

ZLATI RIŽ – REŠITEV ZA HIPOVITAMINOZO A?

► Tim Prezelj



Za posledicami hipovitaminoze A trpi 50 milijonov ljudi v več kot 100 državah v razvoju. Da bi rešili ta problem, je bila ustanovljena mednarodna iniciativa, projekt *Zlati riž*. Konkretno gre za pripravo gensko spremenjenega riža, ki vsebuje visoke koncentracije β -karotena, ta pa se v našem telesu pretvori v vitamin A. Filipinska vlada je letos končno odobrila masovno vzgojo te rastline.

📍 Polje zlatega riža
(Vir: Essence in Photography)

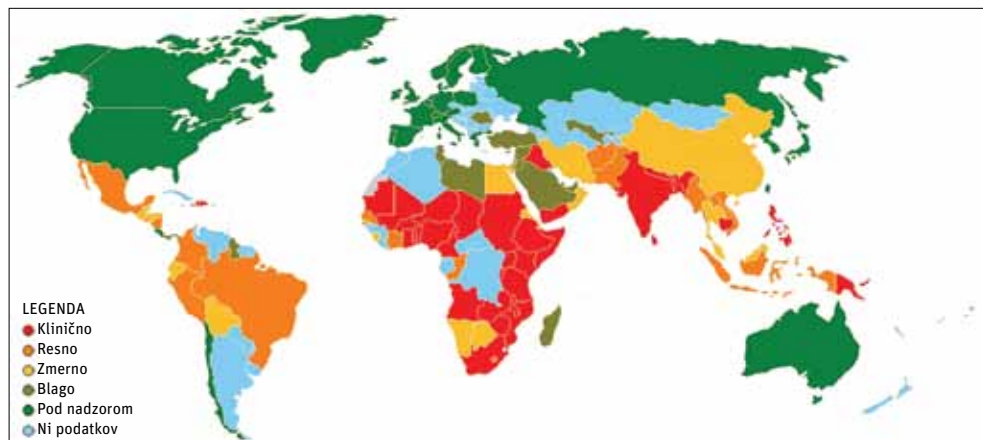
► HIPOVITAMINOZA A

Raziskave, ki so privedle do zlatega riža, so bile izvedene z namenom pomagati ljudem (predvsem otrokom), ki trpijo zaradi pomanjkanja vitamina A – hipovitaminoze A (angl. vitamin A deficiency – VAD). Ta se najpogosteje pojavlja v državah v razvoju (v t. i. tretjem svetu), pred-

vsem v Afriki in južni Aziji (Indija in Kitajska).

Prvi znaki pomanjkanja se kažejo v oslajenem imunskem odzivu, neposredni pokazatelji pa so težave s suho kožo in nočna slepota, ki ob stalnem pomanjkanju vitamina A vodi v popolno slepoto. To se zgodi, ko se zaradi nenehne izsušenosti očesa in nezmožnosti proizvajanja

📍 Razširjenost hipovitaminoze A po svetu
(Vir: WHO)



solz očesna roženica naguba in okuži, temu pa sledi okužba celotnega očesa. Posledica tega je popolna in nepovratna slepota, omenjeno stanje pa imenujemo kseroftalmija.

Za leto 2005 je bilo ocenjeno, da bi kar 19 milijonov nosečnic v 122 državah lahko prizadela hipovitaminoza A, zaradi katere letno umre od 1 do 2 milijona ljudi, pol milijona jih trajno oslepi, 3 milijone pa jih prizadene kseroftalmija. Vitamin A ima zelo pomembno vlogo pri delovanju imunskega sistema, rasti kosti, rasti in obnovi kože ter še pri mnogih drugih procesih, ki so pomembni za normalno delovanje organizma. Upoštevajoč vse te lastnosti vitamina A se predvideva, da je zaradi pomanjkanja le-tega po svetu prizadeta kar tretjina otrok.

▶ **METABOLIZEM
IN PRIPRAVA ZLATEGA RIŽA**

Ker je v predelih, kjer je pomanjkanje vitamina A najbolj kritično, osnovna in najpogostejša hrana riž (predvsem v Aziji, kjer je tudi gostota prebivalstva zelo velika), so se znanstveniki odločili, da s pomočjo biotehnologije izdelajo riž, ki bo v hranilnem tkivu semena (endospermu) vseboval tudi dovolj b-karotena oz. provitamina A.

Osredotočili so se na riž vrste *Oryza sativa*, ki je znana kot azijski riž in katere zgodovina sega vse do daljnega leta 11.500 pr. n. št. Na ozemlje ob kitajski reki Jangcekjang (Rumena reka). Poznamo dve sorti omenjene vrste riža, in sicer kratkozrnatno japonsko in dolgozrnatno

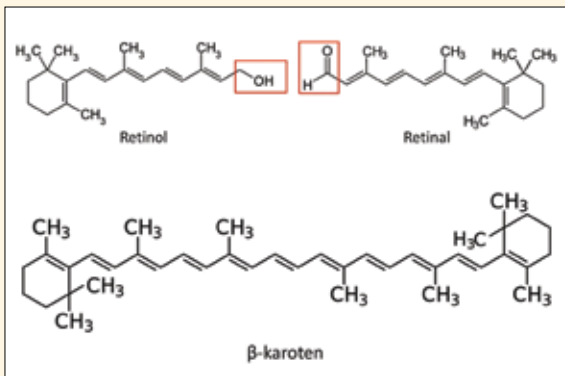
Vitamin A

☺ Primerjava strukture molekul retinola, retinala in β-karotena; v rdečih okvirčkih sta označeni funkcionalni skupini obeh oblik vitamina A. (Prirejeno po: Wikipedia)

Ker naše telo ni sposobno samo sintetizirati vitamina A, saj za to nimamo potrebnih encimov, ga lahko pridobimo zgolj s hrano. Ta je lahko živalskega ali rastlinskega izvora, zato glede na izvor ločimo dve biosintetični poti, ki vodita do sinteze vitamina A v našem telesu.

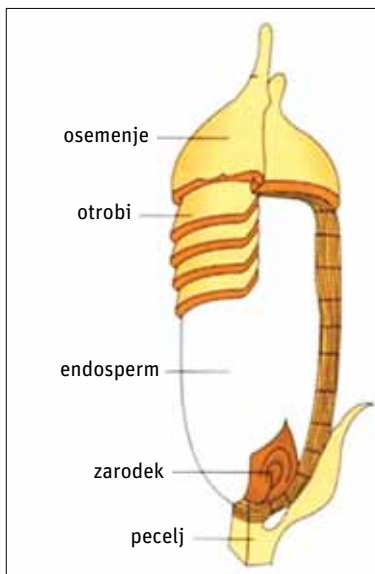
Hrana živalskega izvora (meso, jajca, ribe, mleko itn.) je bogata z retinoidi in vsebuje tudi retinolne estre, ki so prekursorska oblika retinola. Ta spada med alkohole in je sestavni del živčnih receptorjev, ki so občutljivi za svetlobo. Najdemo ga v očesni mrežnici.

Mnogo rastlin (korenje, špinača itn.) vsebuje veliko β-karotena, ki ga imenujemo tudi provitamin A. β-karoten je barvilo iz družine karotenoidov (ŽIT 2008/11, str. 28) in se v našem telesu pri cepitvi z encimom β-karotenska deoksigenaza razcepi v dve molekuli retinala. Ta pa je v bistvu oksidirana oblika prej omenjenega retinola, zato spada med aldehide. Tako danes poznamo več oblik vitamina A – med drugim retinol in retinal.



indijsko. Obe sta splošno razširjeni po vsej Aziji.

Začetki zlatega riža segajo v leto 1990, ko so zaradi razvoja in napredka metod rekombinantne DNK ter zaradi vedno boljšega in popolnejšega poznavanja različnih biokemičnih in biosintetičnih poti tovrstne ideje postale izvedljive (ŽIT 2007/10, str. 56). S konkretnim laboratorijskim delom so začeli leta 1999. Prve prototipe zlatega riža so ustvarili po mnogih poskusih, s katerimi so ugotovili, da je v endospermu riževega zrna že naravno prisotna prekursorska molekula GGPP (geranilgeanildifosfat), ki je tudi v drugih rastlinah, ki vsebu-



☞ Zgradba riževega semena; hranilno tkivo (endosperm) je podčrtano. (Prirejeno po: malasyagrains.com)

Genski inženiring

Z genskim inženiringom spreminjamo DNK nekega organizma tako, da vanj vnašamo gene drugih organizmov ali pa odstranjujemo organizmu lastne gene. Tako lahko pridobimo organizme s popolnoma novimi lastnostmi, kot so npr. odpornost proti insekticidom, boljša hranilna vrednost, odpornost proti suši, večji hektarski donos in seveda še kup drugih koristnih lastnosti (ŽIT 2004/3, str. 27; ŽIT 2007/6, str. 48; ŽIT 2007/7–8, str. 47; ŽIT 2008/9, str. 68; ŽIT 2009/9, str. 46). Bistveni cilj genskega inženiringa je torej v enem organizmu združiti čim več dobrih lastnosti iz različnih organizmov.

Da bi prišli do gensko spremenjenega organizma, moramo najprej poznati njegov lastni genski zapis in najti ustrezen gen (običajno jih je več), s katerim bo organizem, ki ga spreminjamo, pridobil želeno la-

stnost (ŽIT 2003/5, str. 17). Poznati pa moramo tudi regulacijo izbranega gena in ugotoviti možne interakcije z drugimi geni, ki sodelujejo v istem biokemičnem procesu.

Ko imamo vse potrebne podatke, moramo izbrani gen izolirati iz izvirnega organizma in ga pomnožiti ter nato vstaviti v organizem, ki ga želimo spremeniti. Za doseg tega je pri rastlinah pogost način, pri katerem izbrani gen vstavimo v plazmidno DNK bakterije *Agrobacterium tumefaciens*. Ta pri rastlinah sproža rast tumorjev. Zapis, ki ji to omogoča, nosi na posebnem odseku plazmidne DNK, ki se ob okužbi vgradi v jedrno DNK okužene rastline. Ta del zato odstranimo in na njegovo mesto vstavimo izbrani gen, ki se nato (namesto zapisa za rast tumorjev) vgradi v jedrno DNK okužene rastline. Z malo sreče s tem rastlina pridobi želeno lastnost.

☉ Prikaz metabolizma sinteze β -karotena; z zeleno barvo so označeni encimi in molekule, ki so rastlinskega izvora, pri čemer so temno zeleni tisti encimi, ki jih riž v endospermu ne izraža; z modro barvo je prikazan encim, ki je bakterijskega izvora, podčrtani pa so encimi, ki v zlatem rižu sodelujejo v metabolizmu sinteze β -karotena. (Prirejeno po: S. Al-Babili in P. Beyer: Golden Rice – five years on the road – five years to go?)

jejo b-karoten, osnova za njegovo sintezo. Tako so morali v riževem endospermu zagotoviti tudi izražanje encimov, ki pretvarjajo GGPP v b-karoten. Ker večine teh encimov riž v hranilnem tkivu ne izraža, so morali genski zapis zanje vanj vnesti s pomočjo genskega inženiringa.

Pri prej omenjeni pretvorbi GGPP v b-karoten, so pomembni predvsem trije encimi, ki jih riž v endospermu ne izraža. Prvi je PSY (fitoen sintaza), ki pretvori dve molekuli GGPP v fitoen in s tem opravi prvi korak do sinteze b-karotena. V naslednjih korakih nato sodelujejo še PDS (fitoen desaturaza), ZDS (ζ -karoten desaturaza) in CRTISO (cis-trans-izomeraza), ki pa je v riževem endospermu že prisoten, pri čemer na koncu nastane trans-likopen. Za sintezo b-karotena iz trans-likopena je nato potreben le še en korak, pri katerem

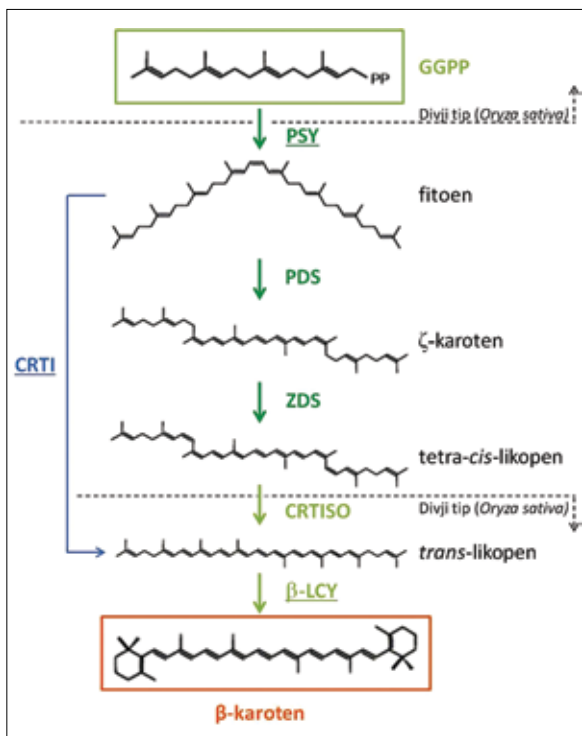
je ključen encim b-LCY (likopen ciklaza), ki je že prisoten tudi v endospermu riževega zrna.

Ob vstavitvi omenjenih treh genov (za PSY, PDS in ZDS) pa do izražanja obarvanih b-karotenov ni prišlo, iz česar je sledil sklep, da eden ali več encimov, za katere geni so bili vstavljeni v riž, ni bilo aktivnih. Zato so v nadaljnjih eksperimentih, da bi se izognili uporabi predvsem encimov PDS, ZDS in tudi CRTISO, znanstveniki raje uporabili encim CRTI (bakterijska desaturaza), ki neposredno pretvori fitoen v trans-likopen.

V tem primeru so naposled dobili pozitivne rezultate in s tem tudi dokaz, da je metoda izvedljiva. Pridobljeni prototip riža je sicer vseboval 1,6 ng b-karotena na 1 g riža, vendar je to še premalo, zato so znanstveniki z nadaljnjim delom želeli povečati vsebnost b-karotena v riževem zrnu in ugotoviti, kakšni sta dejanska biološka vrednost in možnost izrabe b-karotena iz riža.

▶ GR1 IN GR2

Od te točke naprej je razvoj potekal v dveh 'taborih', saj so do zelenih izboljšav poskušali priti tako v javnem kot tudi v zasebnem sektorju. Raziskave obeh strani so bile zelo podobne, vendar so uporabili različne vrste riža in se osredotočali na različne gene ter njihov vnos na različna mesta. Tako so seveda prišli tudi do različnih rezultatov. V javnem sektorju jim kljub naporom ni uspelo izboljšati že dosežene koncentracije 1,6 ng b-karotena na gram riža, medtem ko so v zasebnem sektorju dosegli koncentracijo kar 6,0 ng b-karotena na 1 g riža. Ta gensko spremenjeni riž je nato postal znan kot GR1 (angl. golden rice 1).



Raziskave je spremljalo zelo veliko kritik, ki so letele predvsem na račun javnega raziskovalnega tabora, v katerem so dosegli tako nizko koncentracijo karotenoidov. Verjetno so predvsem te kritike bile razlog za nove poskuse za povečanje vsebnosti b-karotena v riževem zrnju, pri katerih so se osredotočali tudi na druge encime, ki sodelujejo pri metabolizmu sinteze b-karotena.

Po številnih poskusih so naposled dosegli uspeh, ko so se odločili za izražanje gena z zapisom za PSY. Ob tem so primerjali gene različnih rastlin (angl. side by side comparison) ter bili še posebno pozorni na izražanje genov in kopičenje karotenoidov v hranilnem tkivu riža. Izkazalo se je, da so geni za PSY iz rastlin, ki vsebujejo velike količine karotenoidov (paradižnik, korenje, narcise itn.), manj učinkoviti od tistih, ki so jih izolirali iz rastlin, pri katerih je izražanje sicer minimalno (npr. koruza).

Tako so najboljše rezultate dosegli z uporabo gena za PSY, izoliranega iz koruze (*Zea mays*). Vsebnost karotenoidov pri rižu s koruznim genom za PSY je bila kar 37 ng karotenoidov na 1 g riža in od tega je bilo do 84 % samo b-karotena. To novo pridobljeno gensko spremenjeno rastlino so nato poimenovali GR2 (angl. golden rice 2). Za zlati riž GR2 je svetovna zdravstvena organizacija (WHO) ugotovila, da bi že 72 g tega riža na dan pokrilo kar 50 % dnevne potrebe otrok po vitaminu A.

► PRIHODNOST ZLATEGA RIŽA

Z zlatim rižem je bil brez dvoma najrejen eden izmed ključnih korakov na področju rastlinske biotehnologije in genskega inženiringa. Ne

Slovarček uporabljenih pojmov

aldehidi – Organske spojine s končno karbonilno skupino –CHO; aldehidi nastajajo z oksidacijo primarnih alkoholov in se naprej oksidirajo v karboksilne kisline.

DNK (angl. DNA) – Dolga molekula, ki nosi genski zapis, spravljen v dveh prepletenih vijačnicah DNK; vsaka človeška telesna celica vsebuje 46 dvojnih vijačnic DNK.

encim – Beljakovina ali beljakovinski kompleks, ki katalizira biokemične reakcije v živih ali neživih sistemih, kar pomeni, da uravnava hitrost in smer teh reakcij, pri čemer se sam ne porablja in se trajno ne spremeni.

endosperm – Tkivo v semenih večine cvetnic, ki obdaja zarodek in mu zagotavlja hrano (običajno v obliki škroba, čeprav lahko vsebuje tudi maščobe in beljakovine), zato je tudi pogost vir hranil za ljudi.

gen – Odsek na molekuli DNK, ki kodira praviloma eno beljakovino ali eno molekulo RNK.

karotenoidi – Naravni pigmenti, ki jih najdemo v različnih organizmih (predvsem v rastlinah); znanih je okoli 600 vrst karotenoidov, ki se naprej delijo na karotene (oranžni) in ksantofile (rumeni).

nočna slepota – Stanje, pri katerem se oči težko prilagajajo šibki svetlobi (prizadete osebe ne morejo razlikovati slike pri nizki stopnji osvetlitve).

plazmidna DNK (plazmid) – Samostojne, zunajkromosomske molekule DNK, ki se samostojno podvajajo. Plazmidna DNK je dvoverižna in ima obliko sklenjenega obroča. Bakterijski plazmidi velikokrat nosijo gensko informacijo za proteine, ki dajejo bakteriji neko značilno, včasih tudi obrambno značilnost. Prav s tega vidika so zanimivi za biotehnologijo, saj je vanje mogoče vstaviti vključke tuje DNK.

prekurzor – Ta izraz v biokemiji označuje neko izhodno spojino, iz katere lahko v metabolizmu nastane neka druga spojina.

glede na vse pa bo treba raziskati še kar nekaj neznank. Tako bo najprej treba ugotoviti, kako poteka jo procesi razgradnje karotenov v našem organizmu in kako kuhanje



🔗 Primerjava zrn divjega tipa riža *Oryza sativa*, GR1 in GR2 (Prirejeno po: Golden Rice Project)

(oz. povišana temperatura) vpliva na stabilnost b-karotena. Glede na to, da so uporabljene metode izdeljive, pa se znanstveniki ukvarjajo tudi z izboljšanjem hranilne vrednosti drugih rastlin, s povečanjem izražanja drugih vitaminov in nekaterih mineralov ter kovin (cinka, železa itn.).

Zlatega riža za zdaj na trgu še ni. Prvo polje s semeni GR2 so leta 2004 v sodelovanju s strokovnjaki tamkajšnje univerze posadili v Louisiani, ZDA. Polja, namenjena nadaljnjim raziskovanjem, danes najdemo tudi v JV Aziji, v Indiji in na Filipinih (glej članek na str. ??). Prav tam so letos po več kot desetletju nasprotovanj in vročih razprav končno odobrili kultiviranje, kar je posledica odločitve filipinskih oblasti, da dovolijo masovno vzgojo

tovrstnega riža. Če gre verjeti napovedim, se jim bodo kmalu pridružili tudi v Bangladešu in Indoneziji.

Kljub vsemu pa so z uporabo zlatega riža še vedno prisotni etični pomisleki. Nihče ne ve, kakšen bo v primeru masovne pridelave njegov vpliv na okolje. Znano je namreč navzkrižno oprraševanje gensko spremenjenih in gensko nespremenjenih rastlin, ki lahko vpliva na biološko raznovrstnost in do katerega prihaja kljub strogi zakonodaji in inšpekcijskemu nadzoru v nekaterih državah, kjer gojijo gensko spremenjene rastline. Nekateri kritiki so mnenja, da bi sredstva, namenjena razvoju zlatega riža, lahko bolje uporabili za tradicionalne ukrepe pri zmanjševanju pomanjkanja vitamina A. Naravovarstvena organizacija Greenpeace pa napoveduje, da bo zlati riž v finančno odvisnost spravil na milijone revnih kmetov, čeprav raziskovalci zagotavljajo, da se bo s semeni lahko prosto razpolagalo in da ta ne bodo sterilna.

Čeprav je pomislekov glede zlatega riža kar precej, pa je imel njegov razvoj nedvomno velik vpliv na napredek biotehnologije, ki je trenutno ena izmed najhitreje razvijajočih se vej znanosti na svetu.

🔗 Zrna zlatega riža GR2 (Vir: Food Product Design)



VIRI IN LITERATURA

- ▶ S. Al-Babili in P. Beyer: Golden Rice – five years on the road – five years to go? V: Trends in Plant Science. 10 (2006) b12, str. 565–573.
- ▶ T. Lenče, S. Božič, A. Lukan: Zlati riž – hrana, ki rešuje milijone? Slovenski kemijski portal. [online]. [Datum zadnjega popravljanja 16. jun. 2007]. [citirano 28. jul. 2013]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.kemija.org/index.php/kemija-mainmenu-38/24-kemijacat/271-zlati-ri-hrana-ki-reuje-miljone>
- ▶ http://en.wikipedia.org/wiki/Golden_rice [citirano 29. jul. 2013].
- ▶ R. Boyer: Temelji biokemije, 1. natis; Ljubljana, Študentska založba, 2005.
- ▶ R. Black et al.: Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. V: The Lancet, 371 (2008) 9608, str. 253.
- ▶ S. Romer, P. D. Fraser, J. W. Kiano et al.: Elevation of provitamin A content of tomato plants. V: Nature Biotechnology, 18 (2000), str. 666–669.
- ▶ G. Tang, J. Qin, G. G. Dolnikowski, R. M. Russell, M. A. Grusak: Golden Rice is an effective source of vitamin A. V: American Journal of Clinical Nutrition, 89 (2009) 6, str. 1776–83.
- ▶ D. Dawe, R. Robertson in L. Unnevehr: Golden rice: what role could it play in alleviation of vitamin A deficiency?. V: Food Policy, 27 (2002) 5–6; str. 541–560.

SPLETNI NASLOVI

- ▶ <http://www.goldenrice.org/> uradna spletna stran projekta Zlati riž
- ▶ <http://www.philrice.gov.ph/> uradna spletna stran filipinskega inštituta za raziskave riža
- ▶ <http://www.who.int> uradna spletna stran Svetovne zdravstvene organizacije (WHO)

oglas
(višina: 106 mm)