



Biotechnologiczne metody doskonalenia zwierząt hodowlanych jako źródła żywności o zwiększonej zawartości kwasów tłuszczowych

Iwona Ostaszewska, Piotr Sablik

Katedra Nauk o Zwierzętach Przeżuwających, Wydział Biotechnologii
i Hodowli Zwierząt, Akademia Rolnicza, Szczecin

Biotechnological methods implemented for improvement of farm animals as a food source with increased unsaturated fatty acids

Summary

Transgenic animals became easy and open for general use as a source of recombinant proteins and essential components like unsaturated fatty acids. That possibility can completely change the life and health of humans. Thanks to genetic engineering, it is possible to increase the level of healthy fatty acids in animal organism, with the help of e.g. *stearoyl-CoA desaturase*, *fat-1* gene. Milk with changed fatty acids composition could be a cure for people with obesity and vascular problems, as also can be an alternative source of long chain polyunsaturated fatty acids for oil-rich fish and fish liver oils. What is more, also natural environment can be saved by those animals.

Key words:

transgenic animals, milk, fatty acid.

Adres do korespondencji

Iwona Ostaszewska,
Katedra Nauk
o Zwierzętach
Przeżuwających,
Wydział Biotechnologii
i Hodowli Zwierząt,
Akademia Rolnicza,
ul. Doktora Judydy 10,
71-460 Szczecin.

biotechnologia

3 (82) 153–158 2008

1. Wstęp

W dobie technologicznego postępu, pościgu za pracą i pieniędzem, człowiek plasuje się na straconej pozycji w walce z naturą. Przede wszystkim dotyczy to ochrony ludzkiego zdrowia, fizjologii, osiągnięcia wewnętrznej równowagi. Aktualnie, oprócz zdefiniowanych do tej pory chorób cywilizacyjnych wymienia się jako czynnik zagrażający życiu również żywność. Pojęcia takie

jak „junk food”, „fast food” i „żywność wygodna” nie są większością z nas obce, lecz nie idzie za tym niestety wiedza i świadomość zagrożenia (1,2). W najnowszych badaniach Pol-MONICA BIS Warszawa wykazano, że 44% mężczyzn i 34% kobiet w Polsce ma nadwagę, a 31 i 27% jest otyłych (3). Te zatrważające statystyki mają swoje odzwierciedlenie także w stanie zdrowia naszego społeczeństwa, w którym wiele osób umiera na choroby związane z układem krwionośnym, nowotwory złośliwe, choroby układu pokarmowego (4,5).

Wielce obiecującą i coraz bardziej realną inicjatywą na wyeliminowanie tego typu problemów jest zastosowanie jednej z metod biologii molekularnej jaką jest transgeneza, czyli uzyskanie zwierzęcia o zmienionym genomie.

2. Kwasy tłuszczowe

Obserwowane problemy zdrowotne ludzi w dużej mierze skorelowane są ze wzrastającym spożyciem tłuszczu w każdej postaci (4,6). Tłuszcze jadalne są najbardziej kalorycznym, jak również najbardziej niezbędnym składnikiem pożywienia pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. Stanowią one skoncentrowane źródło energii, rozpuszczalnych w nich witamin (np. A, D, E i K) oraz niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) (przede wszystkim z grupy omega-3 i omega-6), które są konieczne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu. NNKT nie są syntetyzowane w organizmie ludzkim, dlatego też ludzie niespożywający zalecanych przez dietetyków i fizjologów żywienia odpowiednich ilości tłuszczu borykają się z wieloma chorobami, od arytmii i nadciśnienia zaczynając, a kończąc na miażdżycy i zawałach (1,5). NNKT, a zwłaszcza grupa n-6, mają pozytywny wpływ na gospodarkę lipidową ustroju. Dzięki zwiększonemu przyjmowaniu tych tłuszczu spada poziom cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL oraz triglicerydów, jak i lipidów całkowitych w surowicy krwi, oraz nie dochodzi do powstawania zakrzepów naczyń (7).

Liczne i niepodważalne zalety NNKT czynią te tłuszcze najbardziej pożądanymi składnikami pokarmowymi, problemem jest jednak ich mała dostępność lub wręcz brak w popularnych i łatwo dostępnych produktach żywnościowych. Dlatego też od dawna w przemyśle spożywczym powszechnie stosuje się wzbogacanie żywności transizomerami NNKT (np. margaryny, pieczywo, przetwory mleczne, itp.) (8,9). Niestety, nawet mimo sztucznych dodatków, według badań prowadzonych przez Instytut Żywności i Żywienia, spożycie kwasów tłuszczowych w Polsce u większości osób jest zbyt niskie (10). Spowodowane może to być również niedostateczną konsumpcją ryb morskich i innych produktów pochodzenia morskiego, jak również stosunkowo wysokimi cenami tychże produktów, przyzwyczajeniami konsumenckimi, a także tradycją. Nie mniej ważne jest również to, że mięso ryb zawiera coraz więcej metali ciężkich (zwłaszcza rtęci), co związane jest z ciągle rosnącym zanieczyszczeniem środowiska (11). Niepokojące także są doniesienia o spadającej liczebności po-

pulacji dziko żyjących ryb morskich i słodkowodnych, głównie z powodu zbyt intensywnej eksploatacji naturalnych łowisk. Z kolei, alternatywne hodowle, np. łososia atlantyckiego, nie zaspokajają rosnącego zapotrzebowania rynku światowego.

Wymienione czynniki powodujące wzrastający niedobór NNKT, jak i brak zmiany w świadomości społeczeństwa na temat niezbędnego spożywania kwasów omega, przyczyniły się do poszukiwania nowych dróg wzbogacania produktów spożywczych w n-3 i n-6. Jednym z ostatnich rozwiązań tego problemu jest wykorzystanie inżynierii genetycznej w doskonaleniu zwierząt hodowlanych jako doskonałego i popularnego źródła żywności (głównie mięsa, mleka oraz jaj) (12,13).

3. Transgeneza

Pierwsze osobniki powstałe w wyniku ingerencji człowieka w ich kod genetyczny powstały już w połowie lat 80. ubiegłego wieku. Od tego czasu transgeneza pozwoliła na poprawę cech użytkowych oraz wykorzystanie zwierząt jako „bioreaktorów” (np. produkujących substancje farmaceutyczne w gruczole mlecznym owcy, kozy, krowy i świni). Współczesne osiągnięcia biotechnologii i embriologii doświadczalnej pozwoliły na opracowanie wielu skutecznych technik uzyskiwania zwierząt transgenicznych, które różnią się metodycznie i uzyskiwaną efektywnością. Do stosowanych technik transformacji genomu biorcy zalicza się:

- 1) mikroiniekcję standardową z modyfikacjami,
- 2) mikroiniekcję fragmentów chromosomów,
- 3) zastosowanie pierwotnych komórek zarodkowych (ESC, ang. *embryonic stem cells*),
- 4) transfekcję plemników (14),
- 5) wykorzystanie procesu klonowania,
- 6) biobalystykę,
- 7) metody alternatywne,
- 8) transgenezę piętrową (13,15).

Niewątpliwie najpopularniejszą techniką wprowadzania obcej informacji genetycznej do organizmu wyższego jest mikroiniekcja egzogenego DNA do przedjądrza męskiego zapłodnionej komórki jajowej (zygoty) (27). Wprowadzenie poprzez wstrzyknięcie do przedjądrza konstrukcji genowej umożliwia uzyskanie ok. 1-5% transgenicznych zwierząt. Ta sprawdzona i skuteczna metoda posiada wiele zalet, m.in. wprowadzony gen może być obecny w każdej komórce powstałego organizmu, co pozwala na ocenę ekspresji genów w różnych rodzajach komórek, możliwa jest także kontrola aktywności wprowadzonego genu podczas całego cyklu życiowego. Dość często spotykanym problemem mikroiniekcji, prócz niewielkiej przeżywalności nastrzykniętych zygot oraz niskiego poziomu integracji z genomem zarodka, jest obserwowany niski poziom ekspresji wprowadzonego genu.

Wymienione problemy powodują, że ta metoda transgenezy jest, jak się okazuje, techniką w dużej mierze bardzo kosztowną oraz mało efektywną. Jednakże po-

stęp technologiczny oraz praca badaczy wskazują na nowe sposoby pokonania tych przeszkód. Opracowanie nowych sekwencji w konstrukcji transgeny (np. chroniących transgeny MAR, ang. *matrix attachment regions*, LCR, ang. *locus control regions*) lub też zastosowanie tzw. wzmacniaczy (ang. *enhancers*) znacznie wpłynęło na uzyskanie większej liczby modyfikowanych genetycznie osobników (15,16). Kolejną próbą udoskonalania technik transgenezy było zastosowanie metody transfekcji niezaplodnionych oocytów wektorami retrowirusowymi, a także modyfikacja za pomocą spermy jako wektora. Jednakże techniki te ze względu na swoją efektywność i metodykę okazały się wydajne jedynie tylko w niewielkim stopniu (13,15).

4. Możliwości wykorzystania osiągnięć nauki w służbie człowiekowi

Transgeniczne zwierzęta gospodarskie dają człowiekowi możliwość manipulowania cechami użytkowymi w celu stworzenia produktu zaspokajającego w pełni jego potrzeby. Organizmy transgeniczne umożliwiają wysoce wydajną produkcję rekombinowanych białek oraz produkcję dużych i złożonych białek (np. VIII czynnika krzepliwości krwi), w sposób atrakcyjny ekonomicznie w porównaniu z kulturami komórkowymi (19,20). Głównymi celami modyfikacji genetycznych zwierząt hodowlanych są:

- 1) otrzymanie biofarmaceutyków (z moczu, krwi, mleka) (21),
- 2) wykorzystanie modyfikowanych zwierząt (głównie świń) jako dawców narządów do ksenotransplantacji (22),
- 3) poprawa cech użytkowych zwierząt hodowlanych (np. uzyskanie szybszego wzrostu poprzez zastosowanie genu hormonu wzrostu) (23),
- 4) zwiększenie cech odporności organizmów (np. odporność na mastitis, BSE) (24),
- 5) otrzymanie modeli chorób ludzkich (25).

Wielce obiecującymi są udane modyfikacje gruczołu mlecznego, dzięki którym możemy uzyskiwać duże ilości produktów żywnościowych (np. mleko, sery, jogurty), a także uczynić je lepiej przyswajalnymi dla ludzi (np. przez jego humanizację czy też unieczynnienie genu α -laktoalbuminy). Jednakże ośrodki naukowe na całym świecie ostatnio skupiły się zwłaszcza na korzyściach jakie niesie zmiana składu kwasów tłuszczowych w mleku zwierząt (13,26,27), a także tkankach roślinnych (28,29).

Dzięki prowadzonym w tym kierunku badaniom w maju 2004 r., grupie naukowców pod kierunkiem Jing X. Kanga z Harvard Medical School udało się wprowadzić gen *fat-1* pochodzący z nicienia *Caenorhabditis elegans* do mysich zygot, który koduje enzym katalizujący przemianę kwasów tłuszczowych n-6 do n-3. Konstrukcja genu zawierała kurzy promotor β -aktyny i enhancer cytomegalowirusa, dzięki czemu uzyskane potomstwo, po badaniu Real-Time PCR, zostało zdiagnozowane jako transgeniczne nawet do trzeciego pokolenia. Otrzymane myszy „Omega-3” umożliwiły dalsze prace nad wprowadzeniem modyfikacji w składzie kwasów tłuszczowych orga-

nizmów wyższych, a także zapewniły doskonały model do badań nad funkcjami biologicznymi kwasów tłuszczowych n-3 (30). Kolejnym krokiem w badaniach nad zmianą składu kwasów tłuszczowych w organizmach zwierząt były równoległe prace prowadzone pod kierunkiem Jamesa D. Murraya (2004) z Uniwersytetu w Davis, który dzięki zastosowaniu genu kodującego desaturazę stearyl-CoA uzyskał 4 kozy dające mleko o zmienionej zawartości kwasów tłuszczowych (31). Niewątpliwie spektakularnym osiągnięciem w tej dziedzinie w 2006 r. było uzyskanie modyfikowanych genetycznie świń zawierających wprowadzony gen *fat-1*. Yifan Dai z zespołem naukowców z Uniwersytetu w Pittsburgu zastosowała technikę klonowania komórek. Gen *fat-1* został najpierw wprowadzony do świńskich fibroblastów płodowych hodowanych *in vitro*, które następnie posłużyły jako dawcy jąder komórkowych w metodzie klonowania za pomocą transferu jądrowego (32).

Możliwości jakie daje współczesna biologia molekularna, genetyka i technika stwarzają coraz bardziej realną wizję nowego świata, wolnego od chorób, problemów z żywnością i wpływem zanieczyszczeń na życie ludzi całego świata. Dzięki produktom spożywczym uzyskanym od zwierząt modyfikowanych genetycznie istnieje alternatywa w pozyskiwaniu substancji odżywczych z innych źródeł niż coraz bardziej zanieczyszczone i wyeksploatowane środowisko naturalne. Jednakże, ważnym elementem tej perspektywy jest także świadomość wprowadzania zmian w kodzie genetycznym zwierząt, jak również znakowania produktów od nich pochodzących. Bardzo ważną sprawą jest oczywiście kwestia informowania społeczeństwa na temat istniejących zalet i wad takiego rozwiązania problemu (33), aby konsument sam mógł podjąć decyzję o wyborze produktu modyfikowanego genetycznie czy też pochodzącego z tradycyjnego typu hodowli. Czy inżynieria genetyczna na stałe zagości na naszych stołach? Zależy to już tylko od nas samych.

Literatura

1. Balas J., (2004), *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXXI (2), 181-192.
2. Zwierzyk J., (2005), *Bromat. Chem. Toksykol., Suplement*, 555-559.
3. Polakowska M., Piotrowski W., (2004), *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXXI, (2), cz. I, 83-95.
4. Jelińska M., Tokarz A., (2005), *Bromat. Chem. Toksykol.*, XXXVIII, 321-327.
5. Kłosiewicz-Latoszek L., (2002), *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXIX (1/2), 78-86.
6. Kłosiewicz-Latoszek L., (2005), *Bromat. Chem. Toksykol., Suplement*, 493-496.
7. Nakamura M. T., Nara T. Y., (2004), *Annu. Rev. Nutr.*, 24, 345-376.
8. Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., Balas J., Pawlicka M., Filipek A., Górnicka M., (2000), *Bromat. Chem. Toksykol.*, XXXIII (3), 215-219.
9. Filipek A., Balas J., Pawlicka M., Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., (2003), *Bromat. Chem. Toksykol.*, XXXVI (2), 115-121.
10. Dybikowska Ewa, Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B., (2004), *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, XXXI, Suplement 2, cz. II, 130-136.
11. Rogacka M., Waszczuk-Jankowska M., Ciesielski T., Hać E., Szefer P., (2003), *Bromat. Chem. Toksykol.*, XXXVI (4), 311-316.
12. Houdebine L. M., (2000), *Transgenic Research*, 9, 305-320.
13. Zwierzchowski L., (1998), *Biotechnologia*, 2 (41), 33-56.

14. Jurkiewicz J., (2006), *Biotechnologia*, 1 (72), 29-43.
15. Jura J., (2005), *Metody uzyskiwania zwierząt transgenicznych. Transgeniczne zwierzęta – uzyskiwanie i wykorzystanie w rolnictwie i medycynie*, IŻ, Balice, 8.
16. Houdebine L.-M., (2005), *Reprod. Dom. Anim.*, 40, 269-281.
17. Zwierzchowski L., Jaszczak K., Modliński J. A., (1997), *Biotechnologia zwierząt*, PWN, Warszawa, 353-430.
18. Lipiński D., Szalata M., Kalak R., Pławski A., Nuc K., Kala M., Juzka W., Słomski K., Gronek P., Jura J., Jura J., Smorąg Z., Pieńkowski M., Słomski R., (2007), *Ekspresyjne konstrukcje genowe*, w: *Biotechnologiczne i medyczne podstawy ksenotransplantacji*, pod redakcją Z. Smorąga, R. Słomskiego, L. Cierpka, OWN, Poznań, 33-54.
19. Zwierzchowski L., (1998), *Biotechnologia*, 2 (41), 33-56.
20. Grzybowski G., (1998), *Biotechnologia*, 1 (40), 83-93.
21. Szalata M., Lipiński D., Kalak R., Tobola P., Lehman J., Wielgus K., Smorąg Z., Pienkowski M., Słomski R., (2004), *Ann. Anim. Sci.*, 4, 2, 351-362.
22. Słomski R., Szalata M., Lipiński D., Gronek P., (2003), *Medycyna Weterynaryjna*, 59 (11), 961-965.
23. Rosochacki S. J., Zwierzchowski L., (1999), *Biotechnologia*, 2 (45), 7-24.
24. Janik A., Pieszka M., (2005), *Hodowca Bydła*, 5, 37-39.
25. Fan J., Watanabe T., (2003), *Pharmacology & Therapeutics*, 99, 261-282.
26. Kang J. X., (2004), *ISB News Report*.
27. Smorąg Z., (2002), *Biotechnologia*, 4 (59), 30-40.
28. Bilyeu K. D., Palavalli L., Sleper D. A., Beuselinck P. R., (2005), *Crop Sci.*, 43, 1833-1838.
29. Graham I. A., Ciprus P., Rein D., Napier J. A., (2004), *Nutrition Bulletin*, 29, 228-233.
30. Kang Z. B., Ge Y., Chen Z., Cluette-Brown J., Laposata M., Leaf A., Kang J. X., (2001), *PNAS*, 98 (7), 4050-4054.
31. Reh W. A., Maga E. A., Collette N. M. B., Moyer A., Conrad-Brink J. S., Taylor S. J., DePeters E. J., Oppenheim S., Rowe J. D., BonDurant R. H., Anderson G. B., Murray J. D., (2004), *J. Dairy Sci.*, 87, 3510-3514.
32. Lai L., Kang J. X., Li R., Wang J., Witt W. T., Yong H. Y., Hao Y., Wax D. M., Murphy C. N., Rieke A., Samuel M., Linville M. L., Korte S. W., Evans R. W., Starzl T. E., Prather R. S., Dai Y., (2006), *Nature Biotechnology*, 24, 435-436.
33. Mickiewicz A., Twardowski T., Figlarowicz M., (2006), *Biotechnologia*, 3 (74), 145-153.