

## Uusi täsmämuuntelu on miljardeja kertoja tarkempaa kuin perinteinen mutaatiojalostus

Uudessa täsmämuuntelussa voidaan editoida (hienomuokata) kasvin omia geenejä omilla paikoillaan kasvin perimässä yhden dna-emäksen tarkkuudella. Eli voidaan esimerkiksi vaihtaa tietty dna-emäs tietyssä paikassa kasvin dna-rihmassa toiseksi, halutuksi dna-emäkseksi.

**Esimerkki 1.** Jalostetaan kasvilajike paremmaksi vaihtamalla sen dna-rihmassa yksi, tietty emäs toiseksi. Maissin perimässä on 3 miljardia dna-emästä. Jalostustehtävä: Vaihdetaan niistä yksi, adeniini (A) kohdassa 2 731 618 729, guaniiniksi (G).

Perinteisessä mutaatiojalostuksessa kasvia käsitellään suurilla säteilyannoksilla tai mutaatioita aiheuttavilla kemikaaleilla, jotka tuottavat satunnaisia vaurioita perimään.

Muutos käsittää tuolloin usein paljon laajempia alueita, vaikkapa tuhansien dna-emäksien jaksoja perimässä. Kasvissa voi esimerkiksi jokin dna-pätkä kahdentua (duplikaatio), kääntyä nurinpäin (inversio), irrota ja kadota (deleetio) tai siirtyä muuhun paikkaan perimässä (translokaatio). Näiden laajempien mutaatiotyyppien suhteellinen yleisyys yhden emäksen vaihdoksiin verrattuna riippuu käytetystä mutaatiokäsittelystä.

Vaikka muutos sattuisikin koskemaan vain yhtä dna-emästä, se tapahtuisi kolme miljardia kertaa useammin väärässä kuin oikeassa kohdassa perimää. Ja vaikka muutos olisi osunutkin juuri oikeaan perimän kohtaan, se olisi silti useammin väärä (vaihdos adeniinista tyymiiniksi tai sytosiiniksi) kuin oikea (A→G).

Perinteisellä mutaatiojalostuksella saataisiin siis ainakin 10 000 000 000 kertaa useammin väärä kuin oikea tulos.

– Huom! Tuo laskelma on vain varovainen alaraja-arvio. Perinteisen mutaatiojalostuksen todellinen ”huti-lukema” on oleellisesti suurempi, kun myös edellä mainitut laajemmat kromosomimuutokset otetaan asiaan kuuluvasti huomioon.

Uudella täsmämuuntelulla on nykyisin saavutettu parhaimmillaan jo niin ”tähtitieteellinen” tarkkuus, että esimerkin jalostustehtävässä onnistutaan käytännössä lähes virheettömästi. Tietyn dna-emäksen vaihtaminen halutuksi toiseksi dna-emäkseksi tietyssä kohdassa perimää perustuu siihen, että

a) Tiettyyn paikkaan em. emäksen lähellä tehdään dna-rihmaan katkos tarkoitukseen viritetyllä dna:ta pilkkovalla entsyymillä – entsyymi tunnistaa oikean kohdan eliön perimässä yksikäsitteisesti, jos entsyymiin rakennettu kohdantunnistusjakso on riittävän pitkä (esim. 19 emästä), ja

b) Eliölle annetaan malliksi dna-pätkä, jonka mukaiseksi se korjaa kyseisellä alueella oman dna-nauhansa, käyttäen luontaista dna-korjausjärjestelmäänsä (ns. homologinen rekombinaatio eli HR). Tuloksena on tällöin erittäin suurella varmuudella juuri haluamamme emäsvaihdos.

- Joissakin tapauksissa eliön toinen, epäspesifinen korjausjärjestelmä (NHEJ) ehtii liittää katkoksen päät takaisin yhteen ennen kuin haluttua emäsvaihdosta ehtii tapahtua (on jo kehitetty useita keinoja tämän epäspesifisen korjautumisen vähentämiseksi). Toivottu emäsvaihdos jää tällöin tapahtumatta, mutta juuri katkoskohtaan voi tässä tapauksessa syntyä jokin (enintään muutaman emäksen) mutaatio, sillä tämä epäspesifinen katkoksen korjausjärjestelmä on luonnostaan epätarkka. Kasvinjalostuksessa tällaiset ei-toivotut yksilöt löydetään tavalliseen tapaan: tutkimalla kokeen jälkeläiset (tarkastetaan niiden ilmiäsu ja tarvittaessa niiden dna-emäsjärjestys katkoskohdassa ja jalostettavassa perimän kohdassa). Ja kuten aina

jalostuksessa, (mahdolliset) ei-toivotut yksilöt karsitaan sitten muutta mutkitta pois lajikkeen jatkokehittelystä. Täsmäjalostuksessa tällainen valinnan tarve jää vähäiseksi: onnistunut täsmämutantti löytyy usein jo muutaman jälkeläisyksilön joukosta.

Kasvinjalostuksessa näin huippuunsa viritetty virheettömyys ei olisi edes tarpeen – olihan perinteinen jalostus aina ollut suureksi osaksi arpapeliä – mutta parantaa sekin tietysti uuden jalostuksen laatua ja turvallisuutta. Ihmisten geenihoidoissa näin suuri muutosten luotettavuus on sitä vastoin tärkeää. Ei siis ihme, että eräät uusimmat kasvinjalostuksen menetelmät ovat jo päässeet käyttöön myös lääketieteessä.

**Eri menetelmien jalostustarkkuuksien vertailemiseksi** muodostetaan niiden onnistumistaajuuksien **osamäärä:**

$$\begin{aligned} & Tn\{\text{saadaan oikea muutos käytettäessä uutta täsmämuuntelua}\} \\ & / Tn\{\text{saadaan oikea muutos käytettäessä perinteistä mutaatiojalostusta}\} \\ & \approx 1 / (1/10\,000\,000\,000) = \mathbf{10\,000\,000\,000}. \end{aligned}$$

Uusi täsmäjalostus on siis kasviperimän hienosäädössä **ainakin 10 miljardia kertaa tarkempaa** kuin perinteinen mutaatiojalostus.

– Tuossa toki hieman kaunistellaan mutaatiojalostusta, sillä siinä syntyviä ei-toivottuja kromosomimutaatioita ei edellä olevassa tarkkuuslukemassa ole otettu vielä huomioon ollenkaan.

## Työmäärä

Uutta täsmäjalostusta käytettäessä mutaatiotaajuus on korkea ja kaikki syntyvät mutantit ovat juuri toivottua tyyppiä. Parannettu yksilö voidaan siksi löytää suurella varmuudella ja kohtuullisella työmäärällä jo pienistä kasviaineistoista. Varmuuden vuoksi tutkitaan usein joitakin kymmeniä tai satoja jälkeläisyksilöitä.

Perinteisessä mutaatiojalostuksessa mutaatiotaajuus on taas alhainen ja mutaatiot täysin satunnaisia – aivan ”sitä ja tätä” – joten halutun tyyppisen mutantin etsimiseksi on käytävä läpi valtavia kasviaineistoja. Siitä huolimatta voidaan parhaassakin tapauksessa löytää vain jonkinlainen toivotun mutaation karkea likiarvo.

Luonnollinen rypsi- ja rapsiöljy sisältävät ihmisille haitallista erukahappoa. Kun sen haitat kävivät ilmi tutkimuksissa, rapsi joutui niin huonoon huutoon, että uudet, erukahapottomaksi jalostetut rapsilajikkeet piti Amerikassa ristiä kokonaan uudelleen – ne saivat ”tahriintumattoman” nimen ’canola’.

Jotta **erukahapoton rypsi** saatiin jalostetuksi perinteisillä mutaatioilla Suomessa 1960-luvulla, jouduttiin säteilyttämään tai käsittelemään mutaatioita aiheuttavilla kemikaaleilla pussillinen rypsin siemeniä niin vahvasti, että noin puolet siemenistä kuoli. Niin saatiin henkiin jääviin siemeniin syntymään tarpeeksi paljon kaikenlaisia mutaatioita. Säteilytetyistä siemenistä kasvatetuista taimista oli sitten käytävä yksi kerrallaan läpi 200 000 jälkeläisyksilöä (siemeninä).

- Jokaisen pikkiriikkisen rypsin siemenen rasvahappokoostumus tutkittiin siinä erikseen, yksittäisen siemenen puolikkaista tehdyillä työläillä mikroanalyysillä, ja jälkeläiskasvit kasvatettiin sitten petrimaljoilla ja koeputkissa samojen siementen toisista puolikkaista (joissa siemenen alkio oli mukana). Näin löydettiin lopulta erukahapoton rypsilinja, josta sitten on jalostettu kaikki nykyiset, terveelliset rypsimme.

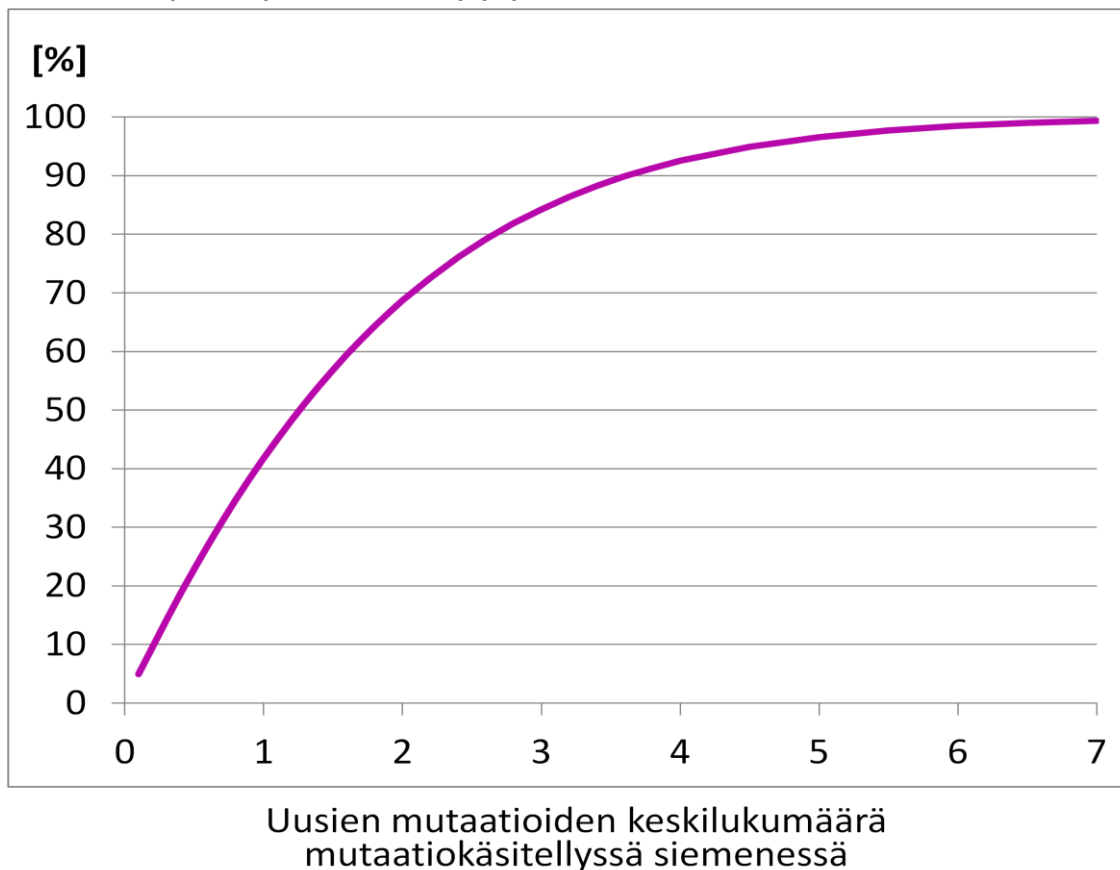
- Tämä kaikki jouduttiin tekemään siis vain, jotta selvittiin niinkin yksinkertaisesta tehtävästä kuin kasvin yhden luontaisen haittateen rikkomisesta toimimattomaksi – siihenhän riittää mikä tahansa isompi vaurio

geenin tuhansien dna-emästen ketjussa. Ei siis ihme, että perinnejalostuksen konsteja (mutageneesi ja risteytykset) käytettäessä kasviin syntyi samalla suuri joukko aivan turhia, tarkoittamattomia muutoksia: erukahapon sammumisen lisäksi rypsiskasvissa muuttuivat tuolloin näet kaikkiaan yli sadan muun aineen pitoisuudet; kun taas geenimuuntelulla tällaisia ”oheisvaikutuksia” ei esiintynyt, kuten uudet, vertailevat tutkimukset osoittavat.

Uudella täsmäjalostuksella kasvin yhden tai useammankin haittageenin sammuttaminen on vaivatonta, varmaa, yksinkertaista ja puhdasta, ja sivuvaikutukset jäävät niin pieniksi kuin mahdollista (niihin, mitä toivottu geenin sammuminen ehkä väistämättä aiheuttaa).

*Mutaatiojalostuksen ”onnenkantamoisessa” voi piillä ei-toivottuja mutaatioita:*

**Kuinka usein perinnejalostuksessa löytynyt mutanttisiemen kantaa muitakin uusia mutaatioita?**



Jokainen suomalainen kerää elämänsä kuluessa perimäänsä ainakin ”puolisen tusinaa” uutta mutaatiota – vaikka ”luontainen” mutaatiotaajuus on korkeammilla eliöillä hyvin pieni. Perinteisen mutaatiojalostuksen ”manipulaatioilla” (vahva säteilytys ja mutaatioita aiheuttavat kemikaalit) mutaatiotaajuus nostetaan monta kertaluokkaa suuremmaksi kuin niiden ”spontaani” taajuus on luonnossa. Tällöin monet ”onnekkaasti löytyneistä” mutanttisyksilöistä voivat kantaa useampia kuin yhtä uutta mutaatiota – ja nekin ovat kaiken lisäksi tuntemattomia ja vaikeasti löydettäviä. Tämä vaikeuttaa edelleen edes likimain ”toivottujen” mutaatioiden eristämistä hyödynnettäväksi ja puhdistamista erilleen ei-toivotuista oheismuutoksista perinteisessä kasvinjalostuksessa.

24.3.2014 **Jussi Tammisola**, MMT, FL, kasvinjalostuksen dosentti (HY), erikoistutkija emer. (VTT ja MMM)  
Kirjoittaja on jalostusbiologi, ekologi ja geneetikko, jolla on tutkimusjulkaisuja myös matematiikasta ja tekoälystä.