

Možnosť prenosu génov z potravinových zdrojov na konzumentov a ich mikroflóru v tráviacom trakte zvierat a človeka

MIROSLAVA KRETOVÁ - PETER SIEKEL

SÚHRN. Predpokladaný horizontálny prenos génov v tráviacom trakte organizmov je ovplyvňovaný intaktnosťou a dostupnosťou DNA. Stupeň fragmentácie DNA závisí od technologických postupov spracovania potravín a od procesov v tráviacom trakte ľudí a zvierat. Prenos genetického materiálu z potravy do organizmov zvierat a mikroorganizmov sa môže uskutočniť v celom tráviacom trakte. Biologická aktivita cudzorodej DNA pri prechode tráviacim traktom klesá a tým sa významne znižuje možnosť jej integrácie do genómu hostiteľov. Ukazuje sa, že aj keď je takýto prenos génov teoreticky možný, je značne nepravdepodobný.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: horizontálny prenos génov; fragmentácia DNA; tráviaci trakt; geneticky modifikované organizmy

Využívanie geneticky modifikovaných organizmov (GMO) vo farmaceutickom priemysle pri produkcii vitamínov, enzýmov a hormónov, ako aj biomedicínske diagnostické postupy sú verejnosťou akceptované. Geneticky modifikované (GM) potraviny nie sú verejnosťou jednoznačne prijímané, pretože okrem výživovej funkcie majú aj významnú spoločenskú úlohu. Pochybnosti vznikajú aj kvôli možným nepriaznivým zdravotným účinkom [1].

Výsledky výskumu v oblasti bezpečnosti GM potravín a krmív uvádzajú, že riziko pre zdravie spotrebiteľov a pre životné prostredie nie je odlišné od konvenčných produktov.

Zásadným parametrom pri hodnotení bezpečnosti konzumácie GM potravín z pohľadu možného horizontálneho prenosu génov na črevnú mikroflóru je úroveň expozície konzumentov transgénou DNA z potravín a krmív. Stupeň expozície závisí od množstva skonsumovaného GM mate-

RNDr. Miroslava KRETOVÁ, RNDr. Peter SIEKEL, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava 26.

Korešpondujúci autor: RNDr. Peter SIEKEL, CSc., e-mail: peter.siekel@vup.sk

riálu, množstva rekombinantnej DNA nachádzajúcej sa v konkrétnej GM plodine, od technologického spracovania potravín a krmív a od stability DNA pri prechode tráviacim traktom [2].

Horizontálny prenos génov

Horizontálny prenos génov (HGT) je definovaný ako prenos a následná expresia genetickej informácie (DNA) medzi sexuálne nepříbuznými organizmami, napr. rôznymi druhmi, bez pohlavného rozmnožovania.

Mechanizmy pre horizontálny prenos génov, umožňujúce zvyšovať genetickú variabilitu, sú spoločné pre všetky živé organizmy. Niektoré z nich, ako napríklad vírusy, plazmidy, transpozóny a transpozónom podobné elementy sa vyskytujú u väčšiny známych bakteriálnych druhov. Nová skupina transpozónov, tzv. marinery, so širokým spektrom hostiteľských druhov sa našla v zvieratách, kým marinerom podobné transpozóny (mariner-like) sa vyskytujú v rastlinách [3]. Identické marinery sa našli v rôznych druhoch, a preto sa predpokladá, že sa zúčastňujú na evolúcii sekvencií DNA šírených horizontálnym prenosom génov [4]. Vírusy tiež často sprostredkujú prenos génov medzi druhmi a môžu sa podieľať na ich evolúcii [5, 6].

Z pohľadu možného horizontálneho prenosu génov sú najvýznamnejšie obavy z prenosu génov rezistencie voči antibiotikám na mikroorganizmy, najmä na patogénne baktérie, vyskytujúce sa v tráviacom trakte ľudí a zvierat, ako aj na mikroorganizmy v životnom prostredí [7]. Ukázalo sa, že prirodzene kompetentné baktérie *Acinetobacter* sp. sú schopné prijať a integrovať *nptII* gén pre rezistenciu voči kanamycínu z peľu a koreňového systému transgénnych zemiakov v poľných podmienkach [8].

Inou problematickou oblasťou sú vírusové sekvencie použité pri konštrukcii GMO. V transgénnych rastlinách [9, 10] vyvolala pochybnosti možná nestabilita 35S promótoru vírusu karfiolovej mozaiky (35S CaMV). V kontexte poznatkov o úlohe rekombinácie DNA v evolúcii rastlín, môžu rekombinácie v transgénnych rastlinách infikovaných súčasne viacerými vírusmi predstavovať riziko pri vzniku nových vírusových genómov [11].

Stabilita DNA významne ovplyvňuje možnosť prenosu genetickej informácie

Postupy zberu plodín, ich uskladnenia a následného technologického spracovania surovín rastlinného a živočíšneho pôvodu ovplyvňujú celistvosť

DNA v potravinách. Mechanické spracovanie surovín, tepelné úpravy a nízke pH spôsobujú fragmentáciu prítomnej DNA [12].

Degradácia DNA v tráviacom trakte zvierat a ľudí

V procese spracovania potravín a krmív sa z rastlín do prostredia uvoľňuje DNA, ktorá je zväčša degradovaná rastlinnými nukleázami. Po požití je ďalej vystavená pôsobeniu nukleáz zo slinných žliaz, pankreasu, tenkého čreva a tiež pôsobeniu nukleáz z rezidentnej mikroflóry žalúdka zvierat (zložený žalúdok prežúvavcov) a hrubého čreva. Tieto enzýmy degradujú DNA na malé lineárne fragmenty alebo dokonca nukleotidy [13-15]. Takto vznikajú fragmenty menšie ako 500 bp, a to do 60 minút [16].

Prežívanie úsekov DNA bolo zistené v truse myší kŕmených DNA extrahovanej z fága M13, a to až 7 hodín po kŕmení. Väčšia časť DNA mala veľkosť menšiu ako 400 bp, len malá frakcia bola vo veľkosti 1,7 kb. V baktériách prítomných v čreve zvierat nebola zistená žiadna DNA z fága M13, čo viedlo autorov k záveru, že možné nepriaznivé biologické dôsledky používania rekombinantných DNA technológií sú minimálne [17]. Po podstatne dlhšej dobe po skrmovaní extrahovanej DNA, až po 79 hodinách bolo možné v truse potkanov identifikovať markerové gény [18]. Neskôr sa M13 DNA našla aj vo viacerých orgánoch myší, vrátane placenty a plodov [19, 20].

Degradácia izolovanej transgéennej DNA v simulovaných podmienkach žalúdka a tenkého čreva bola až 80%. Naopak, degradáciu DNA v zrnách sóje a kukurice sa v týchto podmienkach nepodarilo preukázať [21]. DNA nachádzajúca sa v rastlinnom materiáli je stabilnejšia ako extrahovaná „obnažená“ DNA. V experimente imitujúcom podmienky tenkého čreva sa preukázalo, že na rozdiel od sójovej DNA, je DNA kukurice degradovaná dvojstupňovo. V prvom kroku je rýchlo degradovanej približne 85 % DNA, kým zvyšok sa štiepi pomalšie. Tanín, o ktorom je známe, že inhibuje tráviace enzýmy, redukoval rýchlosť degradácie DNA až o 21 % [21].

Rastlinný gén Rubisco bolo možné izolovať z čriev myší 2–49 hodín po kŕmení a zo slepého čreva až 121 hodín po kŕmení. V prostredí tráviaceho traktu sa nepodarilo preukázať expresiu génov z prijatej potravy [22]. Nepodarilo sa zistiť prenos intramuskulárne podanej DNA na ďalšie generácie myší, jej prítomnosť však bolo možné v svaľe dokázať ešte po 17 mesiacoch [22].

Pri skúmaní degradácie rastlinnej DNA sa ukázalo, že po 12 hodinách je v črevách prasiat možné detegovať fragmenty DNA dlhé iba 199 bp, v orgánoch a tkanivách zvierat neboli zistené žiadne stopy chloroplastovej DNA [23]. Tí istí autori našli chloroplastovú DNA vo vzorkách hydiny získanej

z miestnych obchodov [23]. DNA z chloroplastov kukurice sa našla vo všetkých tkanivách kurčiat, nie však vo vajciach [24]. V orgánoch kurčiat, ktoré boli kŕmené transgénou kukuricou Bt 176 boli metódou PCR identifikované fragmenty chloroplastovej DNA vo veľkosti 79 bp a 199 bp. Transgénne PCR produkty v týchto podmienkach nebolo možné získať. PCR produkty špecifické pre kukuricu boli prítomné v tenkom a hrubom čreve kurčiat ešte 24 hodín po poslednom podaní potravy [25].

Rekombinantná DNA bola identifikovaná vo vzorkách obsahu tenkého čreva prasiat kŕmených Bt kukuricou, najviac však do 48 hodín po podaní krmiva [26]. Vo vzorkách tkanív boli prítomné fragmenty rastlinnej DNA, čo je v rozpore s inými literárnymi údajmi [27].

U prežúvavcov je najvýznamnejším miestom degradácie DNA zložený žalúdok. Degradácia je v ňom podporená nukleázovou aktivitou v slinách, pankrease a tenkom čreve. Vzhľadom na prostredie tu nedochádza k významnej penetrácii DNA z potravín do tkanív zvierat. Navyše tu prebieha extenzívna syntéza RNA a DNA baktérií. Výsledkom je, že väčšina nukleových kyselín vstupujúcich do tenkého čreva má mikrobiálny pôvod. Na prežúvavcoch boli uskutočnené viaceré štúdie týkajúce sa degradácie DNA [27-31]. Ukázalo sa, že krátke fragmenty (<200 bp) DNA z krmiva sa vyskytujú v krvi zvierat, nie sú však prítomné v ich mlieku [27].

Degradácia DNA môže byť v tráviacom trakte (GI) čiastočne inhibovaná niektorými zložkami potravín, napr. tanínom a tak prejsť relatívne intaktná cez tenké črevo [21]. Nedávno bol zdokumentovaný prechod transgénu *epsps* z GM sóje cez tenké črevo u ľudí s vývodom (ileostomia). Pri prechode DNA zdravým, intaktným črevom je rekombinantná DNA s génom *epsps* úplne degradovaná [32].

Biologická aktivita DNA po prechode tráviacim traktom

Táto aktivita je predmetom intenzívneho skúmania a výsledky boli publikované vo viacerých prácach. Ukazuje sa, že DNA si v ústnej dutine zachováva biologickú aktivitu. Po inkubácii so slinami si plazmidy uchovali schopnosť transformovať kompetentné bunky *E. coli* počas 8 minút. Je zrejmé, že DNA z potravy uvoľnená v ústach, si uchováva schopnosť transformovať kompetentné baktérie nachádzajúce sa v ústnej dutine [30].

V inom experimente bolo preukázané, že fragmenty DNA veľké 520 bp boli amplifikovateľné aj po 60 minútach inkubácie s ľudskými slinami. Transformovateľnosť prirodzene kompetentnej baktérie plazmidovou DNA (plaz-

mid pVACMC1) rýchlo klesala, počas bol 50 sekúnd [33]. Plazmidová DNA krátkodobo prejavovala biologickú aktivitu po inkubácii v tekutine z obsahu ovčieho žalúdka. Transformačná aktivita demonštrovaná ako schopnosť prenosu rezistencie na antibiotiká do recipientných buniek baktérií bola možná najviac do 1 minúty, hoci amplifikácia pomocou PCR bola uskutočniteľná aj neskôr [29].

Kódujúcu oblasť pre celý syntetický gén *cryIA* (b), vo veľkosti 1914 bp, bolo možné amplifikovať z obsahu žalúdka oviec pomocou PCR ešte 5 hodín po kŕmení kukuričnými zrnami. Menšie fragmenty vo veľkosti 211 bp boli amplifikovateľné ešte po 24 hodinách. Po kŕmení silážou z GM kukurice to nebolo možné. V tomto prípade boli menšie fragmenty amplifikovateľné len do 3 hodín. V chránenej podobe kukuričných zŕn pretrváva DNA v žalúdku oviec pomerne dlho a môže tak predstavovať zdroj DNA pre transformáciu prirodzene recipientných baktérií prítomných v zloženom žalúdku prežúvavcov [30].

Horizontálny prenos génov na baktérie v tráviacom trakte

Doba perzistencie DNA v potravinách je priamo závislá od veľkosti fragmentov. Menšie úseky okolo 100 bp sú dlhšie detegovateľné [34]. Experimenty zamerané na zaznamenanie horizontálneho prenosu génov nedali jednoznačnú odpoveď, či sa takýto prenos môže reálne uskutočniť, a to z troch dôvodov:

1. Nie je dôkaz o tom, že početne prevažujúce črevné anaeróbne baktérie sú prirodzene transformovateľné.
2. Gram-negatívne enterické baktérie, ako je *Escherichia coli*, nie sú prirodzene transformovateľné cudzorodou DNA. Jedinou výnimkou je údaj týkajúci sa vodného prostredia [35].
3. Gram-pozitívne baktérie, ako napr. *Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis*, tiež nie sú prirodzene transformovateľné.

Nevyhnutným predpokladom transformácie baktérií je dostupnosť DNA v primeranej štruktúre a veľkosti. Pre prenos celých génov je potrebné, aby fragmenty mali veľkosť 150–6 000 bp. Na efektívnu realizáciu regulačných elementov postačí aj veľkosť 100–500 bp. Na integráciu sekvencií pomocou homologickej rekombinácie je potrebná veľkosť od 280 bp u *Campylobacter coli* po 2040 bp u *Escherichia coli* [36].

Ako už bolo uvedené, markerové gény izolovanej DNA boli identifikované

vané v truse myší a potkanov. V predbežných experimentoch sa ukazuje možnosť transformácie črevných baktérií pridanou DNA izolovanou z GMO v črevnom trakte potkanov, avšak potvrdenie horizontálneho prenosu génov chýba [18]. FLINT a spolupracovníci dokázali prežívanie transgénneho kmeňa *Enterococcus faecalis* po skrímení laboratórnym potkanom počas 11 až 13 dní, avšak nezaznamenali žiadny horizontálny prenos génov [18].

V experimente, keď boli myši kŕmené izolovanou DNA, nebola v črevných baktériách identifikovaná DNA M13 fága [19].

Pri navodení zvláštnych podmienok favorizujúcich horizontálny prenos génov s použitím rekombinantného laktokokového plazmidu vyznačujúceho sa vysokým potenciálom prenosu so širokým spektrom hostiteľov, sa podarilo identifikovať len jeden takýto prenos. V podmienkach in vitro experimentu zameraného na simuláciu kolonizácie ľudského čreva baktériami *Lactococcus fecalis*, boli tieto baktérie rýchlo eliminované rezidentnou mikroflórou [18]. Táto skutočnosť naznačuje, že v daných podmienkach a v tak krátkom časovom horizonte je horizontálny prenos génov málo pravdepodobný, naviac boli baktérie *Lactococcus fecalis* z čreva eliminované.

Možnosť prenosu extrahovanej DNA a DNA z rastlinného materiálu bola skúmaná v podmienkach ovčích slín a tekutiny z ovčieho žalúdka [29]. Plazmidová DNA si zachovala schopnosť transformovať kompetentné bunky *Escherichia coli* viac ako 24 hodín po vystavení slinám oviec, z čoho možno usudzovať, že DNA uvoľnená z krmiva by mohla predstavovať zdroj pre transformovanie baktérií v ústnej dutine oviec. Rovnaká DNA za rovnakých podmienok vystavená pôsobeniu tekutín ovčieho žalúdka (a tiež silážnej tekutine) stratila schopnosť transformovať kompetentné bunky (biologickú aktivitu) za menej ako 1 minútu. Napriek tomu bolo možné pomocou PCR amplifikovať menšie úseky ešte po 30 minútach [29].

Prežívanie DNA v ľudských ústach bolo výrazne kratšie. Trvalo len 6 sekúnd a po 60 sekundách klesla koncentrácia DNA 100-násobne. Nebolo možné detegovať transformáciu s použitím lineárnych fragmentov DNA (najpravdepodobnejšie sa vyskytujúcej formy DNA v potravinách) v podmienkach in vitro. V prípade, ak gény boli ohraničené sekvenciami homologickými s bakteriálnymi génmi, boli zaznamenané prípady transformácií. Ukázalo sa, že baktéria *Streptococcus gordonii*, ktorá sa nachádza v ústnej dutine je prirodzene transformovateľná v priebehu 1 minúty a je tiež schopná exprimovať cudzorodý gén [18]. Niektoré bachorové baktérie sú prirodzene kompetentné a môžu exprimovať cudzorodú DNA, avšak tekutina zo žalúdka inhibuje bakteriálnu transformáciu [18].

Markerové gény rezistencie voči antibiotikám boli nájdené v obsahu žalúdka kurčiat, ale už neboli prítomné v čreve. Hoci prítomnosť týchto

markerov odráža pretrvávajúce rastlinnej DNA, zároveň naznačuje, že je veľmi nepravdepodobné, aby baktérie v črevnom trakte kurčiat boli transformované transgénnou DNA [37].

Prvé transgénné rastliny, vrátane odrôd Bt kukurice firmy Novartis boli konštruované pomocou plazmidu pUC18 [38]. Na obnovu funkčnosti plazmidu pUC18 sa predpokladá, že najmenej dve kópie tohto plazmidu sa musia v rovnakom čase dostať do tej istej bunky, aby sa pomocou prekryvajúcich oblastí ssDNA mohol regenerovať pôvodný plazmid. Pravdepodobnosť takéhoto prípadu je blízka nule, podobne ako aj pravdepodobnosť prežívania plazmidu v „divých“ kmeňoch enterobaktérií a to naviac bez pôsobenia selekčného tlaku [38].

Transgénná DNA a bezpečnosť potravín

V dôsledku kyslého prostredia žalúdka v kombinácii s nukleázovou aktivitou v tenkom čreve nie je pravdepodobné, aby sa veľké fragmenty DNA dostali do čreva. Takto je aj pravdepodobnosť inkorporácie transgénnnej DNA do chromozómov epitelových buniek, naviac vybavených vlastnými nukleázami, malá. Ďalšími mechanizmami znižujúcimi možnosť integrácie cudzorodej DNA sú aktívne obranné mechanizmy bunky, napr. špecifická metylácia DNA. Integrita DNA v potravinách je značne ovplyvnená aj technologickými postupmi spracovania a prípravy potravín.

V nedávno publikovanom prehľade o bezpečnosti transgénnnej DNA v potravinách sa uvádza, že jej konzumácia predstavuje rovnaké riziko ako konzumácia DNA v konvenčných potravinách [39]. Degradácia DNA v skonzumovanej potrave je historický fyziologický proces závislý od druhu zvierat a nemá žiadne zvláštne dôsledky pre biologickú bezpečnosť a bezpečnosť potravín. Autori štúdie poukázali na skutočnosť, že v dôsledku degradácie DNA pri prechode cez tráviaci trakt je pravdepodobnosť integrácie a expresie intaktného génu v črevnej mikroflóre minimálna, a súčasnými technikami ťažko dokázateľná [39].

V správe publikovanej britskou FSA (Food Standards Agency) sa uvádza, že za reálnych podmienok, t. j. keď je tráviaci trakt zdravý a úplne funkčný, keď je prijatá potrava úplne strávená, je horizontálny prenos génov nepravdepodobný a predstavuje len malé nebezpečenstvo [40]. Tieto závery boli následne potvrdené v už spomenutej práci s pacientmi s ileostomiou, kedy časť transgénov prešla intaktne cez neúplný tráviaci trakt. Pri prechode DNA zdravým, intaktným črevom je rekombinantná DNA úplne degradovaná [32]. Pred začiatkom experimentov našli niekoľko prípadov transgénnnych

sekvencií génu CP4 EPSPS. Toto naznačuje, že pôvodná črevná mikroflóra obsahovala transgénnu DNA. Z iných prác [41] vyplynulo, že v ľudskom tráviacom trakte nebol zaznamenaný horizontálny prenos génov z potravín na mikroorganizmy.

Záver

Základnou otázkou je, či transgén alebo časť jeho DNA, ktoré prežijú tráviace procesy, sa budú odlišne správať pri ovplyvňovaní genómu konzumenta (a jeho mikroflóry) v porovnaní s DNA nachádzajúcou sa v tradičných zdrojoch potravín. Prenos transgéennej DNA cez bariéry medzi ríšami, t. j. prenos rastlinnej DNA do baktérií je nepravdepodobný vďaka existencii efektívnych bariér. Túto skutočnosť potvrdzuje aj to, že experimentálne takýto prenos génov nebol doteraz zistený. Na druhej strane evolučné štúdie porovnávajúce genómové sekvencie získané z prokaryotických a eukaryotických organizmov ukazujú, že takýto prenos je možný, a to v oboch smeroch. Jeho frekvencia je extrémne nízka, má geologický časový rozmer [42].

Existujúce molekulárno biologické mechanizmy rekombinácie DNA umožňujú tej časti transgéennej DNA, ktorá má homologické úseky k bakteriálnym genómom jej integráciu do bakteriálneho chromozómu, ako to bolo preukázané v experimentoch využívajúcich postup tzv. záchrany markera [43].

Táto práca bolo financovaná z grantu APVT číslo 397865 a zo štátneho výskumného programu „Potraviny, kvalita a bezpečnosť“ číslo 2003SP270280E010280E01.

Literatúra

1. FERENČÍK, I. - SIEKEL, P.: Postoj obyvateľov Slovenska ku geneticky modifikovaným organizmom v porovnaní so svetom. Attitude of Slovak population to genetically modified organisms in comparison with the world. *Enviromagazín*, 9, 2004, s. 12-13.
2. VAN DEN EEDE, G. - AARTS, H. - BUHK, H. J. - CORTHIER, G. - FLINT, H. J. - HAMMERS, W. - JACOBSEN, B. - MIDTVEDTH, T. - VAN DEN VOSSEN, J. - VON WRIGHT, A. - WACKERNAGEL, W. - WILCKS, A.: The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. Review. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 2004, s. 1127-1156.
3. FESCHOTTE, C. - WESSLER, S. R.: Mariner-like transposases are widespread and diverse in flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 2002, s. 280-285.

4. LAMPE, D. J. - WITHERSPOON, D. J. - SOTO-ADAMES, F. N. - ROBERTSON, H. M.: Recent horizontal transfer of *mellifera* subfamily *mariner* transposons into insect lineages representing four different orders shows that selection acts only during horizontal transfer. *Molecular Biology and Evolution*, 20, 2003, s. 554-562.
5. SYVANEN, M.: Horizontal gene transfer: Evidence and possible consequences. *Annual Review of Genetics*, 28, 1994, s. 237-261.
6. SYVANEN, M.: In search of horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology*, 17, 1999, s. 833.
7. SHOEMAKER, N. B. - VLAMAKIS, H. - HAYES, K. - SALYERS, A. A.: Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2000, s. 561-568.
8. DE VRIES, J. - HEINE, M. - HARMS, K. - WACKERNAGEL, W.: Spread of recombinant DNA by roots and pollen of transgenic potato plants, identified by highly specific biomonitoring using natural transformation of an *Acinetobacter* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2003, s. 4455-4462.
9. Ho, M. W.: Report on horizontal gene transfer. In: *Articles on Bio-Engineered Foods* [online]. Activist. Publikované 22.3.1999 [cit. 19.1.2000]. <<http://users.westnet.gr/~cgjan/horizontal.htm>>
10. Ho, M. W.: Recent evidence confirms risks of horizontal gene transfer [online]. Publikované 13.11.2002 [cit. 1.6.2005]. <<http://www.mindfully.org/GE/GE4/Horizontal-Gene-Transfer13nov02.htm>>.
11. GARCÍA-ARENAL, F. - FRAILE, A. - MALPICA, J. M.: Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 2001, s. 157-186.
12. KRETOVÁ, M. - KOLLÁROVIČ, G. - SIEKEL, P.: Fragmentácia DNA a geneticky modifikované potraviny. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, 44, 2005, s. 17-26.
13. MCALLAN, A.: The degradation of nucleic acids in, and the removal of breakdown products from the small intestines of steers. *British Journal of Nutrition*, 44, 1980, s. 99-112.
14. MORRISON, M.: Do ruminant bacteria exchange genetic material? *Journal of Dairy Science*, 79, 1996, s. 1476-1486.
15. BEEVER, D. E. - KEMP, C. F.: Safety issues associated with DNA in animal feed derived from genetically modified crops: A review of scientific and regulatory procedures. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 70, 2000, s. 197-204.
16. THOMPSON, J. A.: Horizontal transfer of DNA from GM crops to bacteria and mammalian cells. *Journal of Food Science*, 66, 2001, s. 188-193.
17. SCHUBBERT, R. - LETTMANN, C. - DOERFLER, W.: Ingested foreign phage M13 DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular Genetics and Genomics*, 241, 1994, s. 495-504.
18. FLINT, H. - MERCER, D. - SCOTT, K. - MELVILLE, C. - GLOVER A.: Survival of digested DNA in the gut and the potential of genetic transformation of resident bacteria. FSA Project Code FSG 01007, 1.6.1998-1.10. 2001, Report [online]. Publikované 2001 [cit. 1.6.2005]. <<http://www.botanischergarten.ch/debate/Flintetal.pdf>>
19. SCHUBBERT, R. - DOEFLER, W.: Food ingested foreign DNA is taken up via gastrointestinal wall epithelia and Peyer's patches into peripheral leucocytes, spleen and liver. In: SCHMIDT, E. R. - HANKELN, TH. (Ed.): *Transgenic organisms and biosafety*. Berlin, Heidelberg, New York : Springer, 1996, s. 132.
20. SCHUBBERT, R. - RENZ, D. - SCHMITZ, B. - DOEFLER, W.: Foreign M13 DNA ingested by mice reaches peripheral leucocytes, spleen, and liver via intestinal wall mucosa and can be covalently bind to mouse DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 1997, s. 961-966.

21. MARTIN-ORUE, S. M. - O'DONNELL, A. G. - ARINO, J. - NETHERWOOD, T. - GILBERT, H. J. - MATHERS, J.C.: Degradation of transgenic DNA from genetically modified soy and maize in human intestinal simulations. *British Journal of Nutrition*, 87, 2002, s. 533-542.
22. HOHLWEG, U. - DOERFLER, W.: On the fate of plant or other foreign genes upon the uptake in food or after intramuscular injection in mice. *Molecular Genetics and Genomics*, 265, 2001, s. 225-233.
23. KLOTZ, A. - MAYER, J. - ESPANIER, R.: Degradation and possible carry over of feed DNA monitored in pigs and poultry. *European Food Research and Technology*, 214, 2002, s. 271-275.
24. EINSPANIER, R. - KLOTZ, A. - KRAFT, J. - AURICH, K. - POSER, R. - SCHWÄGELE, F. - JAHREIS, G. - FLACHOWSKY, G.: The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed a recombinant plant material. *European Food Research and Technology*, 212, 2001, s. 129-134.
25. TONY, M. A. - BUTSCHKE, A. - BROLL, H. - GROHMANN, L. - ZAGON, J. - HALLE, I. - DÄNNICKE, S. - SCHAUZU, M. - HAFEZ, H. M. - FLACHOWSKY, G.: Safety assessment of Bt maize in broiler nutrition: Degradation of maize - DNA and its metabolic fate. *Archives of Animal Nutrition*, 57, 2003, s. 235-252.
26. REUTER, T. - AURICH, K.: Investigation on the genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of feed-ingested foreign DNA in pig bodies. *European Food Research and Technology*, 216, 2003, s. 185-192.
27. KLOTZ, A. - EINSPANIER, R.: Nachweis von 'Novel-feed' im tier? Beeinträchtigung des verbrauchers von fleisch oder milch ist nicht zu erwarten. *Mais*, 3, 1998, s. 109-111.
28. KLOTZ, A. - EINSPANIER, R.: Detection of chloroplast and Bt maize DNA in farm animals fed transgenic plants: Methods and first results. In: *Proceedings of the Joint Conference on Genetically Modified organisms in the Food Chain*. Mnichov : AOAC International Europe Section, 2000, s. 72.
29. DUGGAN, P. S. - CHAMBERS, P. A. - HERITAGE, J. - FORBES, J. M.: Survival of free DNA encoding antibiotic resistance from transgenic maize and the transformation activity of DNA in ovine saliva, ovine rumen fluid and silage effluent. *FEMS Microbiology Letters*, 191, 2000, s. 71-77.
30. DUGGAN, P. S. - CHAMBERS, P. A. - HERITAGE, J. - FORBES, J. M.: Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *British Journal of Nutrition*, 89, 2003, s. 159-166.
31. BEEVER, D. E. - PHIPPS, R. H.: The fate of plant DNA and novel proteins in feeds for farm livestock: A United Kingdom perspective. *Journal of Animal Science*, 79, 2001, s. 290-295.
32. NETHERWOOD, T. - MARTÍN-ORÚE, S. M. - O'DONNELL, A. G. - GOCKLING, S. - GRAHAM, J. - MATHERS, J. C. - GILBERT, H. J.: Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology*, 22, 2004, s. 204-209.
33. MERCER, D. K. - SCOTT, K. P. - BRUCE-JOHNSON, W. A. - GLOVER, I. A. - FLINT, H.: Fate of free DNA and transformation of the oral bacterium *Streptococcus gordonii* DL1 by plasmid DNA in human saliva. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1999, s. 6-10.
34. LIPP, M. - BLUTH, A. - EYQUEM, F. - KRUSE, L. - SCHIMMEL, H. - VAN DEN EEDE, G. - ANKLAM, E.: Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research and Technology*, 212, 2001, s. 497-504.
35. BAUR, B. - HANSELMANN, K. - SCHLIMME, W. - JENNI, B.: Genetic transformation in fresh-water: *Escherichia coli* is able to develop natural competence. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1996, s. 3673-3678.

36. RICHARDSON, P. T. - PARK, S.: Integration of heterologous plasmid DNA into multiple sites on the genome of *Campylobacter coli* following natural transformation. *Journal of Bacteriology*, 179, 1997 s. 1809-1812.
37. CHAMBERS, P. A. - DUGGAN, P. S. - HERITAGE, J. - FORBES, J. M.: The fate of antibiotic resistance marker genes in transgenic plant feed material fed to chicken. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, 2002, s. 161-164.
38. SALYERS, A.: The real threat from antibiotics. *Nature*, 384, 1996, s. 304.
39. JONAS, D. A. - ELMADFA, I. - ENGEL, K. H. - HELLER, K. J. - KOZIANOVSKI, G. - KÖNIG, A. - MÜLLER, D. - NARBONNE, J. F. - WACKERNAGEL, W. - KLEINER, J.: Safety considerations of DNA in food. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 45, 2001, s. 235-254.
40. Technical report on the EFSA project GO 10008 „Evaluating the risks associated with using GMOs in human foods” [online]. Publikované 5.7.2002 [cit. 1.6.2005]. <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/gmnewcastlelreport.pdf>>
41. AMMANN, K.: University of Newcastle report summaries: No significant horizontal transgene transfer detected in human guts. Publikované Júl 2002 [cit. 2. 1. 2004]. <http://www.biotech-info.net/newcastel_reports.html>.
42. SYVANEN, M.: Horizontal gene transfer: evidence and possible consequences. *Annual Review of Genetics*, 28, 1994, s. 237-261.
43. GM SCIENCE REVIEW PANEL: GM Science review, first report [online]. Publikované 21.7.2003 [cit. 1.6.2005]. <<http://www.gmsciencedebate.org.uk/report/pdf/gmsci-report1-full.pdf>>.

Do redakcie došlo 6.6.2005.

**Possibility of the gene transfer from food to the consumers
and their microflora in the human and animal gastrointestinal tract**

KRETOVÁ, M. - SIEKEL, P.: *Bull. potrav. Výsk.*, 44, 2005, p. 157-167.

SUMMARY. The integrity of DNA and its availability in the environment represent key factors in the possible horizontal gene transfer in the gastrointestinal tract. The extent of DNA fragmentation depends on the food processing and on the digestion in the human or animal gastrointestinal tract. It is assumed that the gene transfer from food to the microorganisms is possible in the entire gastrointestinal tract. Biological activity of the exogenous DNA decreases during its passage through the gastrointestinal tract and this significantly reduces the possibility of its integration to the host genome. It is shown that although such a gene transfer is theoretically possible, its probability is considerably low.

KEYWORDS: horizontal gene transfer; DNA fragmentation; gastrointestinal tract; genetically modified organisms