

Hvordan genmodifisere en plante?

De første genmodifiserte plantene som kom i begynnelsen av 1980-årene var tobakk- og petuniaplanter. De var fremstilt for bruk innen forskning. Senere har mange ulike plantearter blitt genmodifisert, både til videre bruk i forskning og i jordbruket. Det finnes ulike teknikker for overføring av DNA til en plante, disse kan deles inn i to hovedgrupper, nemlig bruk av en jordbakterie og direkte DNA-overføringsteknikker. Hvis en organisme får overført gener fra en annen organisme, kalles den transgen.

Trine Johansen Meza

Planter er enten enfrøbladete eller tofrøbladete, alt etter hvor mange blader arten har når den spirer. Den første genmodifiseringsteknikken som ble brukt på 1980-tallet utnyttet en evne som jordbakterien *Agrobacterium* har til å overføre gener til tofrøbladete planter. Slike arter er blant annet tobakk, petunia og vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*). Disse er modell-arter i forskning. Mange av jordbruksplantene som mais, ris, hvete og bygg er imidlertid enfrøbladete, og lot seg i utgangspunktet ikke transformere like lett. I det følgende beskrives hovedteknikkene som i dag benyttes ved genmodifisering av planter.

Genmodifisering ved bruk av *Agrobacterium*

Bruk av jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens* er fortsatt den dominerende teknologien for fremstilling av genmodifiserte planter. *Agrobacterium tumefaciens* har fra naturens side evnen til å overføre deler av sitt arvemateriale til en plantecelle. I naturen gjør bakterien dette for å få planten til å produsere stoffer som den kan bruke som næring. Den overfører da et DNA-molekyl til plantens arvemateriale. I bakterien er det både plantekreftinduserende gener som sørger for ukontrollert vekst i såkalte "galler", og gener for produksjon av selve næringssementene.

Genmodifiseringsprosessen skjer via flere ulike trinn. Det begynner med at *Agrobacterium* gjenkjenner og fester seg til



Tobakk var av de plantene som først ble genmodifisert. Foto: Casaalmare/YAYMicro.

vertscellen. Dette fører til at bakterien mottar et signal fra cellen, som i sin tur gjør at bakterien overfører DNA-molekylet. DNA-molekylet går så gjennom cellens cytoplasma og inn i kjernen. I kjernen integreres genene i plantens eget genom (se fig.1).

I de *Agrobacterium*-stammene som blir brukt til å genmodifisere planter, er de plantekreftinduserende genene fjernet og man har satt inn de genene som ønskes overført til planten. Fordi genmodifisering med bruk av *Agrobacterium* stort sett

fører til innsetting av kun én kopi av det overførte DNA-et til planten, får man et mer stabilt og forutsigbart uttrykk av genene enn ved bruk av andre teknikker (se nedenfor). En annen fordel med denne teknikken er at den ikke krever så mye dyrt spesialutstyr. Det forskes mye for at *Agrobacterium* også skal kunne brukes til å transformere andre arter enn tofrøbladete planter, slik som kornartene.

Det finnes også ulike teknikker for direkte overføring av DNA til planter. Her beskrives et par av de vanligste:

Faktaboks:

Genmodifiseringsteknikker og ordforklaringer

Agrobacterium tumefaciens: Overføring av DNA fra bakterie til plante.

Genkanon: Tungsten- eller gullpartikler dekket med DNA skytes inn i cellene.

Elektroporering: Elektriske impulser blir brukt til å øke membran- og celleveggpermeabilitet for DNA som finnes i den omkringliggende løsningen.

Poly-etylen-glycol (PEG): Plante-celleprotoplaster behandlet med PEG blir permeable som gjør at de kan ta opp DNA fra den omkringliggende løsningen.

Transformasjon: Vellykket overføring av DNA til en organisme eller celle (genmodifisering).

Plasmid: Et sirkulært DNA molekyl som finnes i blant annet bakterier. Et plasmid er en egen DNA-enhet som har evnen til å kopiere seg selv.

Genmodifisert plante: En plante som har fått endret sitt genetiske innhold ved bruk av genteknologi.

Transgen plante: En genmodifisert plante hvor det nyinnsatte DNA-et kommer fra en annen art.

Bruk av genkanon

Genmodifisering av planter ved å bruke genkanon (mikropartikkel- bombardement) er som navnet antyder en teknikk hvor DNA skytes inn i cellene. Denne teknikken er basert på at mikropartikler (mikrobærere, oftest tungsten- eller gullpartikler) blir dekket med DNA og skutt inn i plantecellene med en genkanon. Genkanonens styrke er justert slik at den er tilstrekkelig til at mikropartiklene kommer gjennom celleveggen og samtidig lav nok til at den ikke forårsaker for stor skade på plantecellene. På denne måten kan ønsket DNA overføres til cellens indre og cellekjernen hvor DNA-et løsner fra mikrobæreren (fig. 2).

Partikkel-bombardementsmetoden ble utviklet i 1980-årene for å lage transgene planter av arter som på dette tidspunktet ikke kunne transformeres med *Agrobacterium*. Denne teknikken blir nå brukt til å transformere flere enfrøbladete planter som løk, mais, soya, hvete og ris.

Genkanon-teknikken krever spesialisert og dyrt utstyr. En annen ulempe er at de overførte genene blir tilfeldig innsatt i

genomet, og ofte både i intakte og avkortede utgaver. Slike komplekse innsetninger kan føre til et lite stabilt og uforutsigbart uttrykk av de nye egenskapene. I tillegg kan også andre egenskaper ved planten utilsiktet bli endret. Teknikken har særlig to fordeler. I tillegg til at den gjør det mulig å transformere planter som ikke lett lar seg genmodifisere av *Agrobacterium*, gjør den det mulig å overføre kun de egenskapene man er ute etter uten å samtidig overføre "unødvendige" bakteriegener.

Protoplast-transformasjon

Protoplaster er planteceller hvor den stive og harde plantecelleveggen er fjernet. Plantecellene utsettes så enten for polyetylen-glykol (PEG) eller en elektrisk puls som gjør at cellemembranen blir mer gjennomtrengelig for DNA. Protoplastene kan transformeres ved at de dyrkes i medium tilsatt DNA. Cellen kan dermed ta opp DNA fra den omkringliggende væsken. Etter transformasjonen kan hele planter regenereres fra planteceller. En vanskelighet ved denne teknikken er å lage selve protoplastene. Det kan også være komplisert å holde protoplastene levende i laboratoriet og gjendanne hele planter fra dem.

Utvelgelse av planter med nyinnført egenskap

Felles for de ulike plantetransformerings-teknikkene er at man må kunne velge ut de plantecellene som har fått overført den nye egenskapen. Dette kalles seleksjon. For å selekere blir det DNA-et man er interessert i vanligvis koblet sammen med et gen (selekerbar markør) som koder for en egenskap som gjør det enkelt å skille de transgene plantene/cellene fra dem som ikke er det. Et slikt seleksjonsmarkørgen kan være *nptII*, som koder for resistens mot antibiotika som kanamycin og neomycin. Når de muligens genmodifiserte cellene blir dyrket med det antibiotikum som korresponderer med seleksjonsmarkørgenet, vil bare de cellene som har fått det nye DNA-et overleve.

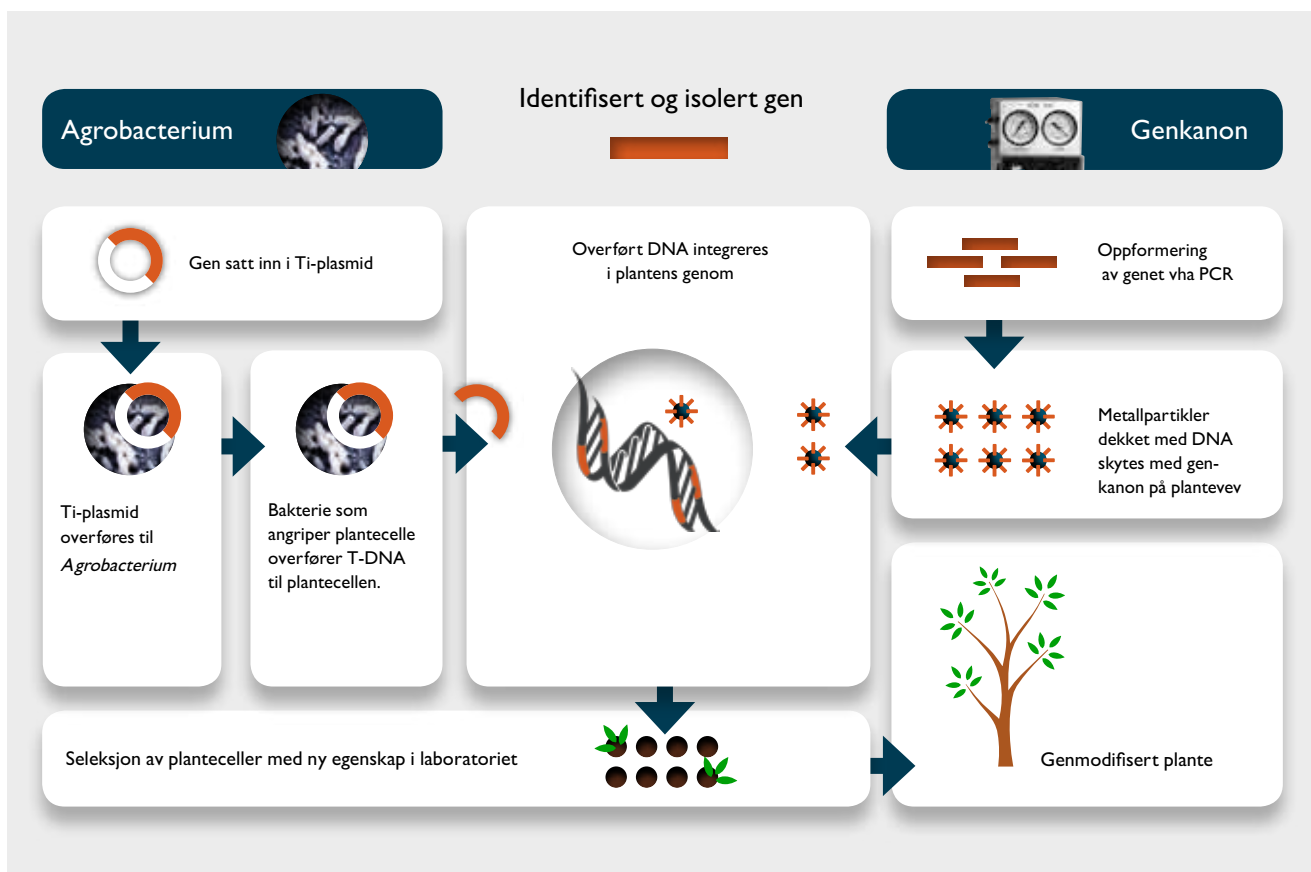
Fra en GMO som vokser på jordet, eller spises som mat eller fôr, er det en teoretisk mulighet for at et antibiotikaresistensgen fra planten kan overføres til sykdomsfremkallende bakterier. I så fall kan dette i sin tur minske mulighetene for fremtidig behandling med antibiotika.

I Norge er det forbudt med intakte antibiotikaresistensgener i genmodifisert mat og fôr. Det er nå utviklet flere alternative seleksjonsmåter som gradvis har vunnet terreng, men internasjonalt søkes det fortsatt om godkjenning for GMO-er med innsatte antibiotikaresistensgener (for mer om antibiotikaresistens, se artikkel i GENialt 4/2006).

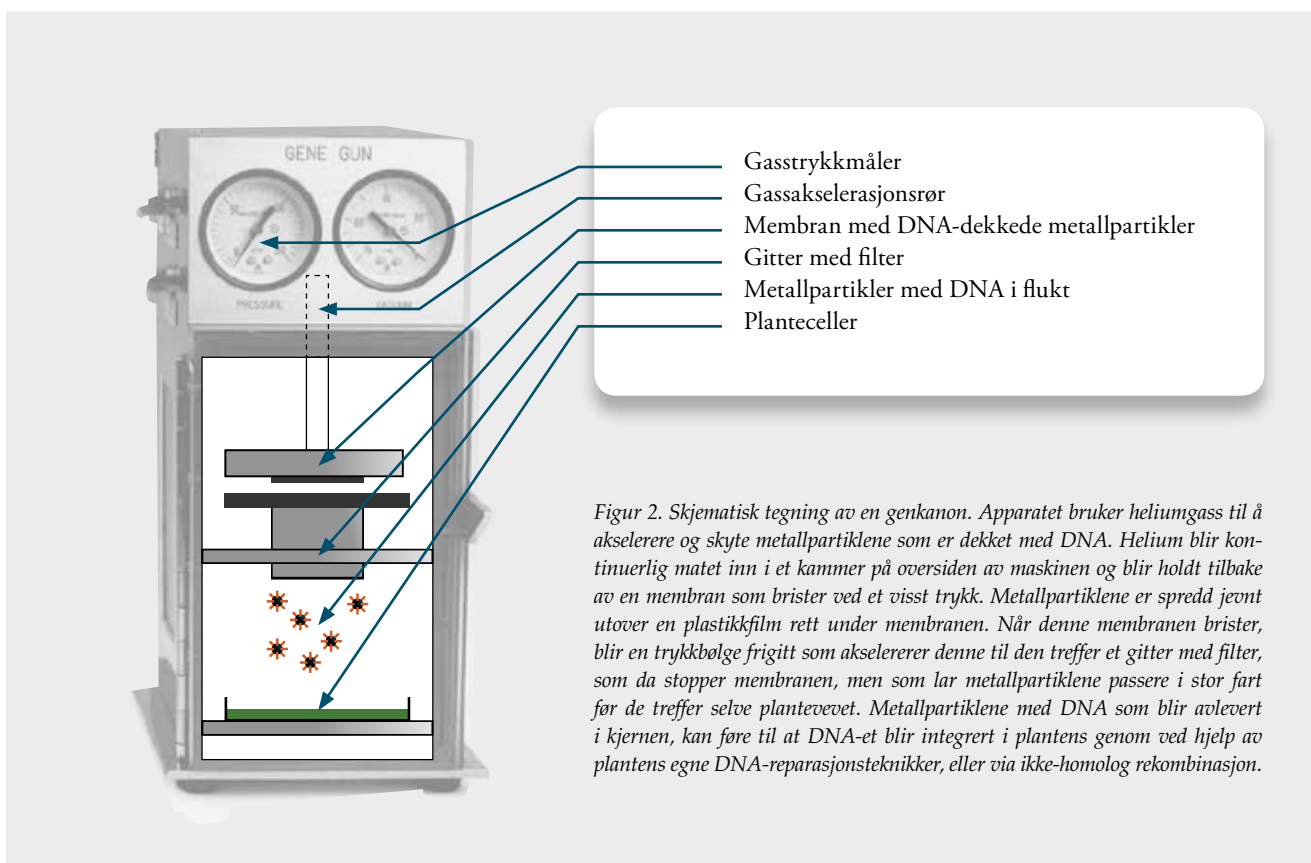
Trine Johansen Meza er forsker ved Institutt for molekylær biovitenskap ved UiO hvor hun arbeider med DNA-reparasjon. Meza er utdannet cellebiolog og har doktorgrad innen plantemolekylærbiologi. Meza er ansatt i et deltidsengasjement som seniorrådgiver i Bioteknologinemndas sekretariat.

Videre lesning:

- Shrawat AK & Lörz H. *Agrobacterium-mediated transformation of cereals: a promising approach crossing barriers. Plant Biotechnology Journal* (2006) 4, 575-603.
- Vain P. *Thirty years of plant transformation technology development. Plant Biotechnology Journal* (2007) 5, 221-229.
- Gelvin SB. *Agrobacterium-Mediated Plant Transformation: the Biology behind the "Gene-Jockeying" Tool. Microbiology and Molecular Biology Reviews.* (2003) 16-37.



Figur 1. Teknikker for genmodifisering av planter kan deles inn i to hovedgrupper, Agrobacterium-mediert og direkte overføringsteknikker, her vist ved genkanon. Ti-plasmidet i Agrobacterium inneholder gener som sørger for at bakterien kan infisere en plantecelle (Ti = tumor inducing). Det DNA-et som overføres fra bakterien til plantecellen kalles T-DNA (T = transfer).



Figur 2. Skjematisk tegning av en genkanon. Apparatet bruker heliumgass til å akselerere og skyte metallpartiklene som er dekket med DNA. Helium blir kontinuerlig matet inn i et kammer på oversiden av maskinen og blir holdt tilbake av en membran som brister ved et visst trykk. Metallpartiklene er spredd jevnt utover en plastikkfilm rett under membranen. Når denne membranen brister, blir en trykkbølge frigitt som akselererer denne til den treffer et gitter med filter, som da stopper membranen, men som lar metallpartiklene passere i stor fart før de treffer selve plantevevet. Metallpartiklene med DNA som blir avlevert i kjernen, kan føre til at DNA-et blir integrert i plantens genom ved hjelp av plantens egne DNA-reparasjonsteknikker, eller via ikke-homolog rekombinasjon.