

SIIRTOGEEENISET TUOTANTOELÄIMET JA NIIDEN MAHDOLLISET YMPÄRISTÖVAIKUTUKSET SUOMESSA

Johanna Vilkki¹, Tiina Pitkänen², Juha Kantanen¹ ja Kari Elo^{1,3}

¹Eläinjalostus, Kotieläintuotannon tutkimus, MTT, 31600 Jokioinen

²Eläinbiotekniikka, Soveltavan Biotekniikan Instituutti, Kuopion Yliopisto, 70211
Kuopio

³nykyinen osoite: Department of Animal Science, University of Nebraska-Lincoln,
Lincoln, NE 68583-0908, USA

SISÄLLYS

1. JOHDANTO

2. SIIRTOGEEENISTEN KOTIELÄINTEN TUOTTAMINEN JA KÄYTTÖKOHTEET

2.1. HYÖNTEISET

2.1.1. Siirtogeenisten hyönteisten tuottaminen

2.1.2. Mehiläinen

2.2. KALAT

2.2.1. Geeninsiirto kaloihin

2.2.2. Hankkeet siirtogeenisten kalojen tuottamiseksi

2.2.3. Siirtogeeniteknikan käyttötarkoitukset kalabiologiassa ja vesiviljelyssä

2.2.4. Kirjallisuus

2.3. LINNUT

2.3.1. Geeninsiirtomenetelmät linnuilla

2.3.2. Kana

2.3.3. Kirjallisuus

2.4. NISÄKKÄÄT

2.4.1. Geeninsiirto ja lisääntymisbiologiset menetelmät

2.4.2. Sika

2.4.3. Lammas ja vuohi

2.4.4. Nauta

2.4.5. Kirjallisuus

3. SIIRTOGEEENISTEN KOTIELÄINTEN YMPÄRISTÖVAIKUTUKSET

3.1. YMPÄRISTÖVAIKUTUSTEN ARVIOINNIN PERIAATTEET

3.2. YMPÄRISTÖRISKIT

3.2.1. Vaaratekijät ja niiden seurausten arviointi

3.2.1.1. Siirtogeenien leviäminen; eläinten kyky siirtää perintöainesta

3.2.1.2. Siirtogeenin ilmenemisen tai lisääntymisbiologisten menetelmien seuraukset

3.2.1.3. Siirtogeenisten eläinten vaikutukset perinnölliseen monimuotoisuuteen

3.2.2. Leviämisolosuhteiden määrittäminen

3.2.3. Vaaratekijöiden todennäköisyyden määrittäminen

3.2.3.3. Leviäminen

3.2.3.4. Siirtogeenin ilmenemiseen liittyvät riskitekijät

3.2.3.5. Vaikutukset biologiseen monimuotoisuuteen

3.2.4. Siirtogeeniset kalat esimerkkinä ympäristöriskin arvioinnista

3.2.5. Yhteenvedo

3.2.6. Kirjallisuus

4. SANASTO

1. JOHDANTO

Geeniteknisillä menetelmillä voidaan muokata nykyään kaikkia tuotantoeläinryhmiä hyönteisistä nisäkkäisiin. Kaikista tärkeimmistä kotieläinlajeista on tuotettu useita siirtogeenisiä eläimiä ja linjoja eri tarkoituksiin. Vuosituhannen vaihtuessa ollaan vaiheessa, jossa ollaan juuri saavuttamassa suuria kehityksen harppauksia sekä geenin siirtomenetelmissä että niitä oleellisesti tukevissa ja siirtogeenisten eläinten käyttöä nopeuttavissa kloonausmenetelmissä. On odotettavissa, että kaupalliseen tuotantoon tulee siirtogeenisiä eläinlinjoja jo 1 – 2 vuoden kuluessa. Yhdysvalloissa on viime vuosina perustettu useita yrityksiä, jotka tähtäävät nimenomaan siirtogeenisten eläinten kaupallistamiseen.

Siirtogeenisiä kotieläimiä tullaan käyttämään kahteen päätarkoitukseen: joko biolääketieteellisiin sovelluksiin (tautimalleina, lääkinnällisten yhdistelmäproteiinien tuottajina, elinten/kudosten luovuttajina) tai tuotannon tehostamiseen tai muokkaamiseen (tuotoksen lisääminen, tautien vastustuskyvyn edistäminen, ominaisuuksiltaan muutetut maataloustuotteet).

Biolääketieteellisiin sovelluksiin käytettävät eläimet tulevat olemaan tarkasti valvottuja ja eristettyjä (koska ne tuottavat kalliita erikoistuotteita, joille on tiukat lääketieteelliset puhtausvaatimukset). Maatalouskäyttöön tarkoitetut eläimet tulevat olemaan paljon laajemmalti levinneitä, ja niiden kontrollointi tulee olemaan vaikeampaa.

Maatalouskäyttöön tarkoitettujen siirtogeenisten eläinten osalta on tehty hyvin vähän tutkimuksia tai arvioiteja niiden käytön ympäristö- tai terveysvaikutuksista. Seuraavassa kirjallisuuskatsauksessa esittelemme eläinten geeninsiirtotekniikoiden nykyvaihetta ja eri käyttötarkoituksia, joihin siirtogeenisiä eläimiä on käytetty, sekä arvioiteja siitä, minkälaisia siirtogeenisiä eläimiä on odotettavissa markkinoille. Pyrimme esittämään suuntaviivat, joiden mukaan mahdollinen ympäristöriski olisi arvioitava. Yleisluontoinen ympäristöriskien arviointi on vaikeaa, koska se riippuu käytetystä yhdistelmägeenistä, käytetystä siirtomenetelmästä, käytetystä lisäysmenetelmästä ja eläinlajista.

Tapauskohtaisesti tulisi arvioida ainakin:

- millä ehdoilla eläin päästetään kasvatusympäristöön
- mitä tapahtuu kokeista saataville ”negatiivisille” eläimille (mahdolliset mosaiikit)
- mahdollisesti siirtyneen ylimääräisen DNA/RNA materiaalin havaitseminen
- eläinten mahdollisuudet ”karata” (+ mahdollisuus tunnistaa ne myöhemmin)
- vaikutus diversiteettiin (rinnakkaispopulaatioihin, omaan lajiin, rotuun)
- ruoan turvallisuus (retrovirusten aktivoituminen, prioniproteiinit), allergeenisuus
- eläinten terveys (mm. vastustuskyvyn muutos) ja erilaiset hoitovaatimukset, ruhon hävittäminen
- mahdolliset terveysriskit (tautien välittyminen/ uudenlaiset taudinaiheuttajat)

2. SIIRTOGEEENISTEN KOTIELÄINTEN TUOTTAMINEN JA KÄYTTÖTARKOITUKSET

2.1. HYÖNTEISET

2.1.1. Siirtogeenisten hyönteisten tuottaminen

Verrattuna moniin muihin eläimiin, hyönteisten geenisiirtoa on tutkittu ja kehitetty vähän. Ensimmäiset kokeet tehtiin *Drosophilalla*. Hyönteisen alkioon voidaan siirtää ulkopuolista DNA:ta ilman vektoria, mutta siirrot ovat tällöin epäonnistuneet, syynä muun muassa entsyymiaktiivisuus alkiossa. Parempi tulos saadaan, jos kehitetään erillisiä siirtovektoreita vieraan DNA:n saattamiseksi hyönteisalkioon.

Niin sanotuilla siirtyvillä elementeillä on keskeinen osuus siirtogeenisten hyönteisten tuotannossa. Siirtyvät elementit (transposonit) ovat DNA-fragmentteja, joilla on kyky siirtyä kromosomistossa paikasta toiseen. Siirtyvät elementit koodaavat tyypillisesti transposaasi-entsyymiä, jota tarvitaan elementin siirtymiselle uuteen paikkaan. Siirtyvistä elementeistä on kehitetty transformaatiovektoreita korvaamalla osa elementin DNA:sta ulkopuolisella DNA:lla. Näin rakennetun vektorin pituus on tyypillisesti 1200-5000 emäsparia (bp).

Vuonna 1986 kehitettiin DNA:n siirtomenetelmää banaanikärpäselle (*Drosophila melanogaster*) käyttämällä erityistä siirtyvää elementtiä, ns. P-elementtiä. Tätä P-elementtiä manipuloimalla eri tavoin on aikaansaatu useita siirtovektoreita, joiden avulla on siirretty ulkopuolista DNA:ta *Drosophila*-alkioon. Kun hyödynnetään P-elementti-perusteista transformaatio-systeemiä, kahdenlaisia plasmideja injektoidaan *Drosophila*-alkioon. Toiseen plasmidiin sisällytetään P-elementti, josta transposaasia koodaava alue on korvattu ulkopuolisella, siirrettäväksi aiotulla DNA:lla. Toinenkin plasmidi sisältää P-elementin, mutta plasmidia on puolestaan muokattu siten, että P-elementtiä ei voida poistaa plasmidista (tetyt transposaasi-entsyymiä sitovat alueet on poistettu elementistä), mutta elementti tuottaa kuitenkin transposaasia. Molemmat plasmidit injektoidaan alkioon. Entsyymi sitoutuu plasmidiin, joka ei tuota transposaasia ja jossa on sen sijaan vierasta-DNA:ta. Tämä muokattu P-elementti poistetaan, ja se sitoutuu isäntäsolun kromosomaaliseen DNA:han. P-elementti-perusteisen DNA:n siirron onnistumisprosentiksi on raportoitu 30 –50 % (alkioiden osuus, jotka ilmentävät siirrettyä-DNA:ta).

P-elementti-perusteista DNA:n siirtoa voidaan hyödyntää vain *Drosophilalla*. Muille hyönteisille on kehitetty muita muokattuja siirtyviä elementtejä ulkopuolisen DNA:n siirtämiseksi, kuten muokattua Hobo-elementtiä, Mariner-elementtiä, Hermes-elementtiä ja Minos-elementtiä. Periaate on sama kuin P-elementtiäkin hyödynnettäessä. Vierasta DNA:ta on siirretty *Drosophilan* lisäksi huonekärpäseen (*Musca domestica*) ja sääskeen (*Culicidae*). Yleisesti siirtogeenisten hyönteisten tuotanto onnistunee tällä hetkellä Lepidoptera (koi, perhonen) ja Diptera (kärpäset, sääsket) –lahkoihin kuuluvilla lajeilla. Käyttämällä samoja menetelmiä voitaneen kehittää menetelmiä myös muille hyönteislajeille, kuten mehiläiselle. Myös virusten muokkaamista on esitetty transformaatiovektoreiksi.

2.1.2. Mehiläinen

Kesymehiläinen (*Apis mellifera*) on silkkiperhosen ohella ainoa ihmisen kotieläimeksi ottama hyönteinen. Mehiläinen lienee kotoisin Intiasta, missä sen lähimmät sukulaislajit elävät. Kesymehiläisen heimo on *Apidae* (mesipistiäiset) ja suku *Apis*. Mehiläisen lähisukulaisia ovat kimalaiset (*Bombus*-suku). Eurooppalainen *Apis mellifera* on erilaistunut neljäksi roduksi: kaukaasialainen rotu, italialainen rotu, krainilainen rotu ja pohjoinen rotu.

Mehiläisestä on kolme sukupuoliryhmää: haploidi kuhnuri, diploidi kuningatar ja steriili, diploidi työläinen. Kuningatar, joka on ainoa lisääntymiskykyinen naaras, munii päivässä 2500 – 3000 munaa. Kuningattaren arvioidaan elävän 3 –7 vuotta. Kuningattaren hedelmöityneistä munista syntyy naaraita, hedelmöitymättömistä koiraita. Hedelmöitymättömistä munista lisääntymistä kutsutaan partenogeneettiseksi lisääntymiseksi. Osa hedelmöityneistä munista sijoitetaan suuriin kuningatarkennoihin. Näistä kennoista kuoriutuvista toukista saadaan uusia kuningattaria. Näitä toukkia myös ruokitaan eri tavoin kuin toukkia, joista syntyvät työläismehiläiset.

Mehiläisiä voidaan jalostaa kasvattamalla kuningattaria emokasvattamoilla. Mehiläisen valintajalostuksella, jota voidaan tehostaa keinosiemennyksellä, valitaan sellaisia kantoja, joilla on voimakas taipumus johonkin toivottuun suuntaan, esimerkiksi siitepölyn keräämiseen, parveiluhitauteen, rauhallisuuteen ja tehokkaaseen keräämiseen. Taloudellisesti merkittävimpiä ovat tiettyjen viljelykasvien pölytykseen erikoistuneiden linjojen jalostaminen, tehostunut meden kerääminen, hyvä sikiöinti ja tautiresistenssi. Erityisen tärkeää olisi kehittää linjoja varroapunkkia vastaan. Siten mehiläistä koskevassa tutkimuksessa mielenkiintoa olisi erityisesti tautitoleranssiin liittyvien geenien kartoitukseen. Tämä on tavoitteena EU-projektissa ”Mapping disease resistance with quantitative trait loci (QTL) in honey bees” (http://dbs.cordis.lu/EN_PROJL_search.html osoitteesta hakusanoilla: resistance bees).

Siirtogeeniset hyönteiset tuotannossa

Siirtogeenisiä hyönteisiä ei ole juuri testattu kenttäolosuhteissa. Yhdysvalloissa on kuitenkin jo oma hakumenettely siirtogeenisten hyönteisten käytölle, josta koelupaa on anottu viidelle selkärangaiselle: sukkulamadolle, punkille, banaanikärpäselle ja kahdelle perhoselle (<http://www.aphis.usda.gov/biotech/arthropod/tgenperm.html>). Siirtogeenisiä mehiläisiä ei liene missään käytetty. Mehiläisellä siirrettäviksi geeneiksi on esitetty suurvaikutteisia geenejä. Esimerkkeinä mainitaan hyönteismyrkkyjen sietokyvyn kasvattaminen kasvihuonemehiläisillä, koska mehiläiset ovat tärkeitä pölyttäjinä ja sadon varmistajina.

2.2. KALAT

2.2.1. Geeninsiirto kaloihin

Geeninsiirtoja kaloihin on tehty viimeiset 15 vuotta. Zhu ryhmineen (1985) raportoi ensimmäisestä mikroinjektiolla tehdystä geeninsiirrosta kultakalan (*Carassius auratus* L.) alkioihin. Tästä alkoi kaloille soveltuvien geeninsiirtotekniikoiden ja yhdistelmägeenien kehittäminen.

Tekniikoista mikroinjektio on luotettavuutensa vuoksi tällä hetkellä käytetyin. Erityisesti suurilla lohikaloilla mikroinjektiossa on kuitenkin tiettyjä vaikeuksia. Näiden lajien mätimunat eivät ole läpinäkyviä, mikä tekee esitumien havaitsemisen mahdottomaksi. Lisäksi esitumat ovat pieniä; vain 0.001 % 1-soluisen alkion tilavuudesta nisäkkäiden 5 %:iin verrattuna. Kaloilla injektiot tehdäänkin usein solun solulimaan. Myös hedelmöityksen jälkeen tapahtuva mätimunnan ulkokuoren kovettuminen vaikeuttaa injektioneulan pääsyä kuoren läpi. Yllämainittuja ongelmia on ratkaistu mm. mekaanisella tai entsyymaattisella kuoren poistolla ja esitumien sentrifugoinnilla.

Mikroinjektioimenetelmällä tuotetuista kalanalkioista yleensä noin 40-60 % ilmentää siirtogeeniä. Suuri osa geenitoiminnasta on kuitenkin ohimenevää, ja usein vain 1-20 %:ssa kaloista siirtogeeni on liittynyt kalan perintötekijöihin. Kaikille 1. sukupolven siirtogeenisille kaloille on ominaista, että ne ovat mosaiikkeja, eli siirtogeeni on liittynyt genomiin vain osassa soluja. Tämä kertoo siitä, että vieraan DNA:n integraatio on tapahtunut myöhemmin kuin 1-soluvaiheessa. Syynä on kalanalkion solujen nopea jakautuminen (esim. nisäkässoluihin verrattuna).

Mikroinjektioimenetelmän rinnalle on kehitetty muita geeninsiirtomenetelmiä, joiden pääasiallisena tarkoituksena on ollut mahdollistaa geeninsiirrot yhdellä kertaa suuremmille alkioryhmille. Nämä menetelmät ovat myös kasvi- ja nisäkässoluille sekä -alkioille käytetyt elektroporaatio, siittiövälitteinen geeninsiirto, biolistinen geeninsiirto (partikkelipommitus) ja lipofektio. Elektroporaatio, eli sähköpulsseiden käyttö solukalvojen läpäisevyyden parantamiseksi, soveltuu lajeille, joiden mätimunnan kuori on ohut ja pehmeä tai se voidaan poistaa (mm. seeprakala (*Danio rerio*), medaka (*Oryzias latipes*), karppe (*Cyprinus carpio*)). Sitä on käytetty sekä mätimuniin, siittiöihin että kalanalkioihin tehdyissä geeninsiirroissa. Vaikkakin eräissä tutkimuksissa siirtogeeniä ilmentävien yksilöiden määrä on ollut varsin korkea (50-80 %), ei menetelmä ole saavuttanut suurta suosiota. Tämä johtunee siitä, että käsittely on lisännyt alkioiden kuolleisuutta ja että tutkimustulokset ovat olleet hyvin vaihtelevia.

Siittiövälitteisessä menetelmässä mästi hedelmöitetään maidilla, johon on lisätty vierasta DNA:ta sisältävää geeniliuosta. DNA:n on todettu sitoutuneen siittiöihin, samoin kuin siirtyneen kalanalkioihin (Khoo et al., 1992; Chourrout ja Perrot, 1992; Patel ja Khoo, 1996), mutta siirtogeenien toimintaa ei ole havaittu. Siksi menetelmää ei pidetä luotettavana.

Biolistista menetelmää, jossa soluryhmiä "ammutaan" DNA-päälysteisillä partikkeleilla, käytetään erityisesti siirtogeenisten kasvien tuottamisessa, mutta myös bakteeri- ja nisäkässolujen geeninsiirtoon. Menetelmää on sovellettu myös seeprakalan, aasianmutakalan (*Misgurnus anguillicaudatus*) ja kirjolohen (*Oncorhynchus mykiss*) geeninsiirtoihin kohtalaisin tuloksin (Zelenin et al., 1991). Lipofektiolla saavutetut tulokset eivät ole olleet erityisen lupaavia (Szelei et al., 1994).

Nisäkäsalkioihin verrattuna kalanalkioiden saatavuus ja käsittely on monelta osin helpompaa ja vähemmän työlästä. Esimerkiksi selkärankaisten alkionkehityksen tutkimuksissa ja tautimallina paljon käytetty akvaariolaji, seeprakala tuottaa päivittäin runsaasti sukusoluja. Myös useilla viljelylajeilla (kirjolohi, karppi, tilapia (*Oreochromis*-suku) ym.) sukusolujen saatavuus on hyvää luokkaa. Lisäksi useimmilla kalalajeilla hedelmöitys ja alkionkehitys tapahtuvat eläimen ulkopuolella, toisin kuin nisäkkäillä, joiden alkiot tarvitsevat kehittyäkseen vaativia ja kustannuksiltaan hinnakkaampia vaiheita (emojen hormonikäsittelyt, alkioiden implantaatiot). Myös ylläpitokulut ovat minimaalisia koe- ja tuotantoeläiminä käytettyihin nisäkkäisiin (lehmät, kanit, hiiret) verrattuna.

Perustutkimuksessa siirtogeeniset kalat, lähinnä seeprakala ja medaka, ovat tuoneet merkittävää lisävaloa selkärankaisten alkionkehityksen vaiheisiin ja kulkuun. Näitä lajeja käytetään myös tautimalleina tutkittaessa eräitä ihmisen perinnöllisiä sairauksia kuten valtimonkovettumatautia, leukemiaa ja diabetestä. Vesiviljelyn soveltavassa tutkimuksessa ja kalanviljelyssä geeninsiirtotekniikoita on käytetty lähinnä kasvun tehostamiseen, aineenvaihdunnan muunteluun sekä kylmänsietokyvyn lisäämiseen. Tutkimusta tehdään myös tautienvastustuskyvyn lisäämiseksi sekä lisääntymisen säätelämiseksi. Nopeakasvuisuus (10-1000 %) on saavutettu useilla lajeilla (mm. lohikalat (*Salmo*-, *Oncorhynchus*- ja *Salvelinus*-suvut), karppi, tilapia, piikkimoppi (*Ictalurus punctatus*), hauki (*Esox lucius*)) siirtämällä joko nisäkkäistä tai kaloista eristettyä kasvuhormonia (growth hormone, GH) koodaavaa DNA:ta. Kasvunopeus on kalanviljelyssä merkittävin tuotanto-ominaisuus - ja rehukustannukset suurin tuotantokustannus. GH-siirtogeenisillä kaloilla on rehun sisältämän energian hyväksikäyttökyky parantunut ja rehumäärän tarve vähentynyt, mikä on kalanviljelyssä myös

ympäristövaikutuksia vähentävä tekijä. Hiilihydraattien käyttökykyä pyritään parantamaan lohikaloilla siirtämällä glukosinsiirtäjän ja heksokinaasin tuotannosta vastaavia geenisekvenssejä (Pitkänen et al., 1999). Taustalla on ajatus pyrkiä vähentämään kalaproteiinin ja -öljyn osuutta kalanrehuissa, sillä ennusteiden mukaan nämä luonnonkalavaroiden saatavat raaka-aineet eivät enää 10-15 vuoden kuluttua riitä alati kasvavan kalanviljelyn tarpeisiin (IFOMA, 1997).

2.2.2. Hankkeet siirtogeenisten kalojen tuottamiseksi

Ensimmäinen onnistunut geeninsiirto laboratoriossa tehtiin 80-luvun alussa kultakalalle (Zhu et al., 1985) ja pian tämän jälkeen julkaistiin ensimmäisiä tuloksia GH-siirtogeenin kasvua lisäävästä vaikutuksesta kaloilla (Zhu et al., 1986). Ensimmäiset nopeakasvuiset siirtogeeniset lohikalat tuotettiin 90-luvun alussa (Du et al., 1992, Devlin et al. 1994); nämä kalat kasvoivat keskimäärin 11-kertaa painavammiksi kuin kontrollisisarensa.

Tällä hetkellä noin 30 laboratoriota maailmassa käyttää tutkimuksissaan siirtogeenisiä kaloja. Osa näistä työskentelee kalalajien kanssa, joita tuotetaan ruokakalaksi (mm. karppi, tilapia, lohikalat, eräät monnit). Alla on osittainen luettelo tällä hetkellä käynnissä olevista hankkeista (Report of the Working Group on the Application of Genetics in Fisheries and Mariculture, ICES CM 1999/F:1):

KANADA:

Production of transgenic salmon with enhanced growth and altered reproductive capability using "all-salmon" gene constructs. Dr. R. Devlin, Dept. of Fisheries & Oceans, West Vancouver.

Molecular mechanisms controlling the seasonal and hormonal regulated synthesis of fish antifreeze proteins in winter flounder, and the use of antifreeze protein genes in conferring freeze resistance to other fish species. Dr. C.L. Hew, Dept. of Clinical Biochemistry, University of Toronto.

Development of transgenic salmon beneficial to aquaculture. Transfer of (i) antifreeze protein gene for freeze resistance, (ii) growth hormone gene for growth enhancement and (iii) lysozyme gene for disease resistance. Dr. C.L. Hew, Dept. of Clinical Biochemistry, University of Toronto.

SUOMI:

Enhanced growth and metabolism of rainbow trout via gene transfer technology. Prof. H. Mölsä, Dr. T.I. Pitkänen, Dr. A. Krasnov, Institute of Applied Biotechnology, University of Kuopio.

IRLANTI:

Assessment of biological containment and gene flow in transgenic sterile fish. National Diagnostics Centre, Galway. Drs T. Smith, O. McMeel, B. Cleary, M. Cairns and EU partner laboratories.

ISO-BRITANNIA:

Production of improved strains of tilapia for aquaculture in Africa and the Far East. Dr. D.O.F. Skibinski. School of Biological Sciences, University of Wales Swansea.

Production of growth-enhanced strain of tilapia by gene transfer. Dr. N. Maclean, University of Southampton.

Kenttäkokeita GH-siirtogeenisillä kaloilla on meneillään ainakin Yhdysvalloissa (monnikalat), Israelissa (karppi) ja Kuubassa (tilapia). Ensimmäisen tuotannollisen sovelluksen takana on kanadalais-amerikkalainen kalanpoikasia tuottava yritys, Aqua Bounty Farms (Prince Edward Island, Newfoundland ja New Brunswick, Kanada). Se tuottaa geneettisesti muunneltuja atlantinlohen (*Salmo salar*) poikasia, joille on siirretty kuningaslohen (*Oncorhynchus tshawytscha*) kasvuhormonigeeni amerikankivinilkan (*Macrozoarces americanus*) AFP (anti-freeze protein)-säätelyosan säätelmänä. Nämä kalat kasvavat 4-6 kertaa nopeammin kuin kontrollit, käyttävät 25 % vähemmän rehua elinaikanaan, niiden veren GH-pitoisuudet ovat samaa luokkaa kuin luonnonlohilla ja niiden ulkoasu, lihanlaatu ja -maku eivät poikkea tavanomaisesta lihan alhaisempaa rasvapitoisuutta ja vaaleampaa väriä lukuun ottamatta. Yrityksessä tehdään kehitystyötä myös nieriällä (*Salvelinus*-suku), taimenella (*Salmo trutta*) ja tilapialla. Myös kalanviljely-yritykset Kent SeaFarms (Yhdysvallat) ja King Salmon (Uusi-Seelanti) kehittävät geneettisesti muunneltuja lohia kasvatukseen. Kiinassa tuotantomittakaavaan soveltaminen on odotettavissa kasvuhormoni-siirtogeenisen karpin osalta. Suomessa GM-lohikaloja käytetään perus- ja soveltavassa tutkimuksessa (Kuopion yliopisto).

2.2.3. Siirtogeenitekniikan käyttötarkoitukset kalabiologiassa ja vesiviljelyssä

1. Selkärankaisten alkionkehityksen ja lisääntymisen perustutkimus.
2. Tautimallit ihmisen perinnöllisille sairauksille (mm. diabetes, leukemia, Parkinsonin tauti)
3. Sovellukset kalanviljelyssä:
 - kasvunopeuden lisääminen -> aikaisemmin saavutettu teuraskoko ja parantunut rehunkäyttökyky lisäävät kannattavuutta ja vähentävät ympäristövaikutuksia

- hiilihydraattiainevaihdunnan parantaminen -> kasviperäisten raaka-aineiden käyttö rehussa vähentää luonnonkalapopulaatioihin kohdistuvia kalastuspaineita

- kylmänsietokyvyn parantaminen -> mahdollistaa kalanviljelyn myös kylmissä vesissä (esim. Kanadan rannikkoalueet)

- taudinvastustuskyvyn lisääminen -> alentunut kuolleisuus ja vähentynyt antibioottien käyttö parantavat kannattavuutta ja vähentävät ympäristövaikutuksia

4. Kalan elintarvikeominaisuuksien muokkaaminen (esim. lihan väri ja rakenne, rasvahappokoostumus)

5. Lääkeaineiden tuotanto kalan eritteissä/kudoksissa

2.2.4. Kirjallisuus

Chourrout, D. & Perrot, E. 1992. No transgenic rainbow trout produced with sperm incubated with linear DNA. *Mol Mar Biol Biotechnol* 1: 282-285.

Du, S.J., Gong, Z., Fletcher, G.L., Shears, M.A., King, M.J., Idler, D.R. & Hew, C.L. 1992. Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of an "all fish" chimeric growth hormone gene construct. *Biotechnology* 10: 176-181.

Devlin, R.H., Yesaki, T.Y., Biagi, C.A., Donaldson, E.M., Swanson, P. & Chan, W.K. 1994. Extraordinary salmon growth. *Nature* 371: 209-210.

IFOMA, International Fishmeal & Oil Manufacturers Association. Annual Conference 1997, Rome, Italy.

Khoo, H.W., Ang, L.H., Lim, H.B. & Wong, K.Y. 1992. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into zebrafish. *Aquaculture* 107: 1-19.

Patel, J.G. & Khoo, H.W. 1996. Nuclear internalization of foreign DNA by zebrafish spermatozoa and its enhancement by electroporation. *Journal of Experimental Zoology* 274:121-129.

Szelei, J.L., Varadi, F., Müller, F., Erdelyi, L., Orban, L., Horvath, L. & Duda, E. 1994. Liposome mediated gene transfer in fish embryos. *Transgenic Research* 3: 116-119.

Pitkänen, T.I., Krasnov, A., Reinisalo, M. & Mölsä, H. 1999. Transfer and expression of glucose transporter and hexokinase genes in salmonid fish. *Aquaculture* 173: 319-332.

Zelenin, A.V., Alimov, A.A., Barmintzev, V.A., Beniumov, A.O., Zelenina, I.A., Krasnov, A.M. & Kolesnikov, V.A. 1991. The delivery of foreign genes into fertilized fish eggs using high-velocity microprojectiles. *FEBS Letters* 287: 118-120.

Zhu, Z., Li, G., He, L. & Chen, S. 1985. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *Z. Angew. Ichthyol.* 1: 31-34.

Zhu, Z., Xu, K., Li, G., Xie, Y. & He, L. 1986. Biological effects of human growth hormone gene microinjected into fertilized eggs of loach *Misgurnus anguillicaudatus* (cantor). *KeXue TongBao (Science Bulletin, Academia Sinica)* 31: 988-990.

2.3. LINNUT

2.3.1. Geeninsiirtomenetelmät linnuilla

Siirtogeenitekniikoiden soveltaminen linnuilla on huomattavasti vaikeampaa kuin esimerkiksi kaloilla tai nisäkkäillä. Syynä tähän on se, ettei linnun alkion yksisoluvaihetta pääse helposti käsittelemään. Munasolu itsessään on hyvin hauras, ja hedelmöityksen jälkeen se kulkee noin vuorokauden lisääntymiskanavassa kasvattaen ympärilleen valkuaismassaa ja kuorta. Munintahetkellä kanan alkio koostuu jo noin 30.000-60.000 solusta.

Juuri hedelmöitynyt munasolu voidaan poistaa kanan munanjohtimesta ja käyttää mikroinjektiotekniikkaa siirtogeenin siirtämiseen, jonka jälkeen alkio täytyy vielä kasvattaa normaaleja olosuhteita mukaillen (mm. Sherman et al. 1998). Menetelmä on kuitenkin tehoton ja vaatii linnuilla monimutkaisia kasvatusmenetelmiä (haudontavaihe).

Vastamunitun munan monisoluisista alkiota (blastodermivaihe) voidaan käsitellä heti tai noin kahden päivän kuluttua, jolloin sulusolujen kantasolut liikkuvat sukuelimiksi muotoutuville alueille. Siirtogeenien kantajina on yleensä käytetty retrovirsuksia. Siirtogeenisiä lintuja saadaan seuraavassa polvessa jos sulusolujen kantasoluja saadaan (sattumalta) transformoitua. Menetelmän tehostamiseksi on käytetty viljeltyjä, transformoituja blastodermisoluja, jotka on injektoitu vastaanottaja-alkioihin, joiden omien solujen kehittymistä on häiritty niin, että tuotetussa kimeerissa siirretyt solut valtaavat alaa (Speksnijder et al. 1999).

Sulusolujen kantasolujen esikäsitteilyn mahdollisuutta on tutkittu myös linnuilla. Kantasolujen eristäminen on suhteellisen helppoa. Viljeltyjen kantasolujen käsittely ja tumansiirtotekniikat (kloonaus) ovat lintujen osalta vielä kehittymättömiä tekniikoita, eikä pysyvästi siirtogeenisiä lintuja ole näistä toistaiseksi saatu aikaan.

Vaihtoehtoisena menetelmänä on tutkittu siittiöiden käyttöä siirtogeenin kuljettajina (Squires 1999). Koska siittiöt eivät kuljeta puhdasta DNA:ta, välittäjänä käytetään liposomeja, jotka suojaavat siirtogeeniä ja auttavat kulkeutumista siittiön solukalvon läpi (Rottmann et al. 1996).

Myös linnuilla siirtogeenitekniikoiden kehittämisen suurin haaste on yhdistelmägeenin siirtämisen tarkentaminen niin, että geeni toimisi juuri toivotulla tavalla kohde-eläimessä.

2.3.2. Kana

Kana bioreaktorina

Kanan osalta ollaan hyvin lähellä sitä, että jollakin edellämainituista tekniikoista saadaan kehitettyä menetelmä, jolla siirtogeenisten linjojen tuotto tulee kannattavaksi. Näiden mahdolliset kaupalliset sovellukset ovat jo johtaneet useiden uusien, vain

siirtogeenisiin kanoihin keskittyvien biotekniikkayhtiöiden muodostamiseen Euroopassa ja Yhdysvalloissa (Gibbins 1998).

On arveltu, että ensimmäisenä kaupalliseen tuotantoon tulisi siirtogeenisiä kanalinjoja, joiden päämäärä olisi yhdistelmäproteiinien tuotanto munassa. Joidenkin laskelmien mukaan proteiinien tuotanto munissa olisi edullisempaa kuin maidossa (<http://www.avigenics.com/protprod.html>), mutta tätä ei ole vielä käytännössä todistettu. Vielä ei myöskään tiedetä, muokkautuvatko yhdistelmäproteiinit translaation jälkeen kanan elimistössä ihmiselle käyttökelpoiseen muotoon. Selvittämättä on myöskin, miten uuden valkuaisaineen runsas ilmeneminen munassa vaikuttaa itse munan muodostumiseen. Toisaalta voidaan ajatella, että vieraan proteiinin tuottamisella munanvalkuaiseen olisi vähemmän vaikutusta itse tuottajaeläimeen kuin esim. vieraan geenin ilmenemisellä maitorauhasessa. Esimerkiksi biologisesti aktiivisten aineiden, kuten erytropoietiini, joiden tuottaminen nisäkkäissä johtaa ongelmiin (kulkeutuvat vereen ja kudosteisiin), voitaisiin olettaa aiheuttavan vähemmän ongelmia kanan munanjohtimessa.

Guelphin yliopiston tukijaryhmä (Ann Verrinder Gibbins) on keskittynyt kananmunan valkuaisessa normaalistikin ilmenevän lysotsyymin (bakteerien seinämiä hajottava entsyymi) määrän ja laadun muokkaamiseen siirtogeenitekniikalla. Tavoitteena on saada aikaan kanoja, jotka tuottavat suuria määriä lysotsyymiä, jolla olisi laajakirjainen antibakteerinen vaikutus.

Tuotannon tehostaminen

Yhdysvaltalainen Avigenics Inc. mainostaa tällä hetkellä tuotemerkillä FibrGroTM Advantage siirtogeenisiä broilerilinjoja, joissa on siirtogeeniteknisesti muunnettu lihassolujen kehitystä (<http://www.avigenics.com/agrotrait.html>), mutta selvää ei ole, ovatko ne jo myynnissä.

Muita tulevaisuuden näkymiä on kanan ruoansulatusjärjestelmän muokkaaminen siirtogeenitekniikalla. Koska linnut ovat yksimahaisia, ne eivät pysty hyödyntämään korkeakuituisen rehun sisältämää energiaa tai valkuaisaineita kuten märehtijät. Siirrettäväksi on ajateltu geenejä, jotka koodaisivat ruoansulatusta edistäviä entsyymejä, esim. selluloosaa tai fytiiniä hajottavia entsyymejä. Toistaiseksi tällaisia kokeiluja on tehty vain hiirillä.

Myös tautiresistenssin lisääminen siirtogeneilla on ilmeinen mielenkiinnon kohde, mutta selviä suunnitelmia ei ole ainakaan julkaistu.

2.3.3. Kirjallisuus

Gibbins, A.M.Verrinder. 1998. The chicken, the egg, and the ancient *mariner*. *Nature Biotechnology* 16: 1013-1014.

Rottmann, O., Antes, R., Höfer, P., Sommer, B., Wanner, G., Görlach, A., Grummt, F. & Pirchner, F. 1996. Liposome-mediated gene transfer via sperm cells. High transfer efficiency and persistence of transgenes by use of liposomes and sperm cells and a murine amplification element. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 113: 401-411.

Sherman, A., Dawson, A., Mather, C., Gilhooley, H., Li, Y., Mitchell, R., Finnegan, D. & Sang, H. 1998. Transposition of the *Drosophila* element *mariner* into the chicken germ line. *Nature Biotechnology* 16: 1050-1053.

Specksnijder, G., Etches, R.J. & Gibbins, A.M.V. 1999. Germline chimeric chickens from FACS-sorted donor cells. *Molecular Reproduction and Development* 52: 33-42.

Squires, E.J. 1999. Status of sperm-mediated delivery methods for gene transfer. Teoksessa: *Transgenic Animals in Agriculture*, 87-96, Toim. J.D. Murray, G.B. Anderson, A.M. Oberbauer & M.M. McGloughlin, CABI Publishing, New York, U.S.A.

2.4. NISÄKKÄÄT

2.4.1 Geeninsiirto ja lisääntymisbiologiset menetelmät

Menetelmät, joilla DNA:ta siirretään keinotekoisesti soluun, voidaan luokitella neljään ryhmään: biologiset, mekaaniset, sähköiset ja kemialliset. Biologisia menetelmiä ovat esimerkiksi viljeltyjen alkion kantasolujen käyttö sekä retrovirusvälitteinen geenien siirto. Mekaanisia menetelmiä ovat esimerkiksi mikroinjektio, paineen käyttö sekä partikkelipommitus, elektroporaatio perustuu sähköisten pulssien käyttöön ja kemialliset tekniikat perustuvat yleensä DNA:n kykyyn muodostaa komplekseja positiivisesti varautuneiden polymeerien kanssa (esim. Luo & Saltzman 2000).

Siirtogeenisiä nisäkkäitä on tuotettu pääasiassa kolmella eri menetelmällä: mikroinjektioilla, alkion kantasolujen avulla sekä virusvälitteisesti. Yksinkertaisin ja suhteellisen tehokas menetelmä siirtää DNA:ta soluun on mikroinjektio. Se on ollut myöskin käytetyin menetelmä siirtogeenisten eläinten tuottamisessa. Mikroinjektiossa yhdistelmägeeniä sisältävä liuos ruiskutetaan hedelmöitetyn munasolun esitumaan.

Viljeltyjen alkion kantasolujen käyttö tähtää siihen, että soluihin siirretään DNA:ta homologisella rekombinaatiolla (gene targeting, kohdennettu siirto geenin alkuperäiseen kohtaan). Viljeltävistä soluista voidaan seuloa halutun kaltaiset siirtogeeniset eläimet. Tämä menetelmä on toiminut toistaiseksi vain hiirillä. Menetelmän ei kuitenkaan tarvitse rajoittua kantasoluihin. Aivan viime aikoina on onnistuttu viljelemään erilaistuneita somaattisia soluja sekä aikuisen naudan, lampaan että sian kudoksista, ja estämään tietyn geenin ilmeneminen näissä soluissa homologisella rekombinaatiolla (ks. Sika elinten luovuttajana, ja Poljaeva & Campbell 2000).

Retrovirusten avulla voidaan soluihin siirtää DNA:ta. Tällöin saadaan kimeerisiä yksilöitä, joiden jälkeläisistä pitää seuloa haluttu siirtogeeninen yksilö. Siirtogeenin suhteen homotsygoottien yksilöiden saamiseen saatetaan tarvita 10-20 sukupolvea.

Tuotantomittakaavaisen siirtogeenisen populaation perustaminen on hidasta ja kallista. Mikroinjektiota varten tarvitaan munasolujen luovuttajiksi 5-50 elävää eläintä yhtä tuotettua siirtogeenistä eläintä kohti. Siirtogeenisellä perustajaeläimellä pitää tuottaa tyypillisesti useampi sukupolvi jälkeläisiä, ja kaikki jälkeläiset pitää seuloa siirtogeenin suhteen. Siirtogeeni kiinnittyy tyypillisesti vain toiseen kromosomiin, eli ensimmäisen sukupolven siirtogeeninen eläin on ns. hemitsygootti siirtogeenin

suhteen. Tästä johtuen ensimmäisen polven siirtogeenisen yksilön jälkeläisistä vain 50 %:ssa on siirtogeeni.

Eläinjalostuksessa käytetyt lisääntymisbiologiset menetelmät, kuten superovulaatio, keinosiemennys, koeputkihedelmoitus ja alkionsiirto, on hyödynnetty myöskin siirtogeenisten eläinten tuotannossa. Lisäksi suuren mielenkiinnon kohteena ovat tumansiirtotekniikat, joilla voitaisiin nopeasti monistaa siirtogeenisiä eläimiä.

Tuman siirto tehdään munasoluun, josta tuma on poistettu. Tumien luovuttajina voidaan käyttää alkion soluja tai nykyisin myös aikuisen yksilön erilaistuneita soluja. Mikäli käytetään aikuisen soluja, tekniikasta käytetään useasti nimitystä kloonaus. Alkion solujen tumia on menestyksekkäästi siirretty jo yli 10 vuotta sitten, ja tällä tekniikalla on monistettu lampaita, vuohia, nautoja ja sikoja (esim. Rudolph 1999). Aikuisen solujen tumien siirto on onnistunut esimerkiksi lampaalla, vuohella (Wilmot et al. 1997, Baguisi et al. 1999) naudalla ja sialla.

Toistaiseksi sekä siirtogeeni- että tumansiirtotekniikoihin liittyy huomattavia käytännön ongelmia, eikä tekniikoilla ole vielä merkitystä eläintuotannossa. Ne ovat liiketoiminnan kannalta liian kalliita: yhden siirtogeenisen vuohen tai lehmän on arvioitu maksavan noin 0,5-2 miljoonaa markkaa. Tekniikoiden tehokkuus on alhainen: alle 1 % injektoiduista munasoluista johtaa siirtogeeniseen aikuiseen, lisäksi solun- ja yksilönkehityksen eri vaiheissa kuolleisuus on normaalia korkeampi ja epämuodostumien syntyminen tavallista todennäköisempää. Tumansiirtotekniikoihin liittyvä oma ongelmansa on somaattisten solujen viljelmien lyhyt elinikä.

2.4.2. Sika

Sika on kotieläimistä käytetyin geeninsiirtojen kohteena. Syynä tähän on sen lyhyt lisääntymiskierto (tiineys kestää vajaat 4 kuukautta), suuri pahnuekoko (kerralla syntyy 8-12 porsasta) sekä ennen kaikkea se, että sika muistuttaa fysiologialtaan eniten ihmistä (mikä tekee sioista houkuttelevia malleja erilaisiin biolääketieteellisiin sovellutuksiin).

Tuotannon tehostaminen siirtogeneilla

Ensimmäiset siirtogeeniset siat tehtiin kasvuhormoni-yhdistelmägeneilla 1980-1990-lukujen taitteessa. Päinvastoin kuin aiemmin hiirikokeissa oli todettu, siat eivät kasvaneetkaan paremmin. Lisäksi siirretyt geenit aiheuttivat lukuisia patologisia sivuvaikutuksia, (mm. vatsahaavoja, munuaisvikoja, sydänvikoja, keuhkokuumetta ja steriiliyttä), jotka johtuivat kasvuhormonigeenin säätelemättömästä tuotannosta (yhdistelmägeenissä oli eri geenistä peräisin oleva säätelyalue) siirtogeenisissä eläimissä. (esim. Pursel et al. 1989, Pinkert et al. 1994).

Sikojen kasvuun on yritetty vaikuttaa myös muuttamalla lihassolujen erilaistumista. Tätä varten tuotettiin yhdistelmägeeni kanan esisyöpägeenistä (*c-ski*) (Pursel et al. 1992). Tulokset eivät olleet odotetun kaltaisia, vaan sioissa oli havaittavissa mm. lihasten surkastumista, oletetusti geenitoiminnan väärän säätelyn vuoksi. Viime aikoina sikojen kasvu on pyritty muuttamaan yhdistelmä-kasvutekijöiden avulla. Myönteisiä tuloksia (lihassmassan lisääntyminen ilman haitallisia sivuvaikutuksia) on raportoitu käyttämällä lihaskudoksessa ilmenevää IGF-1-siirtogeeniä (säätelyalue koostuu lintujen lihasgeenien säätelyalueesta) (Pursel et al. 2000).

Lihassmassaa voidaan lisätä myös geeniterapialla, jossa yhdistelmägeeniä ruiskutetaan suoraan kohdekudokseen (vaikutus jää paikalliseksi, eikä ole periytyvä). Tähän on käytetty kasvuhormonin tuotantoa lisäävää sian GHRH-hormonin geeniä yhdistettynä lihasspesifiseen säätelyalueeseen, jolla saatiin aikaan huomattava massan lisäys (42%) ilman sivuvaikutuksia (Draghia-Akli et al 1999).

Tuotannon tehokkuutta on pyritty lisäämään myös muokkaamalla sian maidon koostumusta. On arvioitu, että tehotuotannossa (jossa pyritään maksimoimaan jälkeläistuotanto) porsaas saavuttavat vain osan kasvupotentiaalistaan maidon riittämättömyyden ja huonon koostumuksen vuoksi. Alfa-laktalbumiini on maidon heran valtavalkuaisaine, jonka määrän lisääminen johtaa suurempaan laktoosituotantoon ja maitomäärän lisääntymiseen. Sikoihin on siirretty naudnan alfa-laktalbumiinin yhdistelmägeeni (Bleck et al. 1996), ja ensimmäiset kokeet siirtogeenisillä linjoilla ovat osoittaneet nousua alfa-laktalbumiinin konsentraatiossa, mutta lopullinen vaikutus maidontuotantoon on vielä selvittämättä (Bleck et al. 1998).

Taudinkestävyuden parantaminen

Taudinkestävyyttä on yritetty parantaa sekä periytyvillä siirtogeneillä, että somaattisiin soluihin (tiettyyn kudokseen) tehdyllä geeniterapialla (Muller & Brem 1996). Päämääränä on vaikuttaa eläinlääkinnän vastustuskykyyn erilaisia taudinaiheuttajia vastaan. Sialla on kokeiltu kahta eri lähestymistapaa: tietyn resistenssigeenin siirtoa ja vasta-aineita koodaavien geenien siirtoa.

Resistenssigeeneistä tutkituin on hiiren Mx1. Mx-valkuaisaineiden on osoitettu estävän tiettyjen RNA-virusten monistumista, ja ihmisen Mx-yhdistelmägeenillä on hiirissä saatu nostettua influenssaA-viruksen vastustuskykyä (Pavlovic et al. 1995). Ensimmäiset yritykset hyödyntää Mx1-geeniä sioissa kariutuivat yhdistelmägeenin säätelyn epäonnistumiseen siirtogeenisissä eläimissä (Muller et al. 1992).

“Synnynnäinen immunisaatio” voitaisiin saada aikaan siirtämällä eläimeen taudinaiheuttajaan kohdistuvan immunoglobuliinin geeni. Hiirissä on pystytty tuottamaan suuria määriä monoklonaalisia vasta-aineita yhdistelmägeenien avulla. Samoja yhdistelmägeenejä on testattu myös sioissa ja lampaissa, mutta kummassakin tapauksessa joko vasta-aineen tuotanto on ollut vähäistä, tai sen vasta-aineominaisuudet (sitoutuminen) ovat olleet heikkoja.

Sika bioreaktorina

Sika pystyy tuottamaan maidossa 0.3-1.0 g/l ihmisen veriplasman valkuaisainetta. Tämä on osoitettu sioilla, jotka tuottavat ihmisen veren faktori VIII- hyytymistekijää (Paleyanda et al. 1997). Ongelmana kuitenkin on plasmaproteiinin translaation jälkeinen muokkautuminen, joka ei tapahdu maitorauhasessa oikealla tavalla. Toisaalta on osoitettu, että siirtogeenisen sian verestä eristetty ihmisen hemoglobiini on rakenteellisesti ja toiminnallisesti normaalia vastaava (Manjula et al. 1998).

Sika tautimallina

Fysiologiansa vuoksi sika sopii jyrksijöitä paremmin ihmisen tautien malliksi. Ensimmäinen esimerkki suurikokoisesta nisäkäsmallista ovat siirtogeeniset siat, joilla on rhodopsiini-geenissä ihmisellä näkösauvojen surkastumista aiheuttava mutaatio, joka johtaa retinitis pigmentosa- taudinkuvaan (Petters et al. 1997).

Sika elinten luovuttajana (ksenotransplantaatio)

Useat tutkimusryhmät kehittävät siirtogeenisiä sikalinjoja, joiden kudokset eivät yhdistelmägeenin/geenien ansiosta aiheuttaisi nk. hyperakuuttia hylkimisreaktiota, joka yleensä seuraa lajienvälisistä elintensiirroista. On tuotettu sikoja, joilla immuunivaste on saatu estettyä, mutta vaikutus on toistaiseksi ollut ohimenevä (Piedrahita 2000). Tällä hetkellä keskitytään hyperakuutin hylkimisen pääasiallisen aiheuttajan (alpha-1,1,3 galactosyl transferase) ilmenemisen estämiseen joko sitä tuhoavien entsyymien aktivoimisella tai sen toiminnan estämisellä ("knock-out") kohdistetun geeninsiirron avulla. Viimemainittu on juuri tullut mahdolliseksi, kun on onnistuttu viljelemään aikuisen sian soluja ja sitten kloonaamaan niistä elinkykyisiä sikoja (PPL Therapeutics Plc- yhtiö on ilmoittanut sekä pystyvänsä estämään kyseisen geenin toiminnan viljelyissä sian soluissa että raportoinut ensimmäisten kloonattujen sikojen syntymisen 5.3.2000, <http://www.ppl-therapeutics.com>). Nextran on toinen kaupallinen (<http://www.baxter.com>) yhtiö, joka tähtää siirtogeenisten sikojen tuottamiseen elintenluovuttajiksi. Eläinten käyttö elintenluovuttajina on herättänyt kiivasta keskustelua, mm. retrovirusten mahdollisen aktivoitumisen ja siirtymisen vuoksi. Ryhmä tiedemiehiä esitti moratoriota ksenotransplantaatioille kunnes niihin liittyvät riskit on paremmin selvitetty (Bach et al. 1998; katso myös: http://www.nature.com/nm/web_specials/xeno).

2.4.3. Lammas ja vuohi

Siirtogeenisiä lampaita on käytetty ensisijaisesti villantuotantoon ja tautienvastuskykyyn liittyvien ominaisuuksien tutkimiseen. Siirtogeenisten vuohtien tutkimus ei toistaiseksi ole tähdännyt kotieläintuotannon parantamiseen, vaan lähinnä lääkeaineiden tuottamiseen.

Villantuotanto

Erityisesti Australiassa ja Uudessa-Seelannissa on kiinnitetty huomiota siirtogeenisten lampaiden tuomiin mahdollisuuksiin villantuotannossa. Tutkimus on keskittynyt lähinnä villakuidun ominaisuuksien parantamiseen ja lampaan villantuotannon lisäämiseen (esim. Pursel & Rexroad 1993, Powell et al. 1994, Su et al. 1998). Lisäksi on tutkittu runsaasti mahdollisuutta lisätä villakuituun kokonaan uusia ominaisuuksia geeninsiirron avulla (esim. Powell et al. 1994, Bawden et al. 1998).

Lampaan villantuotanto-ominaisuuksista on tutkittu esimerkiksi villan kasvua, kuidun pituutta ja halkaisijaa sekä kuitujen lukumäärää käyttämällä yhdistelmägeeniä, joka koostuu lampaan insuliinin kaltaisen kasvutekijä-1:n (IGF-1) sekvenssistä sekä hiiren keratiinigeenin promoottorista (Su et al. 1998). Villakuidun proteiinikoostumuksen muuttamisella voitaisiin saada villaan uusia ominaisuuksia. Tällöin erityisesti villan keratiinin tai keratiiniin liittyvien proteiinien merkitys on ilmeinen. Näiden proteiinien geeneihin perustuvia yhdistelmägeenejä on onnistuneesti siirretty lampaaseen (Powell et al. 1994, Bawden et al. 1998).

Tautien vastustuskyky

Lampaan lentivirukset ovat maailmanlaajuisesti yleisiä taudinaiheuttajia, jotka alentavat lampaiden tuotantokykyä. Lentivirukset aiheuttavat lampaissa mm. aivo- ja nivel tulehdusta sekä keuhkokuumetta. Visna –virus on tyypillinen lentivirus ja lisäksi sen taudinaiheuttamismekanismi sekä molekyylibiologia tunnetaan hyvin. Visna-viruksen kuoriproteiini saa aikaan sairastuneessa eläimessä immuunivasteen. Rexroadin tutkimusryhmä on rakentanut kuoriproteiinigeenin sisältävän yhdistelmägeenin ja siirtänyt sen lampaaseen (Pursel & Rexroad 1993, Clements et al. 1994). Ryhmän tarkoituksena on tutkia mahdollisuutta tuottaa virukselle perinnöllisesti vastustuskykyinen siirtogeeninen lammas (Pursel & Rexroad 1993, Clements et al. 1994).

Lammas ja vuohi bioreaktoreina

Molemmilla lajeilla, lampaalla ja vuohella, on tutkittu mahdollisuutta tuottaa siirtogeenillä farmakologisesti kiinnostavia proteiineja. Tutkimus on keskittynyt kudosspesifisesti toimivien geenirakenteiden kehittämiseen ja siirtämiseen, erityisesti tavoitteena on ollut siirtää utareessa toimivia geenirakenteita, joilla tuotettaisiin ihmisen proteiineja lääketieteelliseen käyttöön. Tällöin siirtogeenisen eläimen maidosta voitaisiin eristää haluttua proteiinia. Tällaisten ns. rekombinanttiproteiinien tuottaminen kotieläimissä ratkaisee eräitä mikrobien tai viljeltyjen eläinsolujen käyttämiseen vastaavina bioreaktoreina liittyviä ongelmia (Baguisi et al. 1999).

Rekombinanttiproteiinien tuotannossa lampaan ja vuohen etuja nautaan verrattuna ovat lyhyempi sukupolvenväli ja alhaisemmat ylläpitokustannukset. Vuohen käyttö proteiinituotannossa on taloudellisesti kannattavampaa kuin lampaan, koska vuohi lypsää kaksi tai kolme kertaa enemmän maitoa kuin lammas, vuoheessa esiintyy vähemmän skrapieta ja lisäksi vuoheessa ei ole toistaiseksi tavattu BSE:ta (Bovine Spongiform Encephalopathy, "hullun lehmän tautia").

Vuohella on toistettavasti pystytty eristämään rekombinanttiproteiinia 1-5 g litrasta maitoa. Tällöin yhden vuohikatraan tuotanto olisi suuruusluokkaa 1-300 kg rekombinanttiproteiinia vuodessa (Baguisi et al. 1999). Lampaalla tuotanto on vaihdellut tyypillisimmillään välillä 0,000 005 – 5 g (esim. Niemann et al. 1999, Rudolph 1999) ja suurin raportoitu tuotanto on ollut 33 g/l (Carver et al. 1993). Taloudellisesti kannattavan tuotannon raja riippuu proteiinista, mutta karkeaksi rajaksi on esitetty ≥ 1 g proteiinia litrasta maitoa (Rudolph 1999).

Viimeisen kymmenen vuoden aikana kotieläimiin on siirretty ainakin 40-50 erilaista yhdistelmägeeniä, jotka tuottavat proteiineja maitoon (esim. Rudolph 1999). Lampaaseen on siirretty esimerkiksi ihmisen alfa1-antitrypsiini (Carver et al. 1993) ja veren hyytymistekijä VIII (Niemann et al. 1999) ja vuoheen ihmisen antitrombiini III (Baguisi et al. 1999).

Siirtogeenisten vuoheiden (ja lampaiden) hyödyntämisessä päätekijöinä ovat bioteknologiayhtiöt PPL Therapeutics (Englanti, Roslin Instituutin tietotaitoon perustuva, <http://www.ppl-therapeutics.com>), Genzyme Transgenics (USA,

<http://www.transgenics.com>), ja Nexia (Kanada, <http://www.nexiabiotech.com>). Yhtiöt ovat yleensä patentoineet käyttämänsä menetelmät, esimerkiksi Genzyme on patentoinut monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisen siirtogeenisissä eläimissä. Nexia on kehittänyt geeninsiirtoja varten oman vuohirodun BELE (Breed Early Lactate Early), joka on kääpiökokoinen, erittäin nopeasti lisääntyvä vuohityyppi. Nexia tähtää markkinoille ainakin lääkeaineella NEX41, ihmisen rekombinantti-kasvuhormonilla ja aivan uudella aluevaltauksella, maidosta eristettävällä ”bioteräksellä” BioSteel™, joka on hämähäkin seittiproteiinin geeniin perustuva yhdistelmäproteiini. Ensimmäiset BioSteel-vuohet, Webster ja Peter, syntyivät tämän vuoden tammikuussa, ja niiden jälkeläisten maidosta tullaan eristämään seittikuitua. Genzyme Transgenics on tutkinut yli 60 eri proteiinin ilmenemistä siirtogeenisissä eläimissä. Genzyme tuotti syksyllä 1999 maailman ensimmäiset siirtogeeniset, kloonatut vuohet (3 naarasta), jotka tuottavat ihmisen antitrombiini III-hyytymistekijää. Kyseinen siirtogeenitekniikalla tuotettu rekombinanttiproteiini on ensimmäinen, joka on päässyt USA:ssa kliinisten kokeiden kolmanteen (viimeiseen) vaiheeseen. PPL Therapeutics onnistui ensimmäisenä tuottamaan siirtogeeniset lampaat (Cupid ja Diana), joille oli tehty kohdennettu geenin siirto. PPL:n siirtogeenisissä lampaissa tuottama rekombinantti-alfa1-antitrypsiini on kliinisten kokeiden kakkosvaiheessa USA:ssa, samoin kuin BSSL (Bile Salt Stimulated Lipase), jolle on haettu koelupaa myös Belgiasta. (BSSL samoin kuin laktoferriini ja muutamat muut rekombinanttiproteiinit voidaan luokitella nk. terveysvaikutteisiksi aineiksi ”nutraceuticals”, eikä varsinaisiksi lääkeaineiksi). Lisäksi PPL kehittää ainakin rekombinantti-fibrinogeeniä (yksi veren hyytymistekijöistä).

2.4.4. Nauta

Suomen ensimmäiset ja toistaiseksi ainoat tuotantomittakaavassa kasvatetut siirtogeeniset kotieläimet ovat nautoja. Pharming-yhtiö (<http://www.pharming.com>) kasvattaa Lapinlahdella siirtogeenisiä lehmäitä, jotka tuottavat ihmisen laktoferriiniä maidossaan. Lehmät on tuotettu tuomalla Suomeen siirtogeenisen sonninin spermaa. Navetan yhteyteen on parhailaan suunnitteilla laitos maidon jatkokäsittelyä varten. Ensimmäinen Suomessa kehitetty (Kuopion yliopisto) siirtogeeninen kotieläin oli nauta, Huomen, jolla oli perimässään ihmisen erytropoietiiniinigeenikonstrukti. Huomenta ei kuitenkaan koskaan tiineytetty, koska oli odotettavissa, että siirtogeenin tuote olisi ”vuotanut” maidon lisäksi muihin kudoksiin aiheuttaen terveysongelmia.

Nauta bioreaktorina

Farmaseuttisten proteiinien tuottajana nauta ei ole ollut aivan yhtä suosittu kohde kuin lampaat ja vuohet, mm. hitaamman lisääntymisensä vuoksi. Biotekniikkayhtiöistä juuri lähinnä Pharming on keskittynyt siirtogeenisten nautojen tuottamiseen. Pharmingin tuotteisiin kuuluu ihmisen laktoferriinin (käyttökohteet: tulehdusten hoito, hepariinin neutralointi, reuma) lisäksi mm. ihmisen kollageeni I (ensimmäiset siirtogeeniset lehmät aloittavat tuotannon tämän vuoden loppupuolella) ja lysosyymi. Pharming toimii kiinteässä yhteistyössä Infigen Inc.-yhtiön (USA) kanssa, jonka erikoisalaa on naudan kloonaus ja tumansiirrot (<http://www.infigen.com>). PPL Therapeutics kehittää muunneltuja muotoja ihmisen alfa-laktalbumiinista naudoissa tuotettavaksi (keskosravinnoksi), sekä ihmisen veriseerumin albumiinia (hSA).

Tuotannon tehostaminen tai muuttaminen

Tällä hetkellä ei ole tiedossa yhtään suunnitelmaa siirtogeenitekniikan käyttämiseen tuotannon tehostamiseksi naudalla. Tuotteen laadun parantamiseksi on esitetty maidon koostumuksen muuttamista vaikkapa vähentämällä sen laktoosipitoisuutta, mikä on onnistuttu toteuttamaan siirtogeenisillä hiirillä, jotka tuottavat laktaasia (laktoosia hajottavaa entsyymiä) maitoonsa (Whitelaw 1999). Uusiseelantilaiset tutkijat (AgResearch, <http://www1.agresearch.cri.nz>) tähtäävät maidon laadun muuttamiseen lisäämällä sen kaseiinipitoisuutta (valkuaispitoisuuden nostaminen) tai vähentämällä betalaktoglobuliinia (allergeenisyyden vähentäminen).

2.4.5. Kirjallisuus

Sika

- Bach, F.H., Fishman, J.A., Daniels, N., Proimos, J., Anderson, B., Carpenter, C.B., Forrow, L., Robson, S.C. & Fineberg, H.V. 1998. Uncertainty in xenotransplantation: Individual benefit versus collective risk. *Nature Medicine* 4: 141-44.
- Bleck, G.T., White, B.R., Hunt, E.D., Rund, L.A., Barnes, J., Bidner, D., Bremel, R.D. & Wheeler, M.B. 1996. Production of transgenic swine containing the bovine α -lactalbumin gene. *Theriogenology* 45: 347-72.
- Bleck, G.T., White, B.R., Miller, D.J. & Wheeler, M.B. 1998. Production of bovine α -lactalbumin in the milk of transgenic pigs. *Journal of Animal Science* 76: 3072-78.
- Draghia-Akli, R., Fiorotto, M.L., Hill, L.A., Malone, P.B., Deaver, D.R. & Schwartz, R.J. 1999. Myogenic expression of an injectable protease resistant growth hormone releasing hormone augments long term growth in pigs. *Nature Biotechnology* 17: 1179-83.
- Manjula, B.N., Ramesh, K., Sun, D.P., Ho, N.T., Ho C., Rao, J.M., Ashok, M. & Acharya, A.S. 1998. Correct assembly of human normal adult hemoglobin when expressed in transgenic swine: chemical, conformational and functional equivalence with the human-derived protein. *Protein Engineering* 11: 583-88.
- Muller, M., Brenig, B., Winnacker, E.L. & Brem, G. 1992. Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene* 121: 263-70.
- Muller, M & Brem, G. 1996. Intracellular, genetic or congenital immunisation – transgenic approaches to increase disease resistance of farm animals. *Journal of Biotechnology* 44: 233-42.
- Paleyanda, R.K. Velander, W.H., Lee, T.K, Scandella, D.H., Gwazdauskas, F.C., Knight, J.W., Hoyer, L.W., Drohan, W.N. & Lubon, H. 1997. Transgenic pigs produce functional human factor VIII in milk. *Nature Biotechnology* 15: 971-5.
- Pavlovic, J., Arzet, H.A., Hefti, H.P., Frese, M., Rost, D., Ernst, B., Kolb, E., Staeheli, P. & Haller, O. 1995. Enhanced virus resistance of transgenic mice expressing the human MxA protein. *Journal of Virology* 69: 4506-10.
- Petters, R.M., Alexander, C.A., Wells, K.D., Collins, E.B., Sommer, J.R., Blanton, M.R., Rojas, G., Hao, Y., Flowers, W.L., Banin, E., Cideciyan, A.V., Jacobson, S.G. & Wong, F. 1997. Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nature Biotechnology* 15: 965-70.

Piedrahita, J.A. 2000. Targeted modification of the domestic animal genome. *Theriogenology* 53: 105-16.

Pinkert, C.A., Galbreath, E.J., Yang, C.W. & Stricker, L.J. 1994. Liver, renal and subcutaneous histopathology in PEPCK-bGH transgenic pigs. *Transgenic Research* 3: 401-5.
Pursel, V.G., Pinkert, C.A., Miller, K.F., Bolt, D.J., Campbell, R.G., Palmiter, R.D., Brinster, R.L. & Hammer, R.E. 1989. Genetic engineering of livestock. *Science* 244: 1281-8.

Pursel, V.G., Suttrave, P., Wall, R.J., Kelly, A.M. & Hughes, S.H. 1992. Transfer of c-ski gene into swine to enhance muscle development. *Theriogenology* 37: 278.

Pursel, V.G., Mitchell, A.D., Wells, K.D., Wall, R.J., Coleman, M.E. & Schwartz, R.J. 2000. Alteration of carcass composition in swine with an IGF-1 transgene. *Plant & Animal Genome VIII Conference Abstracts* <http://www.intl-pag.org/pag/8/abstracts/pag8059.html>

Lammas, vuohi ja nauta

Baguisi, A., Behboodi, E., Melican, D.T., Pollock, J.S., Destrempes, M.M., Cammuso, C., (ja 14 muuta tekijää) 1999. Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nature Biotechnology* 17: 456-461.

Bawden, C.S., Powell, B.C., Walker, S.K., & Rogers, G.E. 1998. Expression of a wool intermediate filament keratin transgene in sheep fibre alters structure. *Transgenic Research* 7: 273-287.

Carver et al. 1993. Transgenic livestock as bioreactors – stable expression of human alpha-1-antitrypsin by a flock of sheep. *Bio/Technology* 11: 1263-1270.

Clements, J.E., Wall, R.J., Narayan, O., Hauer, D., Schoborg, R., Sheffer, D. (4 muuta tekijää) 1994. Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. *Virology* 200: 370-380.

Luo, D. & Saltzman, W. M. 2000. Synthetic DNA delivery systems. *Nature Biotechnology* 18: 33-37.

Niemann, H., Halter, R., Carnwath, J.W., Herrmann, D., Lemme, E. & Paul, D. 1999. Expression of human blood clotting factor VIII in the mammary gland of transgenic sheep. *Transgenic Research* 8: 237-247.

Polejaeva, I.A. & Campbell, K.H.S. 2000. New advances in somatic cell nuclear transfer: application in transgenesis. *Theriogenology* 53: 117-26.

Powell, B.C., Walker, S.K., Bawden, C.S., Sivaprasad, A.V. & Rogers, G.E. 1994. Transgenic sheep and wool growth: possibilities and current status. *Reproduction, Fertility and Development* 6: 615-623.

Rudolph, N.S. 1999. Biopharmaceutical production in transgenic livestock. *Trends in Biotechnology* 17: 367-374.

Su, H-Y, Jay, N.P., Gourley, T.S., Kay, G.W. & Damak, S. 1998. Wool production in transgenic sheep: results from first-generation adults and second-generation lambs. *Animal Biotechnology* 9: 135-147.

Whitelaw, B. 1999. Toward designer milk. *Nature Biotechnology* 17: 135-36.

Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J. Kind, A.J. & Campbell, K.H.S. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385: 810-813.

3. SIIRTOGEENISTEN KOTIELÄINTEN YMPÄRISTÖVAIKUTUKSET

3.1. YMPÄRISTÖVAIKUTUSTEN ARVIOINNIN PERIAATTEET

Mukailtu Suomen ympäristökeskuksen Ympäristöoppaasta 44: Pitkäjärvi & Ruohonen-Lehto, Geenitekniikalla muunnettujen organismien ympäristövaikutusten arviointi 1998

1. Vaaratekijöiden määrittäminen

- a) lisääntyminen, elinkyky, levittäytyminen (eloonjäämisaika tietyssä ympäristössä, levittäytymismahdollisuudet, kilpailuetu)
- b) kyky siirtää perintöainesta (siirtymisen mahdollisuus muihin organismeihin, geeninsiirtomenetelmän vaikutus –esim. virusvektorit -> horisontaalisen siirtymisen mahdollisuus)
- c) siirrettyjen geenien ilmentymistuotteet, siirrettyjen ominaisuuksien vaikutukset (haitalliset, myrkylliset tuotteet, geenitoiminnan vaikutus eläimen fysiologiaan -> esimerkiksi tautiresistenttiyden muutokset)
- d) muut mahdolliset vaikutukset, mm. biologisen monimuotoisuuden muutos, biologisten kiertojen muutokset, muunnetun perintöaineksen kerääntyminen ympäristöön

2. Ympäristötekijöiden ja leviämisolosuhteiden määrittäminen

- a) vaaratekijöiden mahdolliset kohteet
- b) maantieteelliset olosuhteet, demografia, eläimistö, maanviljelyolosuhteet
- c) suoja-, eristys- ja seurantatoimenpiteet

3. Vaaratekijöiden seurausten arviointi

Luokitus ekosysteemitasolla asteikolla vakava-melko vakava-vähäinen-merkityksetön (esim. vakava: muutokset eivät palautuvia, jonkin eliölajin häviäminen; merkityksetön: ei muutoksia missään eliöpopulaatiossa tai minkään ekosysteemin toiminnassa)

4. Vaaratekijöiden todennäköisyyden arviointi

Asteikolla: suuri-keskisuuri-pieni-merkityksetön.

5. Ympäristöriskin arviointi

Arvioidaan kohtien 3 ja 4 perusteella, riskiluokka määritetään vaaratekijän todennäköisyyden ja haitallisen seurauksen vakavuuden perusteella. Epävarmuustarkastelu on olennainen osa riskinarviointia kaikissa vaiheissa! Jos tutkimustuloksia ei ole, voi vaaratekijän kohde tai vaikutus olla arvaamaton. Useimpien siirtogeenisten eläinten osalta ekologinen tieto on olematonta. Samoin genomien ja geenien vuorovaikutuksen tuntemus on puutteellista.

6. Riskien yhteisvaikutuksen arviointi; kokonaisriski

On otettava huomioon riskien kumuloituvuus.

3.2. YMPÄRISTÖRISKIT

3.2.1. Vaaratekijät ja niiden seurausten arviointi

3.2.1.1. Siirtogeenien leviäminen; eläinten kyky siirtää perintöainesta

Siirtogeenisten eliöiden suurimpana mahdollisena ympäristöön vaikuttavana vaaratekijänä voidaan pitää siirtogeenisten yksilöiden karkaamista kasvatusta tai viljelyoloista ja tämän jälkeen tapahtuvaa risteytymistä luonnossa esiintyvien saman tai lähilajien yksilöiden kanssa. Vaihtoehtoisesti voidaan ajatella, että siirtogeeniset yksilöt olisivat menestyksekkäämpiä kuin luonnossa esiintyvät yksilöt ja siten syrjäyttäisivät tietyn populaation tai lajin (ilman risteytymistäkin). Tällä tavalla vakavimmat siirtogeenisten eliöiden vaikutukset ulottuisivat eliöyhteisö- tai ekosysteemitasolle. Tässä suhteessa eri eliöryhmät eroavat suuresti toisistaan, kasveilla ja mikrobeilla tämä on merkittävä uhkakuva, mutta eläimillä, tällä hetkellä hyönteisiä ja kaloja lukuunottamatta, lähinnä teoreettinen mahdollisuus.

Eläimillä siirtogeenien leviämisen todennäköisyys luonnonpopulaatioihin riippuu seuraavista tekijöistä:

- 1) domestikaation aste
- 2) saman lajin tai lähilajien esiintyminen luonnossa
- 3) risteytymien syntymisen todennäköisyys, lähinnä kotieläimen elinkelpoisuus luonnonoloissa verrattuna luonnossa elävään lähilajiin ja /tai siirtogeenisten yksilöiden elinkelpoisuus verrattuna ei-siirtogeenisiin yksilöihin
- 4) lisääntymispotentiaali, sukupolvenväli, jälkeläisten lukumäärä per vuosi

Vakavimmat seuraukset ovat sellaisilla geeninsirroilla, jotka antavat eläimelle kilpailuedun luonnonolosuhteissa. Selkein esimerkki tästä on usein siirretty kasvuhormonigeeni, joka johtaessaan nopeampaan ja tehokkaampaan kasvuun saattaisi johtaa koko luonnonpopulaation korvautumiseen siirtogeenisillä yksilöillä (Muir & Howard 1999). Toisena esimerkkinä voisi pitää erilaisia tautiresistenssiä parantavia genejejä jotka itsessään antavat kilpailuedun, tai jotka estäessään immuunivastetta voivat myös johtaa tehokkaampaan lisääntymiseen ja kilpailuetuun.

Leviämisen ekologisten seurausten määrittämiseksi ei ole tarpeeksi tutkimustietoa käytettävissä tarkkaan a priori-riskinarvioimiseen. Miltei ainoa käytettävissä oleva tieto perustuu ei-siirtogeenisten eläinten istutukseen uusille paikkakunnille/maihin (esim. Australia). Näistä voidaan vetää joitain yleisiä johtopäätöksiä (Fagerström, 1997):

- häiriytyneet ekosysteemit ovat herkempiä kuin tasapainossa olevat
- vesiekosysteemit ovat paljon haavoittuvampia kuin maaekosysteemit
- jos habitaatti on kovin fragmentoitunut, on invaasion riski suurempi kuin laajassa homogeenisessä habitaatissa

3.2.1.2. Siirtogeenin ilmenemisen tai lisääntymisbiologisten menetelmien seuraukset

Se, millä tavalla geeninsiirto vaikuttaa eläimen fysiologiaan tai käyttäytymiseen, vaikuttaa seurausten vakavuuteen. Geenin ilmenemisen vaikutusta voi kuitenkin olla

mahdotonta ennakoida. Vaikka tietty geeni tunnetaan molekyylylasolla, ei sen vaikutus fenotyyppiin välttämättä ole ennustettavissa. Geeni voi vaikuttaa pleiotrooppisesti myös muihin ominaisuuksiin, kuten varhaiset kasvuhormonigeenin siirrot osoittivat. Lisäksi geenin vaikutus voi olla erilainen erilaisissa geneettisissä taustoissa. Esimerkiksi nisäkkäiden myostatiinigeenin (GDF-8 lihaskudoksen kasvutekijä) tietyt muutokset (luonnolliset mutaatiot) naudalla aiheuttavat nk. kaksoislihaksikkuutta. Siällä kuitenkin geenin toiminnan muutoksilla ei ole samaa vaikutusta fenotyyppiin – myostatiini ei siällä olekaan lihaskasvua negatiivisesti säätelevä tekijä (Voelker et al. 1999). Siirtogeeni voi ilmentyessään aiheuttaa muutoksia, jotka ovat evolutiivisesti uusia (koska luonnollinen lisääntymisestä tai lajiraja on ohitettu). Tuloksena voi olla odottamattomia adaptiivisia ominaisuuksia, joilla voi olla arvaamattomia seurauksia.

Siirtogeenin ilmenemisen seuraukset tulisi pyrkiä arvioimaan tapauskohtaisesti.

Mahdollisiin seurauksiin vaikuttavat muun muassa:

- 1) geenin koodaavan osan lähde (sama laji – kaukainen laji)
- 2) yhdistelmägeenin säätelyalueen lähde ja kohdekudos
- 3) valinnassa/toteamisessa käytetty markkeriominaisuus (esim. antibioottiresistenssi)
- 4) ominaisuus (ja onko se lisätty/poistettu)
- 5) siirtomenetelmän tarkkuus: satunnainen (mikroinjektio) – kohdennettu (homologinen rekombinaatio)
- 6) vastaanottajan genotyyppi
- 7) kasvatusympäristö

Geeninsiirto ja sen yhteydessä käytettävät lisääntymisbiologiset menetelmät voivat aiheuttaa eri asteisia terveysvaikutuksia. Terveysvaikutukset tulisi arvioida kolmella tasolla:

- 1) vaikutus eläimen terveyteen
- 2) vaikutus ensisijaisen tuotteen tasolla (esim. maito, liha)
- 3) vaikutus lopputuotteessa (eristetty yhdistelmäproteiini, muu tuote)

Mahdollisiin terveysvaikutuksiin lukeutuvat eläimen normaalin immuunimekanismin häiriöt, latenttien virusten aktivoituminen tai mahdollisten taudinaiheuttajien siirtyminen in vitro- kasvatusvaiheen aikana. Lisäksi on ajateltu, että siirtogeenin eläin saattaisi toimia uudenlaisen taudinaiheuttajien, esimerkiksi virulenssiltaan muuttuneiden patogeenien lähteenä (esim. antibioottiresistenssin siirtyminen).

Geeninsiirron yhteydessä käytettävät lisääntymisbiologiset menetelmät aiheuttavat eläimille itselleen usein terveysongelmia. Varsinkin lampailla ja naudoilla havaitaan kloonauksen yhteydessä säännöllisesti nk. Large Offspring Syndrome: suuri osa syntyvistä jälkeläisistä on huomattavan isokokoisia. Syndroomaan liittyy usein suuren koon lisäksi muita, elinkykyä alentavia fysiologisia ongelmia (mm. hengitysvaikeuksia, matala veren happitaso). Vielä ei tiedetä, voiko samanlaisia tai muita häiriöitä ilmetä myös myöhemmissä kehitysvaiheissa, mutta eräät hiirikokeet viittaavat siihen, että se on mahdollista (Westhusin 1999). On myös todettu viitteitä siitä, että mikäli kloonaus tehdään ”vanhasta” solusta, myös kloonit saattavat vanheta ennenaikaisesti – mm. kuuluisan Dolly-lampaan kromosomeissa on havaittavissa telomeerialueiden ikääntymismuutoksia.

Siirtogeenin eläimen terveyteen voivat vaikuttaa satunnaista siirtotekniikkaa (esim.

mikroinjektio) käytettäessä siirtogeenin insertin aiheuttamat mutaatiot (siirtogeeni asettuu toisen geenin alueelle estäen sen toiminnan), joita on todettu ainakin hiirellä (mm. Woychik et al. 1988). Lisäksi siirtogeenin omalla ilmenemisellä voi olla ei-toivottuja sivuvaikutuksia, jotka riippuvat geenituotteen biologisista ominaisuuksista, geenin kohdekudoksesta ja säätelystä. Erityisesti biologisesti aktiivisten valkuaisaineiden (kasvuhormoni, erytropoietiini) on todettu aiheuttavan lukuisia haittavaikutuksia (esim. Massoud et al. 1996)

Virusten mahdollisesta aktivoitumisesta geeninsiirron tai siihen liittyvien menetelmien yhteydessä tiedetään toistaiseksi vähän. Mahdollisuutta on eniten pohdittu ksenotransplantaation yhteydessä, jossa kudosta siirretään suoraan eläimestä toiseen. Eräiden retrovirusten on todettu voivan infektoida myös toisten lajien soluja soluviljelyolosuhteissa (Patience et al. 1997). Virusten siirtyminen eläimestä toiseen rajoittuu kuitenkin yleensä siirtymiseen kudoksiin, syntymän (istukan kautta) tai sukupuolilyhdynnän välityksellä. Yhdessä tapauksessa on todettu viruksen siirtyneen ruoansulatuskanavan kautta hiiren muihin kudoksiin (Schubbert et al. 1997). Sitä vastoin prionityyppiset taudinaiheuttajat, joita on vaikea tuhota, pystyvät siirtymään myös ruoansulatuskanavan kautta.

3.2.1.3. Siirtogeenisten eläinten vaikutukset perinnölliseen monimuotoisuuteen

Itsessään siirtogeenisten eläinten tuottaminen tai käyttäminen kotieläintuotannossa ei ole merkittävä uhka perinnölliselle monimuotoisuudelle. Näyttää kuitenkin selvältä että taloudellisesti kannattava siirtogeenisten kotieläinten käyttö ei ole mahdollista ilman tumansiirtotekniikoiden hyväksikäyttämistä. Tumansiirtotekniikoiden kytkemistä siirtogeenisten eläinten tuottamiseen voidaan perustella myöskin biologisesti. Esimerkiksi siirtogeenin epistaattiset vaikutukset ovat paremmin kontrolloitavissa, mikäli siirtogeeni on aina samanlaisessa genomissa. Vastaavasti siirtogeenin toimintaa erilaisissa ympäristöissä voitaisiin tehokkaasti kartoittaa geneettisesti identtisillä yksilöillä.

Tumansiirtotekniikoiden yhdistäminen siirtogeenisten eläinten tuotantoon olisi erittäin vakava uhka kotieläinten nykyiselle geneettiselle diversiteetille. Nykyisten tuotantoeläinten korvaaminen siirtogeenisillä ja tumansiirtotekniikoilla tuotetuilla eläimillä johtaisi nopeasti voimakkaaseen perinnöllisen monimuotoisuuden häviämiseen. Tumansiirtotekniikoilla tuotetut siirtogeeniset eläimet olisivat käytännössä geneettisesti identtisiä "klooneja" kunkin siirtogeenilinjan sisällä. Tällöin ainoastaan linjojen välillä olisi muuntelua.

Kloonaukseen saattaa liittyä myös monimuotoisuutta vähentävä lisätekijä: hiirellä on todettu että kaikki genotyypit eivät ole yhtä helposti kloonautuvia (Rideout et al. 2000). (Tämä on havaittu erittäin selvästi myös kasvien soluviljelyssä). Mikäli kloonauksen suosii tiettyjä genotyyppisiä, valinnan seurauksena kloonaukselle suosiolliset kromosomialueet yhdenmukaistuvat ehkä pitkiltä alueilta, jopa koko kromosomin kattavasti. Muuntelu vähenee silloin myös siirtogeenilinjojen välillä.

3.2.2. Leviämisolosuhteiden määrittäminen

Vaaratekijöiden seurausten vakavuuden ja todennäköisyyden määrittämiseen vaikuttavat oleellisesti eläinten kasvatusolosuhteet, mahdollisuus tavoittaa/tunnistaa

mahdolliset karkulaiset sekä ympäristöolosuhteet. Biolääketieteellisiin sovelluksiin käytettävät eläimet tulevat olemaan tarkasti valvottuja ja eristettyjä (koska ne tuottavat kalliita erikoistuotteita, joille on tiukat lääketieteelliset puhtausvaatimukset). Tuotantoon (maatalous) tarkoitetut eläimet tulevat olemaan paljon laajemmalti levinneitä, ja niiden kontrollointi tulee olemaan vaikeampaa.

3.2.3. Vaaratekijöiden todennäköisyyden määrittäminen

3.2.3.1. Leviäminen

Viljelty mehiläinen ei todennäköisesti pysty tuottamaan fertiilejä jälkeläisiä toisen hyönteislajin kanssa. Koska intianmehiläinen (*Apis cerana*) on resistentti varroapunkkia vastaan, mehiläinen ja intianmehiläinen olisi risteytetty mikäli risteytyminen olisi mahdollista, koska kysymyksessä olisi taloudellisesti merkittävän ominaisuuden saanti viljeltyyn mehiläiseen. Ei ole odotettavissa, että siirtogeeni siirtyisi lajien välillä hedelmöityksen kautta. Sitä vastoin siirtogeeni voi siirtyä mehiläislajin sisällä kantoihin, joissa ei ole siirtogeeniä. Yleensä uhattuja mehiläiskantoja ja –rotuja säilytetään eristetyillä seuduilla risteymävaaran vuoksi.

Useimpien kalalajien fekunditeetti on korkea, populaatiokoko suuri, maantieteellinen levinneisyys laajaa ja migraatio ekstensiivistä. Siirtogeenisten kalojen päästessä luontoon niiden mahdollisuudet lisääntyä luonnonpopulaatioiden yksilöiden kanssa ovat näistä syistä paremmat kuin geneettisesti muunnelluilla maanisäkkäillä. On kuitenkin huomioitava, että tiettyjä kalalajeja viljellään alueilla, joissa ne eivät esiinny luonnonvaraisena. Tällöin pysyvän kannan muodostuminen luonnossa on epätodennäköistä. Tällainen laji on esimerkiksi kirjolohi, joka ei luontaisesti lisääny juuri lainkaan Pohjois-Euroopassa.

Tärkeimmät kotieläimiksi kesytetyt nisäkkäät ja linnut (nauta, sika, lammas, vuohi ja kana) ovat pitkälle domestikoituneita ja niiltä puuttuvat Suomen luonnosta lähilajit. Vaikka satunnaisia karkulaisia pääsisi luontoon, ei niillä ole juuri mahdollisuuksia siirtogeenin levittämiseen. Kotieläimiksi laskettavista nisäkkäistä poro saattaa olla tässä suhteessa poikkeus, koska sillä on luonnossa elävä lähilaji (alalaji) metsäpeura. Lisäksi lähes kaikki turkiseläiminä käytettävät lajit ovat luonnossa eläviä lajeja tai ainakin pystyvät risteytymään luonnossa esiintyvän lähisukulaisen kanssa.

3.2.3.2. Siirtogeenin ilmenemiseen liittyvät riskitekijät

Tutkittua tietoa siirtogeenien todennäköisesti aikaansaamista muutoksista eläinten kelpoisuudessa (fitness) ei juuri ole. Ainoa julkaistu, eläviin eläimiin perustuva tutkimus käsittelee siirretyn ihmisen kasvuhormonigeenin vaikutusta medaka-kalan kelpoisuusparametreihin (Jimenez & Muir 2000). Tässä tapauksessa siirtogeeniset eläimet kasvoivat nopeammin, naaraat olivat hedelmällisempiä ja tulivat aiemmin sukukypsiksi. Tutkijat arvioivat, että näiden vaikutusten johdosta kyseinen siirtogeeninen linja aiheuttaisi suuren ympäristöriskin.

Vaikeammin arvioitavissa ovat jonkin geenin pleiotrooppiset vaikutukset, jotka eivät edes välttämättä ilmene heti. Esimerkkinä voisi käyttää maissin nk. Teksas-

sytoplasmaa, jota käytettiin USA:ssa laajalti koirassteriliteetin saavuttamiseen. Samalla kuitenkin kasvit tulivat erittäin alttiiksi tietyille sienipatogeenille. Tämä huomattiin vasta parin vuosikymmenen kuluttua, kun tautiaalto tuhosi 85% USA:n maissikannasta (Levings 1990). Yleensä tällaiset vaikutukset huomataan vasta kun altis genotyyppi on laajalle levinnyt.

Eläimen omaan terveyteen kohdistuva riski on määritettävä tapauskohtaisesti, ja vaikutukset voidaan yleensä määrittää vasta eläimistä itsestään. Eläimen ja/tai sen tuotteiden aiheuttaman terveystarpeen määrittäminen etukäteen on myös erittäin vaikeaa. Virusten aktivoitumisen ja siirtymisen riski näyttää hyvin pieneltä. Sen sijaan nisäkkäiden prionitaudit, kuten lampaan skrapie ja ”hullun lehmän tauti” ovat prioniproteiinin välittämiä tauteja, jotka voivat siirtyä horisontaalasti eläinlajista toiseen (esim. naudasta ihmiseen tai peuraan). On siis myös mahdollista, että kloonattu transgeeninen eläin välittäisi prionityypistä tartuntaa esimerkiksi lopputuotteessa. On arvioitu, että todennäköisyys prionitautien siirtymiseen lisääntymisteknologisten menetelmien välityksellä on erittäin pieni, mutta todellinen (Wrathall 2000). Suurimman riskin aiheuttavat sekä biologista alkuperää olevat materiaalit (superovulaatioissa käytetyt hormonit, tai viljelyssä käytetyt veri- tai kudospäriset kasvatusaineet) että instrumentit ja laitteet, joita on lähes mahdoton steriloida, jos ne pääsevät saastumaan prioniaineksella.

3.2.3.3. Vaikutukset biologiseen monimuotoisuuteen

Biolääketieteellisiin sovellutuksiin käytettävillä siirtogeenisillä eläimillä ei tule todennäköisesti olemaan vaikutusta monimuotoisuuteen, koska kuhunkin tarkoitukseen riittää varsin vähälukuinen määrä eläimiä, jotka pidetään tarkassa kontrollissa.

Tuotantoeläimistä todennäköisimmät suorat vaikutukset luonnonpopulaatioiden monimuotoisuuteen olisi vapaaksi päässeillä siirtogeenisillä hyönteisillä tai kaloilla. Siirtogeenistä riippuen vaikutus saattaa olla jopa erittäin suuri ja/tai todennäköinen. Kanojen ja suurten nisäkkäiden osalta monimuotoisuuden väheneminen kohdistuisi eläinrotujen omaan monimuotoisuuteen. Koska ainakin nisäkkäillä geeninsiirtojen tehokkaaseen hyödyntämiseen tulee liittymään yksilöiden kloonaukset, on selvää, että mikäli tällaisten eläinten käyttö on taloudellisesti kannattavaa, se tulee muodostamaan erittäin suuren riskin kaikkien tärkeimpien tuotantorotujen monimuotoisuudelle.

3.2.4. Siirtogeeniset kalat esimerkkinä ympäristöriskien arvioinnista

Kalat eliöryhmänä sopivat hyvin esimerkiksi ympäristöriskien arvioinnista ja huomioinnista. Ensinnäkin, kalojen edellä mainitut leviämiseen ja lisääntymiseen liittyvät erityisominaisuudet pätevät pääpiirteissään myös selkärangattomilla eläimillä. Toiseksi, tällä hetkellä korkeammat selkärangattomat (linnut, nisäkkäät) näyttävät muodostavan selkeästi pienemmän ympäristöriskin kuin kalat ja selkärangattomat eläimet. Kolmanneksi, siirtogeeniset kalat ja kalatuotteet ovat todennäköisesti ensimmäisten joukossa tulossa kuluttajien ulottuville, joten siirtogeenisten kalojen ympäristöriskien arviointi olisi kaikkein ajankohtaisinta.

Riskit siirtogeenisten kalojen tuotannossa liittyvät läheisesti edellämainittuihin kalojen erityisominaisuuksiin, joita maalla elävillä selkärangkaisilla ei ole. Siirtogeenisten kalojen päästessä luontoon vaikutukset ekosysteemiin riippuvat mm. karkuun päässeiden kalojen lukumäärästä ja koosta, ajankohdasta (vuodenaika) ja muista ympäristötekijöistä.

Siirtogeenisten kalojen vaikutuksia ekosysteemiin voidaan vähentää fysikaalisin (physical containment) ja biologisin (biological containment) toimenpitein. Ensin mainittu merkitsee GM-kalojen kasvattamista esimerkiksi maa-altaissa, joista kaloilla ei ole pääsyä luonnonvesiin. Tämä ei kuitenkaan ole usein käytännössä järkevää (rajalliset maa-alueet, vedenkierto- ja puhdistusjärjestelmät), ja useiden kalalajien osalta suorastaan mahdotonta. Muun muassa lohikaloja kasvatetaan poikaskauden jälkeen murto- ja merivedessä kasvatuskasseissa, jolloin esimerkiksi kovan myrskyn tms. sattuessa suuria määriä kaloja voi päästä karkuun viljelylaitokselta. Kasvatuskassien ja muiden rakenteiden ominaisuuksiin voidaan jossain määrin vaikuttaa, mutta 100 %:sta suojaa niillä ei voida saavuttaa.

Fysikaalisia toimenpiteitä tärkeämpänä pidetään biologisia keinoja, jotka tähtäävät lisääntymiskyvyttömyyden eli steriliteetin saavuttamiseen. Steriili yksilö ei pysty risteytymään luonnossa eikä täten uusia, "muunnellulla perimällä varustettuja" sukupolvia pääse syntymään. Useilla kalalajeilla steriliteetti saadaan aikaiseksi lämpö- tai kylmäkäsittelemällä hedelmöitettyjä mätimunia, jolloin alkion kromosomisto säilyy kolminkertaisena (munan toinen esituma ei degeneroidu). Kehittyvä yksilö on steriili. Menetelmä kehitettiin jo 70-luvulla ja se on rutiinisti käytössä tiettyjen lajien (kirjolohi, tilapia) viljelyssä. Menetelmällä saavutetaan useimmiten 90-100 %:inen steriliteetti. Karkuun päästessään lisääntymiskyvytön GM-kala ei horjuta ekosysteemin tasapainoa, ainakaan pysyvästi. Geneettisesti muunnelluista kaloista ainakin GH-siirtogeeniselle tilapialle on kokeiltu mätimunien lämpöshokkia (Razak et al., 1999). Tuloksena oli triploidien siirtogeenisten naaraiden steriliteetti, joillain triploideilla koirailta esiintyi kuitenkin sukusolujen tuotantoa. Steriilin, geneettisesti muunnellun, esim. nopeakasvuisen kalan muista mahdollisista negatiivisista vaikutuksista (kutukäyttäytyminen, predaatio) luonnonpopulaatioihin voidaan tällä hetkellä vain spekuloida kokeellisten tutkimustulosten vähäisyyden vuoksi.

Eräänlaisena mallitilanteena voidaan tarkastella kalankasvatuslaitoksilta karkuun päässeiden lohikalojen vaikutuksia ekosysteemeihin. Esimerkiksi Norjassa kasvatuskasseista on viime vuosina karannut 300 000:sta miljoonaan yksilöä vuodessa. Tämä on johtanut siihen, että keskimäärin 20-30 % Norjan jokiin vaeltavista

sukukypsistä lohista on peräisin kalankasvatuslaitoksilta karkuun päässeistä lohista. Viljelykantojen kudun onnistuminen luonnossa on kuitenkin jonkin verran heikompaa, noin 20-50 % luonnonkantojen kutumenestyksestä (Fleming et al., 1996). Joka tapauksessa, lisääntymiskykyisten karkulaisten vaikutukset luonnonpopulaatioiden geneettisen monimuotoisuuden säilymiseen ovat kiistattomat, ja tämä tulee ottaa huomioon myös, kun keskustellaan siirtogeenisten kalojen viljelystä luonnonvesissä.

Siirtogeenisten kalojen vaikutuksista ekosysteemeihin ei juuri ole tutkittua tietoa. Yleensä suuri koko on kilpailuetu ravinnon hankkimisessa ja lisääntymisessä. Genetiikan laskukaavoja käyttäen on mallinnettu luonnonpopulaatioihin kohdistuvaa riskiä tapauksessa, jossa muutama suurikokoinen GH-siirtogeeninen medaka-kala pääsee lisääntymään ei-siirtogeenisten lajikumppaniensa kanssa (Muir ja Howard, 1999). Tässä mallissa suuret koiraat menestyivät lisääntymisessään pienempiä koiraita paremmin, mutta jälkeläisten elinkyky oli heikentynyt, mikä vähensi koko populaation elinvoimaa. Lopulta tämä johti koko paikallisen populaation "sukupuuttoon". Tästä ei voida kuitenkaan vetää pitkälle meneviä johtopäätöksiä, sillä kuten eläintieteilijä Muir itse on todennut: "Tutkimuksessamme oli vain yksi muuttuja, geenimuokattujen medakojen ison koon tuoma seksuaalinen etu yhdistettynä niiden lyhyeen elinajanodotteeseen", ja luonnossa vaikuttavia tekijöitä (esim. predaatio) on enemmän. Farrell ym. (1997) totesivat nopeakasvuisten, siirtogeenisten lohien olevan heikompia uimareita kuin samankokoisten (mutta vanhempien) kontrollilohien. Dunham ym. (1999) havaitsivat GH-siirtogeenisten monnien joutuvan ei-siirtogeenisiä monneja helpommin predaation kohteeksi, ja lisäksi menettävän kykynsä nopeampaan kasvuun luonnonravintolammikko-olosuhteissa, joissa lisäruokintaa ei käytetä. GH-siirtogeenisellä tilapiialla on heikempi syömishalukkuus ja alhaisempi dominanssiasema ruokintatilanteessa kuin villillä luonnon tilapiialla (Guillén et al., 1999). Koska koolla, uintinopeudella ja käyttäytymisellä on merkitystä sekä saalistamisessa ja saaliiksi joutumisessa, ovat tämänkaltaiset tutkimukset tarpeellisia kun arvioidaan siirtogeenisten, nopeakasvuisten karkulaisten aiheuttamia vaikutuksia ekosysteemeissä.

3.2.5. Yhteenveto

Tällä hetkellä näyttää siltä, että siirtogeeniset kotieläimet ovat lähitulevaisuudessa tulossa tuotantoon ainakin joiltain osin. Tutkimuksia, jotka mahdollistaisivat niiden aiheuttaman ympäristöriskin arvioinnin, ei ole vielä juuri lainkaan tehty. Niilläkin lajeilla (kalat), joilla tutkimuksia on tehty, ne

rajoittuvat vain riskinarvioinnin joihinkin osa-alueisiin, mutta kaikkea tarvittavaa tietoa ei ole saatavilla. Välittömistä riskeistä pitäisi pystyä arvioimaan ainakin siirtogeenisen eläinryhmän vaikutus paikalliseen eläimistöön (joko niiden kilpailu ravinnosta ja elintilasta tai risteytyminen), mahdolliset vaikutukset ekosysteemiin ja mahdollisten uusien taudinaiheuttajien leviäminen. Välillisiä, pitemmällä aikavälillä tapahtuviin muutoksiin liittyviä riskejä (vaikutus lajien geneettiseen monimuotoisuuteen, evoluutioon) on todennäköisesti mahdotonta arvioida edes ennakkotutkimusten avulla.

Eläinryhmistä suurimman ympäristöriskin muodostavat siirtogeeniset hyönteiset ja kalat. Näiden ryhmien osalta tarvittaisiin kiireellisesti ekologisia tutkimuksia niiden mahdollisista ympäristövaikutuksista (välittömät riskit), ennenkuin niitä päästetään kasvatusolosuhteisiin, joista ne voivat karata luontoon. Kotieläiminä käytettyjen siirtogeenisten nisäkkäiden (turkiseläimiä lukuunottamatta) todennäköinen välitön ympäristöriski on pieni, ja se rajoittuu lähinnä niiden välityksellä mahdollisesti leviäviin uusiin taudinaiheuttajiin. Kuitenkin pitemmällä aikavälillä kotieläinrotujen oman geneettisen monimuotoisuuden väheneminen on merkittävä uhkakuva, jonka – samoin kuin geeninsiirtoihin liittyvän keinotekoisien evoluution (lajirajat ylittävien geeninsiirtojen vaikutukset genomien kehitykseen)- vaikutukset voidaan nähdä vasta kymmenien vuosien kuluttua.

3.2.6. Kirjallisuus

Dunham, R.A., Chitmanat, C., Nichols, A., Argue, B., Powers, D.A. & Chen, T.T. 1999. Predator avoidance of transgenic channel catfish containing salmonid growth hormone genes. *Marine Biotechnology* 1: 545-551.

Fagerström, T. 1997. Ecological aspects of testing and evaluation. *Kungliga Skogs- och Lantbruksakademis Tidskrifter* 136: 95-97.

Farrell, A.P., Bennett, W. & Devlin, R.H. 1997. Growth-enhanced transgenic salmon can be inferior swimmers. *Canadian Journal of Zoology* 75: 335-37.

Fleming, I.A., Jonsson, B., Gross, M.R. & Lamberg, A. 1996. An experimental study of the reproductive behaviour and success of farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Applied Ecology* 33: 893-905.

Guillén, I., Berlanga, J., Valenzuela, C.M., Morales, A., Toledo, J., Estrada, M.P., Puentes, P., Hayes, O. & de la Fuente, J. 1999. Safety evaluation of transgenic tilapia with accelerated growth. *Marine Biotechnology* 1: 2-14.

Jimenez, L.V. & Muir, W. 2000. The effect of the human growth hormone gene on the growth rate, body size and fitness parameters of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Plant & Animal Genome VIII Conference* (<http://www.intl-pag.org/pag/8/abstracts/pag8796.html>)

Levings, C.S. III. 1990. The Texas cytoplasm of Maize: cytoplasmic male sterility and disease susceptibility. *Science* 250: 942-47.

Massoud, M., Attal, J., Pointu, H., Stinnakre, M.G., Theron, M.C., Lopez, C. & Houdebine, L.M. 1996. The deleterious effects of human erythropoietin gene driven by the rabbit whey acidic protein gene

promoter in transgenic rabbits. *Reproduction, Nutrition, Development* 36: 555-63.

Muir, W.M. and Howard, R.D. 1999. Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: Sexual selection and the Trojan gene hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 13853-56.

Patience, C., Takeuchi, Y. & Weiss, R.A. 1997. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nature Medicine* 3: 282-86.

Razak, S.A., Hwang, G-L., Rahman, M.A. & Maclean, N. 1999. Growth performance and gonadal development of growth enhanced transgenic tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) following heat-shock-induced triploidy. *Marine Biotechnology* 1: 533-544.

Rideout, W.M.III., Wakayama, T., Wutz, A., Eggan, K., Jackson-Grusby, L., Dausman, J., Yanagimachi, R. & Jaenisch, R. 2000. Generation of mice from wild-type and targeted ES cells by nuclear cloning. *Nature Genetics* 24: 109-10.

Schubbert, R., Renze, D., Schmitz, B. & Doerfler, W. 1997. Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 961-66.

Voelker, G.R., Conroy, J.C. & Wheeler, M.B. 2000. Myostatin (GDF-8) as a potential quantitative trait locus in swine. (<http://nautilus.outreach.uiuc.edu/porknet/fulltext.cfm?section=2&documentID=152>)

Westhusin, M.E. Understanding developmental abnormalities in offspring produced by nuclear transplantation. *Advanced Transgenesis and Cloning: Genetic manipulation in animals. Electronic Workshop Presentation: Paper No. 20* (<http://www.atp.nist.gov/atc/atc-20.htm>)

Woychik, R.P., Stewart, T.A., Davis, L.G., Eustachio, P.D. & Leder, P. 1988. An inherited limb deformation created by insertional mutagenesis in a transgenic mouse. *Nature* 318: 36-40.

Wrathall, A.E. 2000. Risks of transmission of spongiform encephalopathies by reproductive technologies in domesticated ruminants. *Livestock Production Science* 62: 287-316.

4. SANASTO

Blastodermi. Monisoluisen alkion rakkulavaiheen soluvaippa.

Geeniterapia. Geenin siirto (yleensä) somaattisiin soluihin, kohdekudokseen, päämääränä esim. sairauden hoito tai ennaltaehkäisy korvaavalla geenituotteella.

Genomi. Yksilön kaikkien perintökäijöiden yhdistelmä (haploidi kromosomisto), perimä.

Homotsygootti. Yksilön kummassakin vastinkromosomissa on sama alleeli (muoto) tietystä lokuksesta (geenistä).

Horizontaalinen kulkeutuminen. Käytetään normaaliin periytymiseen verrattuna (vertikaalinen = ”isältä pojalle”) kuvaamaan perintöaineksen siirtymistä lajista toiseen.

Iturata. Sukusoluja muodostavat solut. Solulinja joka johtaa edellisen sukupolven sukusoluista seuraavan sukupolven sukusoluihin.

Kantasolu. Solu, josta tietyn kudoksen solut polveutuvat. Alkion kantasolu (ES, embryonic stem cell), joka on vielä totipotentti pystyy erilaistumaan miksi tahansa soluksi. Esimerkiksi hiiren kantasoluja voidaan eristää ja viljellä, jolloin geenin siirtyminen voidaan varmistaa viljelemällä soluja valikoivalla alustalla, jossa vain yhdistelmägeenin sisältämä resistenssigeeni (usein antibioottiresistenssi) sallii solun kasvun. Kun valitut solut siirretään takaisin varhaiseen alkioon, ne voivat päätyä sikiöön ja ajoittain myös iturataan. Osa menetelmän vaiheista on saatu toimimaan myös kotieläimissä.

Kimeeri. (syn. Kimaira) Yksilö tai sen osa, joka koostuu kahdesta (tai useammasta) eri genotyypistä. Siirtogeenisten eläinten osalta termiä käytetään yleensä silloin, kun siirtogeeni on siirtynyt tai ilmenee vai osassa yksilön soluista. Käytetään myös termiä mosaiikkinen. Mosaiikkiyksilössä solut ovat saman eliölajin soluja.

Kloonaus. (ks. Tuman siirto) Perinnöllisesti identtisten solujen tai eliöiden tuottaminen lähtömateriaalista. Voidaan toteuttaa joko jakamalla alkio tai tumansiirroilla.

Ksenotransplantaatio. Elimen (kudoksen) siirto kahden lajin välillä, esim. siasta ihmiseen.

Mikroinjektio. Erittäin ohuella kapillaarilla (yleensä mikroskoopin avulla) tehty perintömateriaalin ruiskutus solulimaan tai tumaan.

Plasmidi. Rengasmainen DNA-molekyylä, joka periytyy kromosomeista riippumatta. Plasmidi lisääntyy bakteerisolussa, siihen voidaan liittää vierasta DNA:ta.

Pleiotrooppinen vaikutus. Yksi geeni vaikuttaa useaan eri ominaisuuteen.

Promoottori. Transkription aloituskohta, geenin toiminnan säätelyaluetta. Yhdistelmägeenin toiminta voidaan kohdistaa tiettyyn kudokseen käyttämällä kudosspesifistä promoottoria.

Rekombinaatio. Perintöaineksen yhdistyminen uudella tavalla. Rekombinantti-DNA = yhdistelmä-DNA: eri lähteistä peräisin olevasta DNA:sta muokattu DNA-molekyylä.

Rekombinanttiproteiini. Siirtogeenisessä eläimessä (yleensä maitoon erittyvänä) tuotettu ihmisen valkuaisaine, esim. insuliini.

Retrovirus. RNA-virus, jonka elämänsykliin kuuluu RNA-genomin kopioituminen DNA:ksi isäntäsoluun käänteisellä transkriptiolla. Usein syöpäviruksia.

Somaattinen. Muu kuin sukusolu tai sen esiaste.

Superovulaatio. Hormonilääkinnällä aiheutettu usean munasolun kypsyminen yhtäaikaan.

Transfektio. Geeninsiirtojen yhteydessä käytetään onnistuneesta geenin siirtymisestä ja ilmenemisestä solussa.

Transformaatio. Eliön muuttaminen geneettisesti toisenlaiseksi siirtämällä siihen vierasta DNA-ainesta.

Transgeeninen = siirtogeeninen

Transkriptio. DNA-mallin mukaisesti tapahtuva (lähetti-)RNA:n synteesi.

Translaatio. Lähetti-RNA:n sisältämän koodin mukaisesti tapahtuva valkuaisaineen synteesi, geenituotteen muodostuminen. Translaation jälkeen muodostunut valkuaisaine yleensä vielä muokkautuu solussa käyttökelpoiseen muotoon (esim. glykosylaatio, hiilihydraattiketjujen liittyminen).

Transpositio. Tietty DNA-jakso (transposoni) siirtyy kromosomipaikasta toiseen. Retroposoni siirtyy käänteisellä transkriptiolla RNA-välivaiheen välityksellä.

Tumansiirto. (ks. Kloonaus) Halutun solun tuman siirto munasoluun, jonka oma tuma on poistettu. Tumansiirrolla voidaan viljellyistä siirtogeenisistä soluista tuottaa suuri määrä kloonattuja, siirtogeenisiä jälkeläisiä.

Vektori. Geenin siirrossa käytetty välittäjä-molekyylä, esimerkiksi plasmidi, virus tai transposoni.