta problem har man dock löst med en teknik som involverar vad man kallar superbinära vektorer (Komari 1990). En binär vektor är en genkonstruktion som innehåller gränsrepetitioner (mellan vilka man sätter in genen man vill få in) och selektionsgener, till exempel en promotor till en nopalinsyntasgen vilket ger resistens mot kanamycin (Bevan 1984). För att detta ska fungera kräver det att det finns Ti-plasmider närvarande med intakta virulensgener. En superbinär vektor innehåller speciella virulensgener (*virB, virG* och *virC*) tagna från en *A.tumefaciens*-stam (A281) som har en högre grad av virulens aktivitet med vilket de kan angripa monokotelydoner (Komari 1990).

Fig 1 (t.v). Galler på en rosstam. Bild tagen från http://www.sactorose.org/ipm/83crowngall.htm.
Fig 2 (t.h). Rötter från ett ungt mullbärsträd med rothårssjuka. Bild tagen från http://www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5357075

A.rhizogenes används i mindre utsträckning än *A.tumefaciens* mest på grund av att det är svårare för de flesta växter att regenerera sig utifrån rötterna. *A.rhizogenes* har dock ett par användningsområden. Den är väldigt användbar om man vill studera rötterna och olika förmågor de har eller om man ska studera sekundära metaboliter (Giri och Narasu 2000). Detta är på grund av att växter som har blivit infekterade av *A.rhizogenes* och bildat rothår producerar dessa metaboliter vilket man i normala fall

måste tillsätta ett hormon för att få producerade vilket ger långsam tillväxt. Dessa rothår leder till att dessa rötter kan växa i medium utan tillsatta hormoner och väldigt snabbt dessutom (Giri och Narasu 2000).

Fig 3. *A.tumefaciens* som håller på att infektera en cell från en morot

Mikropartikelbombardering

Den mest använda metoden för direkt transformering av växter är genom mikropartikelbombardering (Barampuram och Zhang 2010). Detta är en metod som innebär att små projektiler (0,6-3,0µm) av guld täcks med de önskade genfragmenten man vill införa och sedan skjuta in dem i växtcellerna (cellkärnan), oftast i form av embryonisk- eller meristemisk cellkultur, i hög hastighet med hjälp av en genererad tryckvåg. Man använder guld då det är lätt att få jämna runda ytor men också för att det sällan reagerar med andra ämnen. Volfram kan också användas men det blir mindre och mindre vanligt då volfram får en ojämn rund yta. Det är en relativt effektiv metod med vilket man kan överföra stora genfragment (upp till 150kb) eller många olika gener samtidigt (Pawlowski och Somers 1996) .

Enligt Barampuram och Zhang (2010) finns det ett par problem men den här metoden. Eftersom man penetrerar cellväggarna på växterna är det väldigt viktigt att metoden utförs i en steril miljö då infektionsrisken är stor. Dessutom är det viktigt att man träffar rätt område med rätt djup i cellen. Ett annat problem är att det krävs en stor mängd genfragment för att lyckats och att det är svårt att få rätt mängd gen inkorporerad i cellen. Med tanke på dessa nackdelar krävs det mycket planering om man effektivt vill modifiera växters gener med den här metoden då det finns ett otal faktorer som spelar roll för hur effektiv metoden är. Allt från projektilernas storlek till hastigheten de skjuts iväg och vilka förpreparationer som utförts på växtcellerna. Även vilken typ av växt spelar stor roll för inställningarna maskinerna måste ha. Detta gör att denna teknik blir relativt komplicerad och kostsam. Tekniken utvecklades 1987 av Sanford *et al*. och sedan dess har man lyckats skapa flertalet lyckade transgena grödor med mikropartikelbombardering.

Det finns ett par olika varianter inom mikropartikelbombardering, som fungerar med samma princip som metoderna utvecklade av Sanford *et al.* men med olika vägar att genomföra det. De är följande;

PDS-1000/He : Även kallat ”Biolistics”. I den här metoden används en starkt modifierad version av Sanfords originalmetod, som använde krut. Först pumpas helium in i ett fack i toppen av maskinen så att ett övertryck bildas. I botten på facket finns det en skiva designad att spricka vid ett specifikt tryck. Under skivan sitter det en plastfilm, vilket ger upphov till makropartiklar, som är laddad med de täckta mikropartiklarna. Därefter följer en större kammare med vakuum som ska se till att partiklarna inte ska sakta in från luftmotståndet. Längst ner finns ett nät som förhindrar makropartiklar att ta sig igenom och släpper bara igenom mikropartiklarna. Nedanför nätet finns cellvävnaderna. Detta är den vanligaste metoden inom mikropartikelbombardering (Taylor och Fauquet 2002).

Partikelinflödespistol (PIG, ”Particle Inflow Gun”)(figur 4): Utvecklades som en billigare och simplare version av PDS-1000/He. Den fungerar genom att man laddar ett sprutfilter med de önskade mikropartiklarna och placerar det under ett så kallat Leur-lok sprutadapter. Adaptern är kopplad till en solenoid, en spole av ledningstråd som genererar ett magnetiskt fält, som i sin tur är kopplad till en gasledning som helium pumpas genom. Mellan adaptern och solenoiden finns en vakuumkammare. Trycket från heliumet gör att mikropartiklarna far iväg med hög hastighet in i cellkulturen som är lokaliserat under sprutfiltret i en bägare (Finer *et al.* 1992).

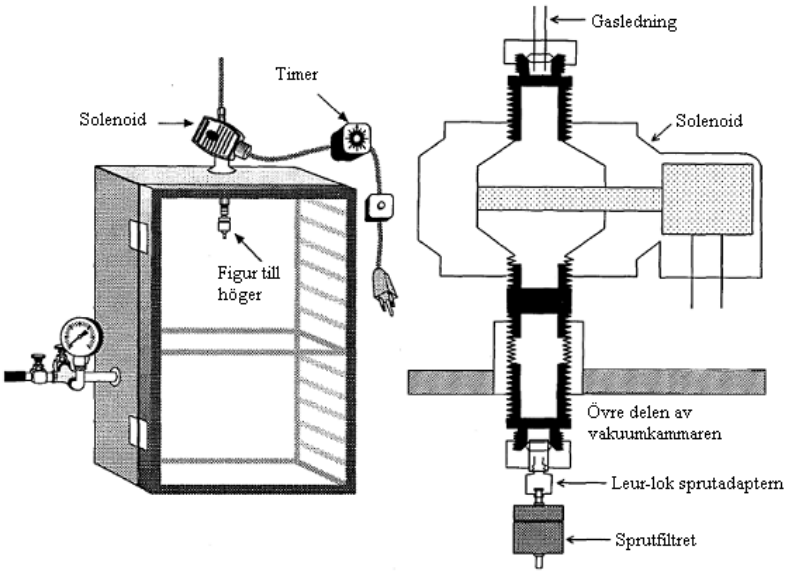

Fig 4. En partikelinflödespistol. Modifierad från Finer *et al.* (1992)

Elektriskt laddad partikelacceleration: Även kallad ACCELL teknologi. Metoden är en modifiering av PDS-1000/He, men istället för helium som orsakar trycket använder man vatten och en elektrisk laddning. En vattendroppe placeras mellan två elektroder. Under dessa placeras en mjuk plastskiva (mylar) laddad med mikropartiklarna. Därefter finns ett nät och under nätet finns växtcellerna. Elektroderna levererar en elektrisk laddning till vattendroppen som förångar den omedelbart. Tryckvågen som bildas får plastfilmen att brista och skjutas iväg mot nätet tillsammans med mikropartiklarna. Makropartiklarna som bildas av plastskivan fångas upp av nätet och mikropartiklarna åker igenom och träffar växtcellerna (figur

5). Allt detta pågår i ett partiellt vakuum för att minska luftmotståndet (Christou *et al.* 1990).

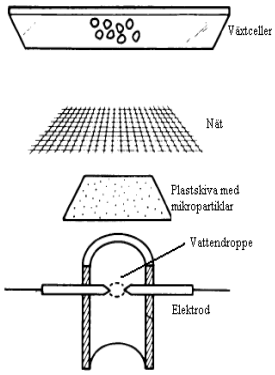

Fig 5. Uppsättningen under transformation med ACCELL. Modifierad från Christou *et al.* (1990)

Metoden fungerar väldigt bra med stor precision på hur djupt in i cellerna man vill få mikropartiklarna. Trots det är det inte en vanlig metod på grund av att teknologin inte är tillgänglig för många laboratorier Taylor och Fauquet (2002).

Mikromåltagningsbombardering: Ibland kan man vilja modifiera specifika celler i en växt. Ett exempel på detta är meristemet i en växt. Detta område innehåller regenerativa celler som kan vara svårt att få fram i vissa växter. Det är svårt med de vanliga mikropartikelbombarderingsmetoderna träffa meristemet då de kan i princip bara skjuta slumpmässigt över en cellkultur. För att lösa det här uppfann en grupp forskare en metod med vilket de kunde träffa nästan alla skjutna partiklar i ett område motsvarande ett meristems storlek, ungefär 0,15 mm (Sautter 1993). Metoden går ut på att en blandning av DNA-lösning och mikropartiklar ett tunt rör. Röret har en öppning till en kammare som är kopplat till en luftpistol. När man aktiverar luftpistolen spräcks vätskebubblan som bildas på slutet av röret och får blandningen att delas upp oerhört små droppar. Dessa förs med luftströmmar till ett restriktionsrör i luftströmmens riktning. Detta är till för att fokusera luftströmmen och accelerera mikropartiklarna. Därefter finns en vakuumkammare i vilket cellerna är placerade i (figur 6)(Sautter 1993).

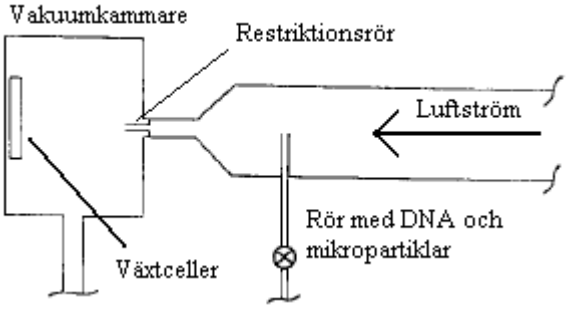

Fig 6. Uppsättning för mikromåltagningsbombardering. Modifierad från Sautter (1993).

Helios genpistol : Metoderna som nämnts ovan kräver rätt så stor och otymplig utrustning för att fungera. En Helios genpistol däremot är en pistolliknande handhållen apparat som kan användas utanför laboratorier, i till exempelvis växthus. Den använder varken vakuum eller ger upphov till makropartiklar som behöver filtreras bort utan endast mikropartiklarna och gas (helium). Den fungerar genom att man täcker insidan av små plaströr med mikropartiklar av guld täckta med det

önskade genmaterialet, delar upp dessa rör i mindre rör och placerar dem i ett magasin. Bakom magasinet sitter det en gasbehållare med helium som när man trycker på avtryckaren skjuter iväg en kort ström av gas som får mikropartiklarna i röret att fara iväg, ungefär som en vanlig pistol (Taylor och Fauquet 2002). En nackdel med metoden är att man inte kan ställa in lika många parametrar vilket gör att den inte är lika effektiv som dess stationära motsvarigheter.

Det kan vara värt att nämna att denna metod fungerar inte bara på växter utan kan användas på djur också.

Kiselkarbid-förmedlad transformation

Eftersom mikroprojektil-förmedlad transformation är en sådan effektiv metod har forskare försökt utveckla andra liknande metoder (penetrering av cellväggarna och cellmembranen) för inkorporering av nytt genmaterial i växtceller. 1992 utvecklade Kaeppler *et al.* en metod som innebar penetrering av cellväggarna och cellmembranen med nålliknande trådar av kiselkarbid. Metoden går ut på att man blandar växtcellerna tillsammans med genmaterialet man vill införa och tillsätter kiselkarbidtrådarna (i genomsnitt 0,6 µm i diameter och 10-80 µm i längd) och sedan blandar man allt med en vortex (Kaeppler *et al.* 1992). Detta får trådarna av kiselkarbid att penetrera cellerna så att genmaterialet kan komma in (figur 7). Det är en billig och enkel metod som fungerar på många olika växter. Trots det är det inte en vanlig metod då det är låg transformationsfrekvens och ger rätt så stor skada på cellerna vilket försvagar deras regenereringsförmåga (Barampuram och Zhang 2010).

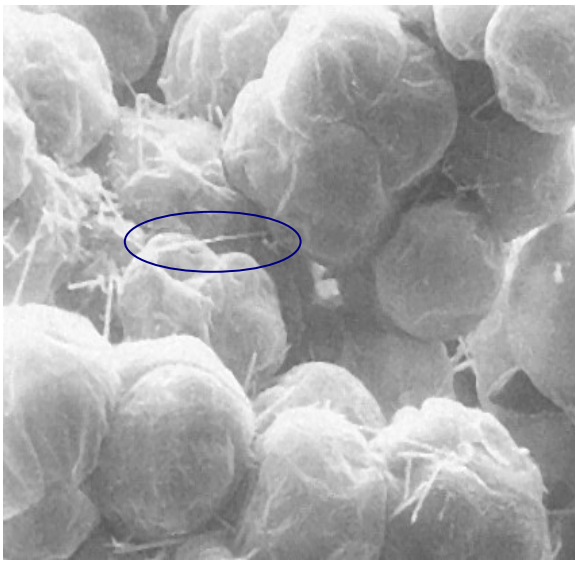

Fig 7. Kiselkarbidnålar som penetrerar växtceller. Blå markering indikerar en kiselkarbidnål. Bild modifierad från Kaeppler *et al.* (1990)

Kloroplast-förmedlad transformation

De metoder som nämnts tidigare har fokuserat på att transformera DNA i cellkärnan. Detta är dock inte den enda strukturen i växtceller som man kan transformera. Kloroplaster har sitt egna DNA väl lämpligt att transformera, dessutom med goda fördelar. Kloroplaster ärvs alltid från moderplantan och detta gör att alla växter som kommer från den plantan kommer att få de transformerade kloroplasterna, till skillnad från standardmetoderna där cellkärnan transformeras vilket leder till att det är pollenkornen eller äggen som överför DNA. Då dessa genomgår meios innebär det att det inte är helt säkert att nästa generation får den önskade fenotypen. Dessutom ger

det ett mycket högre genuttryck då varje cell innehåller 10-100 kloroplaster och varje kloroplast innehåller lika många kopior av sitt genom (Jabeen *et al.* 2010). Detta leder till en mycket större proteinproduktion. För att lyckas med att transformera kloroplaster krävs kloroplastspecifika vektorer, designade som en standard vektor men med specifika kloroplastmålsekvenser (Barampuram och Zhang 2010). Har man det kan man transformera kloroplasterna på samma sätt som vanliga växtceller, till exempel med mikroprojektilbombardering (Boynton *et al.* 1988). Metoden har börjat få mer intresse under de senaste åren och ett flertal växter, till exempel bomull och tobaksplanta, har transformerats med kloroplast-förmedlad transformation (Barampuram och Zhang 2010).

Mikroinjektions-förmedlad transformation

Att transformera växtceller med via en mikroinjektion kan ses som den mest simpla metoden för att överföra nytt genmaterial. Metoden går ut på att man fyller en spruta med DNA materialet man vill överföra och injicerar det direkt in i cellkärnan eller cellplasman (figur 8)(Barampuram och Zhang 2010). För att detta ska vara möjligt krävs det att cellerna hålls på plats med ett medium, till exempel agar. Denna metod går att göra manuellt med mikroskop och en säker hand (Barampuram och Zhang 2010) eller automatiskt med en maskin (Jones-Villeneuve *et al.* 1995). Att göra det för hand är en otroligt tids- och koncentrationskrävande procedur som sällan är praktiskt användbart. Metoden har en hög transformationsfrekvens på mer än 6 % (Jones-Villeneuve *et al.* 1995) och har utförts och lyckats transformera både monokotelydoner och dikotelydoner. Trots detta är det inte en användbar metod då den är väldigt tidskrävande och komplicerad även om man inte gör det för hand.

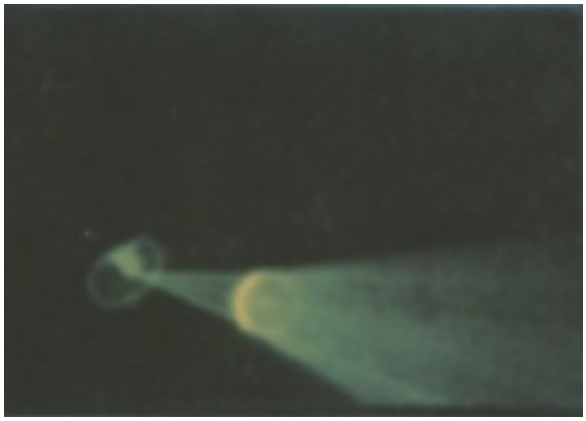

Fig 8. Mikroinjektionsnål som överför DNA till cellkärnan i en växtcell. Bild modifierad från Aly och Owens (1987)

Elektroporerings-, PEG-, liposom-förmedlad transformation

Transformation via elektroporering eller PEG är metoder som utvecklades för att ge alternativ till mikroprojektilbombardering. Metoderna går ut på att man på olika sätt luckrar upp cellväggarna och cellmembranen för att DNA ska kunna föras in (Barampuram och Zhang 2010).

Med elektroporering utför man det genom att man låter växtcellerna (oftast *in vitro*) blandas med genmaterialet man vill föra in och utsätter cellerna för pulser av starka elektriska fält (25mV och 0,5 mA i 15 minuter är vanligast)(Barampuram och Zhang 2010). Detta får cellväggarna och cellmembranen att perforeras och genmaterialet kan diffundera in och rekombineras i cellerna.

PEG-förmedlad transformation fungerar på liknande sätt i och med att man blandar genmaterialet man vill föra in med cellkulturen och sedan tillsätts PEG som perforerar cellen så att genmaterialet kan komma in.
Liposom-förmedlad transformation är en tredje metod som fungerar på ett liknande sätt som de andra. Liposomer är positivt laddade sfärer som bildas när fosforlipider kommer i kontakt med vatten. Eftersom de är positivt laddade kommer negativt laddat DNA kunna fastna på dem och liposomerna kan komma in i cellerna via endocytos. Detta är dock en väldigt ineffektiv metod som bara lyckats i ett fåtal fall.
Dessa tre metoder är i jämförelse med *Agrobacterium*-förmedlad transformation eller mikropartikelbombardering väldigt ineffektiva. De är billiga och enkla att utföra men har en väldigt låg transformationsfrekvens (Barampuram och Zhang 2010). Det största problemet är att de fungerar nästan bara på protoplaster (elektroporering är ett undantag) vilket är växtceller utan cellvägg. Många arter kan inte regenerera från protoplaster vilket leder till att det inte blir fullvuxna växter (Barampuram och Zhang 2010) vilket minskar antalet växter metoden fungerar på.

Selekterbara markörer – ett problem inom genmodifierade växter?

När man transformerar växter med de flesta av metoderna som nämnts innan använder man oftast vektorer designade från bakterier. Dessa vektorer innehåller olika markörer för att selektera för eller visuellt kunna urskilja de lyckade transformerade växterna. Markörerna är oftast gener för antibiotikaresistens (Bennett *et al.* 2004) eller resistens mot olika växtdödande medel (Barampuram och Zhang 2010). Detta kan onekligen ses som ett stort problem, då antibiotikaresistensgener som kommer från bakterier inkorporeras in i växternas genom. Om dessa växter skulle bli kommersiellt odlade i stor skala, skulle det vara möjligt att bakterier tar dessa antibiotikaresistensgener och utvecklar antibiotikaresistens? Om så var fallet skulle det kunna leda till en stor antibiotikaresistens epidemi, vilket tillsammans med dagens problem att antibiotikaresistens blir allt större inom bakterier, som skulle ge förödande effekter.

Enligt Bennet *et al.* (2004) finns det ett par teoretiska risker med transgena grödor, direkta risker och indirekta risker. De är följande;

Direkta risker:

1. Införandet av giftiga DNA-sekvenser (högst omöjligt med dagens kunskap om gener).
2. Produkterna från uttrycket av de införda bakteriegenerna kan ge en toxisk effekt, till exempel RNA eller protein.
3. Aktiviteten av produkterna från ’2.’ ger giftiga effekter.

Indirekta risker:

1. Överförandet av antibiotikaresistensgener till patogena bakterier (ett stort möjligt problem).
2. Antibiotikaresistensgenerna sprids till andra växter (endast ett problem om någon av de andra punkterna stämmer).

Inom dessa punkter är det endast de indirekta punkterna som är något debatterat. De direkta punkterna kan i princip ignoreras då vi vet tillräckligt mycket om gener och hur de fungerar för att vi ska kunna förhindra att generna vi transformerar in i växtceller är giftiga på något sätt.

Det största potentiella problemet var om bakterier kunde få tag på och inkorporera antibiotikaresistensgenerna som blivit kvar i växterna från transformationen. Det finns ett par sätt som bakterier kan göra för att föra över och ta emot DNA från andra bakterier och i vissa fall även till högre organismer. Dessa sätt är konjugering, transformering eller transduktion.
Konjugering innebär att bakterierna överför konjugerande plasmider eller gener kopplade till transposoner till varandra via pili. Bakterier kan överföra DNA till växter, *Agrobacterium* är en sådan bakterie, men det har aldrig skådats ett fall då DNA från växter har överförts till bakterier via konjugering (Bennet *et al.* 2004). Konjugering är ofta en process som endast sker i en riktning, givare till mottagare. Det finns däremot tillfällen då mottagaren skickar över DNA till givaren men detta kräver att det genetiska materialet från början är kopplat till en överföringsgen (Bennet *et al.* 2004), vilket inte finns naturligt hos växter.
Transformation av resistansgenen innebär att bakterierna tar upp fritt DNA från omgivningen och inkorporerar det till sitt genom med hjälp av homolog rekombination. Eftersom det krävs en hög grad av likhet mellan de transformerade generna och det nästan bara fungerar mellan liknande arter är det högst osannolikt att antibiotikaresistensgener skulle kunna överföras via transformation. Det enda sättet det skulle kunna fungera på är om bakterierna redan hade en allel till antibiotikaresistensgenen och i så fall skulle det inte ändra resistensen hos bakterierna något markant.
Transduktion innebär att generna överförs via virus. Igen, detta är inte ett sätt som skulle kunna få över antibiotikaresistensgenerna från växter till bakterier. Virus är nästan helt artspecifika och fungerar bara på bakterier i deras egna habitat (Miller 1998). Det finns inga kända virus som kan infektera både växter och bakterier så överföring av antibiotikaresistensgener via transduktion är osannolikt.

Ursprungsgener i växter och deras egenskaper inom genmodifiering

På grund av det dåliga ryktet transgena grödor har fått genom vissa media har man börjat leta efter gener med de önskade fenotyperna, som man tidigare fått hämta från bakterier eller virus, hos växter istället (Rommes 2004). Dessa fenotyper kan vara extra tolerans mot insekter och ogräsmedel. Idén är att detta ska vara mer accepterat än att ta gener från till exempel bakterier. På senare år har man upptäckt ett flertal sådana gener hos växter varav en av de viktigaste är en resistensgen mot potatisbladmögel, en av de mest skadliga växtsjukdomar som finns. Vanligtvis så måste man bespruta med olika medel för att förhindra infektion men ett flertal *Solanum*-arter med resistens mot denna sjukdom har hittats. Problemet är att de flesta bara är resistent mot ett fåtal mögelarter. Däremot fann man att en vildpotatis (*Solanum bulbocastanum)* som var oerhört resistent mot alla kända versioner av potatisbladmögel och lyckades isolera genen som var ansvarig för resistensen (Song *et al.* 2003). De transgena grödorna som finns tillgängliga på marknaden idag har i genomsnitt tio olika element av genetiskt material tagna från andra organismer (Rommes 2004). Så att öka antalet gener tagna från växter kan minska folkets oro över transgena grödor.

Apotek i växtform

Odling av medicinalväxter har förekommit i hundratals år. Många av de aktiva substanserna i dagens läkemedel har ursprung från växter. Med dagens framsteg inom bioteknologi har vi möjligheten att framställa morgondagens medicinska växter. Dessa växter är genmodifierade så att de kan producera önskade farmaceutiska produkter i stor skala. Från växterna kan man sedan lätt utvinna en koncentrerad produkt eller ge till patienterna i växtform som går att äta. Det finns många fördelar med att producera dessa produkter från växter istället för att odla det från bakterier eller djurcellskulturer. Att kunna odla stora mängder av produkten är bara en av fördelarna. En av de viktigaste fördelarna är att genmodifierade växter saknar mänskliga sjukdomar och att de inte är framtagna med virala vektorer från däggdjur. Ytterligare en fördel är att produkterna blir väldigt lätta att lagra och transportera (Goldstein och Thomas 2004). Det är inte svårt att inse att det finns en stor marknad inom medicin som kan intas genom att äta grönsaker eller att kunna odla växter som fungerar som vaccin.

Det finns ett flertal olika farmaceutiska produkter i dagens läge som mycket möjligt skulle kunna odlas i stor skala vilket öppnar dörrar för en billigare farmakologisk marknad vilket i sin tur leder till större spridning av vaccin och olika mediciner. De farmaceutiska produkterna vi kan producera i stor skala från genetiskt modifierade växter är antikroppar, vaccin samt en mängd andra produkter.
Monoklonala antikroppar är viktiga verktyg inom diagnostik och behandling av olika åkommor. Tidigare odlade man dessa i möss men på grund av att människokroppen känner igen antikropparna som icke-mänskliga hindrades effekten av dessa. Man har dock lyckats förbättra antikropparna genom att göra en genkonstruktion som är delvis från människan. Att odla antikroppar från växter skulle göra processen betydligt mer effektiv än att odla de från möss. Huvudsakligen har man odlat fram antikropparna på modifierade tobaksplantor då dessa ger en stor mängd biomassa men man har även lyckats modifiera andra växter att producera antikroppar (Goldstein och Thomas 2004).

För de personer som är rädda för sprutor finns det hopp om de vill vaccinera sig. Man har lyckats odla ett flertal olika vacciner i vanliga växter, många vilka man kan äta för att immuniteten. Igen, många vacciner har odlats i tobak men det finns många andra som har odlats i potatis eller tomater. Ett par exempel på vaccin som man har fått växter att producera är rabies, mässling och hepatit B (Chargelegue *et al.* 2001). Ett problem med växter som ger en vaccinerande effekt är att det är osäkert på hur mycket man måste äta för att få en full immunitet (Chargelegue *et al.* 2001) . Detta kan förklaras av varierande mängd vaccin i växterna man äter eller i allmänhet låg produktion i växterna. Ytterligare tester måste göras för att klargöra detta innan några sådana vaccin kan komma ut på marknaden.
Förutom antikroppar och vaccin har man även lyckats få odla fram en rad andra farmaceutiska produkter. Ett blodsubstitut har lyckats odlats fram i tobaksplanta likaså kollagen. Olika former av ämnen som används inom HIV-behandling har också blivit lyckat odlade (Goldstein och Thomas 2004).

Ett problem som man skulle kunna möta om man skulle börja odla genmodifierade växter med olika farmaceutiska proteiner är att insekter, som fjärilar eller bin, eller andra djur skulle äta och skadas av det. Men det är relativt säkert eftersom dessa djur ständigt får i sig proteiner från sin diet och klarar av att bryta ner dessa (Goldstein och Thomas 2004). Trots det så är det väldigt viktigt att produkterna testas noggrant innan det är säkert att odla dem. Ett annat mycket värre problem skulle vara om man odlade

en farmaceutisk produkt i en vanlig matväxt, till exempel potatis, och växten skulle sprida sig till en vanlig potatisodling vilket skulle kunna leda till att människor får i sig medicin som inte är för dem. Detta kan man dock övervinna genom att bara modifiera växter som vi inte äter som tobaksplanta. Andra sätt är att se till att de är odlade långt ifrån vanliga odlingar eller att använda sig av sterila plantor för att förhindra spridning (Goldstein och Thomas 2004).
Det finns inga farmaceutiska produkter producerade från genetiskt modifierade växter ute på marknaden i dagens läge (Penney *et al.* 2011) men man kan förvänta sig att de kommer börja odlas om några få år.

Diskussion

Det är en oerhört het debatt inom genmodifiering av växter i dagens läge. Aktivister och motståndare till genmodifierade grödor hävdar att man inte vet vad som händer vid längre intag av genmodifierade växter och att de är skadliga för den naturliga miljön medan forskare ständigt försvarar det och säger att deras negativa argument inte håller. Oftast så har motståndarna en skräckbild av genmodifierade växter som organisationer som till exempel Greenpeace gärna sprider ut. Dock finns det inga vetenskapliga fakta som stödjer deras argument medan forskare har i åratal jobbat på att göra genmodifierade växter så säkra och effektiva som möjligt med ett otal tester och återtester bakom sig.
Det är säkert att säga att vi behöver effektivare grödor för att kunna föda den mängd människor vi har på planeten och den ökande mängd vi kommer att ha. Norman Borlaug (1914-2009), mannen som anses vara fadern till den gröna revolutionen, har sagt i svar mot organiskt odlade grödor: ”We are 6.6 billion people now. We can only feed 4 billion. I don't see 2 billion volunteers to disappear.” Detta är ett utmärkt citat som summerar hur mycket vi behöver genmodifierade växter. Vi är helt enkelt för många för att kunna föda oss på ett annat sätt. Vilket gör det extra sorgligt att det finns en sådan stor motståndsrörelse mot det. Extremister går till och med så långt att de bränner ner fält där det odlas genetiskt modifierade grödor.
Många länder har totalförbjudit odling av modifierade grödor eller import av sådana.

Med den forskning vi har bakom oss idag är det helt ofattbart att genmodifierade växter inte har en större omfattning. Metoderna är säkra och produkterna livsviktiga. Nu när vi har möjligheterna att odla farmaceutiskt användbara proteiner för bruk inom medicin eller för vaccin är det ännu mindre anledning att vara motståndare för det.

Framtiden har stor användning av genmodifierade växter. I en framtidsvärld när vi börjat kolonisera andra planeter och himlakroppar kan jag lova att de växterna vi odlar är genetiskt modifierade för att kunna klara av de krav vi ställer på växter i en sån miljö. I en närmare framtid räcker det dock med fält av högeffektiva genmodifierade grödor och medicinfält och den framtiden är nog inte så långt borta.

Tack

Jag vill tacka alla som har tagit sig tid till att läsa igenom arbetet, Lage Cerenius, Andreas Eriksson, Björn Tropp och Marcus Wäneskog för den väldigt bra konstruktiva kritiken.

Referenser

Aly MAM, Owens LD. 1987. A simple system for plant cell microinjection and culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture **10**: 159-174.
Barampuram S, Zhang ZJ. 2010. Recent advances in plant transformation. Methods in Molecular Biology **701**: 1-35.
Bennett PM, Livesey CT, Nathwani D, Reeves DS, Saunders JR, Wise R. 2004. An assessment of the risks associated with the use of antibiotic resistance genes in genetically modified plants: report of the working party of the british society for antimicrobial chemotherapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy **53**: 418-431.
Bevan M. 1984. Binary *Agrobacterium* vectors for plant transformation. Nucleic Acids Research **12**: 8711-8721.
Boynton JE, Gillham NW, Harris EH, Hosler JP, Johnson AM, Jones AR, Randolph-Anderson BL, Robertson D, Klein TM, Shark KB, Sanford JC. 1988. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microparticles. Science **240**: 1534-1538.
Chargelegue D, Obregon P, Drake PMW. 2001. Transgenic plants for vaccine production: expectations and limitations. Trends in Plant Science **6**: 495-496.
Christou P, McCabe DE, Martinell BJ, Swain WF. 1990. Soybean genetic engineering - commercial production of transgenic plants. Trends in Biotechnology **8**: 145-151.
Finer JJ, Vain P, Jones MW, McMullen MD. 1992. Development of the particle inflow gun for DNA delivery to plant cells. Plant Cell Reports **11**: 323-328.
Giri A, Lakshmi Narasu M. 2000. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. Biotechnology Advances **18**: 1-22.
Goldstein DA, Thomas JA. 2004. Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. Quarterly Journal of Medicine **97**: 705-716.
Jabeen R, Khan MS, Zafar Y, Anjum T. 2010. Codon optimization of *cry1Ab* gene for hyper expression in plant organelles. Molecular Biology Reports **37**: 1011-1017.
Jones-Villeneuve E, Huang B, Prudhomme I, Bird S, Kemble R, Hattori J, Miki B. 1995. Assessment of microinjection for introducing DNA into uninuclear microspores of rapeseed. Plant Cell, Tissue and Organ Culture **40**: 97-100.
Kaeppler HF, Gu W, Somers DA, Rines HW, Cockburn AF. 1990. Silicon carbide fiber-mediated DNA delivery into plant cells. Plant Cell Reports **9**: 415-418.
Kaeppler HF, Somers DA, Rines HW, Cockburn AF. 1992. Silicon carbide fiber-mediated stable transformation of plant cells. Theoretical and Applied Genetics **84**: 560-566.
Komari T. 1990. Transformation of cultured cells of *Chenopodium quinoa* by binary vectors that carry fragment of DNA from the virulence region pTiBo542. Plant Cell Reports **9**: 303-306.
Miller RV. 1998. Bacterial gene swapping in nature. Scientific American **278**: 66-71.
Pawlowski WP, Summers DA. 1996. Transgene inheritance in plants genetically engineered by microprojectile bombardment. Applied Biochemistry and Biotechnology **6**: 17-30.
Penney CA, Thomas DR, Deen SS, Walmsley AM. 2011. Plant-made vaccines in support of the millennium development goals. Plant Cell Reports **30**: 789-798.
Rommes CM. 2004. All-native DNA transformation: a new approach to plant genetic engineering. Trends in Plant Science **9**: 457-464.
Sautter C. 1993. Development of a microtargeting device for particle bombardment of plant meristems. Plant Cell, Tissue and Organ Culture **33**: 251-257.
Song J, Bradeen JM, Naess SK, Raasch JA, Wielgus SM, Haberlach GT, Liu J,

Kuang H, Austin-Phillips S, Buell CR, Helgeson JP, Jiang J. 2003. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **100**: 9128-9133.

Taylor NJ, Fauqet CM. 2002. Microparticle bombardment as a tool in plant science and agricultural biotechnology. DNA and Cell Biology **21**: 963-977.