



HELSINGIN YLIOPISTO
HELSINGFORS UNIVERSITET
UNIVERSITY OF HELSINKI

Kasvibioteekniikan uusia menetelmiä

<http://www.geenit.fi/TuV100210.pdf>

Löytöretkiä biopolitiikkaan.

Suomen biopolitiikan haasteita ja näkökulmia globaaleissa puitteissa 2010–2050.

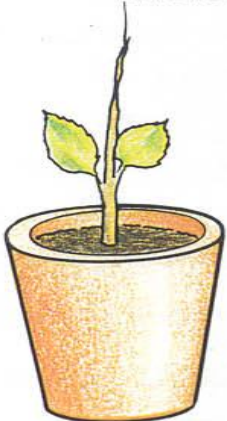
Tulevaisuusvaliokunnan arviointiraportin julkistustilaisuus 10.2.2010

Eduskunnan Pikkuparlamentissa

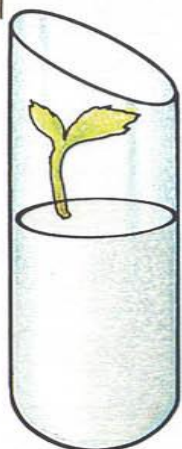
Jussi Tammissola, kasvinjalostuksen dosentti
jussi.tammissola@helsinki.fi www.geenit.fi

Uusia jalostussovelluksia on esitelty lyhyesti:
<http://www.geenit.fi/TTF130209.pdf> (luento)
http://www.geenit.fi/Futura2_09.pdf (katsaus)

TAIMI ON
EMOPUUN KLOONI

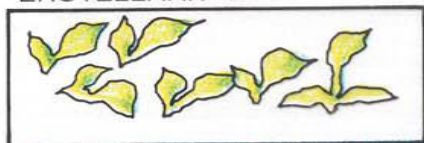


TAIMET
ISTUTETAAN
MULTAAN

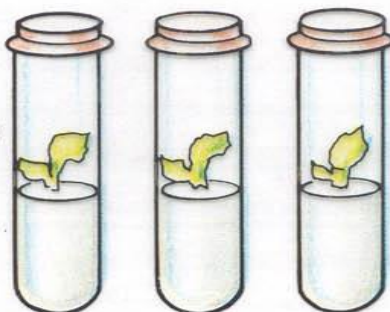


PIENET
KASVINPOIKASET
SIIRRETÄÄN
JUURRUTUS-
ALUSTALLE

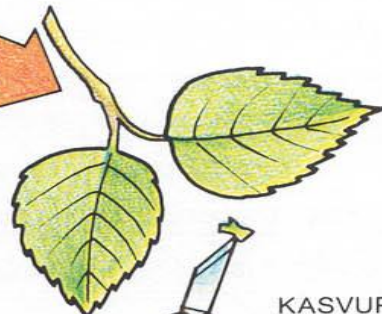
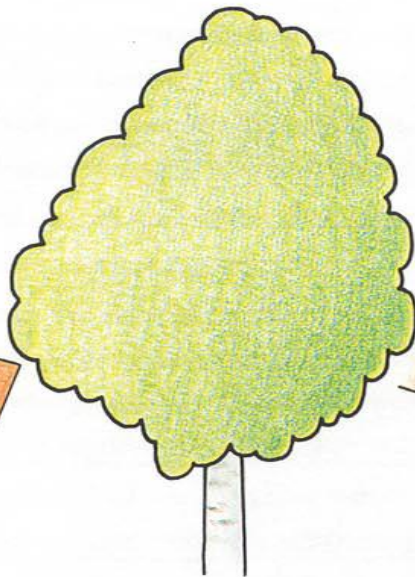
VERSOT
EROTELLAAN



VERSOT ISTUTETAAN
KASVATUSALUSTALLE
MONISTAMISTA VARTEN



MIKROLISÄYS- MENETELMÄ



KASVUPISTE
SIIRRETÄÄN
VILJELYYN

KASVUSOLUKKO
MUODOSTAA
VERSOJA

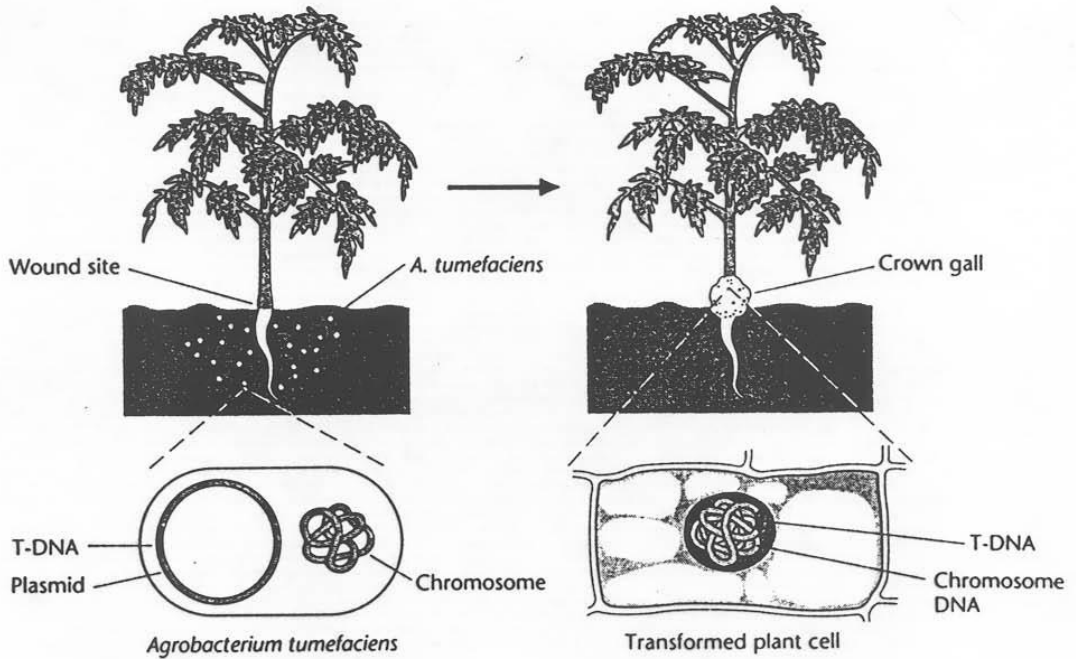
SYNTYY UUSIA
VERSOJA

Solu- ja solukkoviljelyyn perustuvat menetelmät

- tekivät läpimurron – ovat jalostuksen arkipäivää
- vähättelijöistä (mm. JT) piittaamatta!

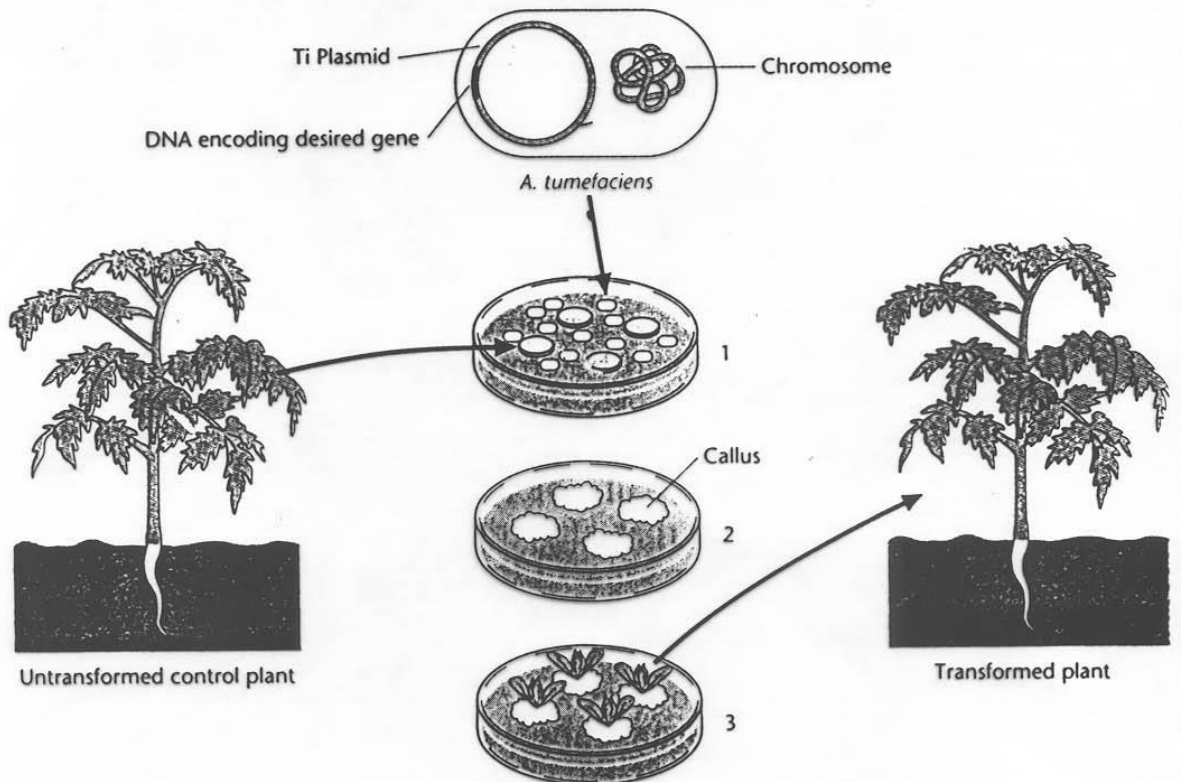


Koivun somaattinen alkio



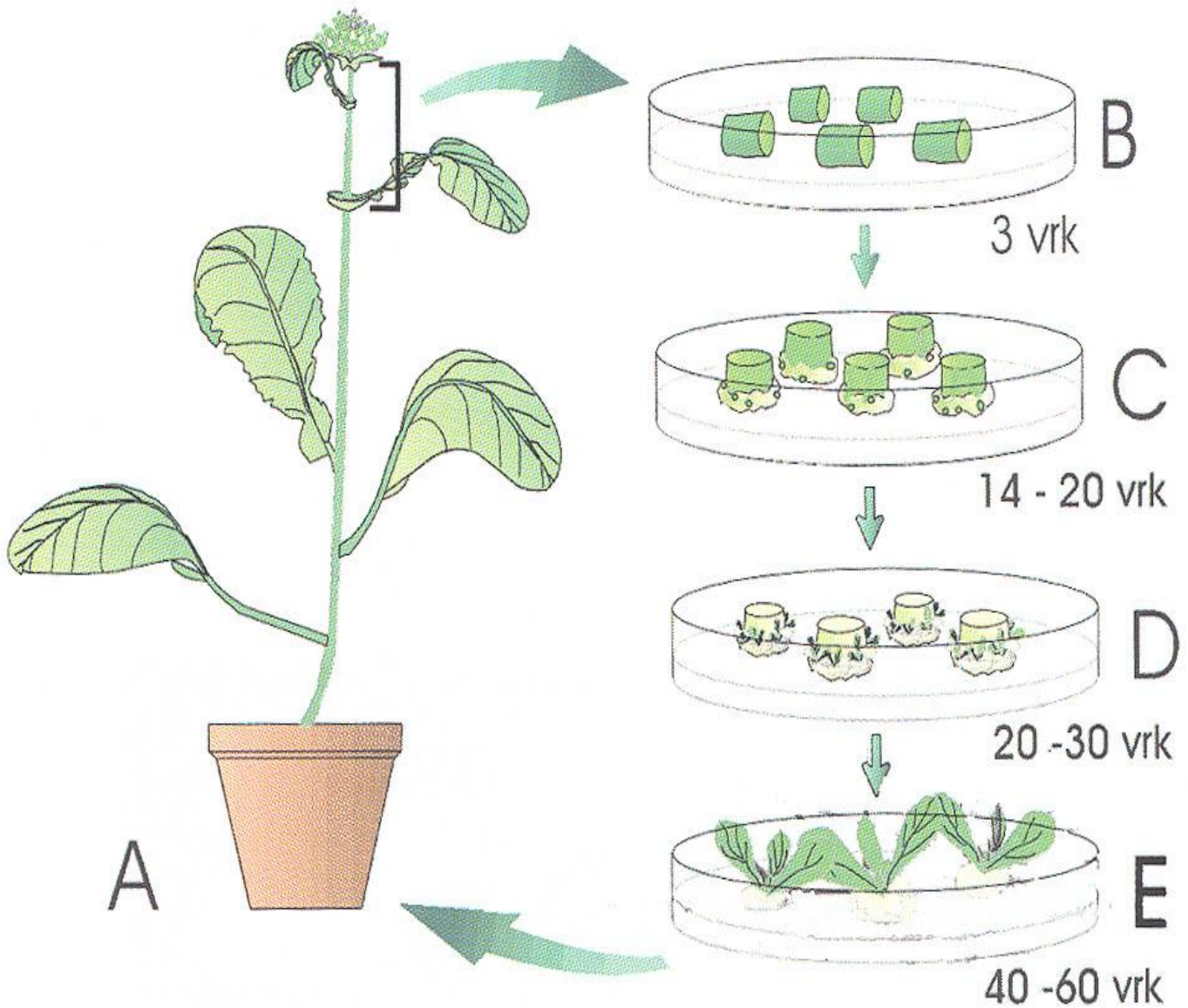
(a) Crown Gall Disease

Agrobakteeri siirtää itse geenin kasvin perimään

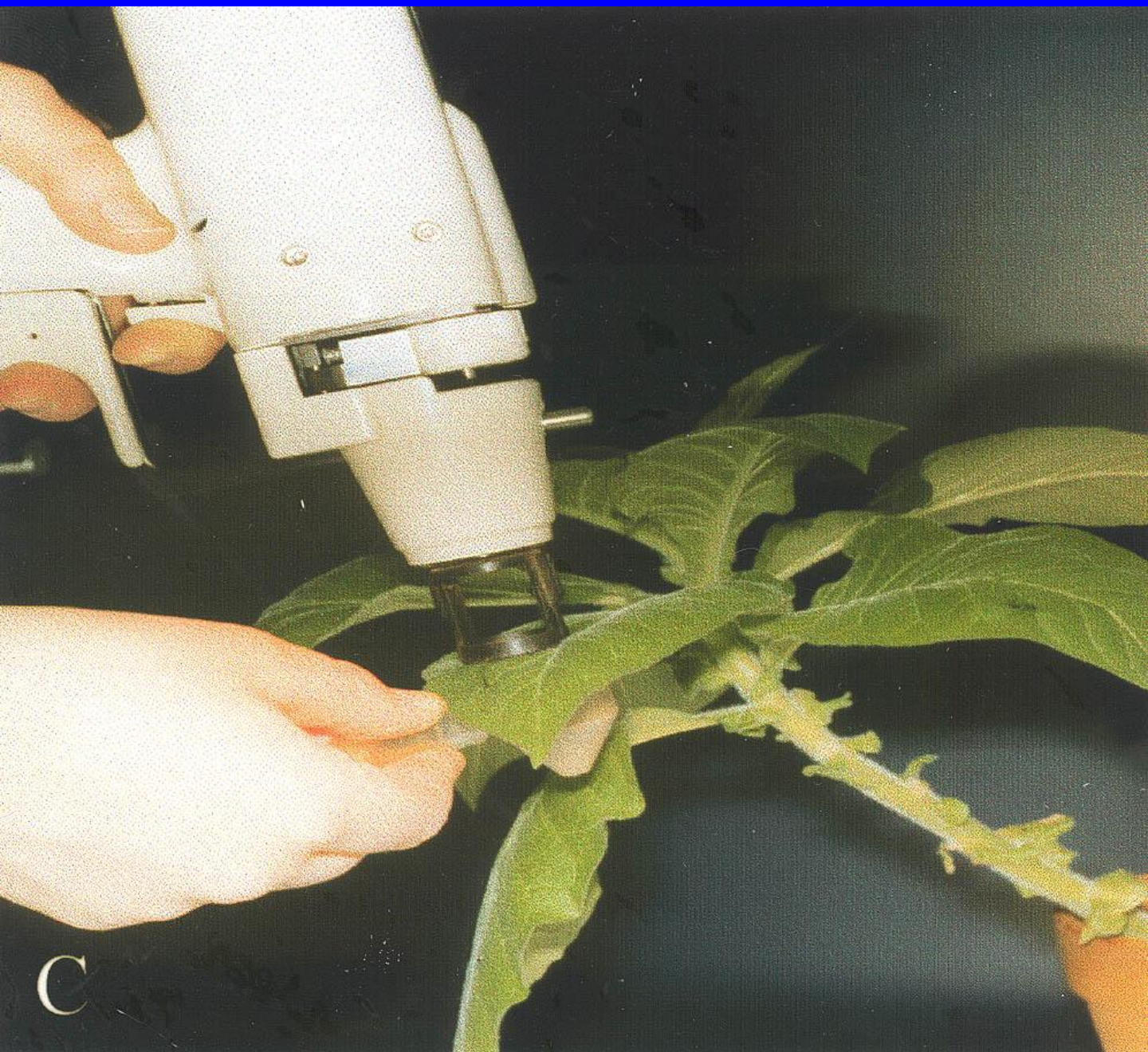


(b) Transformation in the Laboratory

GEENINSIIRTO RYPSIIN



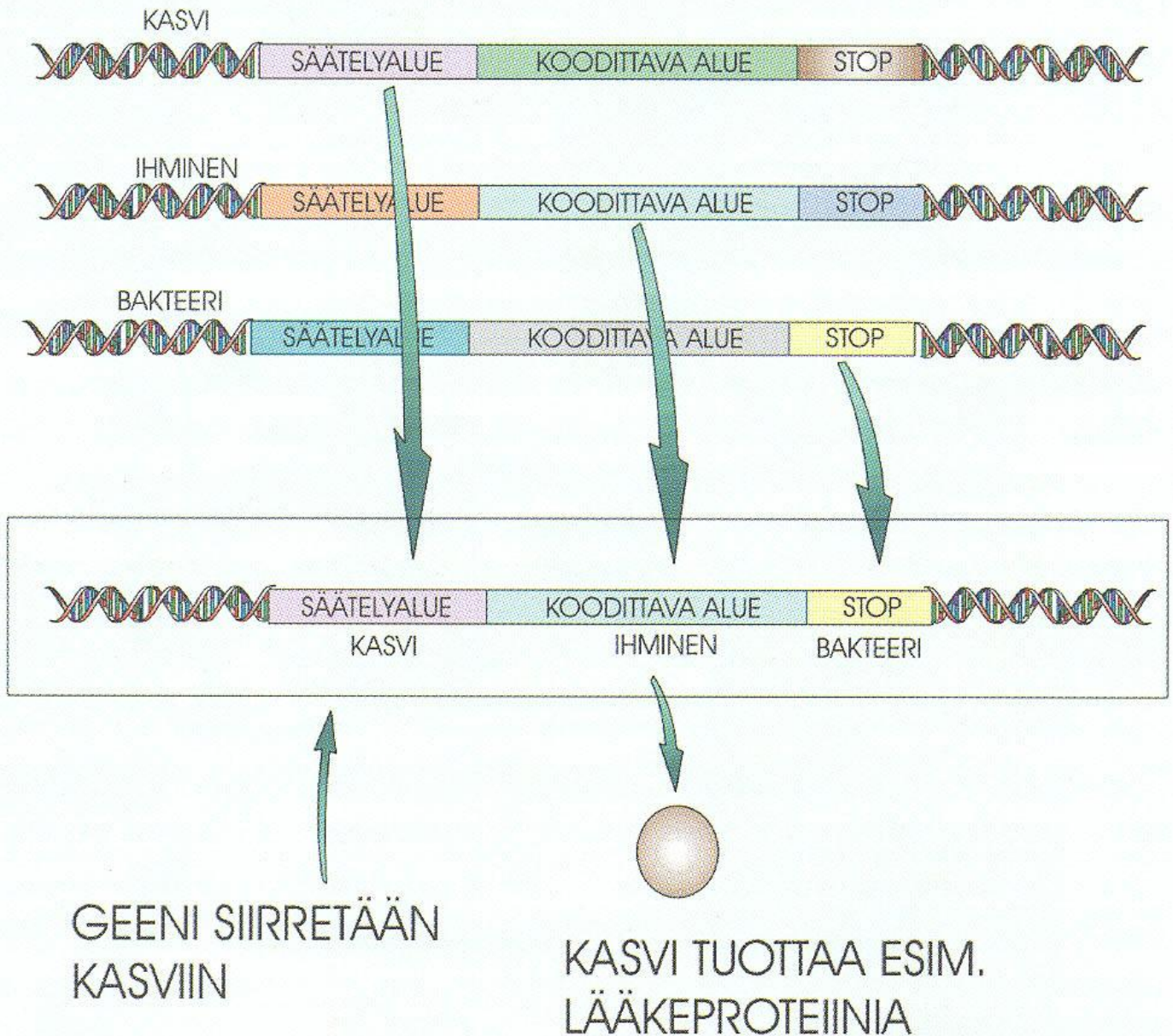
Klassillisia geenimuuntelumenetelmiä 3. Geenin siirto tupakkaan geenipyssyllä



C

Boije (1999)

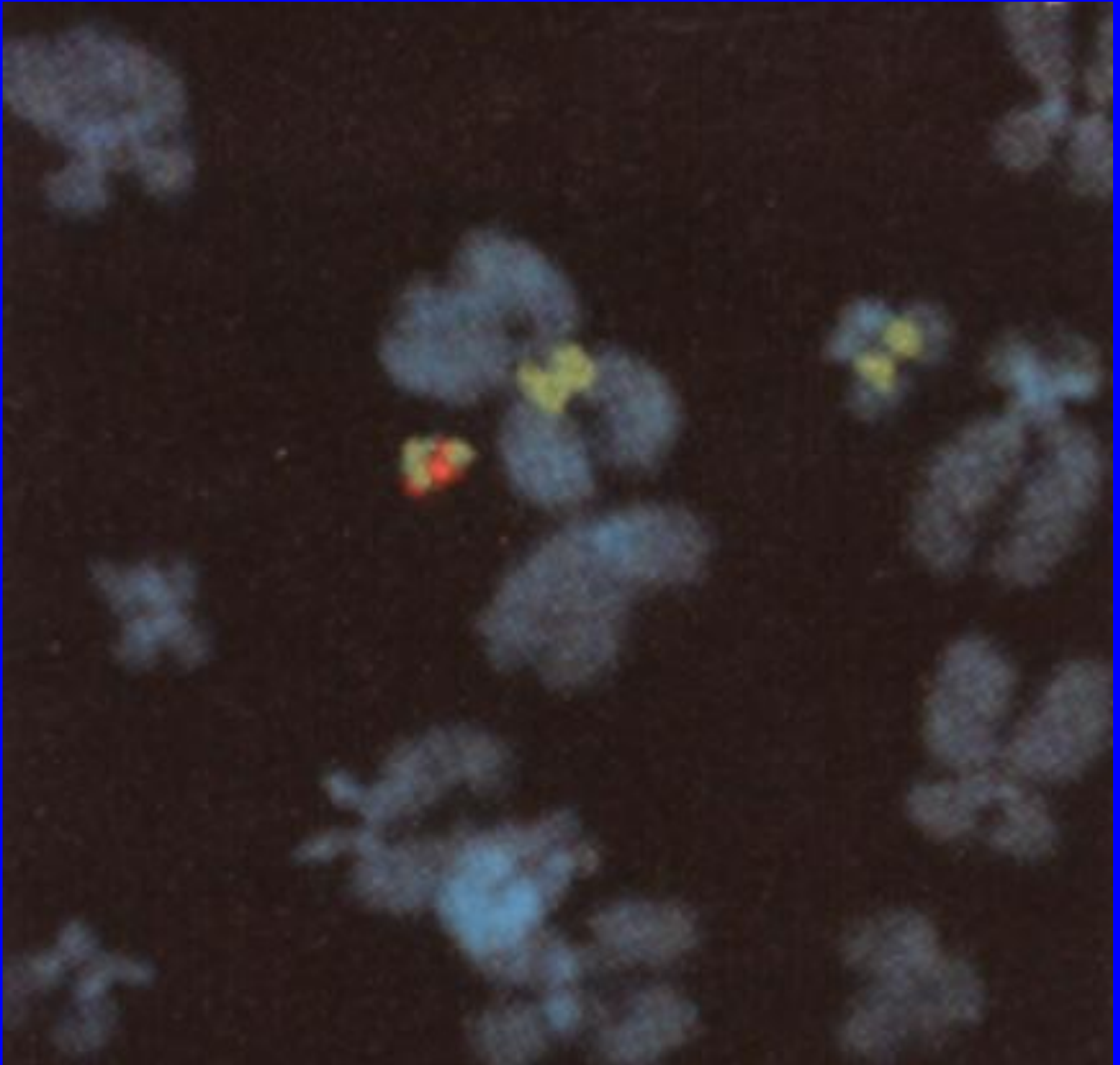
TOIMIVA GEENI VOIDAAN KOOTA USEIDEN ELIÖIDEN DNASTA



Kasvigeenitekniikan uusia kehityslinjoja

- ◆ Kasvigeenien toimintaa ja säätelyä selvitetään
 - kasvin omia geenejä hienosäädetään
- ◆ Geenistön toiminnan analysointi
 - proteomiikka, dna- ja rna-sirut
- ◆ Usean geenin jalostaminen yhtäikää
- ◆ Esivalitut geenien kiinnittymiskohdat
- ◆ Geenin eristäminen toiminnallisesti naapureistaan
- ◆ Haittageenin eliminointi laserilla
- ◆ Kohdennettu mutageneesi
 - rna/dna-hybridimolekyylien avulla
 - sinkkisorminukleaaseilla
- ◆ Kasvien pienet keinokromosomit

Nisäkkään keinotekoinen kromosomi (MAC)



YAC-materiaalia

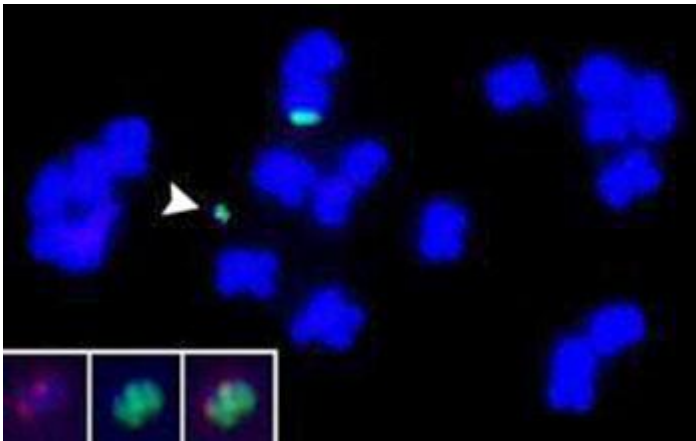
(Ikeno ym.1998)



Ihmisen kr. 21 sentromeerimateriaalia

Monta geeniä voidaan jalostaa kasviin yhtäikää minikromosomissa

- Heinäkasveilla on soluissaan usein myös ylimääräisiä pieniä, ns. B-kromosomeja
 - käyttäytyvät kuin muut kromosomit
 - lukumäärä voi olla suurikin
 - ovat geneettisesti (lähes) tyhjiä, mutta niissä on välttämättömät kromosomin rakenneosat (liikutinosa eli *sentromeeri* sekä kromosomin päät eli *telomeerit*)
- Tyhjennettyyn B-kromosomiin voidaan viedä monta jalostettavaa geeniä yhtäikää geenitekniikan avulla (ns. geenikasettina)
 - tuloksena toimiva **minikromosomi**, joka sitten voidaan siirtää kasvisolun tumaan geenipyssyllä



Minikromosomi on merkitty kuvassa nuolella

- Koetulosten mukaan minikromosomit siirtyvät normaalisti solusukupolvesta toiseen mitoosissa ja kasvisukupolvesta toiseen meioosissa
- ☞ Carlson ym. (2007). *PLOS Genetics* 3: 1965-1974
http://genetics.plosjournals.org/archive/1553-7404/3/10/pdf/10.1371_journal.pgen.0030179-L.pdf
- ☞ Yu ym. (2007). 14.5.2007 *PNAS*
<http://www.pnas.org/cgi/content/abstract/0700932104v1>



Geenin vienti esivalittuun paikkaan kromosomissa rekombinaatio- systemin avulla (Cre/lox, FLP/FRT ym) 1.

- Siirtogeeni voidaan ohjata esivalittuun, hyvin toimivaksi testattuun paikkaan kasvin perimässä
- Samaan paikkaan voidaan myöhemmin lisätä muita geenejä tarpeen mukaan

Expression of transgenes from specific chromosome locations (David Ow, ABIC 2004)

What determines gene expression ?

DNA construct

- regulatory elements, codon usage
 - transcription, translation, localization

Genomic configuration

transformation technology

- single copy - more stable
- structural fidelity - lacking mutations & rearrangements

Genomic location

transformation technology

- neighboring genes - expression interference
- (not linked to undesirable alleles - breeding process)



Geenin vienti esivalittuun paikkaan kromosomissa rekombinaatio-systeemin avulla (Cre/lox, FLP/FRT ym) 2.

- Rekombinaatiosysteemejä on kehitetty useita
- Ne perustuvat löydettyyn rekombinaasientsyymiin, joka aiheuttaa rekombinaation kahden ko. entsyymille spesifisen dna-jakson ("tunnistusjakson") kesken
- Tuloksena voi silloin (yksityiskohdista riippuen) olla joko
 - ...noiden jaksojen välisen dna-pätkän *irtoaminen* kromosomista (ks. Merkkigeenin poisto), tai
 - ...soluun tuodun, tunnistusjaksoilla varustetun dna-pätkän *kiinnittyminen* kromosomiin tunnistusjakson kohdalle (siihen kohdennettu geeninsiirto) (Ow 2002)
- Faagilta löydetty Cre-geeni koodaa Cre-rekombinaasientsyymiä, joka tunnistaa *lox*-jakson
- Hiivalta löydetty FLP-geeni koodaa FLP-rekombinaasia, joka tunnistaa *FRT*-jakson:
AAGTTCCTATTCTCTAGAAAGTATAGGAACTTC
(Fladung ym. 2009)



Geenin vienti esivalittuun paikkaan kromosomissa rekombinaatio- systeemin avulla (Cre/lox, FLP/FRT ym) 3.

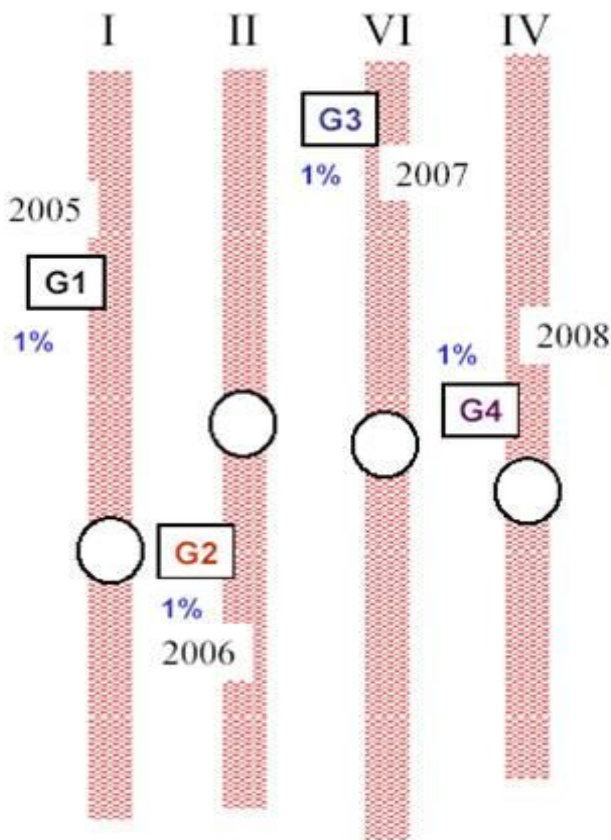
- Hyvin toimivien geenipaikkojen kokoelma:
- Kasvilajille kannattaa tehdä suuri joukko muuntogeenisiä testilinjoja, joissa (ko. tunnistusjaksolla varustettu) koegeeni sijaitsee (satunnaisesti) eri paikoissa kromosomistoa
- Hyvin toimivat testilinjat tallennetaan jalostuksen peruskokoelmaksi
- Hyötygeeni kannattaa sitten siirtää johonkin peruskokoelman linjaan
 - ...siinä olevan koegeenin tilalle
- Jos kasvilla on jo olemassa jokin hyvin toimiva (ko. tunnistusjaksolla varustettu) muuntogeeninen lajike
 - ...niin uusi hyötygeeni kannattaa liittää sen seuraksi
 - ...samaa tunnistusjaksoa hyödyntäen



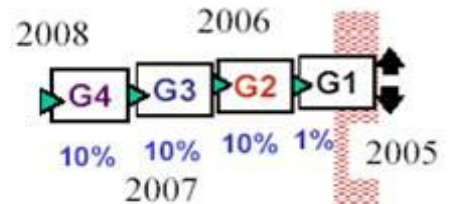
Geenin vienti esivalittuun paikkaan kromosomissa rekombinaatio- systemein avulla (Cre/lox, FLP/FRT ym) 4.

- Siirrettävät geenit kannattaa lisätä yksi kerrallaan ”paketiiksi” (vierekkäin) yhteen, hyväksi tunnettuun paikkaan kromosomissa

Conventional gene stacking



Stacking via recombination



Why cluster the transgenes ?

- ✓ familiar site:
 - predictable structure & function
 - eases regulatory approval
- ✓ reduce breeding time

(Ow 2004)



(Merkki)geenin poisto muunnetusta kromosomista jälkikäteen

(Cre/lox, FLP/FRT ym)

1.

- Näillä metodeilla tehdystä gm-kasvilinjasta valinnan merkkigeeni* voidaan myöhemmin leikata pois
- ...tai itse siirtogeeni voidaan ohjelmoida leikkautumaan aina pois tietystä solukosta, esim.
 - muodostuvista siitepölyhiukkasista (geenivirran esto)
 - ...tai syötävistä kasvinosista (geenipelot).

Site-specific recombination: What might we do next ?

- Excision of unneeded DNA
 - ✓ Marker free transgenics
 - ✓ Resolution to single copy
 - Site-specific transgene placement
 - ✓ Reproducible gene expression
 - ✓ Predictable structure
 - Gene Stacking
 - ✓ Repeated use of favorable chromosome locations
 - ✓ GMO tracking
 - Facilitated Introgression
 - ✓ Rapid breeding
 - Control of Transgene Dispersal
 - ✓ Biosafety
 - ✓ (IP protection)
- (Ow 2004)

*Geeninsiirron apugeeni, jonka avulla viljelmästä voidaan valita jatkokasvatukseen ne kasvisolut, joissa geeninsiirto on onnistunut



Uudet jalostusmenetelmät kasveilla

Säädäntö

- EU:n ympäristödirektooraatin perustama asiantuntijatyöryhmä ”Uudet jalostusteknologiat” selvittää parhaillaan (2009–10), muodostuuko tiettyjen uusien tekniikoiden käytöllä EY:n geenitekniikkasäännösten (dir. 2001/18/EY ja 2009/41/EY)*# mukaan ’geneettisesti muunnettu’ organismi
 - ...eli koskeeko säädäntö esimerkiksi tiettyjä uusia kohdennetun mutageneesin menetelmiä vai ei
- Selvitettäväksi valittiin puolen tusinaa uutta jalostusmenetelmää, esim:
 - Oligonukleotidiohjattu mutageneesi (esim. RTDS)
 - Sinkkisorminukleaasi-mutageneesi
 - ”Käänteishybridi”menetelmä (Reverse Breeding)

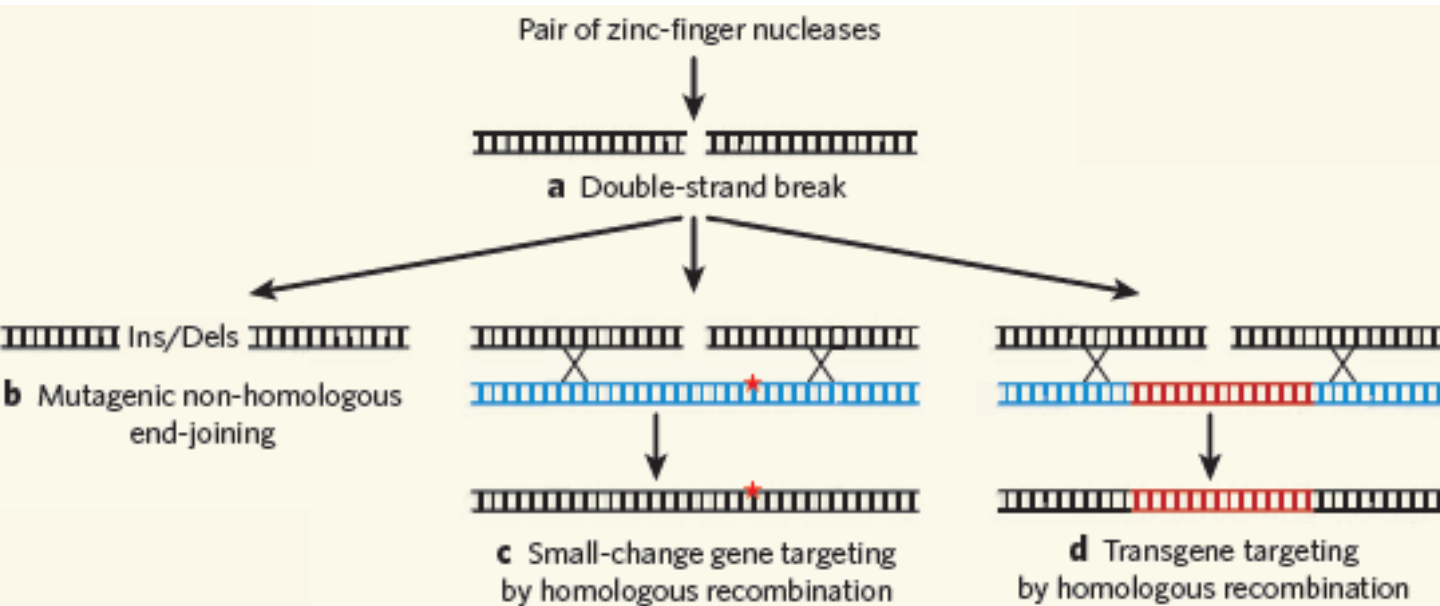
* Geenimuuntelun määritelmä on koottu Rinnakkaiselon asiantuntijatyöryhmän väliraporttiin http://www.hare.vn.fi/upload/Julkaisut/9300/2762_trm2005_9.pdf sivulle 25

JT: Määritelmässä ei juuri ole biologista järkeä, mikä on johtanut tieteellisen riskinarvioinnin ja terveen järjen vastaisiin käytäntöihin sekä biotaantumaa Euroopassa: www.geenit.fi/EP101006LiiteIK.pdf



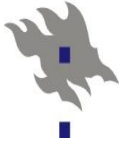
Kohdennettu mutageneesi sinkkisorminukleaasien avulla 1.

- Sinkkisorminukleaasit (ZFN) ovat muunnettuja dna:n katkaisuentyymejä, joissa katkaisuosaan on fuusioitu dna-jaksojen tunnistuselementtejä solun dna-korjausjärjestelmästä
- Kukin niistä katkaisee dna-juosteen täsmälleen paikasta, johon tunnistuselementti sen kohdistaa, ja katkaisuentyymille spesifisen emäsjakson kohdalta
- Sopivasti valittu entsyymipari katkaisee kaksisäikeisen dna:n molemmat juosteet samalta kohdalta
- Kyseiseen kohtaan saadaan viedyksi geneettinen muutos, kun solun omat korjausentsyymit houkutellessaan korjaamaan katkos



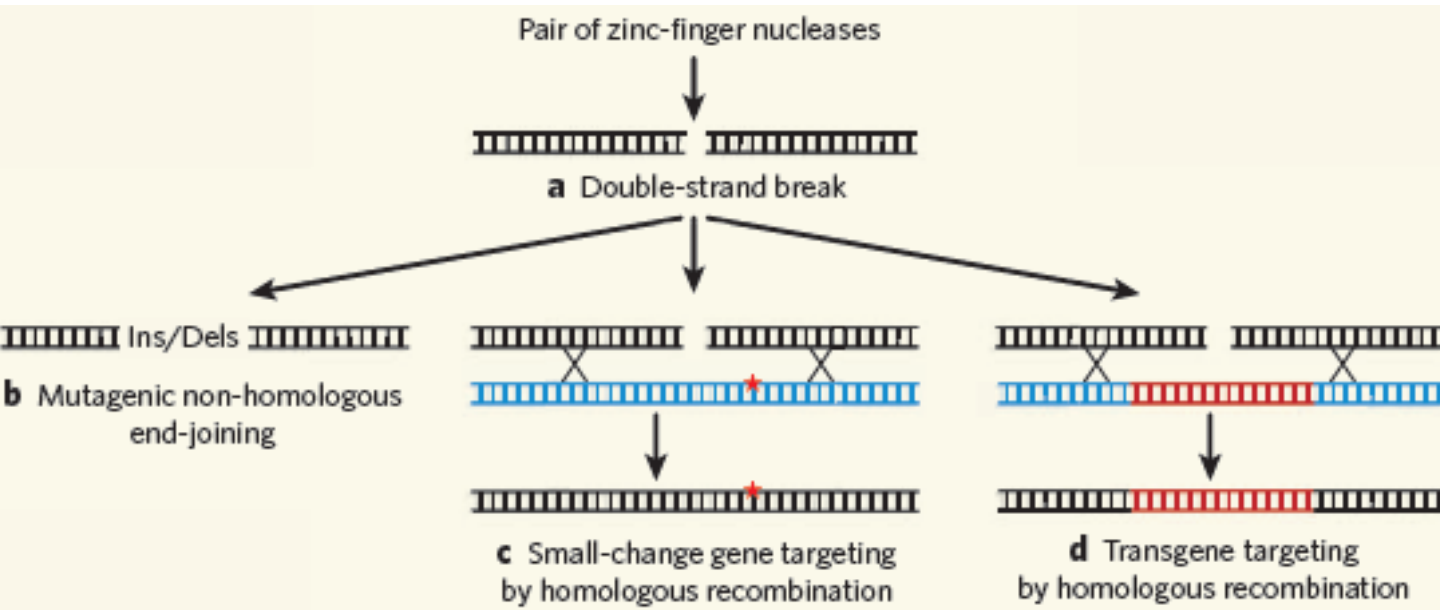
([Shukla ym. 2009](#), [Townsend ym. 2009](#))

Kuva: [Porteus 2009](#)



Kohdennettu mutageneesi sinkkisorminukleaasien avulla 2.

- **b)** Jos solulle ei tarjota korjaavaa dna-jaksoa, niin katkos voi korjaantua siten, että katkoksen päät tarttuvat takaisin toisiinsa
- Tällainen ns. epähomologinen korjautuminen on kuitenkin epätarkkaa
- ...joten katkoskohtaan syntyy usein (satunnainen) mutaatio:
 - yhden tai muutaman nukleotidin muutos (poistuminen eli deletio tai lisäys eli insertio)
- Kohdentamalla tällainen mutaatio geenin toiminnallisesti tärkeään osaan (esim. entsyymin aktiivisen keskuksen alueelle) saadaan (haitta)geeni usein ”sammutetuksi”



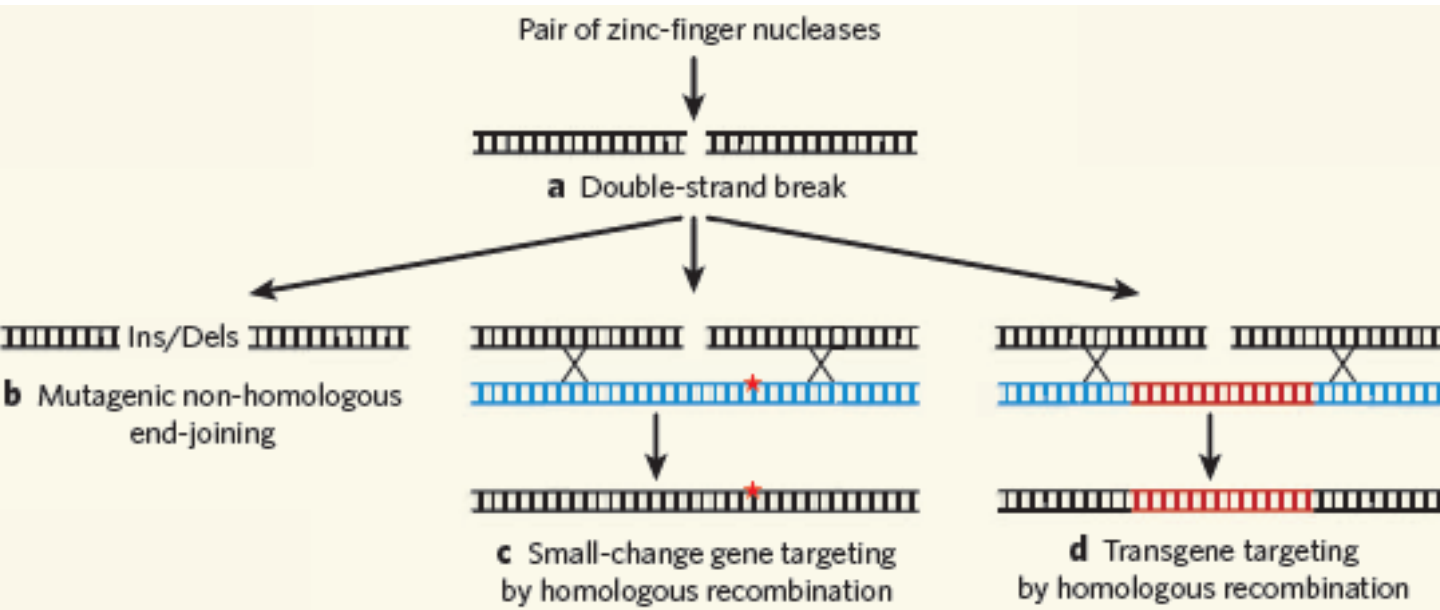
Kuva: [Porteus 2009](#)



Kohdennettu mutageneesi sinkkisorminukleaasien avulla

3.

- **c)** Jos solulle tarjotaan korjaava dna-jakso, jossa on
 - pieni geneettinen muutos (yksi tai muutama dna-emäs vaihdettu)
 - ...ja homologiseen rekombinaatioon tarvittavat vastaavuusjaksot katkoskohdan molemmilla puolilla
- ...niin katkos korjautuu tarkasti, kyseisellä muutoksella varustettuna
- **d)** Korjaavaan dna-jaksoon voidaan vastaavasti sijoittaa myös kokonainen siirtogeeni
 - ...joka siten saadaan viedyksi solun perimään kyseiselle kohdalle
 - Onnistumistaajuus saattaa olla varsin korkea (maissilla jopa 3-20%)



Kuva: [Porteus 2009](#)



Kohdennettu mutageneesi sinkkisorminukleaasien avulla

4.

■ c-d) Käyttömahdollisuuksia:

- 1. Geenin hienosäätö yksittäisiä dna-emäksiä vaihtamalla
 - esim. ”virheiden” poisto, geeniterapia
- 2. Haittageenin hallittu sammuttaminen
 - esim. viedään geenissä valittuun paikkaan stop-kodoni, jolloin geeni tuottaa proteiinista vain (inaktiivista) tynkämutoa
- 3. Haittageenin korvaaminen hyötygeenillä
 - viedään toimiva hyötygeeni täsmälleen haitallisen päälle perimässä
 - ...jolloin haittageeni inaktivoituu (mikä on haitatonta ja hyödyllistä!)
- 4. Periaatteessa voidaan kasvin oma, epätyydyttävä geenimuoto myös täydelleen korvata paremmalla geenimuodolla
 - ”pilkuntarkasti” eli ”yhden emäksen tarkkuudella”
 - ...vaikka biologian kannalta käyttötapa 3 on yleensä yhtä hyvä
 - Leikataan geeni irti: katkaistaan dna sen molemmilta puolilta
 - Geeni ei aina kiinnity takaisin paikoilleen vaan jää irralleen ja häviää
 - Kromosomin ”tynkäkohtaan” viedään sitten ko. parempi geenimuoto kohdan d) menettelyllä.
- Esimerkiksi riisin huono pakkaskestävyysgeeni voidaan korvata Etelämanteren lauhan* paljon paremmalla

* *Deschampsia antarctica* -heinälaji, kestää -30°C



Kohdennettu mutageneesi sinkkisorminukleaasien avulla

5.

- Kuinka näin tarkkaan työskentelyyn on lopulta päästy kasveillakin?
- Sinkkisorminukleaasit tunnistivat katkaisukohtansa alun perin vain muutaman dna-emäksen pituisen jakson perusteella. Se oli kovin epätarkkaa, eikä sillä voitaisi päästä jalostajia tyydyttäviin tuloksiin.
 - Toivotun kohdan ohella entsyymi katkoisi nimittäin aina perimää myös lukuisista muista, ei-toivotuista paikoista
 - Kohdennetun mutaation lisäksi syntyisi siis sivuvaikutuksena usein myös
 - ...jalostajan kannalta epäsuotavia mutaatioita
 - ...ei toki likikään niin summittaisia kuin perinteisessä mutaatiojalostuksessa
- Näiden entsyymien tunnistustarkkuutta on nyt onnistuttu huimasti parantamaan mm lisäämällä niiden dna-tunnistuselementtien lukumäärää
- Parannetut entsyymit päättävät nyt katkaisukohdasta paljon pidemmän dna-emäsjakson perusteella
- ...joten katkaisukohta määräytyy monta kertaluokkaa yksikäsitteisemmin
- Tahattomia lisäkatkoksia syntyy siksi enää ”tähtitieteellisen” harvoin
- Tarkkuus riittääkin jo mainiosti jopa geeniterapiaan (jossa vioittuneita soluja ei saa syntyä juuri ollenkaan)
- ...ja kasvinjalostuksen vaatimukset ylitetään jo suuresti:
 - Perinteisesti jalostuksessa huonoja kasvilinjoja saisi syntyä aluksi paljonkin
 - ...sillä linjoista vain parhaat valitaan jatkoon lajikkeita kehitettäessä.



Oligonukleotidihjattu mutageneesi **Rapid Trait Development System**

RTDS (Cibus Inc.), synonyymi mm. ODGM 1.

Rapid Trait Development System (**RTDS™**) in Plants

Cells

Plant cell

Nucleus

Strands of DNA

Leaf

This figure shows how *RTDS* can be used to convert a red flowering plant to a white flowering plant. *RTDS* uses molecules known as Gene Repair Oligonucleotides (GRONs) to create a structure in a plant gene (see insert) that appears to the cell as a typographical error in the way in which the gene is spelled. These 'errors' also known as mismatches are repaired by natural enzymes using the plant's own DNA. A single change in the genetic code is enough to repair genes and in some cases create new valuable plant characteristics, known as traits.

GRON

Natural enzyme

One nucleotide change

Red flowering plant

New *RTDS* plant now with white flowers

Cibus' RTDS illustrations are carefully vetted scientific documents and available for reprint by journalists. These files are property of Cibus LLC and are not to be altered in any way, shape or form.

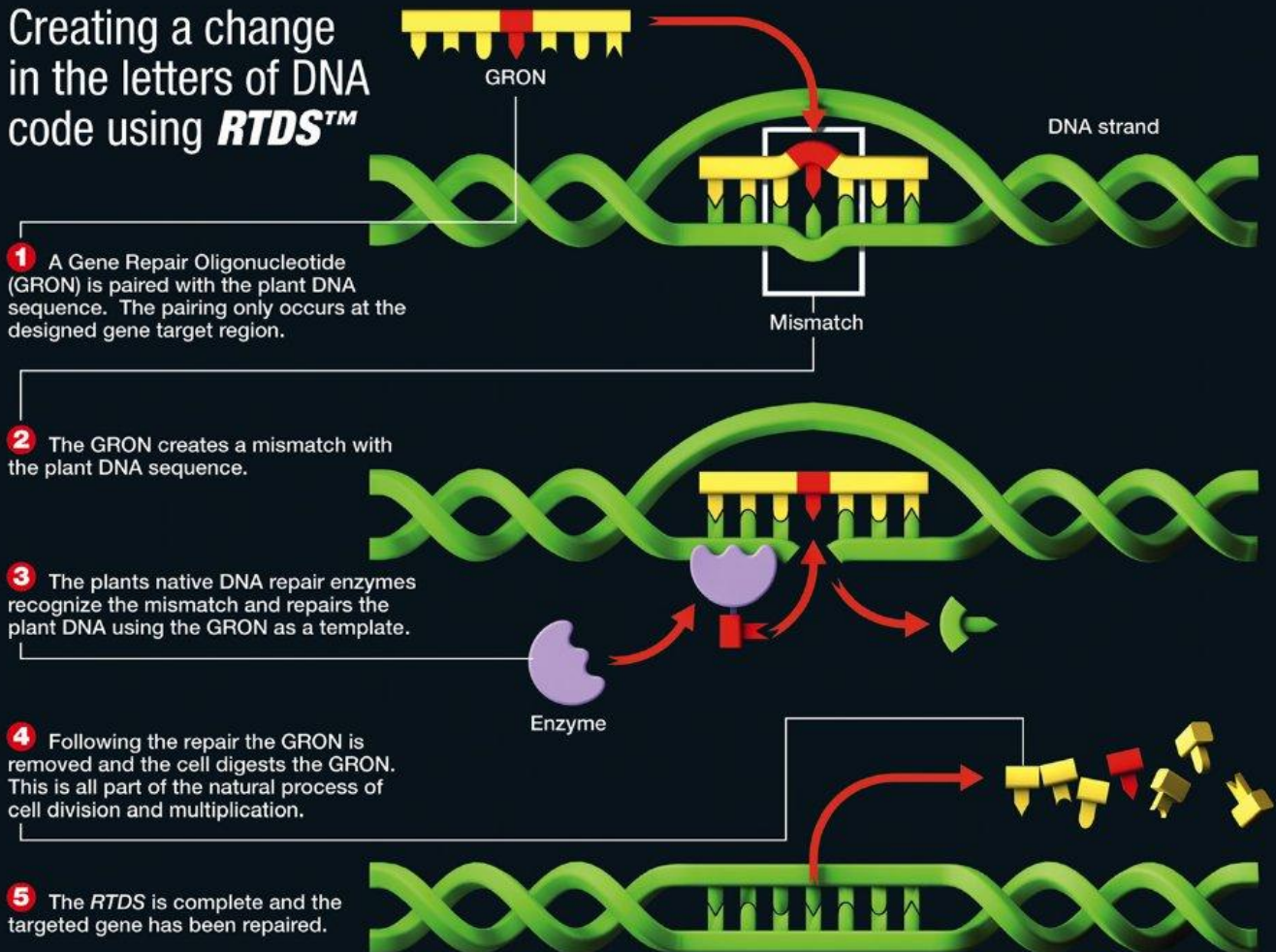


Oligonukleotidihjattu mutageneesi

RTDS

2.

Creating a change
in the letters of DNA
code using **RTDS™**



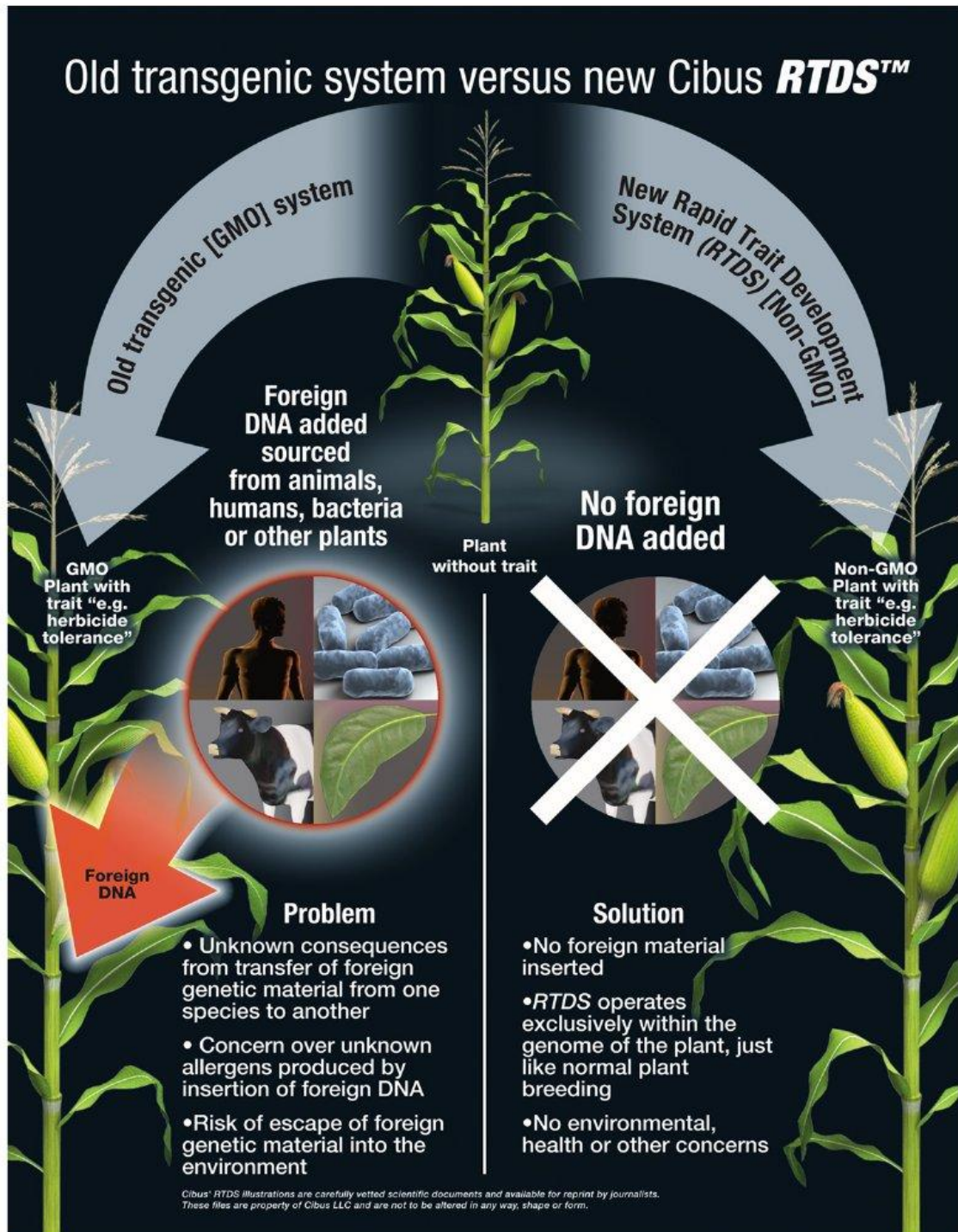
Cibus' RTDS illustrations are carefully vetted scientific documents and available for reprint by journalists. These files are property of Cibus LLC and are not to be altered in any way, shape or form.



Oligonukleotidihjattu mutageneesi

RTDS

3.



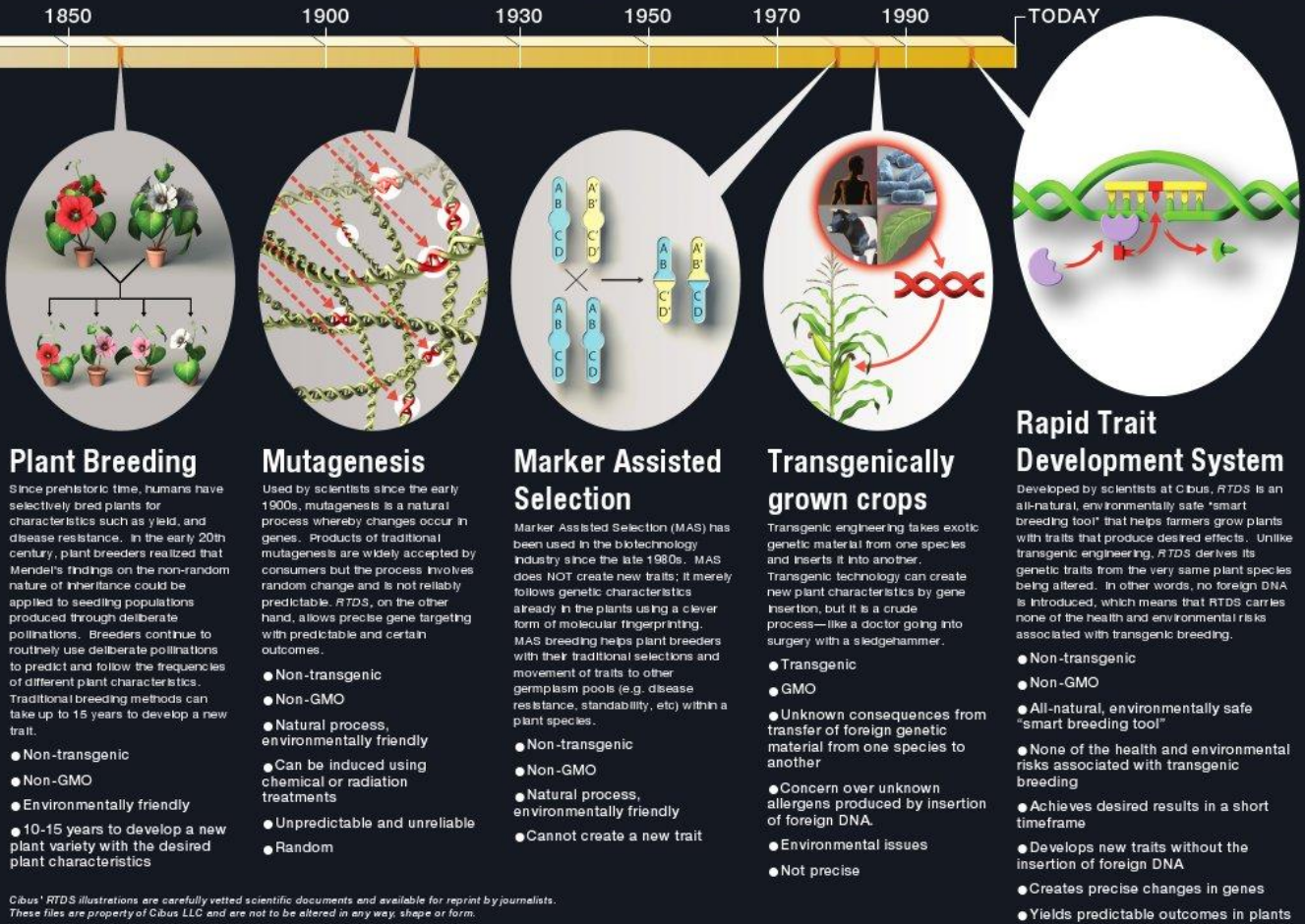


Oligonukleotidihjattu mutageneesi

RTDS

4.

The Evolution of Plant Breeding: **RTDS™** versus other technologies



Harjoitustehtävä:

Erittele, kuinka firma

– markkinoi muuntamistapaansa ratsastamalla

”hieman vinosti” yleisillä gm-erhekäsityksillä

– toivoo saavansa piankin myydä menetelmää

”ei-geenimuunteluna” (myös EU:ssa!)



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

1.

- Kasviaineistoista löytyy toisinaan jokin muita paljon parempi genotyyppi, ”huippuyksilö”
 - ...joka säännön mukaan on hyvin heterotsygoottinen*
- Kuinka tätä huippuyksilöä voitaisiin viljellä kasvilajikkeena?
- ...kun suvullinen lisääntyminen ”sotkee kaiken” (edullinen genotyyppi on jälkeläistössä hajonnut).

- 1. Vanha osaratkaistu: **kloonaus**
 - ...niillä kasvilajeilla, joita manipuloinnin yleismies Jantunen on vuosituhansien kuluessa oppinut lisäämään suvuttomasti
- 2. Uusi yleisratkaisu: ”**käänteishybridit**”
 - ...toimii myös kasvilajeilla, joita osaamme toistaiseksi lisätä vain suvullisesti (siemenistä)
 - ...jollei kasvin kromosomiluku ole kovin korkea
- 3. Tuleva yleisratkaisu: **suvuttomat siemenet** (apomiksia**)
- ...joiden genotyyppi on sama kuin äitikasvilla
- ...on vielä pääosin perustutkimuksen vaiheessa.

* Täysin homotsygoottinen yksilö on harvoin paras edes itsesiittoisilla kasvilajeilla (vehnä, ohra, riisi)

** Varsinkin puuvartisilla kasveilla kehitetään myös solukkoviljelyn avulla tuotettavia, ”somaattisia siemeniä”



Taustaa: Perinteistä Frankenstein-ruokaa?

- Ovatko siniset perunat kloonattuja? <http://www.geenit.fi/KloonPer.pdf>



- Viljellyt omena- ja viinirypälelajikkeet on iät ja ajat kursittu kokoon ”terävän veitsen taiteella”

(J. Tuomisto: 100 kysymystä ympäristöstä ja terveydestä, Duodecim 2005)

- ...ymppäämällä jalo-oksa ”villiin” perusrunkoon
- Suvuttomasti eräitä kasvilajeja osataan lisätä mm. mukuloista, sipuleista, itusilmuista, rönsyistä, pistokkaista, taivukkaista, ymppäämällä, tai nykyisin jo myös solukko- tai soluviljelyllä
 - ...mutta aina se ei ole käytännön viljelyssä taloudellisesti mahdollista



Taustaa: ”Perinteiset” hybridilajikkeet

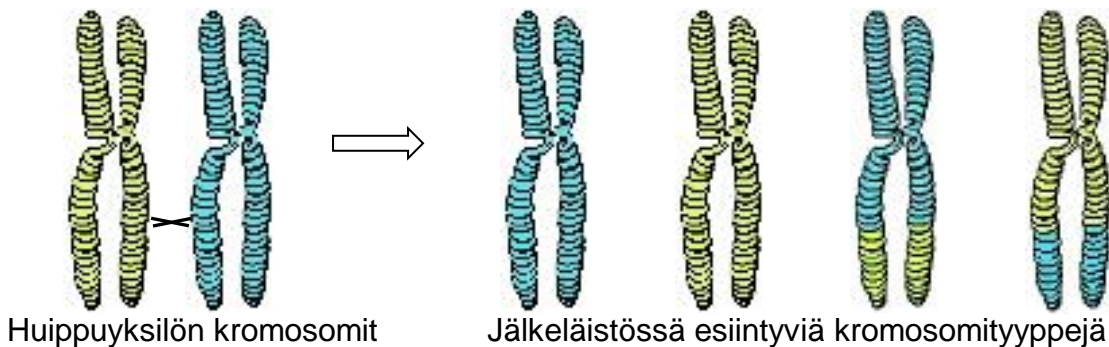
- Arvokkaita **hybridilajikkeita** jalostetaan perinteisesti yrityksellä ja erehdyksellä
- ”Risteytyselinvoimaa” (heteroosia) etsitään kokeellisesti
- ...tekemällä hyvin heterotsygoottisesta kasviyksilöstä (keinotekoisesti) (melko) homotsygoottisia jälkeläislinjoja
 - (pakotetulla) sisäsiitoksella (monen sukupolven ajan), tai
 - kasvattamalla yksilön siitepölystä soluviljelmien avulla ns. kaksoishaploideja kasviyksilöitä (yhdessä sukupolvessa)
- ...ja yhdistelemällä näitä homotsygoottisia linjoja sitten pareittain laajoilla risteytyskokeilla
 - Jotkin yhdistelmistä (hybridilinjoiista) saattavat olla jopa 30–40 % parempia kuin tavalliset lajikkeet
 - Parasta yhdistelmää ryhdytään sitten viljelemään (hybridi)lajikkeena.
- Kaikkien mahdollisten yhdistelmien testaaminen koekentällä vaatisi ”käsittämättömän” paljon työtä:
 - M kasvilinjasta saadaan $M(M-1)/2$ pareittaista yhdistelmää
 - ... joten esim. 1000 linjasta olisi siis testattava 500 000 yhdistelmää
- ...joten käytännössä vain *pieni* osa mahdollisista linjoista ja niiden yhdistelmistä voidaan testata jalostusohjelmissa
- ...ja parhaat hybridilinjat jäävät siksi käytännössä ”aina” löytymättä.



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

4.

- **Perinteisten hybridilajikkeiden** kylvösiemen saadaan risteyttämällä kaksi geneettisesti erilaista kasvulinjaa massamitassa
- Jotta hybridilajikkeen kasviyksilöt voivat kaikki olla yhtä elinvoimaisia, niiden tulisi olla geneettisesti (lähes) identtisiä
 - ...mikä on ihanteellista myös sadon tasaisen laadun kannalta
- ... joten risteytettävien vanhemmaislinjojen täytyy olla (lähes) homotsygoottisia.
- **Huippuyksilön rekonstruointi risteytyksellä**
- (Hyvin heterotsygoottisen) huippuyksilön suvullinen jälkeläistö on erittäin kirjava, syynä kromosomien rekombinaatio ja kromosominosien tilkkutäkkejä tuottava crossing-over:



- ...joten huippuyksilön genotyyppiä on lähes mahdotonta tuottaa uudelleen risteyttämällä keskenään sen jälkeläisiä (tai niistä johdettuja homotsygoottisia linjoja) (taulukko 1).



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

5.

”Käänteishybridit”

- Jos sukusolujen muodostumisessa **crossing-over estetään**, niin huippuyksilön jälkeläistö on kuitenkin paljon vähemmän kirjavaa:
 - Kromosominosien tilkkutäkkejä ei synny
 - ...vaan ainoastaan uusia yhdistelmiä huippuyksilön ”ehjistä” kromosomeista
- Huippuyksilöstä voi tällöin syntyä vain *kohtuullinen määrä* erilaisia homotsygoottisia jälkeläislinjoja
 - ...jos vain kasvin kromosomiluku ei ole kovin korkea
- ...joten huippuyksilö voidaan **melko helposti tuottaa uudelleen** risteyttämällä keskenään kaksi sopivasti valittua homotsygoottista jälkeläislinjaa (taulukko 2)
- Näitä kahta valittua homotsygoottista kasvinlinjaa voidaan lisätä puhtaina siemenistä viljelymittakaavaan asti
- ...ja risteyttämällä näitä kahta linjaa keskenään massamitassa
 - ...kuten perinteisillä hybridilajikkeilla
- ...voidaan sitten tuottaa kylvösiementä viljelijöille huippuyksilön (kopioiden) kasvattamiseksi pelloilla ”huippulajikkeena”.
- Yksityiskohtia on käsitelty jäljempänä (kalvot 6–14).



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

6.

Perinteiset hybridilajikkeet

- Heterotsygoottisesta huippuyksilöstä voidaan tuottaa hyvin suuri joukko erilaisia *homotsygoottisia* jälkeläislinjoja
 - ”Jos on onnea”, niistä löytyy komplementaarinen linjapari, jotka risteyttämällä ko. huippuyksilö voidaan tuottaa uudelleen
 - Tuota linjaparia lisäämällä kylvösiementä sitten voitaisiin tuottaa massamitassa ko. huippuyksilön viljelemiseksi lajikkeena
- Käytännössä tehtävä saisi mahdottomat, gigantitiset mittasuhteet, sillä hyvin heterotsygoottinen yksilö tuottaa suvullisessa lisääntymisessä ”tähtitieteellisen” lukumäärän erilaisia jälkeläislinjoja:
 - Jos kasvi on diploidinen ja...
 - heterotsygoottinen m geenilokuksessa, niin...
 - erilaisia gameetteja (ja siis myös homotsygoottisia jälkeläisiä) on voinut syntyä 2^m kpl
($2^{10} = 1024$, $2^{20} = 1\,048\,576$, $2^{30} = 1\,073\,741\,824$)



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

7.

Perinteiset hybridilajikkeet

- Kullekin homotsygootille linjalle on löydettävissä vain yksi sille komplementaarinen linja

Soveltamalla ehdollista todennäköisyyttä voidaan johtaa **tulos**:

- Jos tutkitaan k homotsygoottista jälkeläislinjaa, niin todennäköisyys että joukkoon ei vielä ole osunut yhtään komplementaarista paria (joista huippuyksilö voitaisiin rekonstruoida) on

$$\begin{aligned} P\{0;k,m\} &= \prod_{i=1}^k [1 - (i-1)/2^m] = \prod_{i=1}^k \{[2^m - (i-1)]/2^m\} \\ &= [(2^m-1)!/(2^m-k)!] / 2^{(k-1)m} \quad (\text{JT 21.1.2010}) \end{aligned}$$

- Esim. jos $m=10$ (eli huippuyksilössä olisi *vain* 10 heterotsygoottista lokusta) ja tutkitaan 10 homotsygoottista jälkeläislinjaa ($k=10$), niin on hyvin todennäköistä, että yhtään komplementaarista paria ei niiden joukosta löydy: $P\{0;10,10\} \approx 0,96$.
Onnistumisen mahdollisuudet olisivat fifty-fifty vasta, kun tutkitaan 40 linjaa: $P=0,46$. Käytännössä heterotsygoottisen huippuyksilön ($m \gg 10$) rekonstruointi olisi erittäin vaikeaa (taulukko 1).



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

8.

Perinteiset hybridilajikkeet

Taulukko 1. Perinteinen jalostus.

Todennäköisyys, että huippuyksilön homotsygoottisista jälkeläislinjoista löytyy ainakin yksi geneettisesti komplementaarinen pari, joka risteyttämällä huippuyksilö voidaan rekonstruoida

Tutkittujen homots. jälkeläislinjojen lkm	Huippuyksilön heterotsygoottisten geenilokusten lkm			
	10	20	30	40
10	0,04	0,00004	$4 \cdot 10^{-8}$	$4 \cdot 10^{-11}$
20	0,17	0,0002	$1,8 \cdot 10^{-7}$	$1,7 \cdot 10^{-10}$
30	0,35	0,0004	$4 \cdot 10^{-7}$	$4 \cdot 10^{-10}$
40	0,54	0,0007	$7 \cdot 10^{-7}$	$7 \cdot 10^{-10}$
50	0,70	0,0012	$1,1 \cdot 10^{-6}$	$1,1 \cdot 10^{-9}$
100	0,99	0,0047	$4,6 \cdot 10^{-6}$	$4,5 \cdot 10^{-9}$
200	1	0,019	$1,9 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-8}$
500	1	0,11	0,00012	$1,1 \cdot 10^{-7}$



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena? Perinteisistä ”käänteishybrideihin”

9.

- Päätelmä: perinteisessä jalostuksessa huippuyksilön rekonstruointi lajikkeeksi ei onnistu käytännössä, sillä
 - tutkittavia jälkeläislinjoja olisi aivan liikaa
 - ...ja niiden kaikkien täysi genotypitys (dna-merkein?) tulisi aivan liian raskaaksi
- *Tarvittiin siis oivallus:*
- **”Käänteishybridi”-menetelmässä crossing-over meioosissa estetään** (sopivalla muuntogeenillä*)
 - ...kun homotsygoottisia jälkeläislinjoja tehdään
- Tulos: Erilaisten homotsygoottisten linjojen lukumäärä saattaa romahtaa
 - ...sillä niitä voi syntyä enintään 2^n erilaista (missä $2n$ = kasvin kromosomiluku: ohralla $2n=2x=14$, vehnällä $2n=6x=56$)
 - täysin riippumatta heterotsygoottisten lokusten lukumäärästä!
 - ...joten komplementaarinen linjapari löytyy käytännössä helposti, mikäli kasvilajin kromosomiluku ei ole suuri (taulukko 2).

*Siksi EY-työryhmä selvittää, onko syntyvä lajike 'muuntogeeninen'



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

10.

”Käänteishybridit”

**Taulukko 2. ”Käänteishybridi”menetelmä.
Todennäköisyys, että heterotsygoottisen*
huippuyksilön homotsygoottisista
jälkeläislinjoista löytyy ainakin yksi
geneettisesti komplementaarinen pari,
joka risteyttämällä huippuyksilö voidaan
rekonstruoida**

Tutkittu- jen homots. linjojen lkm	Kasvin kromosomiluku (2n)		
	14 (ohra)	20 (maissi)	56 (vehnä)
10	0,30	0,04	$1,7 \cdot 10^{-7}$
20	0,79	0,17	$7 \cdot 10^{-7}$
30	0,975	0,35	$1,6 \cdot 10^{-6}$
40	0,9989	0,54	$2,9 \cdot 10^{-6}$
50	0,9999	0,70	$4,6 \cdot 10^{-6}$
100	1	0,99	$1,8 \cdot 10^{-5}$
200	1	1	$7,4 \cdot 10^{-5}$
500	1	1	0,00047

*Oletetaan, että heterotsygotiaa esiintyy huippuyksilön
kaikissa kromosomeissa



Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

11.

”Käänteishybridit”

- Jos crossing-overin estävä muuntogeeni jää mukaan homotsygoottisiin linjoihin, niin niistä rekonstruoitu lajike ei ole geneettisesti täysin identtinen kopio huippuyksilöstä
 - ...ja se täytyisi hyväksyttää gm-lajikkeena.
- Muuntogeeni voidaan uusimmissa menetelmissä leikata kasvista pois jälkeen päin
- ...mutta tässä tapauksessa poisto onnistuisi helposti (risteyttämällä) myös klassillisia muuntelumenetelmiä käytettäessä, tekemällä vain perusasia kahteen kertaan:
 - Suoritetaan sama geenimuunnos riippumattomasti uudelleen
 - ...jolloin geeni kiinnittyy eri kohtaan
 - Homotsygoottisia jälkeläislinjoja tuotetaan sitten huippuyksilön kummastakin gm-linjasta
 - ...ja valitaan niistä käytettäväksi *muuntogeenittömiä* komplementaarisia linjapareja (ks. vaiheet 1-5 jäljempänä).

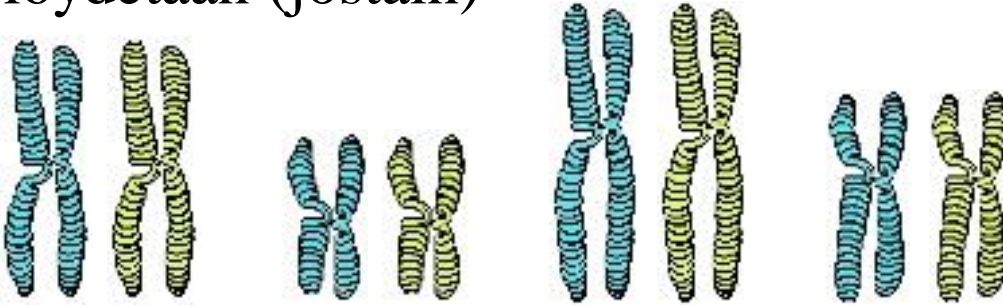


Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

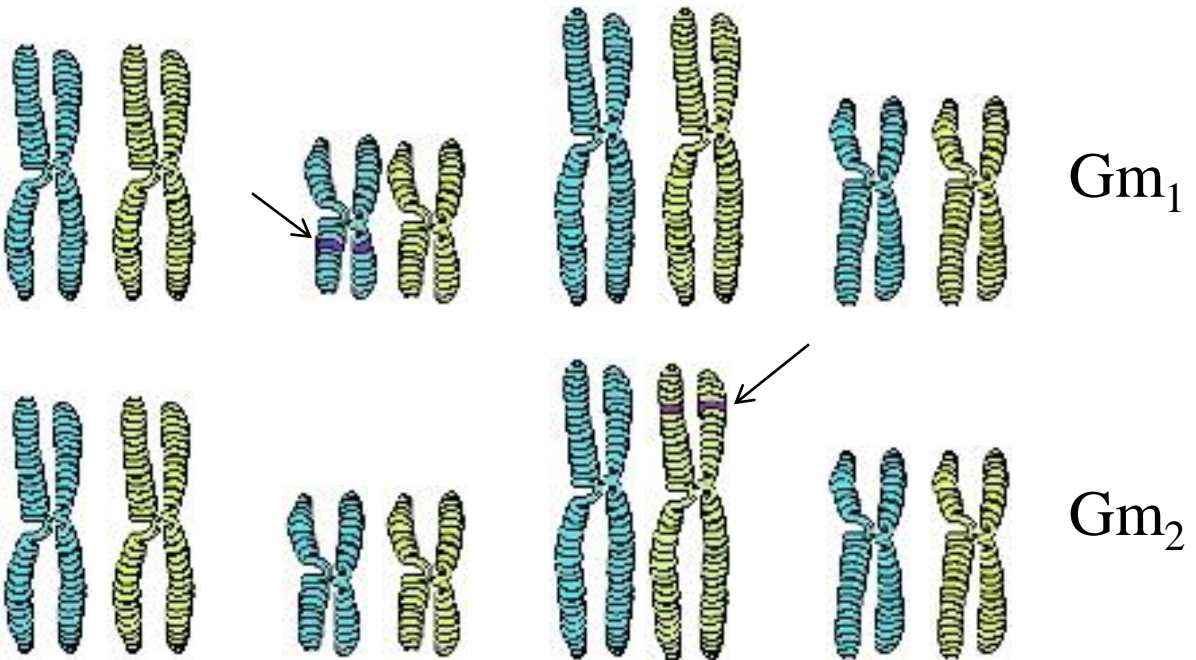
12.

”Käänteishybridit”

Vaihe 1. Heterotsygoottinen huippuyksilö löydetään (jostain)



Vaihe 2. Siitä tehdään kaksi eri gm-linjaa lisäämällä geeni ”Ei Crossing-Overia” ■



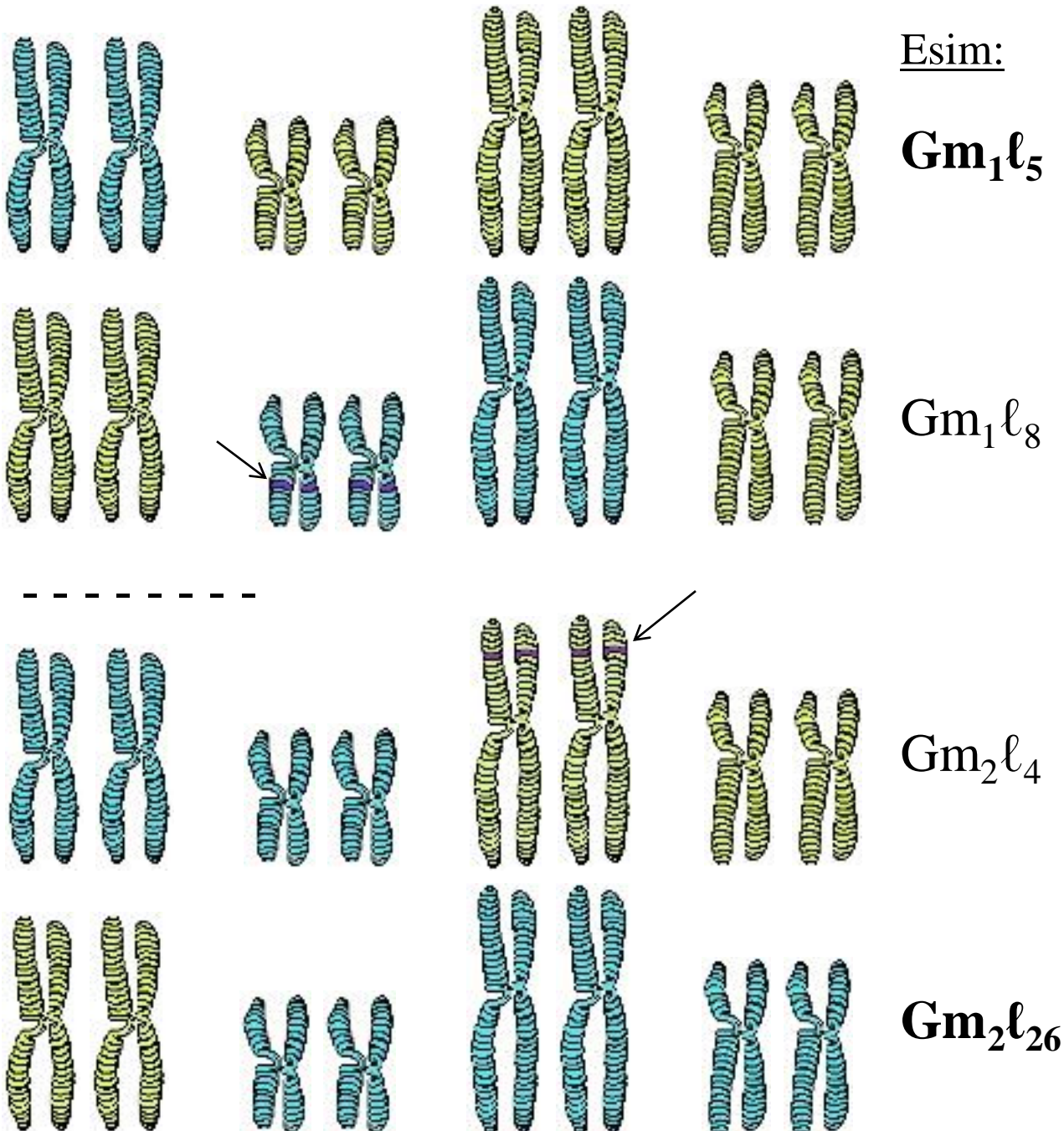


Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

13.

"Käänteishybridit"

Vaihe 3. Kummastakin gm-linjasta tuotetaan homotsygoottisia jälkeläislinjoja (Huom! Puolet niistä on ilman muuntogeeniä)





Kuinka voitaisiin viljellä huippuyksilöä lajikkeena?

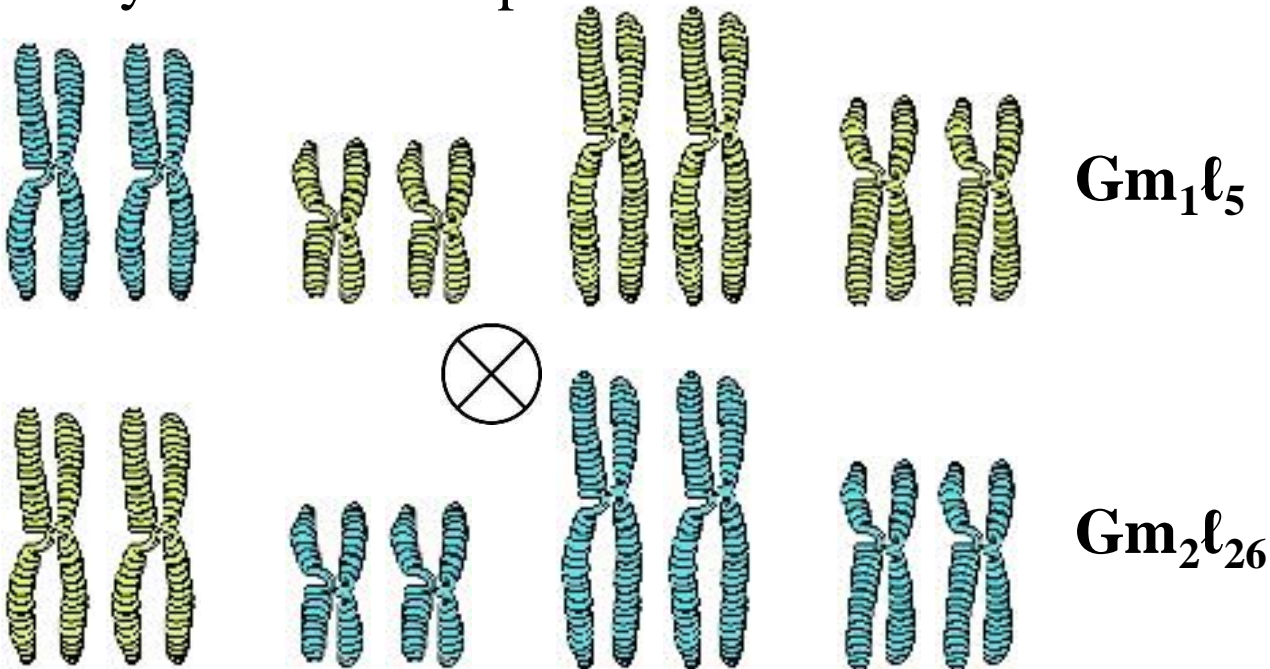
14.

”Käänteishybridit”

Vaihe 4. Valitaan *muuntogeenitön* komplementaarinen linjapari

– toinen linjan Gm₁, toinen linjan Gm₂ homotsygoottisista jälkeläislinjoista.

Vaihe 5. **Huippulajikkeen** kylvösiemen tuotetaan lisäämällä näitä valittuja linjoja ja risteyttämällä ne lopuksi keskenään.



Huom! Sopivista pareista otetaan käyttöön elinvoimaisin (sillä sisäsiitosdepressio heikentää usein homotsygoottisten yksilöiden elinkykyisyyttä ristisiitteisillä kasvilajeilla).



Hybridilajikkeen lisääminen suvuttomien siementen (apomiksian) avulla

1.

- Perinteisesti hybridilajikkeen kylvösiemen joudutaan tuottamaan risteyttämällä lajikkeen (homotsygoottiset) vanhemmaislinjat massamitassa aina uudelleen
- Luonnon heinäkasveilla tavataan kuitenkin usein apomiksiaa: suvutonta siementen muodostumista
- Jos siemen syntyy emokasvin solukosta ilman meioosia, sen genotyyppi voi olla sama kuin emokasvilla
- ...joten apomiktisista siemenistä hybridilajiketta
 - tai mitä tahansa heterotsygoottista yksilöä
- ...voitaisiin lisätä viljelyyn muuttumattomana.
- Viljelijä voisi tällöin lisätä hybridilajiketta vuodesta toiseen oman pellon siemenestä
 - ...mistä voisi olla apua köyhien alueiden pienviljelijöille.
- Toimivaa apomiksiaa ollaan kehittämässä viljoille varsinkin geenimuuntelun avulla.



Hybridilajikkeen lisääminen suvuttomien siementen (apomiksian) avulla

2.

- 1. On myönnetty patentti menetelmälle, jonka avulla vaihtoehtoisesti apomiktisen hybridilinjan apomiksia voidaan ”stabiloida” (Carman 2009)
 - ...siinä mielessä, että myös toisinaan syntyvistä suvullisista siemenistä kasvaa apomiktisia yksilöitä
 - ...jotka kylläkin ovat geneettisesti erilaisia (eivät enää vastaa hybridilajikkeen laatua)
 - ...joten kasvinlinja säilyy kyllä apomiktisena (joskaan lajikevaatimukset eivät enää täyty)
 - Viimeisenä vaiheena menetelmässä kasviin viedään geeni, joka estää meioosin.
- 2. Australia ja Filippiinit ovat yrittäneet yhdessä kehittää apomiktista hybridiriisiä (Bennett ym. 2008, Bennett ja Zhao 2008).
 - Ongelma on monimutkaisempi kuin ensin uskottiin
 - Uusien ratkaisujen uskotaan löytyvän hyödyntämällä hiivan meioositutkimuksia
- 3. Maissiin piti tuoda apomiksiaa *Tripsacumista*
 - ...saatiinkin tietoa genetiikasta (Leblanc ym 2009)



Haittageenin sammutus perinteisesti vs. geenimuuntelulla 1.

- **Esimerkki 1. Koivu (diploidi kasvilaji)**
- Koivun proteiini Bet v 1 on syynä koivun siitepölyallergiaan Pohjolassa (www.geenit.fi/AAspa204.pdf)
- Siitepöly ei aiheuta allergisille oireita, jos ko. proteiinin tuotanto siitepölyhiukkasiin estetään
- **1. Geenimuuntelu (a).** Sammutetaan geeni rikkomalla se kohdennetusti (sinkkisorminukleaasit, rna-dna-hybridit)
 - Ko. proteiinin tuotanto lakkaa koko kasvissa
 - ...mikä saattaa heikentää kasvin menestymistä (rapsin öljykirjo ja kylmänkesto, syötävä puuvilla)
 - Onnistumistaajuus korkea (jopa 10 %), joten pienet kasviaineistot riittävät
- **2. Geenimuuntelu (b).** Sammutetaan ko. proteiinin tuotanto vain hedekukissa (esim. rna-häirinnällä)
 - Hellävaraisinta kasvin kannalta
 - Ei mahdollista perinnekeinon keinoin
 - Onnistumistaajuus voi olla korkea (esim. a-kohdan metodeilla tai lisättäessä geeni esivalittuun kohtaan)



Haittageenin sammutus perinteisesti vs. geenimuuntelulla 2.

■ Esimerkki 1. Koivu (diploidi kasvilaji)

- 3. Perinteinen mutaatiojalostus. Geeni rikotaan sattumanvaraisesti säteilyllä tai kemikaaleilla
 - Päävaikutus: kuten geenimuuntelussa (a)
 - Sivuvaikutukset: täysin arvaamattomia, sillä yhtä toivottua mutaatiota kohti kasvissa syntyy satojatuhansia, pääosin ei-toivottuja mutaatioita
 - Onnistumistaajuus: äärimmäisen matala, joten jalostukseen tarvitaan usein satojentuhansien kasvien aineistoja ja analyysirobotteja.
 - ...joten EU suosii, käytännössä vaatii, paluuta tähän likaiseen vanhaan käytäntöön
 - ja torjuu säädännöllä (tuhansin verroin) paremmat, puhtaammat ja turvallisemmat uudet menetelmät.



Haittageenin sammutus perinteisesti vs. geenimuuntelulla 3.

- **Esimerkki 1. Koivu (diploidi kasvilaji)**
- **4. Haittageenin sammuttamisen turvallisuus.**
Valloittaako muunnettu geeni luonnon ekosysteemit?
- Ei, sillä luonto itse on testannut tämänkin (meidän kannaltamme haitallisen mutta koivulle hyödyllisen) geenin sammutusta
 - ...jopa miljardien koivujen populaatioissa joka vuosi
 - ...miljoonien vuosisatojen ajan
- ...ilman ”ekokatastrofia”
 - ...sillä luontoa nämä aseista riisutut ”ekopasifistit” eivät pysty valtaamaan.
- Yksin Suomessa leijailee maahan joka vuosi 80 miljoonaa koivunsiementä, joissa allergiaproteiinin tuotanto on äskettäin sammunut
 - ...mutta jalostajan kannalta näiden onnenkantamoisten löytäminen luonnosta ”yrityksellä ja erehdyksellä” on toivotonta
 - ...muiden 200 000 miljardin koivunsiemenen seasta.

Monet jalostusominaisuudet ovat ekologisesti ”kesyjä”

- ◆ Laatuominaisuudet, jotka parantavat kasvin käyttökelpoisuutta ihmisen tarpeisiin
 - eivät yleensä auta kasvia leviämään tai selviämään paremmin luonnon ekosysteemeissä...
 - ...jalostusmenetelmästä riippumatta (olipa käytössä uusi tai vanha kasvinjalostus)
 - vaan ne joutuvat säännön mukaan karsituiksi pois luonnon valinnassa
- ◆ Sopeutuneisuutta merkittävästi lisäävät uudet jalostusominaisuudet ansaitsevat sitä vastoin enemmän tarkkailua
 - sillä tuollaiset ominaisuudet voivat tiettyyn mittaan yleistyä myös luonnon populaatioissa
 - ...jalostusmenetelmästä riippumatta (olipa käytössä uusi tai vanha kasvinjalostus)



Haittageenin sammutus. Esimerkki 2. Syötävät puuvillansiemenet – proteiinia miljoonille kehitysmaissa

- Proteiinin puute vahingoittaa kehitysmaissa
 - haittaa muun muassa aivojen kehitystä
 - monesti 'nälkä' on siellä juuri proteiinin puutetta
- Puuvillakasvi on myrkyllinen
 - puuvillan siemenissä olisi runsaasti (22 %) hyvin korkealaatuista proteiinia...
 - ...joka gossypol-myrkyn takia kuitenkin menee hukkaan
 - siementen proteiini (10 miljardia kg/v) riittäisi kohentamaan 500 miljoonan ihmisen terveyttä
- Puuvillan siemenet on nyt geenimuuntelun avulla jalostettu syötäväiksi
 - myrkyllisen muodostuminen estettiin ainoastaan syötäväksi aiotussa kasvinosassa
 - ...sammuttamalla gossypol-geenin toiminta kohdistetusti vain siemenissä
- ...mutta muut kasvinosat säilyttivät tärkeän puolustuskykynsä
 - mikä ei olisi mahdollista "perinteisillä" jalostusmenetelmillä
 - vanhalla jalostuksella myrky katosi koko kasvista, ja hyönteiset söivät viljelmät suihin kiitokseksi
- Geenitekniikka (rna-häirintä) palkittiin lääketieteen nobelilla vuonna 2006
 - ideaa käytetty kasvinjalostuksessa jo 20 vuotta, varsinkin viruskestävien lajikkeiden jalostamiseksi
- <http://agnewsarchive.tamu.edu/dailynews/stories/SOIL/Nov2006a.htm>
- <http://agnews.tamu.edu/showstory.php?id=1399>
- [Sunilkumar ym. \(2006\)](#). PNAS 103: 18054-18059



Haittageenin sammutus perinteisesti vs. geenimuuntelulla 6.

■ Esimerkki 3. Vehnä (heksaploidi kasvilaji)

- Jalostetaan aromivehnä sammuttamalla heinien [tuoksuttomuusgeeni](http://www.geenit.fi/PohSa130306.pdf) (www.geenit.fi/PohSa130306.pdf)
- Kehitysmaan tutkijat löysivät ja patentoivat geenin
- Vehnällä tuoksuttomuusgeenejä on 6 kpl, joten niitä **kaikkia ei voida sammuttaa perinnemutaatioilla**
- 1. Geenimuuntelu (a). Sammutetaan ko. geenit rikkomalla ne kohdennetusti vuorollaan tai yhtäikää (sinkkisorminukleaasit, rna-dna-hybridit)
 - Ko. geenien toiminta lakkaa koko kasvissa
 - Onnistumistaajuus on kussakin vaiheessa varsin korkea, ja useita tuoksuttomuusgeenejä voi sammuttaa samassa kasviyksilössä yhdellä kertaa.
- 2. Geenimuuntelu (b). Sammutetaan kaikki tuoksuttomuusgeenit samalla kertaa ja vain siemenissä (rna-häirintä, siemenspesifinen säätely)
 - Hellävaraisinta kasvin kannalta
 - Ei mahdollista perinnekeinon



Hyötygeenin tuonti kasviin perinteisesti vs. geenimuuntelulla 1.

■ Esimerkki 1. Maissi (diploidi kasvilaji)

- Typenottoa tehostavan geeni voidaan tuoda maissiin puhveliheinästä (*Tripsacum*)
- 1. Geenimuuntelu. Tehokkaampi geeni etsitään puhveliheinästä, puhdistetaan ja tuodaan maissiin sen oman, huonomman geenimuodon päälle
 - Maissin geeni sammuu, puhveliheinän geeni toimii, maissin typenotto tehostuu
 - Muita geenejä ei siirry mukana puhveliheinästä
- 2. ”Perinteinen” risteytysketju. Tehokkaampi geeni tuodaan puhveliheinästä risteytysmanipulaatiolla
 - Puhveliheinä ei risteidy maissin kanssa, mutta geeni voidaan tuoda maissiin kiertotietä, teosintin kautta:
 - ...risteyttämällä ensin puhveliheinä ja teosintti, ja sitten niiden risteytymä ja maissi
 - Mukana siirtyy aluksi kymmeniätuhansia muita (vaikutuksiltaan tuntemattomia) geenejä,
 - joista satoja voi jäädä jäljelle maissiin pysyvästi, jälkikäteisistä puhdistusyrityksistä huolimatta

Viljelykasvien typpitaloutta tehostetaan kasvinjalostuksella

- ❖ Sokeriruoko vaatii aika paljon typpilannoitetta, mikä heikentää sen tuotannon taloudellisuutta ja hiilitehokkuutta
 - ...ja myös saastuttaa ympäristöä, sillä perinteisesti viljakasvit pystyvät käyttämään alle puolet annetusta lannoitetyypistä (loppu joutuu ilmaan, pohjaveteen ja vesistöihin)
- ❖ Geenimuuntelulla jalostetaan eri maissa typenkäytöltään tehokkaampaa vehnää, riisiä, ohraa, maissia ja rapsia
- ❖ Rapsi ja maissi tehokkaita kenttäkokeissa
 - Rapsi tuottaa saman sadon kuin perinteinen, mutta tarvitsee typpilannoitetta vain kolmasosan
 - Uusi maissi vaatii puolet vähemmän typpilannoitetta

www.seedquest.com/News/releases/2008/april/22304.htm rapsi

www.topcropmanager.com/content/view/1422/67/ maissi

www.medicalnewstoday.com/articles/105254.php riisi (Afrikka)

http://beta.irri.org/news/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=4306 riisi (Kiina)

<http://www.news-medical.net/news/20091120/Arcadia-Biosciences-and-Vilmorin-collaborate-to-develop-and-market-NUE-wheat.aspx>
vehnä

<http://www.csiro.au/news/NueBarley.html> ohra

”Maissin” typpitalous paremmaksi kasvisukujen välisillä risteytyksillä?



- ❖ ”Geenimuuntelun väistämiseksi” yritetään typenkäyttöä tehostaa maissilla myös lajiristeytysten avulla
- ❖ Puhveliheinillä (kasvisuku *Tripsacum*) juuristo käyttää typpeä tehokkaammin hyväkseen kuin maissin juuristo
 - ...mutta puhveliheinien tähkät ovat vain pieniä, muutaman sentin ”luiruja”
- ❖ Erilaisten manipulaatioiden avulla (käyttäen ”siltana” risteytyksiä villien teosinttien kanssa) voidaan maissi ja puhveliheinä risteyttää
 - mutta hybrideissä on tuhansia viljelymaissille haitallisia, ”primitiivisiä” geenejä
 - ...joten hybridit ovat yhtä alkeellisia kuin alkumaissi oli tuhansia vuosia sitten
- ❖ Siksi hybrideille on tehtävä kymmenien sukupolvien ajan perinteisiä takaisinristeytyksiä maissiin päin
 - valvoen kaiken aikaa, että siirrettävät geenit pysyvät kelkassa mukana
- ❖ ...mutta lopputulokseen jää silti väistämättä ”viitisensataa” *Tripsacum*-suvun ”turhaa”, tuntematonta geeniä, joita ei maissiin olisi haluttu
 - maissin perimän luenta on jo pitkällä; kasvilla on 50 000–60 000 geeniä:
www.eurekalert.org/pub_releases/2008-02/wuis-wuu022508.php
- ❖ ...eikä kukaan kysy, mitä nämä arvaamattomat kylkiäisgeenit oikein maissille tekevät
 - jospa ne sopivat härälle mutta eivät Jupiterille tai ihmiselle...?
- ❖ Perinnejalostus ”nyt vain on” sellaista:
 - ❖ Likaista arpapeliä (www.geenit.fi/HSTKas110804.pdf)
 - ...johon menneen ajan kaiho meitä kutsuu?



Hyötygeenin tuonti kasviin perinteisesti vs. geenimuuntelulla 4.

■ Esimerkki 1. Maissi (diploidi kasvilaji)

■ 3. Tuntemattomat yhdysvaikutukset

■ Jos maissiin tuodaan k uutta geeniä (ja siinä on ennestään m eri geenimuotoa), niin

■ ...uusia pareittaisia, maississa ennestään tuntemattomia kahden geenin välisiä

yhdysvaikutuksia syntyy $km + k(k-1)/2$ kpl

■ ...geenimuuntelussa ($k=1$) siis yleensä m kpl

■ ... kun taas risteytysketjussa yli k kertaa enemmän

■ Kun maissilla $m \approx 50\,000$ ja puhveliheinällä voisi ajatella olevan $10\,000$ maissista poikkeavaa geenimuotoa, niin jalostuksessa

- ...risteytysketju aiheuttaisi aluksi $11\,000$ kertaa ja lopuksikin vielä **100 kertaa enemmän** uusia (tuntemattomia) geenien pareittaisia yhdysvaikutuksia kuin geenimuuntelu

■ Tosiasiassa likaisen vanhan jalostuksen ongelma on vielä paljon tätä suurempi, sillä uusia *usean* eri geenin välisiä yhdysvaikutuksia syntyy tietysti vielä ”tähtitieteellisesti” enemmän.