

Anteckningar till PPT 4

Växtförädling och djuravel

1-2

Undervisningsmaterialet har tagits fram av Gentekniknämndens kansli och Nationellt resurscentrum för biologiundervisning (2024). Gentekniknämnden är en myndighet som ska sprida kunskap om genteknik samt överse en etisk användning av genteknik. Mer information finns på www.genteknik.se.

Detta är del 4 i föreläsningsserien CRISPR/Cas9 och den gentekniska revolutionen.

3

Lärandemål PPT 4:

- Ge exempel på olika förädlingsegenskaper/avelsmål utifrån ett hållbarhetsperspektiv.
- Förstå skillnader och likheter mellan olika typer av växtförädling.
- Förklara hur *Agrobacterium* används i växtförädling.
- Förklara innebörden i begreppen transgenes, cisgenes, riktad mutagenes respektive genomredigering.
- Redogöra för fördelar och nackdelar eller utmaningar i användning av CRISPR/Cas i växtförädling.
- Ge något aktuellt exempel från växtförädlingen eller djuraveln där man använt sig av CRISPR/Cas för att uppnå önskade förädlingmål/avelsmål.
- Förstå syftet med lagstiftningen inom området, hur nuvarande lagar/EU-direktiv ser ut samt vilka undantag som finns och vad de nya förslagen innebär där NGT1 och NGT2 behöver vara bekanta begrepp.

Innehållet kan kopplas till:

Ämnesplanen i biologi för grundskolan

- Kunskaper om biologins begrepp och förklaringsmodeller för att beskriva och förklara samband i naturen och människokroppen.
- Förmåga att använda biologi för att granska information, kommunicera och ta ställning i frågor som rör miljö och hälsa.

Centrala innehållet i biologi för åk 7-9

- Livets uppkomst, utveckling och mångfald samt evolutionens mekanismer. Arvsmassans egenskaper och förhållandet mellan arv och miljö.

Ämnesplanen i biologi för gymnasiet

- Kunskaper om biologins begrepp, modeller, teorier och arbetsmetoder samt förståelse av hur dessa utvecklas.
- Kunskaper om biologins betydelse för individ och samhälle.

Centrala innehållet i biologi 1

- Eukaryota och prokaryota cellers egenskaper och funktion.
- Arvsmassans uppbyggnad samt ärftlighetens lagar och mekanismer. Celldelning, dna-replikation och mutationer.
- Genernas uttryck. Proteinsyntes, monogena och polygena egenskaper, arv och miljö.
- Genetikens användningsområden. Möjligheter, risker och etiska frågor.

Centrala innehållet i biologi 2

- Cell- och molekylärbiologins användningsområden. Möjligheter, risker och etiska frågor.

4

Några viktiga begrepp att känna till:

- Vi säger genomredigering och inte genredigering. Det är samma sak, men det är mer korrekt att säga genomredigering eftersom det inte alltid är gener som ändras.
- Gensaxar är de verktyg som används för genomredigering
- Ibland skriver vi CRISPR/Cas och 9:an "saknas", det beror på att fler Cas-enzym kan användas
- CRISPR/Cas9 är den absolut vanligast gensaxen och den vi kommer att fokusera på.

5

- På bilden ses några exempel på resultat från användningen av CRISPR/Cas9 i förädling och avel. Se också senare i presentationen och på Gentekniknämndens webbplats.

6

- Nästan allt vi äter är resultat av urval, förädling eller avel. De processerna utnyttjar den genetiska variationen vilken ligger till grund för variationen i egenskaper, och när vi väljer eller aktivt förädlar eller avlar på en viss egenskap leder det till att en viss genetisk uppsättning favoriseras. Över tid sker en genetiskt förändring/modifiering hos grödan eller djuret.
- I gamla målningar, särskilt stilleben, kan vi få en ögonblicksbild av hur frukt och grönsaker såg ut vid tiden för målningens tillkomst. På bilden ser vi ett

par vattenmeloner, som kommit lång väg från den ursprungliga lilla hårda och bittra frukten om ca 5 cm i diameter som växte i södra Afrika, men som ändå är ganska långt från dagens vattenmelon.

7

Låt eleverna diskutera frågorna:

- Varför kan förädling och avel vara särskilt viktigt idag?
- Vilka nya egenskaper tror du framtidens grödor och lantbrukets djur behöver?
- Låt eleverna diskutera en stund innan de följande fyra bilderna visas, där förslag på svar finns.

8

1) Jordbruket måste anpassas till klimatförändringarna

- Den globala uppvärmningen och klimatförändringarna (se IPCC-rapporter: <https://www.ipcc.ch/reports/>) leder till längre och allvarigare perioder av torra och vattenbrist. I stora delar av världen väntas mindre mängd regn, vilket ofta leder till lägre jordfuktighet. Det i sin tur påverkar kraftigt jordbrukets produktivitet. Vattenbrist orsakar dålig tillväxt och lägre skörd.
- I andra delar av världen väntas i stället ökad nederbörd. Vattenmättad mark leder till syrebrist och växter dör under sådana förhållanden. Det är också stor risk för översvämningar i havsnära och lågt liggande områden, vilket inte sällan påverkar bördiga deltaområden. Här riskerar salt havsvatten översvämma åkermark, vilket leder till försaltning av jorden. Få växter tål salt – de flesta påverkas mycket negativt och kan inte utvecklas normalt eller dör. Sammantaget betyder det att mycket mark inte längre kommer att vara bördig och odlingsbar inom en snar framtid.
- Ett förändrat klimat med högre temperatur gynnar också olika sjukdomsalstrande organismer, samtidigt som växter och djur blir mer mottagliga om de redan är stressade av hög temperatur och andra abiotiska faktorer. Risken ökar för att nya sjukdomar uppkommer och blir pandemiska.

9

2) Jordbruket måste föda fler människor

- Antalet människor på jorden väntas öka kraftigt (<https://ourworldindata.org/population-growth>). Enligt FN:s prognos förväntas vi öka från dagens 8 miljarder människor till 9-10 miljarder år 2050. Den allra största ökningen väntas i Afrika. Redan idag går 1 miljard människor hungriga och drabbas av näringsbrist. Barn växer inte som de ska, och det är risk för ökad barnadödlighet. För att mätta alla människor krävs en ökning i matproduktion om 70 procent till 2050.
- Från 1950 och fram till idag har jordbrukets produktivitet ökat flera gånger om. Detta är mycket tack vare växtförädling, men också utvecklingen av mineralgödsel, bekämpningsmedel och konstbevattning.

10

3) Jordbruket måste minska sin miljöpåverkan

- Produktiviteten i jordbruket måste alltså fortsätta att öka, samtidigt som dess fotavtryck måste minska.
- Idag står matproduktionen för en fjärdedel av växthusgasutsläppen men jordbruket orsakar också andra problem, som minskad biodiversitet, utarmning av jorden, övergödning av vattendrag och miljö- och hälsoproblem från användningen av bekämpningsmedel.
- <https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food>
- <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aag0216>

11

4) Vilka nya egenskaper behöver framtidens grödor och lantbrukets djur?

- Vad kan man då önska från förädling och avel? Exempel nämns på sidan, men det finns förstås många andra också.
- Inom avel och förädling måste man jobba långsiktigt, eftersom processerna tar lång tid. Vi måste alltså bestämma nu vad vi ska odla om 10–20 år.

12

- Människan har förändrat växter och djur under tusentals år, genom domesticering. När människan blev bofast och började bruka marken för omkring 10 000 år sedan samlade man och valde ut de växter som hade egenskaper som passade odling. Växterna hade kanske frön om inte föll av så lätt eller större och matigare frön. Efter hand började de växter människan odlade skilja sig från de vilda. Urval gav oss olika varianter av grödor och lantbrukets djur.
- Växterna och djuren blev domesticerade – de hade övergått från en vild till en av människan påverkad form. Detta är en slags evolutionsprocess som är driven av människans urval.
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/vaxtforadling/>

13

- Karta över några exempel av olika växter och var och när de domesticerades.
- *Evolution, consequences and future of plant and animal domestication* <https://www.nature.com/articles/nature01019>
- [PDF] *Evolution, consequences and future of plant and animal domestication* | Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Evolution-of-Animal-Domestication-Larson-Fuller/9986de734f51ca0236b2be25b1d3796ed40614a7>

- *The Domestication Makeup: Evolution, Survival, and Challenges*: www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2020.00103/full
- *Agricultural production statistics 2000–2022 (fao.org)*: <https://www.fao.org/3/cc9205en/cc9205en.pdf>

14

- Karta över några exempel på var och när olika djur domesticerades.
- *The Domestication Makeup: Evolution, Survival, and Challenges*: www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2020.00103/full

15

- Majs domesticerades i Mexiko från den vilda majs-släktingen teosint (*Zea mays mexicana*).
- Många olika egenskaper skiljer idag majs och teosint (se bild). I och med utvecklingen av modern genetik och molekylärbiologi kan man numera ta reda på vilken eller vilka genetiska skillnader som ligger bakom olika egenskaper.
- Man har till exempel identifierat den gen som utsattes för selektion och som leder till att majs inte är så förgrenad som teosint (genen kallas *Teosinte branched 1, Tb1*). Tb1 förhindrar aktivering av sidoskott, och majsen har ett ökat genuttryck av *Tb1* jämfört med teosint. Mer Tb1 leder till färre sidogrenar, och majscolvarna utvecklas nära stammen på en modern majs, som därför kan odlas relativt tätt.

16

- Vitkål, kålrabbi, brysselkål, broccoli och blomkål kommer alla från vildkålen (*Brassica oleracea*).
- I till exempel blomkål har en mutation i en gen som styr utvecklingen av blommor selekterats för. Blomkålen blommar och också själva blomställningens utveckling avstannar i tidigt stadium. Blomkålen domesticerades relativt nyligen och introducerades till Europa i slutet av 1400-talet.
- *Flower Development: Origin of the cauliflower*: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982295000728>

17

- Genetisk variation, och därmed en stor uppsättning av olika egenskaper, är viktigt för fortsatt förädlings- och avelsarbete. Det är därför viktigt att bevara en stor diversitet, inte bara av olika arter, utan också av olika varianter av olika arter. Detta görs i fröbanker.
- Det finns lokala fröbanker, men flera har förstörts i konflikter eller av naturkatastrofer. Det globala frövalvet på Svalbard (också kallat Domedagsvalvet)

har ambitionen att på ett säkert sätt bevara växtarter och varianter från hela världen.

- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genetik/genetisk-variation/>

18

- Vetenskapen växtförädling kan sägas ha inletts med avsiktliga korsningar under 1700-talet. År 1865 beskrev Mendel ärftlighetens lagar, och under 1900-talet har växtförädlingens olika tekniker och metoder utvecklats mycket.
- Växtförädling är en vetenskap för att ta fram nya växtsorter. I listan nedan beskrivs viktiga upptäckter:
 - 1700-talet: Avsiktlig korsningsförädling av växter påbörjas
 - 1865: Mendel beskriver principerna för ärftlighet
 - 1908: Fördelen med hybridkorsningar upptäcks
 - 1922: Vävnadskultur utvecklas, som gör att en växt kan klonas
 - 1928: Första mutationsförädlingen i växter
 - 1937: Colchicin för kromosomfördubbling
 - 1940-talet: Början av den Gröna Revolutionen
 - 1953: DNA-strukturen beskrivs
 - 1972: Protoplaster, växtceller utan cellvägg, kan slås ihop
 - 1983: *Agrobacterium*-medierad genetisk modifiering
 - 1994: Första genetiskt modifierade växten på marknaden
 - 2000: Första växtgenomet sekvenseras, *Arabidopsis thaliana*, backtrav
 - 2013: CRISPR/Cas9 används i växter

Exemplen på bilden tas upp mer i detalj på följande sidor:

- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/vaxtforadling/>
- Se även PPT 2.
- *Genetic Variation and Unintended Risk in the Context of Old and New Breeding Techniques*: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07352689.2021.1883826>

19

- I korsningsförädling korsas en individ med en annan för att föra över anlag för en eller flera önskade egenskaper. Till exempel kan en redan förädlad elitvariant, med många goda egenskaper vara känslig mot en specifik sjukdom eller ge lite sämre tillväxt. Om man kan identifiera en annan variant som är sjukdomsresistens/växer snabbare kan anlaget föras över via korsning. Detta gäller både växter och djur.

- Korsning innebär dock att alla anlag från de två individerna blandas (illustrerat med bild av en kromosom, där olika anlag visas längs kromosomen – elitvarianten har blå anlag, och donatorn har gula, eller röda). För att inte tappa goda anlag måste därför avkomman korsas tillbaka till elitvarianten. Avkomman från den korsningen måste sedan åter korsas till elitvarianten, och detta måste upprepas under ett antal generationer. I det arbetet måste man förstås hålla koll på alla goda egenskaper man önskar behålla i elitvarianten, och dessutom förstås också sjukdomsresistensen. Ofta används genetiska selektionstekniker.
- Korsningsförädling är mycket viktig metod, men den tar lång tid. Den kräver också genetisk variation inom arten, så det går att finna till exempel sjukdomsresistens. I korsningsarbetet riskerar också goda egenskaper förloras i elitvarianten och man riskerar också att få in icke önskade egenskaper från den individ man korsar med. Särskilt besvärligt är att korsningsförädla arter som vanligen förökas vegetativt, som potatis eller banan. Extra besvärligt blir det också om grödan är polyploid, alltså har fler än två genomuppsättningar. Potatis är tetraploid och banan triploid, och har alltså fler komplikationer.

20

- Istället för att korsa med en donator (korsningsförädling) kan man använda elitvarianten och försöka mutera den.
- Den genetisk variationen i ett förädlingsmaterial kan mångfaldigas om det utsätts för strålning eller kemikalier som kan orsaka förändringar i DNA. Detta är illustrerat med en bild av en kromosom, där mutationer visas som små röda pilar. Den icke-mutageniserade kromosomen är blå, den mutageniserade lila. Man kan söka efter önskad egenskap i det växtmaterial som mutageniseras.
- Under 1920-talet upptäckte forskare att strålning ökar variationen i förädlingsmaterialet. På 1940-talet började även mutagena ämnen att användas för att öka den genetiska variationen. Mutationsförädling, där strålning eller mutagena ämnen används, var särskilt populärt under 1950- och 1960-talet, inte minst i Sverige.
- De här mutagenesmetoderna är dock som ett skott i mörkret. De leder till slumpmässiga mutationer över hela växtens genom och tidigare var man tvungen att vänta till dess plantorna växt upp för att avgöra vilka växtmutanter som bar på intressanta egenskaper. Under 1980-talet började intresset för mutationsförädling att avta, men vid millenniumskiftet introducerades en ny metod, TILLING, och i och med det ökade intresset igen. TILLING-metoden innebär att man med hjälp av DNA-analyser på ett tidigt stadium kan välja ut intressanta mutanter. Därmed snabbades processen upp avsevärt.
- Idag är det oftast det mutagena ämnet etylmetansulfonat (EMS) som används, kombinerat med TILLING. Tekniken är dock ändå tidskrävande, eftersom återkorsning krävs för att minska mängden oönskade mutationer i genomet.
- Växter som muterats med strålning eller mutagena ämnen leder enligt EU:s GMO-lagstiftning till en genetiskt modifierad organism (GMO), men undantas reglering. De behandlas alltså inte på något annat sätt än resultat efter en korsning mellan till exempel två vetesorter.

21

- I dag är många grödor, frukt och grönsaker förädlade med mutationsförädling, i något steg av processen. Databasen "Mutant Variety Database" <https://nu-cleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Home.aspx> som drivs av IAEA och FAO registrerar mutageniserat växtmaterial på frivillig basis. Här kan man få statistik och exempel på mutageniserade grödor. Grafen är därifrån.
- Trots att mutationsförädlade växter ger en genetiskt modifierad organism (GMO) är dessa tillåtna inom ekologisk odling, som annars förbjuder GMO. Det beror på att mutationsförädlade växter har en lång historia och väldigt många av de sorter som odlas idag är i något steg förädlade med den tekniken.

22

- Korsnings- och mutationsförädling gav en stor produktionsökning under den Gröna Revolutionen på 1950- och 60-talet
- Den aktiva och systematiska växtförädlingen som tog fart under 1940-talet gav högvakastande sorter, alltså sådana som gav mycket mer mat än tidigare sorter. Till exempel förädlades kortstråigt vete och kortstråigt ris fram under den här tiden. Kort strå gör att gräset inte lägger sig vid regn och blåst. Det gör också att mindre energi behöver läggas på stam och blad och mer kan läggas på axet.
- Utvecklingen av mineralgödsel, växtskyddsmedel (bekämpningsmedel) och konstbevattning var också bidragande faktorer. Den här ökningen i produktivitet inom jordbruket var så stor att den har kommit att benämnas Den Gröna Revolutionen.
- Förädlaren Norman Borlaug var en drivande person i utvecklingen av nya sorter, särskilt för användning i utvecklingsländer. Han fick Nobels fredspris 1970 för att ha ökat världens matproduktion.
- <https://www.nobelprize.org/prizes/peace/1970/borlaug/biographical/>

23

- Jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens* började användas för att flytta in gener i växter på 1980-talet. I naturen orsakar *Agrobacterium* krongallsjuka, en sjukdom som yttrar sig som tumörartade utväxter på den infekterade växten.
- Det bakterien gör är att föra in sina gener för tillväxthormon och för ämnen som kallas för opiner i växtens genom. Generna för tillväxthormon gör att cellerna som bakterierna modifierat delar sig okontrollerat och de opiner som produceras ger bakterierna näring.
- *Agrobacterium* används för att genetiskt modifiera växter. De gener bakterierna för in i växtens genom byts då ut mot gener av intresse.
- DNA-sekvenser från vilken organism som helst användas. En växt kan till exempel modifieras med en bakteriegen, men en potatis som modifieras med en potatisgen är också en GMO. Anledningen till att det är möjligt är att alla

levande varelser är uppbyggda på samma sätt. DNA:t i en människa, en bakterie och en tussilago innehåller samma typ av byggstenar, nukleotider.

- En skillnad mellan korsningsförädling och genetisk modifiering är att med den senare tekniken kan enstaka egenskaper överföras från en växt till en annan. En DNA-sekvens, till exempel en gen, isoleras och inga andra gener följer med när DNA-sekvensen förs in i en grödas genom. Vid korsningsförädling blandas DNA:t från de två plantor som korsats och även oönskade gener dyker upp i avkomman.
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/tekniker/gentekniskt-modifiering-av-vaxter/>

24

- *Agrobacterium* infekterar en hel del olika växterarter, till exempel forskarnas favoritmodellväxt, backtrav, *Arabidopsis thaliana*. För att backtrav ska infekteras och därmed bilda genmodifierade frön räcker det att doppa växtens knoppar i en bakteriesoppa när den precis ska börja blomma. (1)
- De flesta andra arter är betydligt mindre mottagliga och enhjärtbladiga växter, som ris, majs och vete, är relativt motståndskraftiga mot *Agrobacterium*-infektion. För att kunna infektera mer motståndskraftiga växter, eller för att infektera växtceller utan att växten behöver gå i blom och bilda frön, så kan man använda cell- och vävnadsodling. Då låter man *Agrobacterium* infektera celler av bladbitar eller tunna stammar. De sterila växtbitarna samodlas med bakterier och odlas i burkar med näringsmedium. (2)
- Vissa växter infekteras inte så lätt med den här bakterien. Då kan en genkanon som skjuter nanopartiklar av guld, täckta av det DNA man vill föra in i cellen, användas. Väl inne i cellerna kan DNA:t sedan integrera i växtens genom. Det är också ett sätt att föra in större DNA-bitar med flera gener, än vad *Agrobacterium* klarar av. (3)
- När växten transformerats, av bakterier eller genkanon, tillsätter man olika tillväxthormon för att först få växtcellerna att bora dela sig och ge upphov till en kallus, och sedan för att inducera rötter och sedan skott.
- Transgen – blir organismen när genen som introduceras kommer från en annan art som inte kan korsas med den art i vilken man introducerar genen. (Växter kan ibland korsas över artgränsen, i djur ingår i definitionen av en art att den inte kan korsa sig med en annan art.)
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/tekniker/gentekniskt-modifiering-av-vaxter/>

25

- Genetiskt modifierade organismer med en gen från en icke-korsningsbar art kallas för transgena.
- Odling av transgena växter i världen 2019. Statistik från ISAAA (<https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>). I denna databas kan man söka efter godkän-

da GMO och här hittar man också många nyheter om ämnet.

- Tobak och petunia var först att genetiskt modifieras, 1983.
- 1994 kom den första transgena växten på marknaden, en tomat med förlängd hållbarhet.
- Mer om Bt-teknik på nästa sida.

26

- Bt-teknik ger insektsresistenta grödor
 - Introduktion av genen Cry från jordbakterien *Bacillus thuringiensis*.
 - CRY-proteinet orsakar porer i tarmen och dödar fjärilslarver som äter på växten.
 - Bt-teknologi används till exempel i olika GMO-majs eller GMO-sojaböna. Grödorna är säkra att äta för människor och för djur som får majsen eller sojabönan som foder.
 - Att spraya med *Bacillus thuringiensis* är tillåtet i ekologisk odling.
- **Bt-Brinjal – insektsresistent aubergin**
 - Godkänd för kommersiell användning i Bangladesh 2014.
 - 2019: 39 % mindre mängd pesticider och 43 % lägre risk för förgiftning. Större avkastning.
 - 2020: > 31 000 bönder odlar Bt-Brinjal i Bangladesh.
 - 2022: Filippinerna har godkänt kommersiell odling av Bt brinjal.
- Gentekniknämnden: <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/genmodifierade-grodor/insektsresistenta-grodor/>
- Bt Eggplant Resource - ISAAA.org: <https://www.isaaa.org/resources/btegg-plant/default.asp>
- **Det gyllene riset**
 - Utvecklades som biståndsprojekt redan under 1990-talet
 - Ris som kan producera beta-karoten, som i kroppen omvandlas till Vitamin A. Vitamin A-brist leder till blindhet och sjukdomskänslighet, och hos barn påverkar det utveckling och brist kan leda till döden.
 - Godkändes för odling i Filippinerna 2022.
- <https://goldenrice.org/>
- **Torktåligt vete**
 - Det första genetiskt modifierade vetet godkändes 2020 i Argentina.
 - Det är har fått en gen från solros som gör det tolerant mot torka.
 - Vetet kan producera upp till 20 % mer än konventionellt vete under torra och varma förhållanden.

- <https://www.esmmagazine.com/supply-chain/argentina-gambles-on-gm-wheat-as-war-drought-hit-global-crops-207942>

27

- Med CRISPR/Cas9-teknik kan befintligt DNA ändras i cellen. Man behöver alltså inte föra in nytt DNA, till exempel en ny gen som har beskrivits i tidigare exempel
- Det går dock att använda CRISPR/Cas9 till att föra in nytt DNA, men det är inte det vanligaste användningsområdet.
- Det hittills vanligaste och enklaste förfarandet är att stänga av en gen. När Cas9 klipper av en DNA-sekvens så induceras en mutation, en eller ett fåtal baspar försvinner eller tillkommer. Det leder till att läsramen ändras och ett stoppkodon kommer att dyka upp i sekvensen vilket i sin tur leder till att det fullständiga proteinet inte tillverkas. I praktiken blir det som att genen har stängts av. En riktad mutation har uppstått.
- Det går också att ändra en specifik mutation och på så sätt ”korrigera” en mutation genom att föra in en mall till lagningen. Men CRISPR/Cas9 är lite klumpigt eftersom utfallet av mutationen inte är helt lätt att styra (se PPT 3 om homologistyrd reparation). Den tekniken är fortfarande i sin linda.
- En mall kan också vara en längre DNA-sekvens än den ursprungliga, det är alltså möjligt att även föra in nytt DNA, t.ex. en gen, med CRISPR/Cas9, men det är inte det enklaste och inte det vanligaste användningsområdet.
- Tekniken utvecklades och publicerades av Jennifer Doudnas och Emmanuelle Charpentiers forskargrupper, 2012 i Science. Redan 2013 användes tekniker i växter och 2020 fick de Nobelpriset i kemi för sin upptäckt.
- Se PPT3 för utförligare beskrivning av tekniken och var dess ursprung som försvarsmekanism mot virus hos bakterier.
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/tekniker/genomredigering/>

28

- Med gensaxen CRISPR/Cas9 kan en mutation riktas mot en specifik gen, till exempel en gen som gör växten känslig och mottaglig för en specifik sjukdomsorsakande organism.
- Här startar man med elitvarianten och använder vävnadsodling – man tar elitvariantens celler och odlar upp i näringsmedier till det man kallar för kallas/calli.
- Till dessa celler tillsätter man CRISPR-systemet. Antingen med genkanon (guldpartiklar skjuts mot cellerna) eller med hjälp av *Agrobacterium* som levererar in CRISPR/Cas9 in i växtcellerna. (Mer om det på bild 31)
- Väl där inne i växtcellerna kan redigeringen ske. Med hjälp av guide-RNA klipper Cas9 i den gen man vill redigera.

- Ett reparationssystem sätter ihop dubbelsträngsbrottet och i och med det blir det oftast en mutation som gör att genen tappar sin funktion.
- På en generation kan vi få en "elitvariant 2.0" på detta sätt.
- Tekniken förutsätter en mycket god kunskap om de mekanismer som reglerar en viss egenskap, så att en eller flera mutationer kan riktas till rätt ställen i genomet.
- Den blå "kedjan" nedanför bilden av växten representerar en kromosom, och den röda pilen en redigering med CRISPR/Cas9.

29

- Det andra sättet att använda gensaxen är att introducera en ny gen i dubbelsträngsbrottet. Det kräver att man introducerar en mall och på så vis kan man göra en riktad insättning av ny sekvens i genomet.
- Här startar man också med elitvarianten och använder vävnadsodling – man tar elitvariantens celler och odlar upp i näringsmedier till det man kallar för kallus/calli.
- Till dessa celler tillsätter man också CRISPR-systemet. Antingen med genkanon (guldpartiklar skjuts mot cellerna) eller med hjälp av *Agrobacterium* som levererar in CRISPR in i växtcellerna. (Mer om det på bild 31)
- Väl där inne i växtcellerna kan redigeringen ske. Med hjälp av guide-RNA klipper Cas9 i den gen man vill redigera.
- Skillnaden här mot det förra exemplet är att det förutom ett reparationssystem som sätter ihop dubbelsträngsbrottet finns det en mall som gör att det klistras in en bit DNA av önskad längd/sekvens. Den sekvens man vill föra in flankeras av sekvens som är homolog med sekvensen runt dubbelsträngsbrottet
- Om denna DNA-sekvens som klistras in kommer från samma art/korsningsbar art som elitvarianten kallas detta för cis-genes, om det är från en annan, icke-korsningsbar, art för trans-genes.
- Det här är utmanande och det finns inte många exempel på där detta gjorts ännu. Resultatet kan liknas vid resultatet av en korsning om man introducerar en gen från en korsningsbar art.

30

- Varför är det relevant att använda en teknik som CRISPR/Cas9 inom förädling och avel? Låt eleverna fundera på för-och nackdelar.
- Några fördelar:
 - Tekniken är ofta snabbare än andra konventionella tekniker, och ger ofta snabbare resultat än andra konventionella tekniker.
 - Med CRISPR/Cas9 kan mutationer göras i en gen som man vet har effekt på en egenskap. Den allelen måste inte finnas naturligt i populationen (som

- den ju måste vid korsningsförädling), eller uppkomma via mutationsförädling.
- Flera olika mutationer kan åstadkommas utan att kräva korsning. Man kan alltså tillföra/ändra fler olika egenskaper samtidigt.
 - Vilka är utmaningarna?
 - För att kunna rikta en mutation mot en viss gen, för att ändra en viss egenskap, måste man ha mycket god kännedom om mekanismerna som reglerar den egenskapen.
 - Tekniken kräver att CRISPR/Cas9 förs in i cellerna – det kan vara svårt, och hos växter krävs oftast ett steg av vävnadskultur.
 - Det kan vara svårt att veta om alla celler i en organism eller vävnad har redigerats.
 - Det finns risk för icke-önskade mutationer. Den risken är dock lägre än med slumpvis mutagenes.

31

- *Agrobacterium tumefaciens* kan precis som tidigare exempel användas för att leverera CRISPR/Cas9 till växten. Bakterien kan föra över gener för både Cas9 och guideRNA:t. De integreras i växtens genom, uttrycks och gör den önskade genomredigeringen. Växten blir därmed transgen i ett mellansteg.
- Växten blir transgen när generna för Cas9 och guideRNA integreras. För att undvika att slutprodukten blir transgen måste de korsas bort.
- Att skjuta in verktygen direkt är ett sätt att undvika ett transgent mellansteg och att behöva korsa växten. Då levereras proteinet Cas9 och guideRNAt direkt i växtcellen. Det görs ofta genom att små guldpartiklar, nanopartiklar, täcks med proteinet och RNAt och därefter skjuts in i cellerna. Då kan Cas9/guideRNAt direkt verka i cellerna.
- Eftersom vare sig Cas9 eller guideRNAt kan återbildas i cellerna och de har en begränsad stabilitet kommer de efter hand brytas ner och också spädas ut vid celldelning. Cas9 och guideRNAt bryts ner efter hand i växtcellerna. CRISPR/Cas9 klipper men ingen ny gen har integrerats i växtens genom.
- Summerar vi de olika teknikerna för växtförädling på hur vi kan få fram en elitvariant ser vi att det finns två begrepp inlagda här:
- ”Konventionella tekniker” – det är de som förekommit längst tid – korsningsförädling och mutationsförädling.
- ”Nya genomiska tekniker” – förkortas NGT – är dessa med genomredigering och cis/trans-genes.
- Genteknik med CRISPR/Cas9 kan alltså användas på lite olika sätt.
- Oavsett vilken teknik man använder så behöver man göra testodlingar, så kallade fältförsök för att kontrollera att grödan fungerar i den miljö man tänkt odla.

- Oavsett vilken teknik man använder så finns olika risker man behöver ta ställning till:
 - Har den nya egenskapen påverkat någon annan egenskap än den vi avsett och eventuellt orsakat sämre näringsvärde? (så kallad "off-target"-problematik)
 - Kan den nya egenskapen spridas till vilda släktingar och eventuellt orsaka ekologiska problem?
- Se gärna rollspelet Risonia som lyfter denna problematik.

32

- Databasen EU-SAGE (<https://www.eu-sage.eu/genome-search>) samlar vetenskapliga artiklar där genomredigering använts på olika växtarter. Här kan man söka efter studier som fokuserar på olika egenskaper, man kan söka efter specifika arter, och man kan se vilka länder som bidrar med många studier. Man kan också se vilken teknik som använts – majoriteten är CRISPR/Cas - och vilken typ av genomredigering som gjorts.
- Cirkeldiagrammet är gjort i september 2023, och reflekterar de 790 studier som fanns i databasen vid den tidpunkten.
- Förkortningar som används i databasen:
 - En SDN1-redigering (site directed nuclease 1) är en ändring där inget DNA-templat tillförts utan där cellen själv generat mutationen – dessa är i tydlig majoritet bland studierna.
 - SDN2 är sådana där ett template förts in för att styra mutationens utseende, men utan att en hel gen eller annat större fragment förts in.
 - SDN3 innebär att ett större fragment förts in, till exempel en ny gen (kan leda till cis-eller transgenesen).

33

- På kommande bilder beskrivs några exempel på CRISPR/Cas9 inom växtförädling och djuravel:
 - Bladmögel på potatis
 - Kortväxt majs
 - Bananer som inte blir bruna
 - Cyanidfri kassava
 - Rödbrax som växer snabbare
 - Tomater med mer GABA
 - Grisar med skydd mot sjukdom
 - Kor med ökad värmetolerans
 - Könbestämning av ägg

34

- Potatis drabbas i huvudsak av en allvarlig sjukdom: bladmögel. Den orsakas av oomyceten (algsvampen) *Phytophthora infestans*.
- *Phytophthora* infekterar potatis, och initialt går infektionen under radarn, ända tills den triggar växtens totala försvar och hela plantan kan bli sjuk och förstörs på mycket kort tid.
- Bladmögel orsakade det stora skördebortfallet i Irland, men också andra länder, på 1840-talet. Det ledde till att uppskattningsvis en miljon irländare dog av svält och att lika många emigrerade till Amerika.
- Även idag orsakar bladmögel stora skördebortfall i stora delar av världen. Därför besprutas potatis med svampmedel i preventivt syfte flera gånger under säsongen. Det är inte ovanligt att svenska potatisfält besprutas upp emot 10 gånger på en säsong.
- Besprutning med fungicider är inte tillåtet inom ekologisk odling.
- Mycket vore vunnet, både miljömässigt och ekonomiskt, om en potatis som är motståndskraftig mot potatisbladmögel kunde tas fram.
- Växtskyddsrådet har tagit fram en rapport där man kan läsa mer om potatis och växtskyddsmedel, och hur nya genomiska tekniker som CRISPR kan användas för att nå ett sådant mål, och vilken betydelse det kan få för möjligheten att minska användningen av bekämpningsmedel vid potatisodling (men också odling av vete).
- Möjliga tillämpningar av nya genomiska tekniker inom integrerat växtskydd (slu.se), <https://publications.slu.se/?file=publ/show&id=122346>

Känslighetsgener och resistensgener (fördjupning)

- Vissa gener, känslighetsgener (sensitivity genes, S-gener) krävs för växt-patogen interaktion och för växtens försvarsreaktion.
- Det finns två strategier för att ge resistens, att slå ut S-faktorer eller tillföra R-faktorer (se vidare på kommande bild):
- En patogen känner igen en växt genom olika S-faktorer. Den här typen av proteiner fungerar i växt-patogen-interaktion.
- En patogen använder ofta S-faktorer för att ta sig in i växten, för att trycka undan växtens försvar, för att få tag i näring, och så vidare.
- *Susceptibility reversed: modified plant susceptibility genes for resistance to bacteria* – ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138521002053>
- S-faktorer är generella och ofta evolutionärt konserverade. Om en sådan muteras innebär det att växten får ett brett spektrum av resistens mot patogener, men inte sällan kommer det med en kostnad för växten i form av sämre tillväxt eller liknande.
- I en studie (länken nedan) har tre olika potatislinjer där olika S-gener slagits ut med hjälp av CRISPR/Cas9 genererats. Alla tre mutationerna gav resistens

mot bladmögel, och en av dem gav påverkan på tillväxt, men inte de andra två.

- Fältförsök bedrivs i Sverige med genomredigerad potatis.
- *Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes* / *Scientific Reports* (nature.com), <https://www.nature.com/articles/s41598-021-83972-w>
- Den andra strategin för växters försvar mot patogener involverar R-faktorer (resistensfaktorer).
- Till skillnad mot de mer generellt aktiva S-faktorerna är R-faktorer specifika receptorer som växten utsöndrar i sina celler, och som känner av specifika proteiner från specifika patogener.
- Om en växt har en sådan R-faktor har den i regel en stark resistens mot en specifik patogen. En växt kan ha många hundratals gener som kodar för olika R-faktorer, och de är i regel inte evolutionärt konserverade.
- De flesta vanliga potatissorter saknar R-faktorer mot Phytophthora infestans, men man kan finna R-gener hos nära släktingar till vanlig potatis.
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/genmodifierade-grodor/bladmogeltresistent-potatis/>

35

- Resistensförädling av potatis
- Potatis förökas i regel vegetativt, genom att man sätter potatisknölar. Det är mycket besvärligt att korsa potatis, även om det går, och det kompliceras ytterligare av att potatis är tetraploid – har fyra genomuppsättningar i stället för som vi människor som har två.
- De fyra genomuppsättningarna är också sinsemellan ganska olika – det finns alltså fyra alleler för varje gen hos potatis. Och om man vill behålla goda egenskaper efter en korsning är det mycket att hålla reda på.
- Det blir ännu krångligare om man önskar föra över en specifik egenskap från en släkting till vanlig potatis, som inte går att direkt korsa med vanlig potatis, men som kan korsas via en annan släkting. Vid varje korsning måste man komma ihåg att det sker omorganisationer, och rekombinationer.
- Ett betydligt enklare sätt är att isolera R-generna (se förra sidan) från potatissläktingen och sedan sätta in dem – antingen slumpmässigt via *Agrobacterium tumefaciens*, eller på ett specifikt ställe via CRISPR/Cas9. Då riskerar man inte att förlora goda egenskaper i den vanliga potatisen.
- Läs mer: <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/genmodifierade-grodor/bladmogeltresistent-potatis/>

36

- Växtförädlingsföretag arbetar med att få till en majs-sort som är mer kortväxt

än de elitsorter som odlas idag. Detta för att minska risken för stora skördebortfall vid storm och kraftigt regn, då majsen riskerar att brytas och lägga sig ner.

- Kortväxta sorter av vete och ris förädlades fram under den gröna revolutionen på mitten av 1900-talet. Därefter har man forskat på de mekanismer som reglerar om en växt blir lång eller kort. Man har idag en god bild av detta och vet att växthormonet gibberellin är centralt. Det hormonet reglerar hur mycket en växtcell sträcker på sig. Hos kortväxt vete och ris har känsligheten för hormonet minskats under förädlingen.
- Eftersom man vet hur detta reglerar arbetar nu växtförädlingsföretag med att påverka motsvarande gener hos majs med hjälp av CRISPR/Cas9, för att åstadkomma en kortväxt och stadig majsvariant.
- *How shrinking corn could help farmers—and the environment | Science | AAAS*, <https://www.science.org/content/article/shrinking-corn-help-farmers-environment>

37

- Mycket mat kasseras innan det når konsument. Det kan därför finnas mycket att vinna på att få till en bättre hållbarhet av särskilt känsliga varor. Bananer är sådana, och stora mängder bananer som blivit bruna kasseras.
- Enzymet polyfenoloxidas är det enzym som gör att bananen blir brun efter en skada i närvaro av syre. Det är samma enzym som gör att fruktköttet hos äpplen mörknar en stund efter att man tagit en tugga, eller att riven potatis snabbt blir brungrå och tråkig. Samma enzym ger också upphov till de bruna fläckarna på champinjoner som stötts lite.
- Hos alla dessa frukter, grödor och svampar har försök gjorts med att slå ut genen för det här enzymet, och hos alla ger det resultatet att de inte blir bruna, och därmed inte behöver slängas. I flera fall has dessa också kommersialiserats i olika delar av världen (inte inom EU).
- *Tropic's Gene-Edited Banana Determined as Non-GMO in the Philippines- Crop Biotech Update (April 19, 2023) | Crop Biotech Update - ISAAA.org*, <https://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/article/default.asp?ID=20135>
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/genmodifierade-organismer-gmo/vaxter/genredigerade-grodor/exempel-pa-genredigerade-grodor/>
- <https://www.genteknik.se/genmodifierade-applen-godkanda-i-usa/>

38

- Cyanidfri kassava med CRISPR/Cas9
- Kassava (tapioka, maniok) är stapelföda för >800 miljoner människor, många i Afrika.
- Den här grödan är många goda egenskaper, bland annat är den torktålig. Men, den innehåller giftiga cyanider som måste avlägsnas via omfattande processning efter skörd. Om inte riskerar den som äter att bli förgiftad.

- Cyanidförgiftning ger kognitiva problem man riskerar också sjukdomen konzo, som är en sjukdom där benen paralyseras.
- För att reducera nivåerna av cyanid i kassava har forskare använt CRISPR/Cas9 för att slå ut gener som kodar för enzym som behövs för bildningen av cyanid. Det här har gjorts i vävnadskultur, där många plantor sedan kan förökas upp. Fördelen med den här tekniken är att den går mycket snabbare än traditionell förädling. Samma teknik kan användas på många olika storter parallellt. Cyanidnivåerna kan därför reduceras i många av de olika kassavasorterna som odlas lokalt och som föredras av bönderna som odlar.
- *Eliminating cyanide in Cassava with CRISPR - Innovative Genomics Institute (IGI)*, <https://innovativegenomics.org/programs/sustainable-agriculture/crispr-genome-editing-cassava-eliminate-toxic-cyanogen/>

39

- Japan var först ut med att godkänna CRISPR/Cas9-modifierade organismer som livsmedel.
- I oktober 2021 började företaget Regional Fish Institute Ltd. sälja genomredigerad fisk av arten japansk rödbraxen. Den redigerade braxen har utvecklats i samarbete med två japanska universitet och redigerats på så sätt att den producerar 20 procent mer muskelmassa. Det forskarna gjort är att med hjälp av gensaxen CRISPR/Cas9 slå ut en gen (myostatin) som hämmar muskeltillväxt.
- Några veckor senare godkändes ytterligare en genomredigerad fisk från samma företag. Fisken kallas tiger puffer på engelska och den har fått en gen som styr aptiten inaktiverad. Det gör att fisken äter mer och växer snabbare.
- Gaba-tomat – sänker blodtrycket och ger avslappning. Med CRISPR/Cas9 som verktyg skapades riktade mutationer i tomatens arvs massa. Det resulterade i tomatfrukter med fem till sex gånger mer gammaaminosmörtsyra (GABA). GABA är en signalsubstans i hjärnan och tillskott av GABA sägs kunna sänka blodtrycket och göra en person mer avslappnad. GABA i form av kosttillskott och GABA-berikade livsmedel är mycket populärt i Japan.

40

- Djuravel har en lång historia och på liknande sätt som via korsningsförädling i växter, kan man välja de djur som får para sig, för att kombinera ihop önskade egenskaper.
- Viktiga verktyg i aveln är register över exempelvis tjurar och kor, med information över egenskaper, genetik och stamtavla.
- Insemination med sperma från lämplig tjur är vanligt i avelsarbetet.
- CRISPR/Cas9 har börjat användas inom avelsarbetet i till exempel Storbritannien och i USA, för att åstadkomma mutationer på de ställen där man önskar i stället för att söka efter en viss mutationen eller egenskap i avelspopulationen och föra över den via parning (och då också förstås få omkombinationer också av andra gener och egenskaper).

- CRISPR/Cas9 för att modifiera ett djurs DNA kräver flera steg:
 - Först isoleras ett embryo (punkt 2 i bilden)
 - Cellerna i embryot redigeras (punkt 3 i bilden). Här är det stor risk att inte alla celler redigeras, utan det består av en blandning av redigerade och icke-redigerade celler.
 - Embryot planteras sedan in i en surrogatmoder (punkt 4 i bilden) där det utvecklas fram till födseln.
- Eftersom djuret har en blandning av redigerade och icke-redigerade celler vet man inte om egenskapen kan föras vidare till avkomman (med andra ord: om den genredigering man gjort förs över till könscellerna). Om egenskapen har förts vidare kan man i nästa generation få ett djur med önskad mutation, om man parar två redigerade djur.
- Ett alternativ är att modifiera somatiska celler och klona det djuret. I det fallet redigeras DNA:t från en somatisk cell, och kärnan från en sådan cell ersätter sedan kärnan från ett fertiliserat ägg. När detta ägg får utvecklas till en individ blir denna en klon av det djur den somatiska cellen togs från (i alla fall med avseende på kärn-DNA:t), men med en eller flera gener redigerade. Det här är samma process som den med vilken fåret Dolly, som var det första djur att klonas, klonades år 1996.
- <https://innovativegenomics.org/crisprpedia/>
- <https://innovativegenomics.org/crisprpedia/crispr-in-agriculture/>

41

- CRISPR/Cas9 har använts för att ge sjukdomsresistens mot flera olika besvärliga sjukdomar.
- Vid Roslininstitutet i Edinburgh har forskare med hjälp av CRISPR/Cas9 avlat fram grisar med resistens mot världens kostsammaste infektionssjukdom hos gris. Det rör sig om PRRS, en virussjukdom som orsakar djuren lidande och som klassas som en av de allvarligaste grissjukdomarna av FN:s livsmedels- och jordbruksorganisation (FAO).
- PRRS är en förkortning av engelskans *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome* och PRRS-viruset infekterar vissa typer av grisens makrofager. Viruset tar sig in i makrofagerna med hjälp av en receptor på makrofagens yta. Det är genen för den receptorn som forskarna redigerat. Roslininstitutets samarbetspartner, det USA-baserade företaget Genus PLC, har fortsatt avla fram PRRS-resistenta grisar. De i sin tur har ett samarbete med Kina där de redigerade grisar sannolikt kommer att kommersialiseras först.
- Forskare vid Roslininstitutet har också identifierat en gen som kan ge känslighet mot afrikansk svinfeber, eller svinpest som det också kallas, vilket nyligen upptäcktes bland vildsvin i Sverige. I förlängningen skulle CRISPR/Cas9 kanske kunna användas för att slå ut den genen och därmed ge grisar med motståndskraft mot svinpest.
- Ett annat exempel är hönor som modifierats för att bli motståndskraftiga för fågelinfluensa.

- <https://www.genteknik.se/hons-skyddas-mot-fagelinfluensa-med-crispr-cas9/>
- <https://innovativegenomics.org/crisprpedia/crispr-in-agriculture/>

42

- I USA har CRISPR-modifierade kor godkänts.
- PRLR-SLICK-boskap har en mutation i en prolactin-receptor gen (PRLR). De här korna har fått en mutation i den genen.
- Det här leder till att det proteinet blir förkortat, och det ger en ändrad pälskvalitet som gör att djuren bättre kan tolerera tropisk värme.
- Samma mutation finns också som en naturlig allel i en annan koras.
- *CRISPR beef cattle get FDA green light*, *Nature Biotechnology*, <https://www.nature.com/articles/s41587-022-01297-z>

43

- Tidig könsbestämning av ägg för att slippa ha ihjäl tuppsycklingar inom äggindustrin
- Hos många arter skiljer sig könen åt på så sätt att hanar har en egen könskromosom, Y-kromosomen. Hos fåglar är det annorlunda, där har honorna en egen könskromosom, W-kromosomen.
- Inom äggindustri idag sorteras tuppsycklingar, som ju inte kan lägga ägg, bort, och dödas. För att slippa detta försöker forskare utveckla tekniker för att kunna skilja på hanliga och honliga ägg, så den här sorteringen kan göras som ägg i stället för när kycklingarna kläckts.
- En teknik som använder genteknik introducerar en gen som gör att hanliga ägg lyser rött under ett specifikt ljus, och därmed kan sorteras bort, och säljas för att ätas som ägg. Honliga ägg bär inte det här anlaget, och är alltså inte genetiskt modifierade och kan utvecklas vidare till värphöns.
- Det är bara hönan som värper äggen som är genetiskt modifierad och hon för över anlag på z-kromosomen till hanliga ägg.

44-45

- EU har en av världens striktaste reglering av genetiskt modifierade organismer, och endast en gröda odlas inom EU. Det är en Bt-majs, och den odlas på 112 000 hektar i Spanien och Portugal.
- I vissa europeiska länder finns ett starkt motstånd mot GMO.
- Under några år var en svensk potatis, Amflora, med ändrad stärkelsesammansättning godkänd för odling. Det godkännandet överklagades sedan och företaget som hade potatisen drev inte processen vidare.
- EU importerar dock en hel del GMO för livsmedelsanvändning, foder, eller som snittblomma. 2022 importerades mer än 30 miljoner ton majs och sojaböna för användning som foder inom EU.

- Men även tillstånd för export till EU är svårt att få godkännande för, och processen är både mycket dyr och tidskrävande. I de här databaserna kan man söka godkända GMO i EU och i världen (och i vissa fall också de som är i ansökningsfasen):
- *Genetically Modified Organisms (europa.eu)*, https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms_en
- *GMO registers (europa.eu)*, https://webgate.ec.europa.eu/fip/GMO_Registers/
- *The European GMO database (euginus.eu)*, <https://www.euginus.eu/euginus/pages/home.jsf>
- *Food safety and quality: GM Foods Platform*, <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/gm-foods-platform/en/>
- *GM Approval Database | ISAAA.org*, <https://www.isaaa.org/gmaprovaldatabase/>
- *BCH | Biosafety Clearing-House*, <https://bch.cbd.int/en/>

46

- Om man vill sätta ut genetiskt modifierade organismer (GMO) i miljön så måste man följa reglerna i direktiv 2001/18/EG. Direktivet kallas ibland "ut-sättningsdirektivet" och är implementerat i en svensk förordning, och i miljöbalken.
- Det finns också särskilda EU-förordningar för livsmedel och foder (1929/2003), och för spårning och märkning av GMO (1830/2003).
- "Sätta ut i miljön" kan handla om allt från fältförsök för forskning och förädling av nya sorters grödor, odling för marknaden, import av livsmedel, foder, produkter, eller snittblommor. Det kan också handla om det virus som används som vektor i en genterapi, eller de modifierade mänskliga celler som används, till exempel CAR-T-celler, se PPT 5.
- I direktivet definieras vad en GMO är: "*...en organism, med undantag för människor, i vilken det genetiska materialet har ändrats på ett sådant sätt som inte sker naturligt genom parning och/eller naturlig rekombination.*" och här anges också undantag från lagstiftningen. Även om mutationsförädling enligt definitionen leder till en GMO regleras en sådan gröda inte inom direktivet. Detta eftersom man anser att det här är en teknik som har en lång historia av säkert användande.

Mer om odling och import av GMO för livsmedel och foder

- Ansökningar behöver göras till olika instanser. Det är en omfattande process (en ansökan kan omfatta 10 000 sidor), här beskrivs några steg:
 - Ansökan lämnas in till behörig myndighet i Sverige, Jordbruksverket.
 - Ansökan går vidare till EFSA, Europeiska livsmedelsverket, och delas med alla EUs medlemsländer.
 - Risker för miljö och hälsa utvärderas av EFSA och behöriga myndigheter baserat på jämförelse med icke-GMO-version, man tittar exempelvis på:

- Försöksodlingsresultat
- Djurförsök för att testa att GMO-ändringen inte ger hälsoeffekter
- Metod för detektion av förändringen
- EFSA skriver utlåtande, och EU-kommissionen skriver utkast till beslut.
- Kvalificerad majoritet i omröstning av EU:s medlemsstater, dvs. 55% medlemsstater, representerar minst 65% av EUs befolkning.
- Hög kostnad och mycket tid för ett godkännande (ca 10-15 miljoner euro och tar ca 6 år).
- Har aldrig uppnåtts en kvalificerad majoritet inom EU. Kommissionen kan dock fatta beslut även om majoritet inte uppnåtts.
- <https://jordbruksverket.se/vaxter/odling/gmo-genetiskt-modifierade-organismer/om-gmo>
- <https://www.genteknik.se/genetik-och-genteknik/gmo-lagstiftning/>

47

- En lag behöver någon form av kontrollsystem för att man ska kunna ta reda på om reglerna följs. Man talar om spårbarhet – det måste gå att med någon slags analys få reda på om en gröda är modifierad på ett sätt som inte är tillåtet.
- Det krävs alltså en metod för att kunna detektera och spåra en GMO, det är också ett krav i ansökningarna om tillstånd – att man ska kunna redovisa hur det ska vara möjligt. Men om metoden inte finns, då blir det svårt eller omöjligt för att skriva en ansökan.
- Problemet är att det i praktiken inte finns någon genteknisk metod för att avgöra om en mutation på en plats i ett genom har skett genom en spontan (naturlig) mutation, om den har framkallats med exempelvis strålningsbehandling, eller med CRISPR/Cas9.
- Detta var möjligt med de gentekniker som användes i slutet på 1900-talet eftersom man då förde in gener som hade speciella sekvenser som gick att fånga upp som "signaler" på att det rörde sig om att man fört in en ny/främmande gen (kända DNA-sekvenser för genmodifiering). Men om man bara byter ut en enstaka kvävebas med hjälp av CRISPR/Cas9 så har man inte på samma sätt tillfört "något nytt" som går att spåra.
- Mellan 2015 och 2018 tolkade Jordbruksverket lagen så att grödor som förädlats med riktad mutagenes (genomredigering med gensaxar) räknas som undantag (likt mutationsförädlade grödor).
- Men efter ett domslut i EU 2018 bestämdes att riktad mutagenes (till exempel med CRISPR/Cas9) inte ska undantas, likt slumpmässig mutagenes. I praktiken innebär det att det inte går att ansöka om godkännande av någon gröda förädlad med CRISPR/Cas9.
- EU-kommissionen fick då i uppdrag att utreda frågan om hur vi kan se på nya genomiska tekniker (NGT). I april 2021 kom EU-kommissionen studie. Den slog fast att lagstiftningen inte är ändamålsenlig och behöver uppdateras.

- I länken kan man hitta studien och en beskrivning av de processer som ledde fram till den, olika höranden i samband med utarbetandet av förslag på ny lagstiftning samt kommissionens förslag till ny lagstiftning för växter förädlade med vissa nya genomiska tekniker:
- New techniques in biotechnology (europa.eu): https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology_en?prefLang=sv

48

- Denna bild sammanfattar vad EU-kommissionens studie om nya genomiska tekniker, som genomredigering, från 2021 kommit fram till.
- Off targets: **Slumpmässig mutagenes** ger många hundra eller tusentals mutationer i genomet, men det är i regel bara en som ger den ändring i egenskap som förädlaren fokuserar på. Förädlaren behöver inte känna till vilken mutation det är, utan kan fokusera på egenskapen i fortsatt förädling. Men i genomet finns alltså många mutationer som kan sägas vara "off target".
- Vid **genomredigering** går man åt andra hållet och riktar en mutation till en specifik gen i genomet. Tekniken innebär också en liten risk att någon eller några andra ställen i genomet som har en mycket lik sekvens kan få en genomredigering, dessa är då off-targets.
- Man identifierade ett behov av ett nytt lagförslag.
- Gentekniknämndens webbplats (www.genteknik.se) innehåller uppdaterad information om läget för lagstiftningen, så en rekommendation är att besöka den webbplatsen för att se om något beslut tagits i frågan.

49

- I EU definieras en ny genomisk teknik (NGT) som en teknik som uppkommit efter det att lagstiftningen kring genetiskt modifierade organismer trädde i kraft, 2001.
- NGT är en ny förkortning, vilket kan upplevas som lite förvirrande, men det handlar bland annat om användning av CRISPR/Cas9 (eller andra "gensaxar").
- NGT1 gäller för genomredigerade grödor, som hade kunnat tas fram med konventionella metoder (inklusive mutationsförädling).
- NGT2 handlar om grödor som tagits fram på ett sätt som gör att de inte hade kunnat fås fram med de konventionella metoderna.
- https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology_en

50

- Om en växt godkänns som NGT1 ska den sedan behandlas – nästan – som en konventionellt förädlad. Den ska dock registreras, och den är inte tillåten att

odla inom ekologisk odling (där den betraktas som GMO fortfarande, enligt önskemål från eko-sektorn inom EU).

- Om en växt i stället är NGT2, ska den riskbedömas enligt GMO-lagstiftningen, märkas som GMO men ha vissa lättnader i kraven beroende av hur den är modifierad. Små och medelstora företag ska också få visst stöd under ansökningsprocessen.
- Hösten och vintern 2023/2024 behandlas lagförslaget i EU-parlamentet och ministerrådet, och förhandlas med EU-kommissionen.
- https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Lagstiftning-for-vaxter-som-produceras-med-vissa-nya-genomiska-metoder_sv

51

- I många länder runt om i världen har GMO-lagstiftningen redan ändrats och anpassats för genomredigerade grödor.
- Ofta sker ett undantag från sådan lagstiftning efter en ansökan och bedömning från fall till fall.
- Källa till information i bilden: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.18333>