

Om

**ELIMINERING AV  
ANTIBIOTIKARESISTENS-  
GENER  
UR VÄXTMATERIAL**

GENTEKNIKNÄMNDENS UTREDNINGSSERIE

1999-04-28

## ***Innehåll***

### **Förord**

Göran Wahlgren och Gustaf Brunius 3

### **Bakgrundsanföranden**

Per Bergman, SLU 4

Per Hofvander, Svalöf Weibull AB 8

### **Övriga anföranden**

Gabriella Cahlin, Jordbruksverket 11

Siv Ljungquist, Kemikalieinspektionen 13

Sven Lindgren, Livsmedelsverket 15

Jan Eksvärd, LRF 16

Ola Sköld, Uppsala universitet 17

## Förord

Gentekniknämnden, som inrättades den 1 juli 1994, är en statlig myndighet med uppgift att följa den nationella och internationella utvecklingen på genteknikområdet. Nämnden ska bevaka de etiska frågorna och genom rådgivande verksamhet främja en etiskt försvarbar och säker användning av gentekniken, så att människors och djurs hälsa och miljön skyddas.

Nämnden har också till uppgift att sprida kunskap om den gentekniska utvecklingen. Nämnden skall vidare anmäla till regeringen om något användningsområde eller någon planerad användning av gentekniken kan sättas i fråga från etiska eller humanitära synpunkter.

Frågor rörande eliminering av antibiotikaresistensgener från genmodifierat växtmaterial har nyligen fått stor uppmärksamhet.

I syfte att allsidigt belysa aktuella frågeställningar anordnade Gentekniknämnden den 25 november 1998 en hearing med anföranden från representanter för berörda myndigheter, organisationer, forskare m.fl.

Med hänsyn till det allmänna intresset för ämnet har Gentekniknämnden gjort en sammanställning av dessa anföranden, vilka presenteras i denna skrift. Författarna svarar själva för sina bidrag.

Göran Wahlgren  
ordförande

Gustaf Brunius  
kanslichef

Per Bergman  
Institutionen för Växtbiologi  
Genetikcentrum, SLU, Uppsala

## **Eliminering av antibiotikaresistensgener från genetiskt modifierade grödor – grundläggande mekanism och framtida möjligheter**

### **Molekylärgenetiska metoder i växtförädlingen**

Förståelsen av hur växter, djur och mikroorganismer fungerar i detalj, både biokemiskt och genetiskt, har ökat markant under de senaste tio åren. Dessa framsteg har helt varit beroende av utveckling och tillämpning av molekylärgenetiska metoder. Idag är molekylära tekniker en naturlig del även i tillämpad växtförädling. Nedärvning av olika egenskaper följs med DNA-markörer på ett tidigt stadium i förädlingen för att påskynda och på så sätt förenkla urvalet av material. Dessutom kan nu växtegenskaper förändras genom överföring av enskilda gener till våra grödor. Grödor som förändrats på detta sätt kallas genetiskt modifierade, eller transgena.

Den första transgena växtsorten som förändrats via molekylära metoder marknadsgodkändes i USA 1994. Detta var FLAVR SAVR<sup>TM</sup> tomaten. I detta fall har en tomatgen, som kodar för ett enzym som normalt uttrycks för att tomaten skall mjukna genom att cellväggarna bryts ner, vänts och i växten satts bak- och -fram (Schuch et al. 1989). Detta resulterar i att genen inte kan uttryckas och att tomaten kan mogna färdigt på plantan före skörd. I och med att tomaten inte mjuknar lika fort som normalt, får tomaten dessutom bättre hållbarhet. Idag är många olika transgena grödor godkända i Nordamerika, och ett något färre antal inom EU och Japan. Dessa sorter bör betraktas som den första generationen transgena grödor.

### **Antibiotikaresistensens viktiga roll**

Gemensamt för dagens transgena grödor är att de, förutom en gen av förädlingsvärde, ofta innehåller en extra gen som uttrycker någon form av antibiotikaresistens. Anledningen till detta är att metoderna som används för genöverföring till växter bygger på att man måste kunna identifiera de celler där tillförd DNA stabilt har tagits upp i mottagarcellernas kromosomer. Detta görs genom att lägga alla celler i odlingen i ett tillväxtmedium med tillsats av för cellerna dödlig koncentration antibiotika. De enda celler som kan överleva är de som kan producera antibiotikanedbrytande enzym. Dessa överlevande celler, som är de som är genetiskt modifierade, tillåts växa upp till växter. Dessa "primärtransformanter" sätts sedan in i ett normalt växtförädlingsprogram för att generera utsäde. Slutprodukten, den transgena grödan, kommer både innehålla en tillförd antibiotikaresistensgen och en eller flera gener som reglerar egenskaper av intresse.

### **Vilka är riskerna med antibiotikanedbrytande enzymer i grödor?**

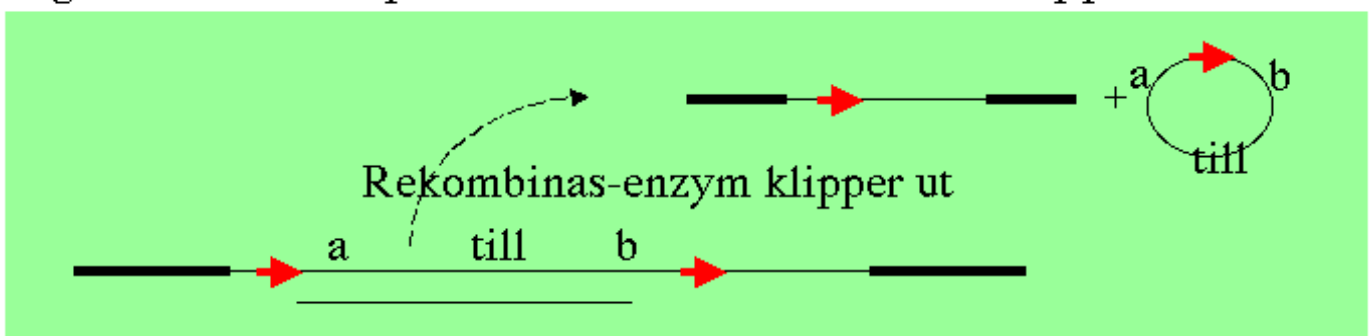
Eventuella risker med både antibiotikaresistensgener och antibiotikanedbrytande enzymer i livsmedel har studerats ingående t.ex. i fallet med den vanligaste använda resistengen, kanamycinresistens. I den utförda säkerhetsbedömningen har det varken befunnits föreliggande några ökade risker för konsumenten eller några risker för överföring av dessa gener till mikroorganismer i mag-tarmfloran (Fuchs et al. 1993). I den allmänna debatten inger dock förekomst av antibiotikaresistensgener i livsmedel oro. Förutom allmänhetens oro för antibiotikaresistensgener och antibiotikanedbrytande enzymer i livsmedel ger dessa problem av andra slag. Om en växtsort innehåller en antibiotikaresistensgen kommer detta att försvåra en upprepad genöverföring i framtiden. Detta kan lösas med att en annan typ av antibiotikaresistensgen används vid nästa genöverföring. I förlängningen innebär detta att ett flertal sådana gener ansamlas i växtsorten. Den största nackdelen för växtförädlarna med detta förfarande ligger i att endast ett ringa antal antibiotikaresistensgener är tillgängliga, eftersom dessa gener fungerar olika bra i olika grödor. Sammantaget finns det alltså flera skäl till att

utveckla system där antibiotikaresistensgenerna inte finns närvarande i marknadsförda sorter utan att de tas bort tidigt i förädlingsprogrammet.

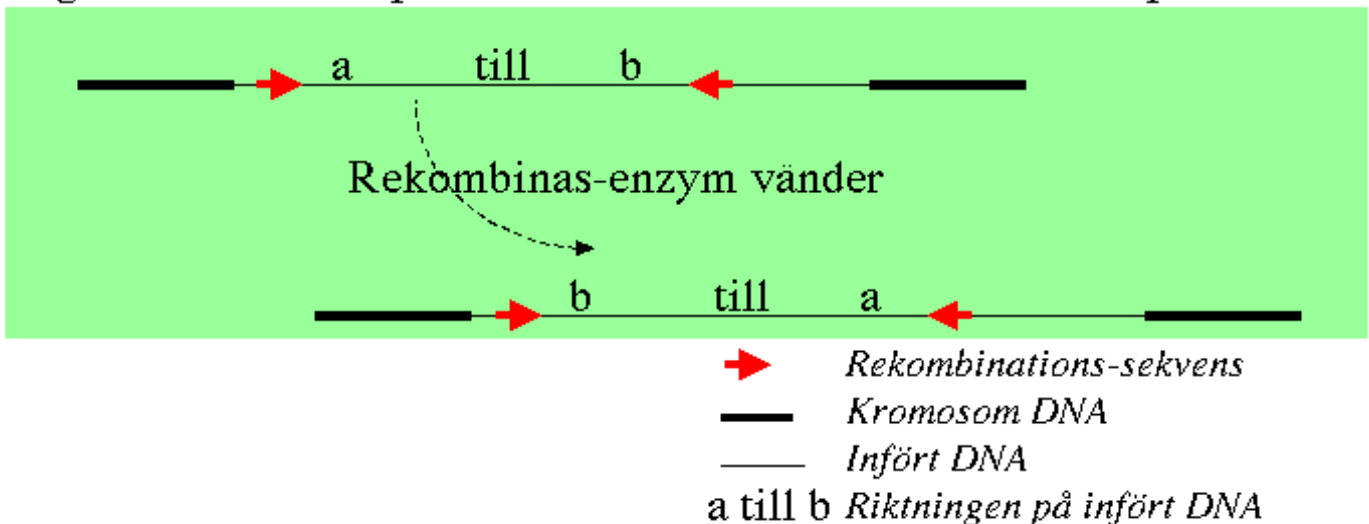
### Hur kan vi i växter i efterhand ta bort införda gener?

Forskare har länge kunnat ”klippa och klistra” gener, det är ju basen för den moderna molekylärbiologin, men det har bara gjorts på ”död” arvs massa (DNA), dvs i provrör före genöverföring. Hur tar man bort gener från en levande organism? De senaste åren har det blivit allt mer tydligt att det i bakterier finns en annan typ av ”klipp och klistra” enzymer som kan arbeta i levande organismer. Dessa kallas *plats-specifika rekombinaser* just för att de klipper DNA't vid specifika DNA-sekvenser. Om två sådana sekvenser finns på samma bit DNA (t. ex. på samma kromosom) så kommer rekombinasen att klippa isär DNA't i båda sekvenserna och sedan klistra ihop dessa fria DNA ändor så att den mellanliggande DNA strängen antingen tas bort (figur 1 a), eller vänds (figur 1 b). Enzymet agerar olika beroende på om de specifika DNA-sekvenserna som enzymet klipper i är riktade åt samma håll eller mot varandra.

Figur 1 a: Plats-specifika rekombinaser kan klippa ut DNA



Figur 1 b: Plats-specifika rekombinaser kan vända på DNA



### Flera olika plats-specifika rekombinaser kan väljas för att ta bort gener

Fyra besläktade plats-specifika rekombinaser har studerats och utnyttjats i olika sammanhang i högre eukaryoter (jäst, växter och djurceller):

- *Cre* från bakteriofag P1 (Austin et. al 1981)
- *FLP* från den 2µm cirkulära plasmiden i jäst, *Saccharomyces cerevisiae* (Broach et al. 1982),
- *R* från pSR1 plasmiden i *Zygosaccharomyces rouxii* (Arakai et al. 1985)
- *Gin*-rekombinasen från Mu-fagen (Klippel et al. 1988).

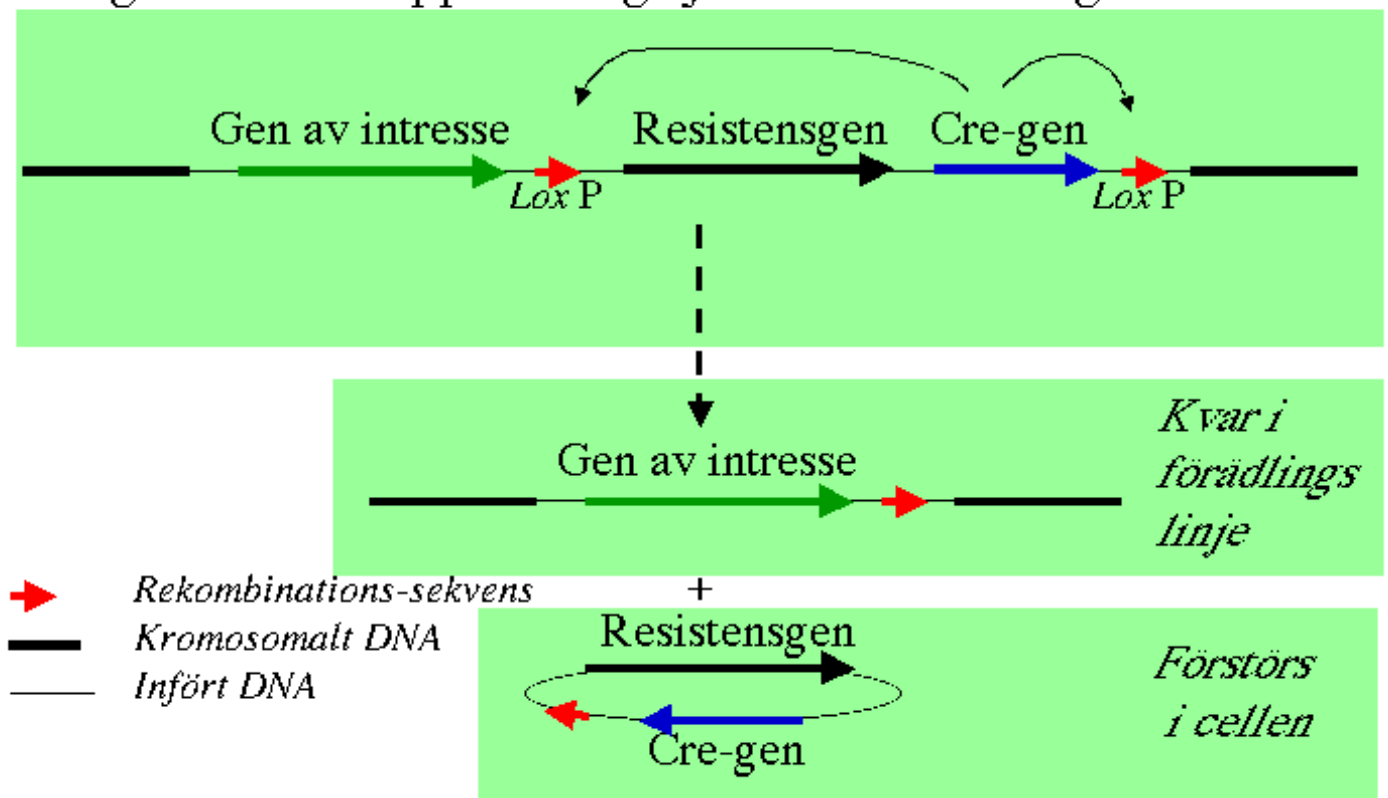
I t. ex. *Cre/loxP*-systemet kallas det plats-specifika enzymet *Cre*, medan den specifika DNA-sekvensen som enzymet klipper och klistrar i kallas *loxP* (Abremski et al. 1983; Hoess et al.

1986). För att klippa ut DNA't mellan två *loxP* sekvenser måste *Cre*-rekombinasenzymet finnas i cellen. Detta görs lättast genom att genen för *Cre*-rekombinaset förs in i cellen så att enzymet kan produceras. Detta har tidigare åstadkommit endera via en andra genöverföring med *Cre*-rekombinasgenen till växten (Dale & Ow 1991) eller genom att korsas två växter, dvs en *Cre*-rekombinasgen bärande linje och en linje som bär på en önskad gen mellan två *loxP* sekvenser (Russel et al. 1992).

### Hur blir man av med den införda Cre-genen?

Oavsett om man för in *Cre*-rekombinasgenen till den genetiskt modifierade grödan via en upprepad genöverföring eller genom sexuell korsning mellan en *Cre*-rekombinasgen-bärande linje och en linje som bär på en önskad gen mellan två *loxP* sekvenser, så kommer *Cre*-genen att stanna kvar i den linje där utklippningen skett. Detta är inte önskvärt och ger problem vid senare utnyttjande av *Cre/loxP* systemet. Därför är det troligt att många fröföretag kommer att se till att rekombinasgenen är lokaliserad mellan de två rekombinations-sekvenserna, vilket medför att inga rester av rekombinasgenen finns kvar i växten. I så fall måste *Cre*-genen kunna styras så att den är påslagen endast när växtförädlarna vill det. Det behövs således ett inducerbart "genstartssystem". Olika inducerbara genstartssystem och deras effektivitet i att kunna styra och reglera *Cre*-rekombinasuttrycket undersöks i detta sammanhang. Ett tänkbart schema som idag är möjligt att genomföra visas i figur 2.

Figur 2: Cre klipper ut sig själv och resistensgenen



## Referenser

- Abremski K, Hoess R, Sternberg N. 1983. Studies of the properties of P1 site-specific recombination: Evidence for topologically unlinked products following recombination. *Cell* 32:1301-1311
- Araki H, Jearnpipatkul A, Tatsumi H, Sakurai T, Ushio K, Muta T, Oshima Y. 1985 Molecular and functional organisation of yeast plasmid pSR1. *J. Mol Biol* 182:191-203
- Austin S, Ziese M, Sternberg N 1991. A novel role for site-specific recombination in maintenance of bacterial replicons. *Cell* 25:729-36
- Broach JR, Guarascio VR, Jayaram M 1982. Recombination within the yeast 2- $\mu$ m circle is site-specific. *Cell* 29:227-234
- Dale EC, Ow DW. 1991. Gene transfer with subsequent removal of the selection gene from the host genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88:10558-10565
- Fuchs RL, Ream JE, Hammond BG, Naylor MW, Leimgruber RM, Berberich SH 1993. Safety assessment of the neomycin phosphotransferase II (NPTII) protein. *Biotechnology* 11:1543-1547
- Hoess RH, Wierzbicki A, Abremski K 1986. The role of the *loxP* spacer region in P1 site-specific recombination. *Nuc. Acids Res.* 14:2287-2300
- Klippel A, Mertens G, Patschinsky T, Kahmann R 1988. The DNA invertase Gin of phage Mu: formation of a covalent complex with DNA via a phosphoserine at amino acid position 9. *EMBO J* 7:1229-1237
- Russell SH, Hoopes JL, Odell JT 1992. Directed exision of a transgene from the plant genome. *Mol. Gen. Genet.* 234:49-59
- Schuch W, Bird CR, Ray J, Smith CJS, Watson CF, Morris PC, Gray JE, Arnold C, Seymour GB, Tucker GA, Grierson D. 1989. Control and manipulation of gene expression during tomato fruit ripening. *Plant Mol. Biol.* 13:303-311

## **Eliminering av antibiotikaresistensgener från växtmaterial ur ett företags perspektiv**

Vid Svalöf Weibull AB arbetar vi med ett antal genteknikprojekt som kan delas upp i två grupper, resistens/tolerans och kvalitet. Dessa projekt syftar i slutändan till att framställa nya växtsorter med för marknaden attraktiva egenskaper.

En pågående diskussion vad gäller växtbioteknikens säkerhet rör de antibiotikaresistensgener som vi, i de flesta av projekten, för in i växtgenomet tillsammans med den eller de gener som ger den eller de egenskaper vi vill att den nya växtsorten ska ha. Syftet med antibiotikaresistensgenen är att vid transformationen kunna identifiera de celler där den främmande egenskapen integrerats i växtgenomet. Efter det att de transgena cellerna selekterats och ett litet skott regenererats så har antibiotikaresistensgenen fyllt sin funktion och behövs ej längre. Frågan är då om *nptII* genen eller andra antibiotikaresistensgener verkligen behöver finnas med i den nya transgena växtsort som ska introduceras på marknaden. Särskilt som det finns en oro bland människor att dessa gener skulle kunna spridas till bakterier och göra dem resistenta mot vissa antibiotika.

Vi har arbetat med frågeställningen kring eliminering av markörgener från transgent växtmaterial sedan 1992. Anledningen till detta är inte att vi ser *nptII* genen i transgena växtsorter som en risk utan två andra skäl:

- Vi vill kunna återanvända markörgener vid framtida transformation av genmodifierade förädlingslinjer och sorter.
- Vi vill säkra marknadsintroduktion av de framtida sorter som tas fram med genteknik.

Skäl nummer två är dock en reaktion på den eventuella risk som andra kan se vad gäller utnyttjandet av *nptII* genen.

Det finns idag ett antal system publicerade som har förutsättningen att möjliggöra ett praktiskt och effektivt utklippande av markörgenen efter transformationen. Ett system kallas Cre/Lox (från fag P1) och ett annat FLP/FRT (från jäst). Båda dessa bygger på att markörgenen klipps ut ur genomet av ett enzym som kallas rekombinas. Rekombinaset känner igen ett specifikt DNA-segment på respektive sida om markörgenen och klipper då ut den. Detta innebär att den transgena växten måste vara transformerad med en genkonstruktion innehållande dessa specifika DNA-segment. De resultat som hittills publicerats är gjorda på enstaka plantor och med systemkombinationer som endast kan sägas vara för experimentellt bruk. För en kommersiell användning så krävs en hel del utveckling och vi har satt upp ett antal kriterier som är viktiga för oss.

### ***Systemet måste fungera i flera olika grödor.***

Vi arbetar med transformation i ganska många växtslag och där själva styrningen av gener skiljer sig. Detta gäller särskilt monokotyledoner (cerealier) jämfört dikotyledoner (ex.vis potatis och raps).

### ***T-DNA för transformation bör kopplas till en väl utformad basvektor.***

De vektorer som idag används är ofta gjorda vid olika universitetsinstitutioner med syftet att ha en vektor som gör det den ska. Om istället meningen är att transformationshändelsen ska resultera i en kommersiell växtsort bör vi undvika att ha med sådant i vektorn som kan göra att den transgena växten innebär en risk och/eller stör tillståndprocessen.

### ***Inkorporering av andra DNA-segment än avsedda bör förebyggas.***

Det finns idag undersökningar som visar att det ofta integreras andra delar av vektorn än enbart de avsedda. Sådana icke avsedda DNA sekvenser försvårar bedömningen av växtsorten och stör tillståndprocessen. Med en väl utformad vektor och ett väl genomtänkt T-DNA kan man i de flesta fall undvika sådana problem.

***Tidpunkt för elimineringen av DNA-segment måste kunna styras.***

För potatis är det nödvändigt och i andra växtslag önskvärt att rekombinasgenen transformeras in tillsammans med övriga gener. Det är då av avgörande betydelse att uttrycket av denna gen kan styras effektivt. Detta kan åstadkommas med en promotor som regleras av en specifik substans som kan appliceras utifrån. Kontrollen av denna promotor måste vara så effektiv att ingen utklippning sker under själva urvalet av de transgena cellerna.

***Elimineringen av DNA-segment måste vara effektiv.***

Vi måste som beskrivet ovan ha en tät kontroll av rekombinasgenen men lika nödvändigt är det att när väl enzymet uttrycks så fungerar detta så bra att markörgenen klipps ut i alla celler. Resultatet blir annars att vi får chimärplantor där vissa celler innehåller markörgenen medan andra fått den utklippt.

***Systemet bör vara beroende av så få patent som möjligt.***

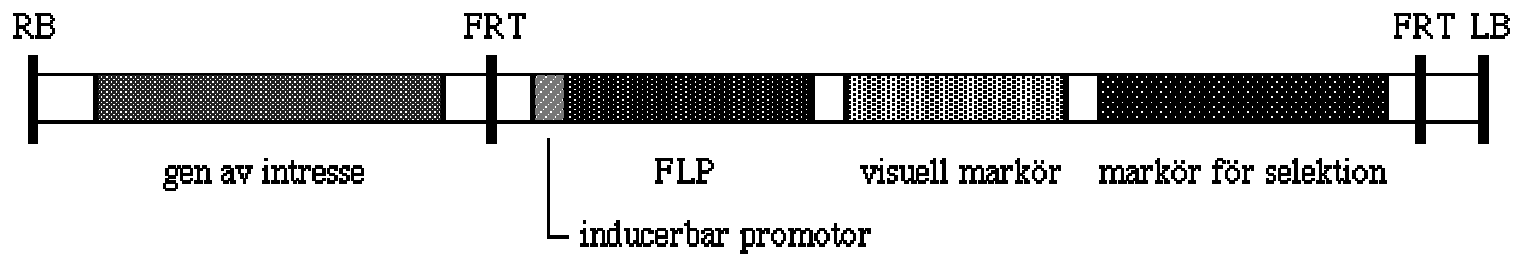
Vi är ett i sammanhangen förhållandevis litet företag med begränsade resurser vilket gör att denna frågan blir ganska viktig. Blir vi beroende av för många patent så har vi inte råd att använda det.

Var står vi då idag?

Vi har en klar bild över hur systemet ska se ut och fungera. Inriktningen är ett system baserat på FLP/FRT. På det T-DNA som transformeras in ska det finnas genen eller generna av intresse för den aktuella transformationen samt rekombinasgenen, markörgenen för selektion samt eventuellt en visuell markör. En visuell markör, som t.ex. ett fluorescerande protein, underlättar undersökning om hur väl utklippningen fungerat då denna gen tillsammans med rekombinasgenen och markörgenen för selektion flankeras av de specifika DNA-segmenten och rekombineras ut tillsammans med dessa vid utklippningen. Till rekombinasgenen ska en sk inducerbar promotor vara kopplad. Inducering av utklippning kommer då att resultera i ett T-DNA integrerat i växtkromosomen som endast består av de DNA sekvenser som är av verkligt intresse för den nya växtsorten samt T-DNA gränser och en kopia av det specifika DNA-segment som möjliggör utklippningen. För själva arbetet har vi samtliga byggstenar utom en tillräckligt bra inducerbar promotor och en väl fungerande visuell markör.

Troligtvis kommer vi att kunna börja transformera med dessa nya möjligheter inom två år vilket betyder växtsorter på marknaden om sju till tio år.

Avslutningsvis vill jag tillägga att detta definitivt är ett bättre sätt att ta fram transgena växtsorter på men att det inte behöver betyda att de system som finns idag och som existerande transgena växtsorter är framtagna med skulle innebära en ökad risk för människa och miljö.



inducering för uttryck av FLP gen



## **Jordbruksverkets syn på eliminering av antibiotikaresistensmarkörer ur växtmaterial**

Först vill jag betona att Jordbruksverket anser att den tillämpning vi hittills har sett med markörgener som ger antibiotikaresistens medför mycket små risker. Det finns dock en teoretisk risk och vi tillämpar därför försiktighetsprincipen.

Ansökningar om fältförsök eller marknadsgodkännande för genmodifierade växter granskas och bedöms från fall till fall. Vad gäller antibiotikaresistens kan bedömningen bli beroende av:

- vilket antibiotikum resistensgenen är riktad mot
- eventuell medicinsk eller veterinärmedicinsk användning av antibiotikumet i fråga
- användningsområde för den genmodifierade växten.

Vi kan exempelvis ha en liberalare syn för vad vi kan tillåta i fältförsök, där vi med olika typer av villkor kan förhindra eller avsevärt minska risken för spridning av de införda generna. Skörden från fältförsöken får normalt heller inte användas till föda eller foder. När det gäller marknadsgodkännande är det oftast fråga om en storskalig användning där spridning av det genetiska materialet i större eller mindre grad kommer att ske. Bedömningen måste ta hänsyn till detta. Bedömningen när det gäller marknadsgodkännande kan i viss mån även bli olika beroende på användningsområdet för produkten. Om produkten är avsedd som livsmedel eller foder bör man tillämpa en restriktivare hållning än om produkten inte är avsedd att ätas (t.ex. snittblommor och industrigrödor). Produkter avsedda som livsmedel måste förutom marknadsgodkännandet under direktiv 90/220/EEG även erhålla tillstånd enligt den s.k. ”Novel Food”-förordningen (EG 258/97). I Sverige prövas sådana tillstånd av Livsmedelsverket.

Av de ansökningar om fältförsök och marknadsgodkännande som Jordbruksverket hittills har behandlat har de möjliga riskerna med den använda antibiotikaresistensen inte i något fall bedömts så stora att de enskilt motiverat ett avslag av ansökan. Verket har dock som en generell synpunkt att antibiotikaresistens-markörer bör undvikas i den slutliga produkten. Dels har de ingen funktion i den slutliga produkten, och eftersom riskbedömningen blir mer komplicerad ju fler gener man måste beakta, bör man begränsa antalet överförda gener så långt som möjligt. Dels finns en teoretisk risk med dessa markörgener, som även om den är mycket liten rent vetenskapligt sett ändå kan skapa oro hos allmänheten. Verket ser därför mycket positivt på företagets och universitetens arbete med att söka lösningar för eliminering av antibiotikaresistensmarkörer. Eftersom det är angeläget att de system som utvecklas för eliminering eller ersättning av dessa markörer är tillförlitliga och inte skapar nya risker anser verket att myndigheterna inte bör forcera denna utveckling. Företagets egna intresse för en så snabb lösning av problemet som möjligt kan också ses som en garanti för att utvecklingen inte kommer ta längre tid än nödvändigt.

Inom EG-kommissionen har man tillsatt en arbetsgrupp som skall arbeta med att ta fram ett dokument om antibiotikaresistens. Svensk deltagare är Siv Ljungqvist, Kemikalieinspektionen.

**Tabell 1: Svenska fältförsöksansökningar**

	Ingen antibiotika-resistens	Kanamycin/ Neomycin	Hygromycin	Streptomycin
Potatis	0	21	0	0
Raps/Rybs	8	12	2	1
Sockerbeta	3	7	0	0
<b>Summa</b>	<b>11</b>	<b>40</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

**Tabell 2: Marknadsansökningar inom EU**

Ingen antibiotika-resistens	Kanamycin/ Neomycin	Ampicillin	Spectinomycin/ Streptomycin	Kanamycin/ Amikacin
10	11	3	2	1

## **Finns det risker med att använda markörgener som ger resistens mot antibiotika i genmodifierade organismer?**

Med modern genteknik går det att framställa ”nya” organismer; bakterier, svampar, växter och djur. Tidigare har man korsat närstående arter och raser för att få fram nya egenskaper. Numera kan man välja ut enstaka önskvärda gener från en organism och överföra den till en annan, som därigenom får en ny egenskap.

För att lättare kunna skilja ut de celler som tagit upp den önskvärda genen (målgenen) använder man en markör-gen som kopplas till målgenen. En vanlig metod är att använda markörgener som ger resistens (motståndskraft) mot ett antibiotikum. Genom att utsätta de genmodifierade cellerna för antibiotikum kan man då lätt selektera fram de celler som tagit upp målgenen eftersom den är kopplad till markör-genen.

Om markör-generna finns kvar i organismen, t.ex. i nya växtsorter som släpps ut för fri odling eller mikroorganismer som släpps ut i naturen, kan det finnas en viss risk att gener som ger resistens mot antibiotika kan överföras till t.ex. jordbakterier, och i förlängningen nå sjukdomsalstrande bakterier. Risken med att använda gener för antibiotikaresistens som markörer i genetiskt modifierade *växter* är mycket liten. Teoretiskt är det möjligt att en oönskad överföring av gener som ger antibiotikaresistens från växter till bakterier i jorden eller mag-tarmfloran ska kunna ske, men sannolikheten för att det ska ske är mycket liten.

Att använda markörgener som ger antibiotikaresistens i genmodifierade *mikroorganismer* anses dock medföra större risk eftersom mikroorganismer under gynnsamma förhållanden bevisligen kan utbyta arvsmassa mellan varandra, även mellan avlägset besläktade arter. Detta innebär att sannolikheten ökar för möjligheten att överföra markörgener från genmodifierade mikroorganismer till jordbakterier vid avsiktlig utsättning, eller till bakteriefloran i mag-tarmkanalen om de ingår i ett livsmedel eller läkemedel. När djur eller människor sedan behandlas med antibiotika mot sjukdomsalstrande bakterier kan behandlingen bli overksam och bakterien växer vidare. De resistenta bakterierna kan sen spridas vidare till människor eller djur och orsaka skada.

Den ökande internationella användningen av antibiotika, både som läkemedel och som fodertillskott för djur, har bidragit till att allt fler bakteriestammar nu uppvisar motståndskraft mot flera typer av antibiotika (multiresistens). Detta sker genom att bakterier som är resistenta vanligtvis får en tillväxtfördel, där resistenta bakterier överlever medan bakterier i den vanliga mikrofloran som är känslig mot antibiotika slås ut. I Sverige har användningen av antibiotika varit betydligt mer restriktiv än i många andra länder. Att ge djur antibiotika som fodertillskott är förbjudet. Denna restriktiva hållning i Sverige har förmodligen bidragit till att multiresistenta bakteriestammar inte påträffas lika ofta i Sverige som i vissa andra länder.

Idag finns det flera befintliga metoder, och nya håller på att utvecklas, för att ta bort markör-genen hos organismen när den gjort sitt. Ett alternativ till att ta bort markör-genen är att använda andra typer av markörgener istället. Idag arbetar man med olika alternativ t.ex. de som ger egenskaper som fluorescens, dvs de gör att cellen alstrar en slags ljussignal, eller celler får förändrad tillväxt i närvaro av olika sockerarter. Utvecklingen går snabbt inom detta område och markörer för antibiotikaresistens kommer sannolikt att användas mer restriktivt för att i framtiden försvinna från slutprodukten.

Då utvecklingen inom bioteknikområdet går snabbt och antalet genmodifierade produkter i framtiden förväntas öka kraftigt är det angeläget att samhället är väl förberett för detta. Vid ett möte den 23-24 oktober 1997 mellan de myndigheter i Sverige som delar ansvaret inom

området genetiskt modifierade organismer, beslutades att ett kunskapsdokument skulle sammanställas. Syftet var att utreda olika frågeställningar kring och uppskatta riskerna med att använda antibiotikaresistensgener som markörgener samt att detta dokument skulle kunna ligga till grund för Sveriges ställningstagande i olika principiella frågor inom GMO-området. Ett kunskapsdokument<sup>1)</sup> har därför sammanställts av Kemikalieinspektionen, Jordbruksverket och Livsmedelsverket i samråd med Arbetskyddsstyrelsen, Fiskeriverket, Gentekniknämnden, Läkemedelsverket, Naturvårdsverket och Skogsstyrelsen. Även Smittskyddsinstitutet och Socialstyrelsen har varit remissinstanser.

Myndigheternas rekommendationer, efter att ha beaktat såväl vetenskapliga data som den utveckling som pågår med alternativa markörgener och tekniker för borttagande av icke önskvärda gener, sammanvägt med den uttalade oro som finns bland allmänheten kring dessa frågor, kan sammanfattas i att:

- Sverige bör verka för en utveckling där man undviker användning av gener för antibiotikaresistens i GMO.
- Sverige bör arbeta för att endast sådana gener som är nödvändiga för att uttrycka den/de önskade egenskaperna finns med i slutprodukten.
- Sveriges policy bör vara att arbeta för att användandet av GMO som innehåller gener för antibiotikaresistens minskar och successivt avlägsnas från marknaden.

<sup>1)</sup> Ljungquist, S., Andrén, R., Fermér, C. (1999) KemI rapport 1/99.

## Genteknik och livsmedelssäkerhet

Gentekniken regleras inom EU av två direktiv och en förordning. Direktiv 90/219/EEC behandlar främst säkerheten för hanteringspersonal och miljö vid innesluten användning av genmodifierade organismer. Direktiv 90/220/EEC behandlar kravet på säkerhet vid avsiktligt utsättande av genmodifierade organismer i omgivningen. 1997 presenterades en förordning 258/97/EC som behandlar introduktion av nya livsmedel och livsmedelsingredienser på marknaden. Till detta område hör även livsmedel och livsmedelsingredienser som genomgått en genmodifiering. Förordningen innebär att ett förhandsgodkännande krävs innan ett nytt livsmedel introduceras på marknaden.

I anslutning till förordningen har EUs Livsmedelsvetenskapliga kommitté (SCF) utformat rekommendationer angående vetenskaplig dokumentation från företagen som krävs innan produkterna placeras på marknaden. Den dokumentation som skall uppfyllas är inriktad mot produkternas säkerhet och behandlar bl.a. ”substantial equivalence”, intagsstudier, toxikologi, allergena egenskaper samt synpunkter på konstruktion och markörerna.

Genom att tillämpa begreppet ”substantial equivalence” skapas en förutsättning för ett enkelt förfaringsätt vid säkerhetsvärdering av en genmodifierad organism. Detta förhållande råder när ingen skillnad existerar mellan en ny råvara eller ingrediens och motsvarande befintliga produkt. Detta begrepp täcker dock ej en säkerhetsvärdering i sig av den traditionellt befintliga produkten. Om ej ”substantial equivalence ” anses tillämpligt krävs en mer eller mindre omfattande säkerhetsvärdering.

I anslutning till introduktionen av den genmodifierade majs (CG-00526-176) genomfördes en omfattande granskning inom EU av SCF och av ”Scientific Committee on Animal Nutrition” (SCAN) av den vetenskapliga dokumentation som presenterades av det sökande företaget. Granskningen avsåg de introducerade gener som reglerar dels ett insektsdödande protein, dels en tolerans mot bekämpningsmedlet ammonium-glufosinat. De båda kommittéerna fann ej att säkerheten i majs försämrades med dessa två egenskaper. Vid konstruktionsarbetet har en markör för ampicillin resistens använts. I samverkan mellan SCAN och SCF hölls ett möte med sju världsledande experter på genteknik angående sannolikheten för en horisontell överföring av ampicillinresistens från majs till mikroorganismer. De inkallade experterna gav ett utlåtande som indikerade att sannolikheten för denna överföring var extremt låg. De vetenskapliga kommittéerna påpekade att man i framtiden kommer att vara extremt noga i sin kontroll av ansökningar som bygger på antibiotikaresistens-markörgener.

Vid oenighet inom EU i anslutning till den nationella granskningen av genmodifierade organismers säkerhet överförs ansvaret på ”Scientific Committee on Plants”. I de fall produkten skall användas som livsmedel sker dessutom en kompletterande utvärdering inom SCF. Tillsatser och aromämnen som framställts med hjälp av genmodifierade organismer följer ej ”Novel Food” förordningen utan säkerhetsvärderas enligt separata direktiv för tillsatser respektive aromämnen.

Jan Eksvärd  
Lantbrukarnas Riksförbund (LRF)

## **LRFs syn på antibiotikaresistensmarkörer i växtmaterial**

Lantbrukarnas Riksförbund har i sin policy för genteknikens användning sagt att i linje med vår strikta hållning till användning av antibiotika inom djurhållningen ska vi driva på för att åstadkomma alternativ till användning av antibiotikaresistens som selektionsgen. Ett sådant alternativ är att genen klipps bort.

Skälen till LRFs inställning är att effekten av en storskalig användning, till exempel i huvuddelen av djurfodret, är svår att uppskatta, även om risken för betydelsefull överföring av resistent till patogena mikroorganismer är liten. En stor svårighet är att trovärdigt informera om varför antibiotikaresistens som selektionsgen sannolikt innebär liten risk medan resistens mot antibiotika är livsfarligt. Genteknikens nytta och jordbrukets trovärdighet tar skada av användningen av antibiotikaresistens som selektionsgen.

LRF har tills vidare saccepterat en typ av antibiotikaresistens som selektionsgen. Det gäller resistens mot kanamycin. I det aktuella fallet med *Amylogenes* stärkelsepotatis är promotorn till resistensgenen av en sådan typ som enbart är aktiv i växtceller (inte i bakterieceller). Kanamycin används inte i terapeutiskt syfte på grund av svåra biverkningar. Dessa två skäl medför enligt vår bedömning att risken för överföring och eventuell skada i det närmaste är obefintlig. Samtidigt förekommer korsresistens mellan antibiotika och vi vet inte vilka medel som kommer att användas om tio år.

Andra selektionsgener kan vara lättare att acceptera, men om de är utan nytta i den odlade växten och kan betraktas som skräpgener bör de tas bort.

Det är rimligt att ansökningar till fältförsök respektive marknadsföring bedöms olika. Men företagen ska veta att även tillstånd för omfattande försök inte garanterar tillstånd för marknadsföring. Och myndigheterna behöver våga säga nej till en ansökan om marknadsföring, även om försöken har varit omfattande.

Ola Sköld  
Inst. för farmaceutisk biovetenskap  
Uppsala universitet

## Diskussionsinlägg

Antibiotika är den naturvetenskapligt grundade medicinens största triumf. De har medfört, att bakteriella infektioner kan kontrolleras, och har därmed kommit att utgöra ett medicinskt fundament. Onkologi och transplantationskirurgi är goda exempel på specialområden där antibiotika numera är absolut nödvändiga.

De stora framgångarna med antibiotika inom human- och veterinärmedicin och även inom djuruppfödning och jordbruk har medfört kopiös användning. Det finns uppgifter om att mellan en och tio miljoner ton antibiotika har spritts i biosfären sedan antibiotikaepoken började för ungefär 60 år sedan. Detta har inneburit en drastisk miljöförändring inom den mikrobiella världen, som har reagerat genom att utveckla resistens. Denna bakteriernas adaptation till de miljögifter antibiotika är, har varit överraskande snabb, och förklaras genom ett horisontellt och promiskuöst genflöde mellan mikroorganismer inklusive sjukdomsalstrande bakterier.

Antibiotikaförbrukningen i Sverige ökade fram till år 1993, då den nådde 19,4 definierade dygnsdoser per 1000 invånare och dag, vilket motsvarar 61,5 miljoner dygnsdoser totalt, eller statistiskt sett att varje svensk behandlades en vecka med antibiotika det året. Därefter har distributionen minskat varje år för att 1997 vara 22% lägre än 1993.

Tillgängliga antibiotika kan i stort indelas i sex kemiska klasser, inom vilka den antibakteriella mekanismen är likartad. Detta medför att korsresistens är vanlig inom varje klass.

Resistensgener är mycket vanligt förekommande. De kan till exempel påvisas bland bakterier i tjocktarmen hos de flesta människor, och där också hos personer som inte tagit in det antibiotikum som funna gener ger resistens mot. Av den anledningen är risken för resistenstillskott från resistensgener i växtmaterial i födan, i den mån de kan passera digestionen intakta, så vitt man kan se obefintlig.