

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie



Angelina Aptyusheva

Rostliny jako platformy pro výrobu antivirových vakcín
Plants as platforms for the production of antiviral vaccines

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Vojtěch Šroller, Ph.D.

Praha, 2025

Poděkování

Děkuji svému školiteli Mgr. Vojtěchu Šrollerovi, Ph.D. za odborné konzultace a trpělivost.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama z uvedené literatury a na základě konzultací se svým školitelem. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Při sepisování práce jsem použila nástroje umělé inteligence, a to konkrétně k jazykové korektuře, kontrole pravopisu a gramatiky.

V Praze, 27.4.2025.

Abstrakt

V posledních několika desetiletích se rostlinné platformy používají jako alternativa pro výrobu vakcín a dalších farmaceutických přípravků. Mezi jejich potenciální výhody patří nízké náklady na kultivaci, vysoká rychlost produkce, hypoalergenní vlastnosti a možnost orálního podávání. V této práci jsou uvedeny nejčastěji používané rostliny pro přípravu antivirových vakcín. Dále je podrobněji popsáno několik rostlinných vakcín vyvíjených pro veterinární účely. Přestože rostlinné vakcíny vykazují řadu výhod oproti tradičním platformám, jako jsou například kuřecí embrya a buněčné kultury, jejich komercializace a širší zavedení na trh naráží na řadu výzev. Jejich překonání by mohlo umožnit širší uplatnění rostlinných vakcín v budoucnosti.

Klíčová slova: Rostlinné vakcíny, virus, transgenní rostliny, agroinfiltrace, *Nicotiana benthamiana*

Abstract

In the last few decades, plant platforms have been used as an alternative for the production of vaccines and other pharmaceutical products. Their potential advantages include low cultivation costs, high production rates, hypoallergenic properties, and the possibility of oral administration. This study presents the most commonly used plants for the development of antiviral vaccines. Additionally, several plant-based vaccines designed for veterinary purposes are described in greater detail. Although plant vaccines show a number of advantages over traditional platforms such as chicken embryos and cell culture, their commercialization and wider market introduction face a number of challenges. Overcoming these obstacles could enable the wider application of plant-based vaccines in the future.

Key words: Plant-based vaccines, virus, transgenic plants, agroinfiltration, *Nicotiana benthamiana*

Seznam použitých zkratk:

AI – Avian Influenza (ptačí chřipka)

COVID-19 – Coronavirus Disease 2019 (koronavirové onemocnění 2019)

DNA – Deoxyribonucleic Acid (deoxyribonukleová kyselina)

DSP – Downstream Processing (biotechnologické čištění)

ELISpot – Enzyme Linked Immuno Spot Assay (enzymová imunoanalýza)

FPIES – Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome (syndrom enterokolitidy vyvolané potravinovým proteinem)

GMO – Genetically Modified Organism (geneticky modifikovaný organismus)

HA – Hemagglutinin (hemagglutinin)

HBsAg – Hepatitis B Surface Antigen (povrchový antigen viru hepatitidy B)

HDP – Hrubý domácí produkt

HIV – Human Immunodeficiency Virus (virus lidské imunitní nedostatečnosti)

HPAI – Highly Pathogenic Avian Influenza (vysoce patogenní ptačí chřipka)

HPV – Human Papillomavirus (lidský papilomavirus)

CHO – Chinese Hamster Ovary cells (buňky vaječníku čínského křečka)

IFN- γ – Interferon gamma (interferon gamma)

LPAI – Low Pathogenic Avian Influenza (nízce patogenní ptačí chřipka)

MMR – Measles, Mumps, Rubella vaccine (kombinovaná vakcína proti spalničkám, průšnicím a zarděnkám)

mRNA – Messenger Ribonucleic Acid (messengerová ribonukleová kyselina)

NDV – Newcastle Disease Virus (virus newcastleské nemoci)

PRCV – Porcine respiratory coronavirus (respirační koronavirus prasat)

PVNT – Pseudovirus Neutralisation Test (pseudovirusový neutralizační test)

RNA – Ribonucleic Acid (ribonukleová kyselina)

SDS-PAGE – Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného)

TGEV – Transmissible Gastroenteritis Virus (virus transmisivní gastroenteritidy prasat)

TRV – Tobacco Rattle Virus (virus nekrotické kadeřavosti tabáku)

USD – United States dollar (americký dolar)

VLP – Virus-Like Particle (částice podobné viru)

WHO – World Health Organization (světová zdravotnická organizace)

Obsah

1. Historie a vývoj vakcín: od prvních objevů k moderním technologiím.....	1
2. Vývoj rostlinných vakcín jako reakce na limity tradičních přístupů	3
3. Mechanismy syntézy rostlinných vakcín: Základní principy a metody	4
4. Výběr rostlin pro syntézu vakcín: Současné a perspektivní druhy	6
4.1 Banán (<i>Musa sapientum</i>).....	6
4.2 Brambor (<i>Solanum tuberosum</i>)	7
4.3 Locika setá (<i>Lactuca sativa</i>)	8
4.4 Rýže (<i>Oryza sativa</i>).....	9
4.5 Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	9
4.6 Tabák (<i>Nicotiana benthamiana</i> , <i>Nicotiana tabacum</i>).....	10
5. Využití rostlinných platforem ve veterinární medicíně.....	15
5.1 Virus Newcastleké nemoci (Newcastle disease virus)	15
5.2 Transmisivní gastroenteritida prasat (Transmissible gastroenteritis virus)	16
5.3 Ptačí chřipka (Avian influenza).....	17
6. Přednosti a omezení rostlinných vakcín v porovnání s tradičními metodami	18
6.1 Ekonomika výroby vakcín: rostlinné platformy ve srovnání s tradičními metodami.	18
6.2 Rostlinné platformy jako základ bezpečných a hypoalergenních vakcín.	19
6.3 Rostoucí vlna odmítání očkování: mohou rostlinné vakcíny vrátit důvěru?	20
6.4 Časově efektivní výroba vakcín: Rychlost jako jedna z klíčových výhod rostlinných platforem pro výrobu vakcín.	21
6.5 Dávkování jedlých rostlinných vakcín: od slibného začátku až po dočasné zastavení.	22
6.6 GMO rostliny pro výrobu vakcín: hrozba pro životní prostředí nebo bezpečná inovace?	23
7. Závěr a diskuze.....	25
8. Seznam použité literatury.....	27

1. Historie a vývoj vakcín: od prvních objevů k moderním technologiím

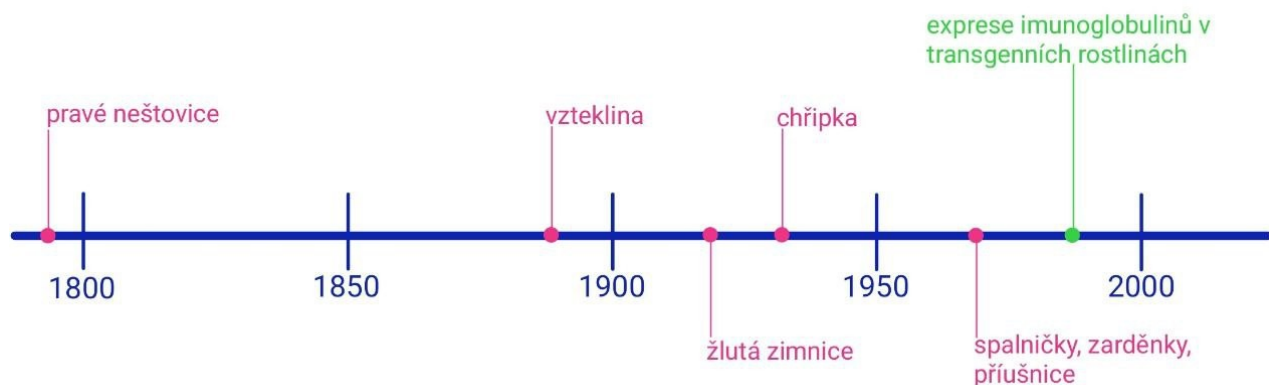
Tato kapitola poskytuje stručný historický přehled klíčových momentů a inovací, které formovaly vývoj vakcín až do současnosti. Tyto události jsou shrnuty v pěti následujících odstavcích:

1. Prvním známým pokusem zabránit infekčnímu onemocnění byla aplikace pustulozní tekutiny do řezných ran na kůži nebo inhalace sušených strupů černých neštovic zdravému člověku. Takový způsob, později nazvaný variolace, byl nezávisle objeven v Číně a Indii v 11. století. Osoby, které podstoupily variolaci, měly mnohem mírnější projevy nemoci a mnohem nižší riziko úmrtí (0,52 % ve srovnání s 20–30 % po přirozených neštovicích) (Fenner et al., 1988). Postupem času se tato metoda rozšířila po celém světě, největší vliv ale měla ve Velké Británii v 18. století, kde nejen snížila počet úmrtí na neštovice, ale také připravila půdu pro Jennerův objev vakcinace (Miller, 1957).
2. Ačkoliv široké využití variolace zachránilo statisíce lidí před pravými neštovicemi, taková metoda měla stále své nevýhody: především u jedinců, kteří ji podstoupili, nebylo úplně eliminováno riziko úmrtí, a navíc takové osoby zůstávaly nakažlivé pro ostatní. Tehdy na scénu vstupuje Edward Jenner. V roce 1796 použil infekční materiál kravských neštovic získaný z ruky dojičky krav k vakcinaci devítiletého chlapce, která proběhla úspěšně a inspirovala Jennera k dalším pokusům, které potvrdily bezpečnost a efektivitu této metody (Jenner, 1801). Na počátku 19. století Jennerovu myšlenku podpořilo mnoho vzdělaných lidí, což přispělo k zahájení první masivní vakcinace, která vedla nakonec k úplné eradikaci neštovic v roce 1977 (WHO, 2025).
3. Téměř sto let nedošlo v oblasti očkování k žádným významným objevům. To trvalo až do roku 1879, kdy Louis Pasteur vytvořil první atenuovanou vakcínu. V roce 1877 začal Pasteur studovat cholery drůbeže a izoloval jejího původce. V roce 1879 zjistil, že kultury této bakterie časem ztrácejí svou virulenci: nainfikoval kuřata starými bakteriálními kulturami a u kuřat se objevily mírné příznaky onemocnění, navíc se všechna testovaná kuřata zcela uzdravila. Pasteura to zaujalo. Injikoval vyléčeným kuřatům čerstvě vykultivované bakterie cholery. Když ptáci zůstali zdraví, Pasteur usoudil, že ke ztrátě virulence došlo působením kyslíku. Zjistil totiž, že uzavřené bakteriální kultury si zachovaly virulenci, zatímco u těch, které byly před inokulací různě dlouho vystaveny vzduchu, se virulence předvídatelně snížila (Pasteur, 1881). Tak vznikla první atenuovaná vakcína. O něco později Pasteur vytvořil vakcínu proti antraxu a v roce 1885 první antivirovou atenuovanou vakcínu proti vzteklině.

Pasteur infikoval králíky virem vztekliny, pak vysušil na vzduchu části míchy nakažených jedinců a následně připravil vodnou emulsi k infekci dalších králíků. Tento postup opakoval a po několika takových pasážích dostal atenuovaný virus, který byl schopen navodit imunitu proti virulentnímu viru vztekliny. Taková vakcína mohla být podávána i post expozičně, což zachránilo život nejenom Josephu Meisteru, který byl prvním známým pacientem, který se zcela vyléčil ze vztekliny, ale i stovkám dalších lidí (Repiquet, 1891).

4. Pasteurův objev se stal velkým impulsem pro vývoj vakcín. Rychlost, s jakou se začaly vyvíjet nové vakcíny, se dramaticky zvýšila. V roce 1931 se k pomnožení a pasažování virů začaly používat oplodněná slepičí vejce (Goodpasture et al., 1931). Díky této technologii se ve 30. letech 20. století podařilo vyvinout vakcínu proti žluté zimnici a první atenuovanou vakcínu proti viru chřipky (Theiler and Smith, 1937; Kim et al., 2022). Dalším průlomem ve vývoji vakcín bylo použití buněčných kultur z tkání obratlovců ke kultivaci virů. Enders, Weller a Robbins v roce 1949 publikovali článek, kde ukázali, že v buněčných kulturách lze pěstovat virus dětské obrny (Enders et al., 1949). Díky jejich objevu vznikly v následujících letech vakcíny proti dalším dětským virovým onemocněním jako spalničky (Katz et al., 1960), zarděnky (Plotkin et al., 1969) a příušnice (Hilleman et al., 1968). Rychlý rozvoj molekulární biologie a genetického inženýrství v druhé polovině 20. století vedl ke vzniku nové generace vakcín. Tak vznikla první rekombinantní vakcína proti lidskému papilomaviru (Kirnbauer et al., 1992) a vakcína proti lymfské borelióze (Fikrig et al., 1990). V roce 1990 Jon Wolf a jeho kolegové úspěšně exprimovali in vitro transkribovanou mRNA v buňkách kosterního svalu myši (Wolff et al., 1990). Tento experiment se stal prvním úspěšným pokusem o expresi mRNA in vivo, a prokázal tak možnost vývoje mRNA vakcín. V průběhu následujících desetiletí se objevily mRNA vakcíny proti chřipce, COVIDu a dalším nemocem.
5. Tím však vývoj tvorby vakcín neskončil. Vědci pokračovali a pokračují v hledání nových metod syntézy a aplikací vakcín do lidského a zvířecího těla. Jednou z perspektivních oblastí se stalo využití rostlin k syntéze protilátek. V roce 1989 byla v časopise Nature publikována studie, kde byla popsána úspěšná exprese imunoglobulinů v transgenních rostlinách (Hiatt et al., 1989). Tento průlomový objev umožnil využití rostlin jako platformy pro výrobu farmaceutických produktů, zejména vakcín.

Obrázek 1 ukazuje klíčové události v historii vývoje vakcín.



Obrázek 1: Časová osa, která schematicky znázorňuje dobu vzniku některých důležitých vakcín proti virovým onemocněním a první využití transgenních rostlin k vakcinačním účelům.

Cílem této práce bylo nejen popsat rostlinné vakcíny z historického a technického hlediska, ale především poukázat na jejich praktické uplatnění, potenciál v oblasti prevence virových onemocnění a možné překážky jejich širšího využití. Součástí je také přehled vybraných rostlinných platform a veterinárních vakcín.

2. Vývoj rostlinných vakcín jako reakce na limity tradičních přístupů

Na konci 20. století byly hlavními platformami pro kultivaci a modifikaci virů oplozená kuřecí embrya a buněčné kultury. Tyto metody se v předchozích desetiletích osvědčily, ale měly určité nevýhody, které vedly virology k tomu, aby se zaměřili i na využití rostlin.

Mezi závažné nevýhody tehdejší výroby vakcín v slepičích vejcích patřila dlouhá doba výroby vakcíny proti novému subtypu viru (Trombetta et al., 2019) a možné komplikace u pacientů s alergií na vejce (viz dále). Hlavní nevýhodou produkce vakcín pomocí buněčných kultur byla jejich vysoká cena, která omezovala dostupnost vakcín v rozvojových zemích.

Dalším důvodem, který vyvolal značný zájem o rostliny jako platformu pro vývoj vakcín, byla možnost vývoje jedlých vakcín. Žádná jiná platforma, včetně kuřecích embryí, kvasinkových a savčích buněčných kultur, nemohla takovou možnost poskytnout. Vědci se v té době domnívali, že tato forma vakcinace by mohla výrazně snížit náklady na dopravu a skladování vakcín i na poskytovatele zdravotní péče. V 90. letech se rozšířil koncept „očkování prostřednictvím banánu“ (Rybicki, 2014). Právě banán se stává „ambasadorem“ jedlých vakcín: na jednom z fór na konci 90. let minulého století bylo uvedeno, že jeden banán může obsahovat až 10 dávek vakcíny, a tak by k očkování všech dětí na světě bylo potřeba 20 tisíc tun banánů, což je pouze 0,2 % z celkové světové

roční produkce banánů (CVI forum, 1996). Takže, v té době se zdálo, že koncept očkování lidí, zejména dětí, prostřednictvím konzumace banánu je zcela životaschopný (Artnzen, 1997).

Přestože se realizace myšlenky vytvoření jedlých vakcín ukázala jako náročná a dosud se takové vakcíny na trhu neobjevily, právě teoretická možnost vakcinace potravou přitáhla pozornost vědců k využití rostlin pro výrobu léčiv, včetně vakcín. Tento přístup přispěl k rozvoji nového směru ve virologii, který se nadále aktivně rozvíjí.

3. Mechanismy syntézy rostlinných vakcín: Základní principy a metody

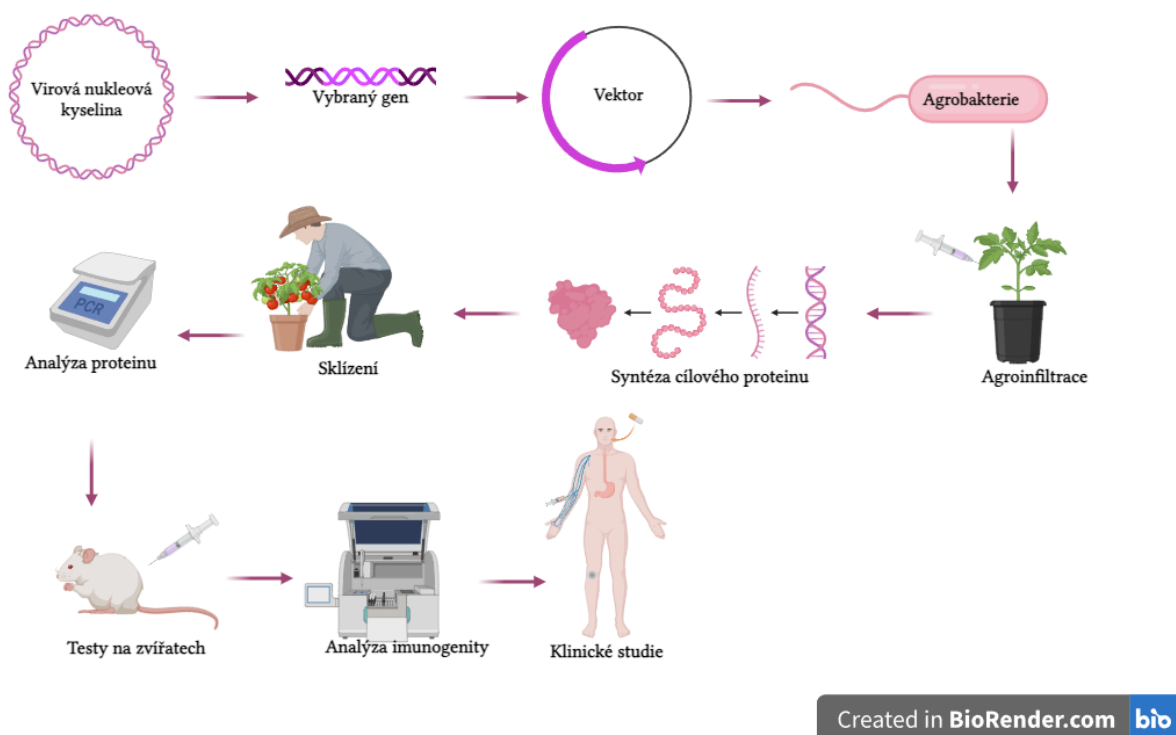
Vývoj rostlinných vakcín zahrnuje několik klíčových kroků, začíná se výběrem cílového genu a končí testováním na zvířatech a někdy i klinickými studiemi na lidech. Následující oddíl poskytuje podrobnější přehled jednotlivých fází tohoto procesu (na příkladě výroby rostlinných vakcín proti prasečímu deltakoronaviru (Ryu et al., 2024) a viru chřipky (Song et al., 2021):

1. Výběr genu, který kóduje vhodný antigen – tedy protein schopný navodit protektivní imunitní odpověď. Příkladem takového antigenu je hemaglutinin (HA), klíčový obalový protein viru chřipky, který zajišťuje vazbu na receptor a fúzi s endosomem, čímž umožňuje vstup viru do buňky. Tento protein bude jednou z hlavních složek budoucí vakcíny.
2. Vybraný úsek DNA se syntetizuje v laboratoři a následně je vložen do vektoru. Vektor slouží jako molekulární nosič pro přenos genetického materiálu do buněk. Nejčastěji jsou jako vektory používány bakteriální plazmidy nebo umělé chromozomy.
3. Následně je vektor vnesen do agrobakterie, která je schopna vkládat DNA do rostlinných buněk. Bakterie *Agrobacterium tumefaciens* má jedinečnou schopnost přenášet část své genetické informace do rostlinných buněk. Tato schopnost je dána přítomností konjugačního Ti plazmidu (Tumor-Inducing plasmid) v bakterii, který je na rozdíl od konjugačních plazmidů jiných bakterií schopen přenosu nejen mezi bakteriálními buňkami, ale také z bakteriální buňky do eukaryotní. Počáteční zájem o Ti plazmid *Agrobacterium tumefaciens* souvisel s jeho schopností indukovat tumorigenezi u rostlin (Chilton et al., 1977). Následně však bylo zjištěno, že odstraněním genů odpovědných za růst nádoru z oblasti T-DNA lze agrobakterie použít jako účinný vektor pro přenos cílových genů do rostlin (Hood et al., 1993). Tato metoda se nazývá agroinfiltrace: agrobakterie jsou pomocí injekční stříkačky vpraveny do buněk zelených pletiv rostliny, například do listů. DNA vložená do rostlinné buňky může zajistit buď dočasnou expresi proteinu, nebo vytvoření stabilní linie. Ale nejen plazmidy agrobakterií mohou sloužit jako vektory pro přenos zájmových genů do rostlinných buněk. Jako vektory lze použít i rostlinné viry, jako jsou viry z čeledi Geminiviridae (Siriwattananon

et al., 2021) nebo Tobacco rattle virus (TRV) (Ali et al., 2015), který byl upraven spolu se systémem CRISPR/Cas9 k editaci rostlinného genomu. V takových případech plní agrobakterie pomocnou funkci – slouží k dopravě virového vektoru do rostlinných buněk.

4. Agroinfiltrace však není jediným způsobem, jak dopravit vybraný gen do rostlinné buňky. Mezi další metody vnášení DNA do rostlinné buňky patří elektroporace, lipofekce, metoda bombardování mikroprojektily (microprojectile bombardment method, gene gun) (Taylor and Fauquet, 2002) a další (Behrooz et al., 2008). Tato rozmanitost metod umožňuje experimentální použití různých rostlin, včetně těch, které nejsou citlivé na agrobakterie.
5. Během několika následujících dnů rostlinné buňky začnou exprimovat vnesený gen a syntetizovat proteiny, kódované tímto genem. Poté jsou části rostliny, které byly použity k agroinfiltraci nebo jiné transformaci, sklizeny a podléhají dalším molekulárně biologickým úpravám.
6. Cílem následujících manipulací je získat purifikovaný protein v dostatečném množství a analyzovat jej. K dosažení tohoto účelu se využívají molekulárně biologické metody, jako jsou homogenizace listů, deglykolyzace, SDS-PAGE elektroforéza, Western blotting, chromatografie a elektronová mikroskopie.
7. Jedním z posledních kroků je použití tohoto proteinu k přípravě vakcíny pro následné podání laboratorním zvířatům a stanovení imunitní odpovědi. Vakcíny, připravené takovýmto způsobem mohou být podávány několika způsoby, jak je popsáno v následujících kapitolách

Mechanismus syntézy vakcíny v rostlinách, popsáný výše, demonstruje dostupnost a snadnost použití rostlin pro výrobu vakcíny. Obrázek níže ilustruje všechny klíčové kroky (Obrázek 2).



Obrázek 2: Základní kroky syntézy rostlinných vakcín.

4. Výběr rostlin pro syntézu vakcín: Současné a perspektivní druhy

Výběr vhodných rostlinných platform pro produkci vakcín je jedním z klíčových faktorů pro úspěšnou výrobu očkovací látky. Dnes neznáme univerzální rostlinu, která by byla vhodná pro přípravu všech potencionálních rostlinných vakcín. Různé rostliny vyžadují odlišné podmínky pro růst a rozmnožování, mají různé délky životního cyklu, ne všechny jsou citlivé k agroinfiltraci a ne všechny jsou vhodné pro tvorbu jedlých vakcín. Proto se v současnosti používá velké množství rostlinných modelů. Mezi nimi lze však identifikovat rostliny, které se díky svým vlastnostem jeví jako nejvhodnější. Kromě toho existují slibné druhy, které by se mohly stát novými platformami pro výrobu rostlinných vakcín nové generace.

4.1 Banánovník rajský (*Musa sapientum*).

Jak již bylo zmíněno, právě banánovník se na konci minulého století stal jakýmsi ambasadorem jedlých vakcín. Myšlenka, že by dítě mohlo dostat dávku vakcíny proti vážné nemoci jednoduše tím, že sní banán v pohodlí domova, inspirovala mnoho vědců k výzkumu rostlinných vakcín (Artnzen,1997). Pokusy o vytvoření takových „banánových vakcín“ skutečně proběhly, ale nesplnily všechna očekávání. Plody banánovníku vypadají ve srovnání s mnoha jinými druhy ovoce a zeleniny velmi atraktivně jako potenciální nosiče jedlých vakcín. Jsou relativně levné (1 kilogram

banánů stál v červnu 2024 přibližně 1 dolar (Federal Reserve Bank of St. Louis, 2024)), rostou v teplém klimatu, nevyžadují tepelnou úpravu, což zabraňuje denaturaci bílkovin při zahřívání. Banány jsou dostupné v zemích 3. světa, což by mohlo vyřešit problém nízké úrovně proočkovanosti (velké množství vakcín vyžaduje chlazení, což je pro rozvojové země často velmi obtížné zajistit). Navzdory mnoha výhodám však nebylo vytvoření jedlých banánových vakcín tak snadné, jak se původně myslelo. Jednou z hlavních překážek, které stojí vědcům v cestě, je nízká úroveň exprese rekombinantních proteinů v některých rostlinách, mezi které patří i banánovník (Kumar et al., 2005). Dalším problémem jsou značné rozdíly v úrovni exprese mezi jednotlivými rostlinami, což ztěžuje přesný výpočet potřebné dávky pro očkování (Elkholy et al., 2009).

4.2 Lilek brambor (*Solanum tuberosum*).

Další slibnou rostlinou pro výrobu rostlinných vakcín se stal lilek brambor. *Solanum tuberosum* má jako platforma pro vakcíny několik výhod: snadno se pěstuje i v chladném klimatu, má vysoké výnosy a nízké výrobní náklady. Lilek brambor je atraktivní rostlinou pro vývoj jedlých vakcín nejen díky svým agronomickým vlastnostem, ale také díky svým nutričním vlastnostem. Hlízy obsahují značné množství bílkovin (2,27 g na 100 g syrových brambor) a také mnoho antioxidantů, vitaminů a minerálních látek (U.S. Department of Agriculture, 2024). Tyto faktory spolu se snadným pěstováním a dostupností dělají lilek brambor atraktivní platformou pro výrobu jedlých vakcín. Výzkum jejich využití ve virologii byl zahájen na konci minulého století a první pokusy na lidech byly provedeny už v roce 2000 (Tacket et al., 2000). Jedním z prvních virů, proti kterým byly učiněny pokusy vytvořit rostlinnou vakcínu, byl norovirus z čeledi Caliciviridae. Vakcína byla vyrobena s použitím transgenních bramborových hlíz a testována na dobrovolnících. Přestože 95 % účastníků pokusu vykazalo imunitní odpověď, nebyla dostatečně vysoká pro účinnou ochranu před infekcí.

Pokusy vytvořit vakcínu, která by chránila proti hepatitidě B, byly prováděny na mnoha rostlinných platformách. Výjimkou nebyl ani lilek brambor, jehož testy byly ve srovnání s jinými rostlinami poměrně úspěšné. V roce 2005 byla zveřejněna studie, které se zúčastnilo 42 lidí dříve očkovaných proti hepatitidě B. V této studii byly použity transgenní hlízy akumulující antigen HBsAg v množství 8,5 µg/g hlízy. Každému z účastníků byly podávány dávky bramborových hlíz o hmotnosti 100 g. Korelátům ochrany proti viru hepatitidy B slouží titry protilátek proti HBsAg v krevním séru. Po konzumaci syrových brambor došlo ke zvýšení hladin anti-HBsAg protilátek u 10 z 16 dobrovolníků (62,5 %), kteří snědli tři dávky transgenních hlíz; u 9 z 17 dobrovolníků (52,9 %), kteří snědli dvě dávky; a u žádného z těch, kteří konzumovali netransgenní hlízy (Thanavala et al., 2005). Na druhou stranu to znamená, že se hladiny protilátek nezvýšily asi u 40 procent dobrovolníků, což je poměrně velký podíl. Vakcíny s tak vysokým rizikem nedostatečné imunitní odpovědi se na trh nedostanou. Dalším problémem je, že k dosažení imunizace musí člověk opakovaně sníst asi 100

gramů syrových brambor (protože vaření hlíz může vést k denaturaci proteinu, což sníží schopnost takové vakcíny vyvolat imunitní odpověď), což je pro většinu lidí nepřijatelná metoda.

Na začátku 21. století byl lilek brambor použit také k vývoji vakcíny proti rotaviru. Tuto studii lze označit za úspěšnou, protože vakcína skutečně vyvolala u myši imunitní odpověď. Orální imunizace purifikovaným kapsidovým proteinem VP6 vedla u myši k aktivaci humorální i slizniční imunitní reakce, což dokládá, že antigen VP6 byl úspěšně doručen do slizničního imunitního systému. Přesto se tato vakcína nikdy nedostala do fáze klinických studií na lidech, což bohužel zabránilo jejímu dalšímu rozvoji a širšímu využití.

4.3 *Locika setá (Lactuca sativa)*.

Výzkum salátu jako potenciální platformy pro vývoj vakcín byl zahájen na začátku 21. století a aktivně pokračuje. Listový salát byl vybrán pro výzkum kvůli své schopnosti růst v různých klimatických podmínkách, relativní levnosti a vhodnosti pro konzumaci v syrovém stavu, což z něj činí ideálního kandidáta pro vývoj jedlých vakcín. Kromě toho salátové listy neakumulují toxiny a alkaloidy a lze je snadno lyofilizovat, což umožňuje výrobu vakcín ve formě tablet a zároveň prodlužuje jejich trvanlivost i při skladování při pokojové teplotě. (Pniewski et al., 2011). V roce 2006 byla publikována jedna z nejvýznamnějších prací o rostlinných vakcínách, v níž byl jako platforma použit salát (Webster et al., 2006). V této studii byl hemaglutinin viru spalniček syntetizován v buňkách transgenního salátu. Vakcína prokázala schopnost vyvolat imunitní odpověď u myši a zůstala stabilní při vysokých teplotách, což je velkou výhodou pro použití v oblastech s horkým klimatem, kde je občas obtížné vakcíny chladit.

Virus spalniček je nejinfekčnějším virem na světě (jeho reprodukční index je 12,5–18 (Anderson and May, 1982), což je mnohonásobně více než u chřipky), který vyvolává závažné dětské onemocnění s vysokou úmrtností. Přestože od roku 1971 existuje účinná kombinovaná vakcína proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím, proočkovanost je i ve vyspělých zemích nedostatečná, a to kvůli obavám vyvolaným diskuzí o možné souvislosti mezi vakcínou MMR a autismem, která se objevila po zveřejnění článku Andrewa Wakefielda v roce 1998 (Wakefield et al., 1998). Přestože později byla tato práce vyvrácena (Taylor et al., 1999), zanechala ve veřejném mínění výraznou stopu. V rozvojových zemích je situace ještě horší: v roce 2023 byla v mnoha afrických zemích proočkovanost nižší než 60 procent (WHO, 2025), přičemž pro kolektivní imunitu je potřeba 95 procent.

Zmíněný článek z roku 2006, který prokázal úspěšnost využití lociky pro výrobu vakcín, je příslibem pro alternativní vakcinační platformy, které jsou důležité zejména pro rozvojové země.

Zvláště významná je průlomová studie z roku 2017, ve které byl v buňkách salátu úspěšně exprimován heterodimer E1E2 obalového proteinu viru hepatitidy C (Clarke et al., 2017). Vakcína založená na tomto heterodimeru byla testována na myších a vyvolala u nich imunitní odpověď. Na

rozdíl od mnoha jiných rostlinných vakcín, které jsou vyvíjeny jako levnější a dostupnější alternativy k existujícím vakcínám, tento výzkum otevírá možnost vytvoření vakcíny proti hepatitidě C, viru, proti kterému v současné době zatím neexistuje žádná vakcína.

4.4 Rýže setá (*Oryza sativa*).

Před 20 lety začali vědci aktivně zkoumat rýži setou jako potenciální platformu pro expresi proteinů a vytváření vakcín a léků. Rýže setá má několik výhod: její semena obsahují vysoké množství bílkovin (asi 7 gramů na 100 gramů potravin (U.S. Department of Agriculture, 2024)), což z ní činí slibnou platformu pro expresi bílkovin. Od roku 2023 je rýže třetí nejoblíbenější obilovinou s více než 500 miliony tun vypěstovanými převážně v Číně a Indii (Statista, 2024), což dělá potenciální vakcíny dostupnými v Asii. Tyto výhody jsou však vyváženy několika omezeními. Před použitím se musí rýže uvařit, což může vést k denaturaci proteinu, a tím nižší účinnosti vakcíny. Zadruhé, rýže setá je náročná, pokud jde o podmínky potřebné pro pěstování: preferuje teplé a vlhké podnebí, což v některých regionech pěstování ztěžuje. V roce 2009 byla zveřejněna studie, ve které vědci zkoumali expresi obalového proteinu E viru japonské encefalitidy v listech rýže seté a jeho schopnost vyvolat imunitní odpověď u myši (Wang et al., 2009). Experiment byl úspěšný, ale úroveň exprese proteinu byla nižší než v podobných studiích s jinými rostlinami (pouze 1,1–1,9 mg/g celkového rozpustného proteinu). I přes nízkou úroveň exprese se imunitní odpověď u myši objevila, ale byla méně výrazná než při použití inaktivovaného viru japonské encefalitidy. Tento experiment zdůrazňuje potřebu další optimalizace rýže sety jako rostlinné platformy, aby byly vakcíny na její bázi konkurenceschopné.

Rýžové listy a semena se také používají jako platforma pro vytváření vakcín proti chorobám postihujícím hospodářská zvířata. V roce 2007 byly publikovány dvě studie, v nichž byly vyvinuty a na myších testovány vakcíny proti dvěma virům, které postihují hlavně kuřata a jinou drůbež: viru newcastleské nemoci (Newcastle disease virus) (Yang et al., 2007) a viru infekční burzitidy (Infectious bursal disease virus) (Wu et al., 2007). Obě studie prokázaly úspěšné navození imunitní odpovědi u myši.

4.5 Tolice vojtěška (*Medicago sativa*).

Jednou z podceňovaných rostlin pro tvorbu vakcín je tolice vojtěška, i když má oproti jiným rostlinám několik výhod. Ve studii z roku 2016 byla část membránového proteinu hemagglutininu (HA1) viru chřipky H5N1 exprimována v sóji, locice a vojtěšce (Farsad et al., 2016). Tolice vojtěška vykazovala nejvyšší úroveň exprese antigenu a největší akumulaci proteinu v apoplastickém prostoru. Ve studii z roku 1999 byl v listech vojtěšky úspěšně exprimován strukturální protein VP1 viru slintavky a kulhavky a takové listy poskytovaly imunitní ochranu myším (Wigdorovitz et al., 1999). Tolice vojtěška je atraktivní také díky své nenáročnosti a schopnosti růst v mírném podnebí. Často se

používá jako krmivo pro hospodářská zvířata, což ji činí perspektivní při výrobě vakcín proti nemocem hospodářských zvířat.

4.6 Tabák hlíznatý, Tabák virginský (*Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana tabacum*).

Jako poslední příklad uvedme jednu z nejoblíbenějších a nejčastěji používaných rostlin pro výrobu rostlinných vakcín – tabák. Tabák je v biologii modelovým organismem a je hojně využíván v různých studiích, nejen těch, které se týkají vývoje vakcín. Je také často používán na univerzitních praktikách díky snadnému provádění genetických transformací, které zvládne i student, vysokému výnosu, velkému množství semen a krátkému životnímu cyklu (Ma et al., 2003). Díky těmto vlastnostem se tabák stal oblíbenou a úspěšnou platformou pro vývoj vakcín a dalších farmaceutických produktů. Tabák se jako platforma pro vývoj vakcín používá již desítky let a je stále populární. Na jeho základě byly učiněny pokusy vytvořit vakcíny proti mnoha virům, jako je virus vztekliny (Ashraf et al., 2005), HIV (Scotti et al., 2009), virus Zika (Yang et al., 2018), virus hepatitidy B (Huang et al., 2008), hepatitidy C (Nemchinov et al., 2000), virus Dengue (Kim et al., 2018), lidský papilomavirus (Morgenfeld et al., 2014) a virus chřipky (Le Mauff et al., 2015). Mnoho z těchto studií přineslo povzbudivé výsledky, ale obzvláště slibné byly ty, které se týkaly vývoje koktejlu protilátek ZMapp proti viru Eboly (Qiu et al., 2014) a vakcíny proti koronaviru COVID-19 (Hager et al., 2022), které se dostaly do fáze klinických studií na lidech.

ZMapp je kombinací tří monoklonálních protilátek syntetizovaných v rostlině *Nicotiana benthamiana*. Po úspěšných zkouškách na primátech byl lék použit v omezeném množství jako nouzová léčba během propuknutí epidemie Eboly v roce 2014, i když ještě nevstoupil do klinických studií na lidech. Léčba byla použita u sedmi pacientů, z nichž dva zemřeli (McCarthy, 2014). Klinické studie ZMapp na lidech byly zahájeny v roce 2015, avšak výsledky byly méně úspěšné, než se původně očekávalo. Přestože studie naznačila příznivý potenciál ZMapp jako léčebného prostředku pro EVD (Ebola virus disease), její výsledky nesplnily předem stanovené statistické parametry prokázané účinnosti (Davey et al., 2016). ZMapp není v současné době schválen Světovou zdravotnickou organizací (WHO) pro standardní léčbu, ale může být použit jako nouzová léčba v rozvojových zemích během propuknutí epidemie viru Eboly (WHO, 2024).

Od roku 2020 probíhaly klinické studie rostlinné vakcíny proti koronaviru SARS-CoV2. Coronavirus-like particles (CoVLPs) nesoucí virový protein S byly syntetizovány v listech tabáku hlíznatého a kombinovány s adjuvans (Adjuvant System 03 [AS03]). Vakcína prošla třemi fázemi klinických studií (ClinicalTrials.gov, 2024), do poslední se zapojilo více než 24 tisíc lidí. Výsledky byly velmi slibné: vakcína prokázala účinnost v prevenci COVID-19 způsobeného různými variantami viru. Ochrana se pohybovala v rozsahu od 69,5 % proti symptomatické infekci až po 78,8 % proti středně těžkým a těžkým formám onemocnění (Hager et al., 2022). Jak autor poznamenává,

tato vakcína je první rostlinnou vakcínou schválenou pro použití u lidí: v únoru 2022 byla tato vakcína pod obchodním názvem COVIFENZ® oficiálně schválena kanadskou vládou (Government of Canada, 2025). Přestože se potřeba vakcíny proti koronaviru ve srovnání s předchozími roky snížila, tento výzkum má obrovské důsledky pro moderní virologii. Tento pokrok zdůrazňuje potenciál rostlinných systémů jako platformy pro vývoj účinných vakcín, což je velice důležité pro budoucí epidemie.

Navzdory mnoha výhodám a několika úspěšným příkladům výroby farmaceutických preparátů má tabák své nevýhody. Zaprvé, tabák není jedlá rostlina, takže možnost vytvoření jedlé vakcíny je vyloučena – zůstává pouze možnost injekčního nebo perorálního podávání ve formě tablet. Další nevýhodou tabáku je jeho schopnost akumulovat v listech toxiny a alkaloidy, které mohou komplikovat proces čištění a výroby finálního produktu.

Každá rostlina, použitá k výrobě vakcín, má své určité výhody a nevýhody (schematicky znázorněné na obrázku 3). V této kapitole bylo popsáno pouze několik z nich, ale existuje mnoho dalších, které se již používají nebo mohou být použity v budoucnu, například mrkev, rajče, kukuřice, hrách a sója. Rozmanitost rostlinných systémů nabízí významné příležitosti pro další výzkum a vývoj nových vakcín. Neustálé zdokonalování technologií a pokračující studium různých rostlin dávají naději, že v budoucnu budeme schopni vytvořit ještě efektivnější a dostupnější způsoby výroby vakcín.



Banánovník rajský
(*Musa sapientum*)

- ✓ Levné pěstování
- ✓ Rostou v teplém klimatu
- ✓ Nevyžadují tepelnou úpravu
- ✗ Nízká úroveň exprese proteinů
- ✗ Variabilní úroveň exprese mezi rostlinami



Lilek brambor (*Solánium tuberosum*)

- ✓ Vysoký obsah bílkovin
- ✓ Široké klimatické přizpůsobení
- ✓ Nízké náklady na pěstování
- ✗ Nedostatečná imunitní odpověď
- ✗ Je třeba konzumovat syrové



Locika setá (*Lactuca sativa*)

- ✓ Nevyžaduje tepelnou úpravu
- ✓ Neakumuluje alkaloidy
- ✓ Snadná lyofilizace
- ✓ Nevyžaduje specifické růstové podmínky
- ✗ Nízká výnosnost



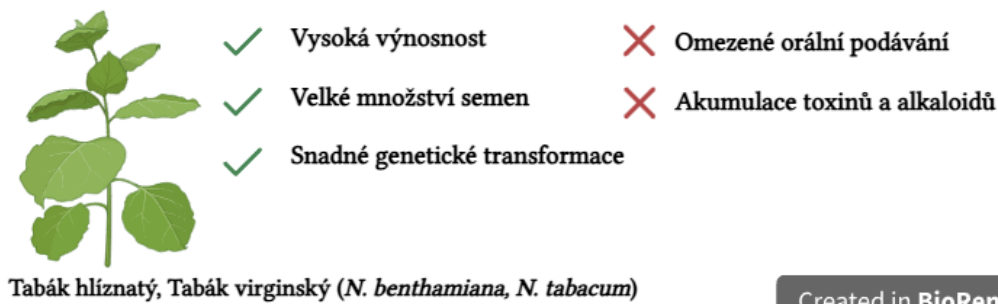
Rýže setá (*Oryza sativa*)

- ✓ Vysoký obsah bílkovin
- ✓ Velké objemy produkce
- ✗ Nízká úroveň exprese proteinů.
- ✗ Vyžaduje tepelnou úpravu
- ✗ Vyžaduje specifické podmínky pro pěstování.



Tolice vojtěška (*Medicago sativa*)

- ✓ Možnost orálního podávání
- ✓ Nevyžaduje specifické růstové podmínky
- ✗ Nedostatečné množství výzkumů



Obrázek 3: Schematické znázornění výhod a nevýhod různých rostlinných platforem.

Výzkum rostlinných vakcín pokrývá širokou škálu virových patogenů. V následující tabulce (tabulka 1) jsou uvedeny viry, proti kterým byly vyvinuty vakcíny na rostlinné bázi nebo pouze prováděny pokusy o jejich vývoj, a rostliny používané pro tyto účely. Tabulka shrnuje příklady diskutované v této kapitole a zdůrazňuje rozmanitost přístupů k vývoji vakcín. Vybrané veterinární vakcíny, které jsou v tabulce označeny tučně, budou následně podrobněji rozebrány v kapitole číslo 5. Přestože tato práce nezahrnuje všechny dosud vyvinuté rostlinné vakcíny, lze na základě shromážděných údajů uvést, že většina vakcín byla zaměřena na RNA viry. Tento trend může být způsoben faktory jako vysoká mutační rychlost RNA virů, antigenní drift a shift u virů se segmentovanými genomy, které vedou k vyššímu riziku nákazy, a tím pádem i k významným epidemiologickým dopadům. Jedním z dalších významných faktorů, proč je velká část výzkumů zaměřena právě na vývoj vakcín proti RNA virům pomocí rostlinných platforem, je schopnost rostlin syntetizovat virové antigeny během několika týdnů. Tato vlastnost je zvláště důležitá při ochraně proti virům, které způsobují epidemie a pandemie, což je typické pro RNA viry, jako jsou například chřipka a koronaviry. Tyto faktory naznačují, že právě v oblasti vývoje vakcín proti RNA virům mohou rostlinné platformy najít největší uplatnění.

Rok publikace	Čeď	Virus /onemocnění	Antigen	Rostlinná platforma	Zdroj
1999	Picornaviridae	Slintavka a kulhavka	VP1	<i>Medicago sativa</i>	Wigdorovitz et al., 1999
2000	Caliciviridae	Norwalk virus	NVCP	<i>Solanum tuberosum</i>	Tacket et al., 2000
2000	Flaviviridae	Hepatitida C	HVR1	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Nemchinov et al., 2000
2004	Coronaviridae	Transmisivní gastroenteritida prasat	S protein	<i>Zea mays</i>	Lamphear et al., 2004
2005	Hepadnaviridae	Hepatitida B	HBsAg	<i>Solanum tuberosum</i>	Thanavala et al., 2005
2005	Rhabdoviridae	Vzteklina	G protein	<i>Nicotiana tabacum</i>	Ashraf et al., 2005
2006	Paramyxoviridae	Spalničky	MV-H	<i>Lactuca sativa</i>	Webster et al., 2006
2007	Birnaviridae	Infekční burzitida drůbeže	VP2 protein	<i>Oryza sativa</i>	Wu et al., 2007
2008	Hepadnaviridae	Hepatitida B	HBsAg	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Huang et al., 2008
2009	Retroviridae	HIV	Pr55gag	<i>N. benthamiana</i> , <i>N. tabacum</i>	Scotti et al., 2009
2009	Flaviviridae	Japonská encefalitida	Obalový protein E	<i>Oryza sativa</i>	Wang et al., 2009
2011	Hepadnaviridae	Hepatitida B	S-HBsAg	<i>Lactuca sativa</i>	Pniewski et al., 2011
2014	Papilomaviridae	Lidský papilomavirus	E7	<i>Nicotiana tabacum</i>	Morgenfeld et al., 2014
2014	Filoviridae	Ebola	GP	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Qiu et al., 2014
2015	Orthomyxoviridae	Chřipka H1N1	HA	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Le Mauff et al., 2015
2016	Orthomyxoviridae	Chřipka H5N1	HA1	<i>Medicago sativa</i>	Farsad et al., 2016
2017	Flaviviridae	Hepatitida C	E1E2	<i>Lactuca sativa</i>	Clarke et al., 2017
2018	Flaviviridae	Zika	Obalový protein E	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Yang et al., 2018
2018	Flaviviridae	Dengue	EDIII	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Kim et al., 2018
2020	Paramyxoviridae	Newcastleská nemoc	F a HN glycoproteiny	<i>Zea mays</i>	Shahid et al., 2020
2022	Coronaviridae	SARS-CoV-2	S glycoprotein	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Hager et al., 2022
2023	Paramyxoviridae	Newcastleská nemoc	F a HN glycoproteiny	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Smith et al., 2023
2024	Orthomyxoviridae	Ptačí chřipka	HA	<i>Nicotiana benthamiana</i>	Elbohy et al., 2024

Tabulka 1: Příklady virových onemocnění s potenciálními rostlinnými platformami.

5. Využití rostlinných platforem ve veterinární medicíně

Vývoj rostlinných vakcín pro veterinární účely je stejně důležitý jako vývoj vakcín pro lékařství. Očkování hospodářských a domácích zvířat je klíčem ke kontrole infekčních chorob, které mohou mít přímý i nepřímý dopad na lidské zdraví a hospodářství. Vakcinace hospodářských zvířat snižuje riziko nákazy lidí potravinami. Navíc pomocí vakcinace hospodářských zvířat lze alespoň částečně zabránit zoonózám, které mohou vyvolat velké epidemie s drastickými dopady na lidské zdraví a ekonomiku. Vakcinace zvířat má také velký význam v zemědělském sektoru, kde zdraví zvířat přímo ovlivňuje produkci potravin. Jedno nemocné zvíře může způsobit v konečném důsledku obrovské ztráty produktů, jako jsou například mléko, maso, vejce nebo vlna. V případě epidemií mohou být celé šarže produktů považovány za nevhodné k prodeji, což výrobcům způsobí vážné ekonomické ztráty. Snižování objemu vyráběných produktů vede k vyšším cenám, což negativně ovlivňuje všechny účastníky dodavatelského řetězce, včetně konečných spotřebitelů. Během epidemie ptačí chřipky (avian influenza) v roce 2003 byly ekonomické ztráty Indonésie, způsobené úhynem ptáků, odhadovány v rozmezí 16,2 až 32,4 milionu dolarů (Brahmbhatt, 2005). Epidemie prasečí chřipky, která proběhla v Mexiku v roce 2009, měla za následek značné ekonomické ztráty, z nichž největší byly v turistickém sektoru. Celkové finanční ztráty činily přibližně 2,8 miliardy dolarů (Rassy and Smith, 2013), což odpovídá přibližně 0,3 % tehdejšího mexického HDP (World Bank, 2025). Tato událost ukazuje, jaký negativní dopad mohou mít virová onemocnění, související s hospodářskými zvířaty nejen na zemědělství, ale i na celou ekonomiku a ovlivnit různé oblasti včetně cestovního ruchu.

Očkování zvířat je důležitým aspektem prevence šíření infekcí a udržení zdravých populací hospodářských a volně žijících zvířat. Perorální vakcíny mohou být nejpraktičtější a nejúčinnější možností a nabízejí řadu výhod. Snadno se aplikují, nezpůsobují zvířatům během očkování velký stres a snižují potřebu neustálých veterinárních zásahů, což výrazně snižuje náklady na vakcinaci. Dále budou popsány příklady využití rostlinných platforem ve veterinární medicíně

5.1 *Virus Newcastleské nemoci (Newcastle disease virus).*

Newcastleská choroba, způsobená stejnojmenným virem, je závažné infekční onemocnění, které postihuje volně žijící i domácí ptáky. Hlavními příznaky nemoci jsou zápal plic, svalový třes, ztráta koordinace a vypadávání peří. Přestože se nemoc může přenést na člověka, nepředstavuje pro něj významné zdravotní riziko. Její ekonomický dopad je však značný: virus způsobuje škody v drůbežářském průmyslu. V Indii dosahují roční ztráty způsobené výskytem newcastleské choroby přibližně 75 milionů rupií (Prajapati et al., 2021). Vzhledem k významným finančním ztrátám probíhá

již několik desetiletí vývoj různých vakcín proti NDV. V této souvislosti by mohlo být slibným řešením využití rostlinných platform pro vývoj vakcín, zejména vzhledem k jejich potenciálním výhodám ohledně rychlosti výroby a snížení nákladů.

V roce 2023 byla zveřejněna studie, v níž byla vyrobena a testována na zvířatech rostlinná vakcína proti viru Newcastleké nemoci ve formě viru podobných částic (VLP) obsahujících virové obalové proteiny F a HN. Jako platforma pro její výrobu byl použit tabák (*Nicotiana benthamiana*). Vakcína podávaná intramuskulárně v kombinaci s adjuvans vykazovala vysokou účinnost: 14 dní po vakcinaci byla pozorována tvorba protilátek u všech ptáků, kteří dostali vakcínu v kombinaci s adjuvans. Naopak u ptáků, kteří dostali pouze vakcínu bez adjuvans, se nevytvořily žádné protilátky. Studie ukázala, že tato vakcína je účinná a poskytuje imunitu, ale pouze v kombinaci s adjuvans. Autoři dospěli k závěru, že by se taková vakcína mohla používat ve veterinární medicíně v kombinaci s tradičními živými vakcínami jako booster k posílení imunitní odpovědi. Použití takové vakcíny pro pravidelnou vakcinaci hospodářských zvířat by mohlo mít i významné ekonomické výhody: užití tabáku jako platformy pro výrobu vakcín prokázalo vysokou výtěžnost. V daném případě z jednoho kilogramu tabákových listů se podařilo vyrobit dostatečné množství vakcíny pro imunizaci 10 000 kuřat. A pokud se tato vakcína použije jako booster, počet dávek se zvýší na 20 000 (Smith et al., 2023).

O 3 roky dříve, v roce 2020, byla zveřejněna studie, ve které byla vytvořena účinná vakcína proti Newcastleké chorobě (Shahid et al., 2020), která také obsahovala virové obalové proteiny F a HN. Tato studie však jako platformu používala kukuřici, která měla oproti tabáku určité výhody: semena kukuřice jsou jedlá a často se používají jako krmivo pro drůbež, což otevírá možnost orální vakcinace, která výrazně zjednodušuje proces imunizace zvířat. Ptáci, kteří během 60 dnů dostávali vakcínu jako krmivo ve formě semen transgenní kukuřice, vykazovali v krvi protilátky na srovnatelné úrovni jako ptáci očkováni konvenční vakcínou proti Newcastleké chorobě. Tyto výsledky naznačují vysokou účinnost kukuřice jako platformy pro vývoj kompletní vakcíny na rostlinné bázi. Možnost orální vakcinace může významně snížit zátěž zemědělců a veterinárních lékařů tím, že odpadne potřeba injekčních metod podávání vakcíny. Díky tomu je kukuřice slibným kandidátem pro vývoj veterinárních vakcín, které jsou cenově dostupné a účinné pro masové použití.

5.2 *Transmisivní gastroenteritida prasat (Transmissible gastroenteritis virus).*

Dalším virem, napadajícím hospodářská zvířata, je virus přenosné gastroenteritidy. TGEV patří do čeledi Coronaviridae, ale i když není tak známý jako jiní zástupci této čeledi, jako například SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 nebo MERS-CoV, jeho dopad na zemědělství nelze podceňovat. Tento virus je nebezpečný především pro prasata, zejména mladá. Mezi symptomy patří zvracení, průjem,

horečka a anorexie. Úmrtnost na toto onemocnění může dosahovat až 100 %. V roce 2004 byla publikována práce, ve které byla popsána příprava orální vakcíny proti tomuto viru a její testování na mladých prasatech (Lamphear et al., 2004). Jako rostlinná platforma pro výrobu vakcíny byla použita kukuřice, jejíž výhody jako platformy byly diskutovány dříve. Orální vakcína proti TGEV obsahovala virový obalový protein S a byla použita jako booster ke zlepšení účinku předem podané živé vakcíny. Výsledky studie byly působivé: prasata, která dostala booster, měla signifikantně zvýšené hladiny protilátek, na rozdíl od těch, která dostala pouze placebo místo orální kukuřičné vakcíny. Studie také prokázala, že podávání rostlinné orální vakcíny zvyšuje hladinu protilátek v mléce. Navzdory povzbudivým výsledkům další výzkum v této oblasti příliš nepokročil. Jedním z důvodů může být poměrně vysoká účinnost živých vakcín používaných i bez boosterů. Navíc nedávné studie ukazují, že prasata, která se zotavila nebo byla očkována proti koronaviru prasat (PRCV), také získávají imunitu proti viru přenosné gastroenteritidy (Wesley and Woods, 1993).

5.3 Ptačí chřipka (*Avian influenza*).

Ptačí chřipka je jedním z veterinárních onemocnění, kterému je v posledních 20 letech věnována zvláštní pozornost. Je to způsobeno tím, že epidemie ptačí chřipky způsobují velké ztráty drůbeže a vajec, a tím i velké škody zemědělství a ekonomice jako celku. V závislosti na podtypu může úmrtnost mezi ptáky dosáhnout 90–100 % během 48 hodin (CDC, 2024). Virus ptačí chřipky, stejně jako ostatní viry z čeledi Orthomyxoviridae, má segmentovaný genom a podléhá antigennímu shiftu a driftu. Kvůli tomu se z nízko patogenního podtypu viru (LPAI) může poměrně rychle stát nový vysoce patogenní virus (HPAI). Kromě toho, že je tento virus vysoce patogenní pro ptáky, je také zoonotický, a může se tedy přenášet ze zvířat na člověka. Ačkoli je nákaza člověka vzácná, riziko zůstává vysoké zejména u pracovníků drůbežích farem a lidí, kteří přicházejí do styku s ptáky. Vysoká mutabilita viru a možnost přenosu na člověka jsou dalšími faktory, které vyžadují neustálé sledování a kontrolu, protože by mohly vést ke vzniku pandemického kmene, který by představoval riziko pro veřejné zdraví. V roce 2024 byla publikována studie o vývoji vakcíny proti některým vysoce patogenním subtypům ptačí chřipky (H5 a H9) (Elbohy et al., 2024). Jako platforma pro výrobu vakcíny byl použit tabák. Vektory s geny kódující virové hemaglutininy H5 a H9 byly přeneseny do bakterie *Agrobacterium* a následně dopraveny do listů tabáku metodou agroinfiltrace. V rostlinných buňkách došlo k expresi viru podobných částic (VLPs) obsahujících hemaglutininy H5 nebo H9. Pro posouzení schopnosti vakcíny stimulovat imunitní odpověď byly provedeny studie na myších. Na rozdíl od kuřat je pro myši k dispozici více komerčních reagentů pro měření imunitní odpovědi, včetně souprav ELISpot, které stanoví počet buněk sekretujících IFN- γ , což slouží jako indikátor antigen-specifické odpovědi T buněk. Po potvrzení imunogenicity VLPs u myší byla vakcína testována na kuřatech, která jsou ideálním modelem pro studium imunogenicity vakcín proti ptačí

chřipce, protože jsou primárními hostiteli viru. Šest kuřat dostalo jednu dávku vakcíny s antigenem H5 a jejich imunitní odpověď byla vyhodnocena pomocí PVNT. Tento test se používá k měření schopnosti neutralizačních protilátek zabránit infekci způsobené virem nebo částicemi podobnými viru. V tomto případě byla hodnocena neutralizace hemaglutininu H5. Výsledky ukázaly, že neutralizační protilátky proti hemaglutininu se objevily 7. den po očkování. Jejich maximální aktivita byla dosažena 14. den, přičemž průměrná účinnost neutralizace byla přibližně 55 %. Výsledky se však lišily: u některých kuřat byla neutralizace nižší než 50 %, zatímco u jiného kuřete dosáhla 87 %. Po 21. dni začaly titry protilátek postupně klesat, ke 42. dni dosáhly minimálních hodnot. Jako negativní kontrola byla použita krev z nevakcinovaných kuřat, u kterých nebyla zjištěna žádná neutralizační aktivita. Autoři studie navrhli, že použití boosteru před vakcinací by mohlo zvýšit hladiny neutralizačních protilátek i jejich stabilitu. To podporuje potřebu dalšího výzkumu.

6. Přednosti a omezení rostlinných vakcín v porovnání s tradičními metodami

V úvodní části této práce byly krátce zmíněny výhody rostlinných vakcín. Tyto aspekty, včetně nákladů a rychlosti výroby, rizik možných alergických reakcí a vnímání veřejností, budou nyní podrobněji rozvedeny, aby bylo možné vyhodnotit jejich potenciál ve srovnání s tradičními metodami. Hlavními faktory, nezbytnými pro úspěšnou vakcínu, jsou účinnost, bezpečnost, cenová dostupnost, snadná výroba a důvěra veřejnosti. Pokud vakcína neposkytuje dostatečnou úroveň ochrany nebo způsobuje závažné vedlejší účinky u velkého množství lidí, nemůže být masově používána. Zásadní je také i otázka ceny: pokud jsou výrobní náklady příliš vysoké, nemusí se farmaceutickým společnostem výroba vakcíny vyplatit z důvodu omezeného trhu, ale i když se takový přípravek vyrobí, nebude dostupný všem, kteří ho potřebují. Extrémním příkladem může být genová terapie pro léčbu spinální svalové atrofie pomocí přípravku Zolgensma, který stojí přibližně 2 miliony dolarů (Nuijten, 2021). Pokud jde o vakcíny, tak například Gardasil 9, vakcína proti lidskému papilomaviru stojí asi 300 dolarů za dávku (k plné ochraně jsou potřeba tři dávky) (Gardasil9, 2024), a vakcína proti Ebole stojí skoro 100 dolarů (UNICEF, 2024). Otázka snížení nákladů na výrobu vakcín, což by snížilo cenu konečného produktu, je nyní velmi aktuální. V další části práce bude probráno, zda použití rostlinných platform pomáhá snížit výrobní náklady, aniž by byla ohrožena účinnost a bezpečnost.

6.1 Ekonomika výroby vakcín: rostlinné platformy ve srovnání s tradičními metodami.

Většina studií, kde je popsán vývoj vakcín pomocí rostlinných platform, poukazuje na jejich potenciálně nízké výrobní náklady, vysokou účinnost syntézy proteinů, a tedy nízkou finální cenu.

To je argumentováno rychlým růstem rostlin a vysokými výnosy, což naznačuje možnost konkurence s vakcínami vyrobenými na jiných platformách. Jen málo studií však poskytuje skutečné údaje o nákladech na výrobu takových vakcín, včetně nákladů na rostlinný materiál, elektřinu, vodu, půdu, mzdy pracovníkům v laboratořích a biotechnologické čištění (Downstream processing, DSP), které často tvoří významnou část celkových nákladů na vakcínu. V těch pracích, kde jsou taková data prezentována, nejsou výsledky tak působivé, jak se často uvádí v populárně vědecké literatuře. Jaké jsou skutečné náklady na výrobu vakcín na rostlinných platformách ve srovnání s jinými technologiemi a která z těchto metod je ve skutečnosti nákladově efektivnější?

Myšlenka, že výroba rostlinných vakcín by mohla být levná, nevznikla z ničeho: náklady na kultivaci a pěstování rostlin skutečně nejsou tak vysoké, pokud k tomu připočteme nízké náklady na suroviny, tak by nám vznikla docela levná platforma pro výrobu vakcín. Skutečnost je však mnohem složitější. Studie z roku 2019 ukazuje, že náklady na pěstování rostlin (na příkladě tabáku) tvoří pouze 16 % celkových nákladů na výrobu, zatímco zbylých 84 % souvisí s biotechnologickým čištěním (DSP). Výsledkem je konečný produkt, který není tak levný: Jedna z mála výzkumných skupin, které uvádějí skutečné náklady na výrobu, odhadla celkové náklady procesu na 87 550 €, včetně výdajů na pracovní sílu, spotřební materiál, odpisy infrastruktury pro pěstování rostlin a následné zpracování. V přepočtu na purifikovanou protilátku to odpovídá 1 137 € za gram (Schillberg et al., 2019). Na základě výsledků této studie lze posoudit, že tyto vakcíny nemohou v současné době vážně konkurovat například vakcínám připraveným na buněčných kulturách (jako linie z vaječniců čínského křečka (CHO)), jejichž cena v některých případech může být nižší než 25 USD za gram (Kelley, 2007). Vysoké náklady na čištění bílkovin, které jsou nutné k výrobě konečného produktu, jsou významnou překážkou vývoje skutečně nákladově efektivních vakcín na rostlinné bázi, ale tyto náklady lze potenciálně snížit.

6.2 Rostlinné platformy jako základ bezpečných a hypoalergenních vakcín.

Alergické reakce na vakcíny vždy byly a jsou jedním z důvodů pro odmítnutí očkování i proti závažným onemocněním, proti kterým existuje povinné očkování. Snaha minimalizovat alergická rizika a zajistit, aby bylo očkováno co největší procento populace, je jedním z klíčových faktorů při vývoji nových vakcín. Při dosahování tohoto cíle mohou hrát důležitou roli rostlinné platformy pro výrobu vakcín.

Slepičí vejce jsou dlouhodobě jednou z nejvyhledávanějších platform pro výrobu vakcín. Navzdory vzniku modernějších platform, jako jsou savčí buněčné kultury, se stále vyrábí mnoho vakcín na bázi vajec. Příkladem jsou některé vakcíny proti chřipce (CDC, 2024), klíšťové encefalitidě (Vakciny.net, 2018), žluté zimnici (FDA, 2019) a MMR. Za jednu z hlavních nevýhod těchto vakcín

však byla vždy považována alergie na vaječné bílkoviny. Alergie na vejce je jednou z nejčastějších potravinových alergií na světě a patří mezi potravinové alergeny tzv. „velké devítky“ (FDA Food Code 2022, 2023), kam kromě vajec patří potraviny jako arašídý, sezamová semínka, stromové ořechy, sója, pšenice, ryby, mořské plody a mléčné výrobky. Alergie na vejce se nejčastěji vyskytuje u dětí, což je období života, kdy se podává hodně povinných vakcín, některé z nich (například MMR) mají ve svém základě vejce. Velká statistická studie, publikovaná v roce 2015, ukázala, že asi 1 % dětí do 2 let má alergii na vajíčka a v západoevropských zemích může toto číslo dosahovat až 2 % (Xepapadaki et al., 2016). S věkem může alergie na vejce, stejně jako mnoho jiných potravinových alergenů, vymizet, ale ne u každého se to stává. Pro lidi s alergií na vajíčka a jejich rodiče se tato situace může zdát vzhledem k důležitosti očkování v raném věku beznadějná. Moderní výzkumy však ukazují, že většina vakcín na bázi vajec je bezpečná i pro ty, kteří trpí alergií na vejce.

Ve studii z roku 2020 byla pacientovi s potvrzenou alergií na vejce podána kombinovaná vakcína proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím. Pacient během očkování ani po něm nezaznamenal žádné alergické reakce, což dokládá bezpečnost použití této vakcíny u alergiků za normálních podmínek. U pacientů, kteří dříve prodělali anafylaktický šok po konzumaci vajec, se však stále doporučuje opatrnost. V takových případech by mělo být očkování prováděno pod přísným dohledem lékařů, aby se minimalizovalo riziko závažných reakcí (Magistà et al., 2020). Navzdory pozitivním výsledkům, získaným v této studii, není jejich platnost univerzální, protože kromě klasické alergie spojené s imunoglobulinem E existuje také syndrom známý jako FPIES, který je často spouštěn konzumací vajec. Mohou však být lidé s tímto syndromem bezpečně očkováni? Studie z roku 2022 zjistila, že ano. Zúčastnilo se jí 13 dětí s tímto syndromem, přičemž žádné z nich nemělo po první dávce vakcíny alergickou reakci (Sinatti et al., 2022). Tyto studie by měly snížit nedůvěru alergiků k těmto vakcínám, ale strach stále obvykle převládá. Přes všechny úspěchy mnozí rodiče dětí s alergií na vajíčka i lékaři, zejména konzervativní, nadále pochybují o bezpečnosti takových vakcín. V této souvislosti mohou být řešením rostlinné vakcíny, protože očkování přípravkem na bázi brambor nebo banánů se může zdát bezpečnější (samozřejmě pokud na tyto přípravky nejste alergičtí). Rostlinné vakcíny mohou být nadějí pro rodiče a lékaře, kteří se bojí převzít odpovědnost za případné alergické reakce, a proto často odmítají takové děti očkovat.

6.3 Rostoucí vlna odmítání očkování: mohou rostlinné vakcíny vrátit důvěru?

V poslední době stále více lidí pochybuje o bezpečnosti a účinnosti vakcín a tato nedůvěra se projevuje hromadným odmítáním očkování. Rodiče se obávají o zdraví svých dětí a volí cestu odmítání, což může mít vážné důsledky pro veřejné zdraví. Mohou se rostlinné vakcíny stát alternativou, která může obnovit důvěru lidí v bezpečnost a nutnost očkování?

Nedůvěra k vakcínám existovala již od jejich zavedení. V 19. a 20. století byly obavy lidí oprávněné: nízká úroveň hygieny, neověřené technologie a nedostatek velkých klinických studií. vyvolávaly pochybnosti. V 21. století, když jsou technologie na vysoké úrovni, léky procházejí několikastupňovými klinickými testy a medicína je ve většině zemí velice rozvinutá, by však zdánlivě neměly být důvody nedůvěřovat vakcínám. Studie však ukazují opak. Podle studie z roku 2011 ve Spojených státech pouze 23 % rodičů plně důvěřovalo dětskému očkování, zatímco 77 % mělo různé pochybnosti (Kennedy et al., 2011). O deset let později, v roce 2021, se ukázalo, že pouze 34 % Američanů plně podporuje očkování, ostatní mají různé pochybnosti, přičemž 7 % jsou aktivní odpůrci očkování (anti-vax) (Gravelle et al., 2022), což zvyšuje riziko poklesu kolektivní imunity a může vést k propuknutí nebezpečných onemocnění. V Kanadě a Velké Británii je situace o něco lepší, ale stále je daleko od ideálu.

Důvody pro odmítnutí očkování jsou různé, od náboženského přesvědčení a strachu z komplikací až po veganské zásady a strach z injekcí. Rostlinné vakcíny sice nemohou vyřešit všechny tyto problémy, ale mohou k očkování přilákat přísné vegany a ty, kteří se bojí injekcí (při použití orálních vakcín). Je také možné, že takové vakcíny vzbudí větší důvěru u lidí s nižší úrovní vzdělání, protože vypadají bezpečněji. Rostlinné vakcíny tak mohou pomoci zvýšit důvěru, a tím i proočkovanosť, která je nezbytná pro udržení kolektivní imunity. Navzdory významnému potenciálu rostlinných vakcín zvýšit důvěru veřejnosti v očkování mají také velkou nevýhodu, kterou nelze ignorovat. Vakcíny na rostlinné bázi, ať už ve formě jedlých plodů nebo extraktů pro injekci, jsou geneticky modifikované produkty. To může u velké části populace vyvolat nedůvěru, zejména vzhledem ke vztahům veřejnosti oproti GM potravinám. Studie provedená v letech 2019 až 2021 zjistila, že 34 % anglicky mluvících lidí je proti konzumaci GMO potravin (Sohi et al., 2023). Další studie provedená v roce 2020 zjistila, že nedůvěra vůči GMO narůstá, přičemž 51 % Američanů se domnívá, že konzumace geneticky modifikovaných potravin je horší než konzumace konvenčních potravin (Pew Research Center, 2024). Postoj ke GM vakcínám může být samozřejmě odlišný, ale při vývoji a propagaci těchto vakcín je třeba tomuto aspektu věnovat pozornost.

6.4 Časově efektivní výroba vakcín: Rychlost jako jedna z klíčových výhod rostlinných platforem pro výrobu vakcín.

Rostlinné systémy umožňují vytvořit vakcíny v co nejkratším čase, což je velice důležité zejména při vzniku nové epidemie. V takovém případě lze vakcínu vyvinout a distribuovat už během několika týdnů, což může zachránit stovky a tisíce životů. Ve studii z roku 2011 trval proces výroby vakcíny proti chřipce s využitím rostlinných platforem přibližně dva měsíce (Shoji et al., 2012). Z toho čtyři týdny trvalo pěstování tabáku pro následnou agroinfiltraci a ostatní kroky zabraly podstatně méně času. Výběr rychleji rostoucích rostlin a použití moderních klonovacích, purifikačních a dalších

technik může dobu výroby dále zkrátit. Tato vlastnost rostlinných platform je zvláště důležitá jak v případě vzniku nových chorob, které vyžadují rychlou tvorbu vakcíny, tak i v případě pravidelného očkování, jako je například očkování proti chřipce. Pro srovnání, vytvoření klasické vakcíny proti chřipce na bázi slepičích vajec trvá přibližně 5–6 měsíců (WHO, 2024). To vynucuje zahájit přípravy na očkovací kampaň dlouho před vypuknutím epidemie. Takto dlouhý proces však může vést k nesouladu mezi kmeny viru, ze kterých byla vakcína vytvořena, a těmi, které budou relevantní v aktuální sezoně. To snižuje účinnost očkování. V takové situaci mohou rostlinné vakcíny hrát důležitou podpůrnou roli. Po obdržení informací o převládajícím kmeni chřipky v aktuální sezoně mohou epidemiologové během několika týdnů vyvinout vhodnou vakcínu, která zvýší účinnost imunizace a sníží nemocnost. Tato vlastnost rostlinných platform, jako základu pro výrobu vakcín, se již v praxi osvědčila, například v roce 2014 během epidemie Eboly. Tento příklad jasně ukazuje potenciál rostlinných vakcín jako flexibilního a pohotového nástroje v krizových situacích.

Rychlá výroba rostlinných vakcín může hrát zásadní roli v případě nedostatku tradičních vakcín na bázi vajec. Například v zimě 2023 v Rusku byly zaznamenány problémy s dodávkami slepičích vajec, což vedlo k nedostatku vakcín proti spalničkám, zarděnkám, průšnicím a chřipce. Tato situace byla dočasně stabilizována zvýšením cen vajec (až na 60 procent), což vyvolalo nespokojenost obyvatelstva (Forbes, 2024). V budoucnu by se podobným krizím dalo předejít využitím rostlinných vakcinačních platform jako nouzového řešení deficitu.

6.5 Dávkování jedlých rostlinných vakcín: od slibného začátku až po dočasné zastavení.

Jak již bylo zmíněno dříve v této práci, jednou z klíčových hnacích sil pro rozvoj využití rostlin jako platform pro výrobu vakcín byla myšlenka očkování bez injekcí a vyhnutí se nutnosti kontaktu se zdravotníky v bílých pláštích, kterých se mnozí, zejména děti, obávají. Ačkoli je tato myšlenka stará již více než 30 let a rostliny se skutečně začaly využívat k výrobě vakcín a dalších léčiv, z nichž některé již prošly testováním nebo jsou v klinických studiích, plně jedlé vakcíny, které by mohly zajistit imunitu po konzumaci konkrétního produktu, se zatím neobjevily. Například konzumace rajčete nebo salátu ze supermarketu, která by umožnila získat imunitu proti chřipce nebo spalničkám, je stále za hranicí představitosti a je pravděpodobné, že takové vakcíny nebudou v blízké budoucnosti k dispozici.

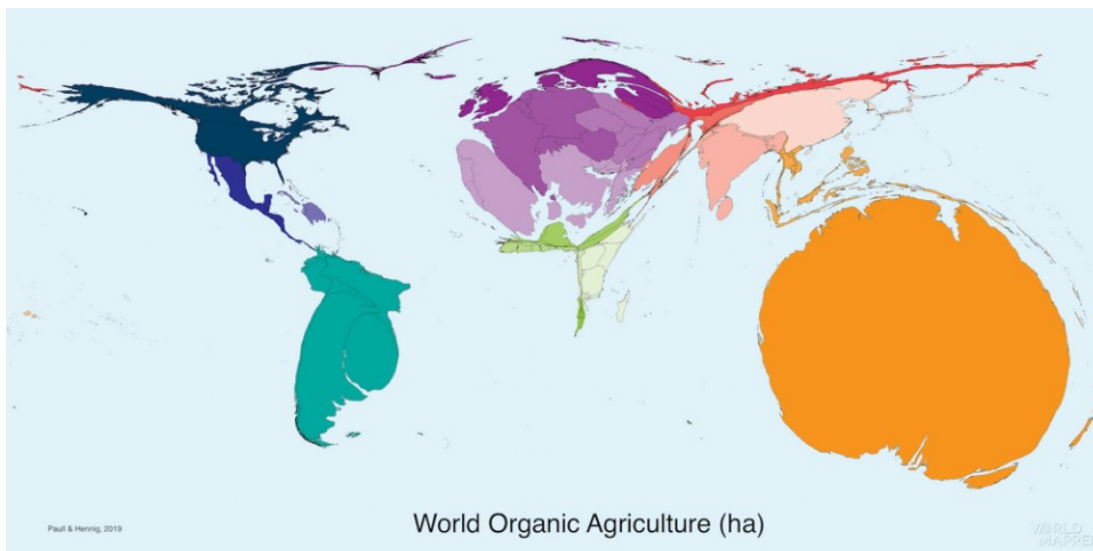
Jedním z klíčových důvodů, proč ještě nebyly realizovány jedlé vakcíny ve formě ovoce a zeleniny, je složitost regulace hladin exprese proteinů v transgenních rostlinách. I za stejných podmínek pěstování se mohou plody nebo jiné části rostlin lišit velikostí a hmotností, což ovlivňuje obsah účinné složky vakcíny. V důsledku toho je zatím náročné poskytnout přesné a stabilní dávkování: jedna osoba může dostat nedostatečnou dávku k vytvoření plné imunitní odpovědi,

zatímco jiná může dostat dávku, která překračuje bezpečné limity. Tento aspekt znemožňuje použití celých rostlin jako vakcín v jejich přirozené formě. Dalším důležitým problémem je nízká úroveň exprese virových proteinů v některých rostlinách, takže je nutné konzumovat několik plodů, listů, hlíz nebo semen, aby byla zajištěna dostatečná úroveň imunitní ochrany. To ztěžuje použití jedlých vakcín, protože ke konzumaci jedné účinné dávky pacient musí sníst občas velké množství rostlinného materiálu, což může být nepříjemné. V případě tablet a injekcí není tento problém tak kritický, protože je mnohem jednodušší zvýšit koncentraci účinné látky v malém objemu léčiva. Pacient díky tomu nemusí konzumovat například pět tablet najednou. Třetím problémem je skladování a přeprava. Čerstvé ovoce a rostliny mají omezenou trvanlivost, která se pohybuje od několika dnů až po měsíce, jako je tomu v případě brambor. To vyžaduje rychlou realizaci vakcíny, což vytváří další logistické a ekonomické potíže, zejména pokud se týkají rozvozu na velké vzdálenosti. Stabilnější formy vakcín, jako jsou tablety, injekce nebo lyofilizované prášky z rostlinných tkání, jsou z hlediska dlouhodobého skladování a přepravy mnohem vhodnější.

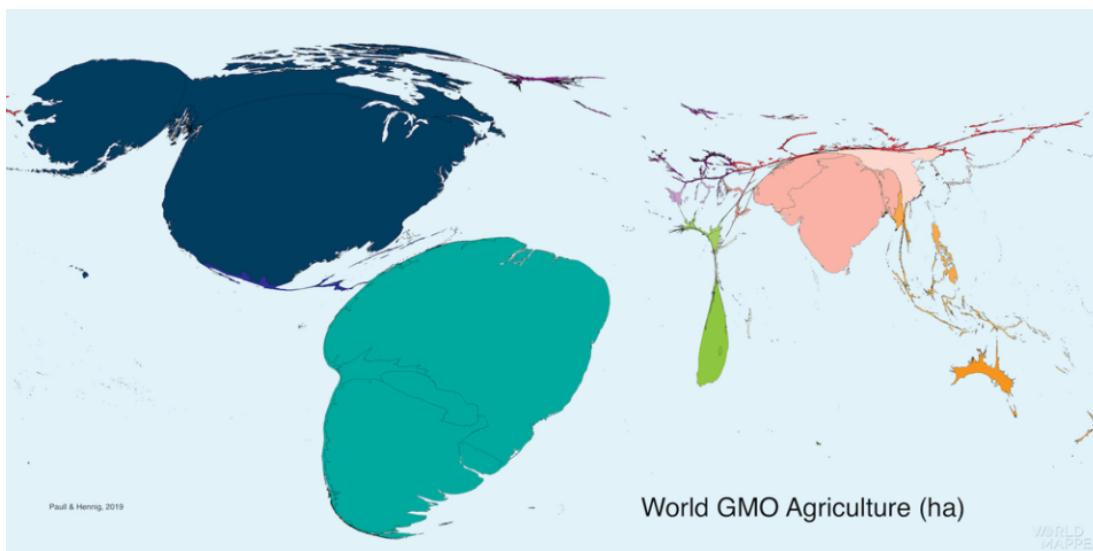
6.6 GMO rostliny pro výrobu vakcín: hrozba pro životní prostředí nebo bezpečná inovace?

Otázka bezpečnosti použití transgenních rostlin pro výrobu vakcín zdaleka přesahuje rámec medicíny. Jednou z klíčových obav a velkou překážkou je potenciální dopad pěstování takových rostlin na životní prostředí a okolní plodiny.

Jak již bylo zmíněno dříve v této kapitole, postoj ke geneticky modifikovaným organismům (GMO) je dnes velmi kontroverzní, což má významný dopad na legislativu upravující pěstování, import, export a používání transgenních rostlin ve farmaceutickém průmyslu. Zvláště přísné zákony, týkající se GMO, jsou v zemích Evropské unie (včetně České republiky (Zákony pro lidi, 2024)), Rusku a Austrálii, které kladou důraz na produkci organických produktů (viz obrázek 4). V těchto zemích je pěstování a import transgenních rostlin přísně omezen. GMO produkty, pokud jsou povoleny na trhu, musí projít velkým množstvím bezpečnostních kontrol a musí být označeny speciální značkou, aby informovaly spotřebitele. V zemích s mírnější legislativou, jako jsou Spojené státy a jihoamerické země, je proces uvádění GMO produktů na trh výrazně zjednodušen. Zde mají geneticky modifikované rostliny méně překážek pro použití v potravinářském i farmaceutickém průmyslu (viz obrázek 5).



Obrázek 4: Světová mapa hektarů certifikovaného ekologického zemědělství (kartogram vyrovnávající hustotu) (Olayide et al., 2019).

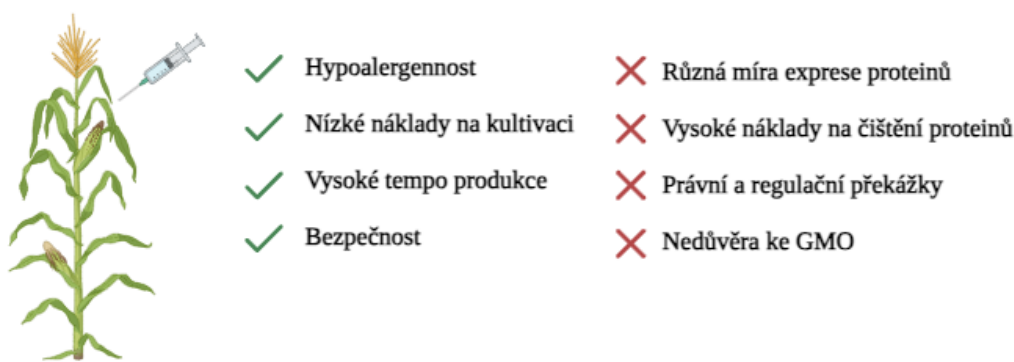


Obrázek 5: Světová mapa hektarů GMO zemědělství (kartogram vyrovnávající hustotu) (Olayide et al., 2019).

Negativní postoje vůči GMO v některých zemích mohou výrazně zpomalit přijetí rostlinných vakcín pro široké použití. Klíčovou překážkou je riziko přenosu genů mezi transgenními a konvenčními rostlinami. Stalo se tak již v roce 2001, kdy mexické úřady objevily transgenní kukuřici rostoucí mezi běžnou kukuřicí (Quist and Chapela, 2001). Takové míchání genů transgenních rostlin s běžnými rostlinami může vést k tomu, že ovoce a zelenina, prodávané v obyčejných obchodech, mohou obsahovat části virového genomu a sloužit také jako vakcíny, ale s neznámým dávkováním, takže konzumace takových produktů může způsobit vážné zdravotní problémy. Jedním z možných řešení tohoto problému může být použití rostlin pěstovaných v kontrolovaných podmínkách, jako jsou

skleníky, kde je riziko kontaktu s konvenčními rostlinami minimální. Rostliny, jako jsou rajčata nebo salát, by mohly být ideální platformou pro výrobu vakcín, protože vyžadují méně prostoru pro pěstování a jsou lépe izolované od vnějšího prostředí.

Rostlinné vakcíny mají mnoho výhod, jako jsou hypoalergenita, nízké náklady na kultivaci a vysoká rychlost produkce, ale na cestě k jejich masovému použití stále existuje řada překážek (obrázek 6). Vysoké náklady na downstream processing a potíže se schvalováním GMO produktů ve většině zemí jsou hlavními problémy, které je třeba vyřešit. Pokud však takové překážky budou překonány, mohly by takové vakcíny splňovat všechna kritéria úspěšného farmaceutického produktu: bezpečnost, účinnost, cenová dostupnost, snadná výroba a důvěra veřejnosti.



Created in BioRender.com

Obrázek 6: Plusy a minusy rostlinných platforem pro výrobu vakcín.

7. Závěr a diskuze

Výzkum rostlinných vakcín probíhá již desítky let, ale do dnešního dne dosáhlo významnějších úspěchů jen několik projektů. Patří mezi ně vakcína proti chřipce (Ward et al., 2021), vakcína proti COVID-19 (obě vyvinuté společností Medicago) a terapie proti Ebole (ZMapp). Přesto zatím rostlinné vakcíny nezískaly širší uplatnění, jaké se očekávalo na začátku jejich vývoje.

Důkazem výzev, kterým čelí tento obor, je i uzavření společnosti Medicago Inc. (jedna z největších společností zaměřených na výrobu rostlinných vakcín) v únoru 2023 kvůli ztrátě financování ze strany The Mitsubishi Chemical Group. Důvodem byl klesající zájem o vakcíny proti COVID-19 a také potíže s přechodem na komerční výrobu. V oficiálním prohlášení společnost uvedla, že po komplexní analýze globální poptávky, tržního prostředí a nákladů na komercializaci se rozhodla ukončit investice do dalšího vývoje produktů Medicago (MCGC, 2025). Tento případ ukazuje, že i přes slibné technologické možnosti rostlinných vakcín jejich úspěch závisí na

dlouhodobé finanční podpoře, kterou je jen málo sponzorů ochotno dlouhodobě poskytovat, pokud společnost nedosáhne komerčních úspěchů.

Na druhou stranu, řada dalších společností, včetně BioApp, KBio a Baiya Phytopharm nadále aktivně pracuje a pokračuje v hledání nových přístupů ve výrobě rostlinných vakcín. Rostlinné vakcíny pro veterinární medicínu jsou přitom slibným směrem. Jejich vývoj a schvalování podléhají méně přísným předpisům než lidské vakcíny, což urychluje jejich uvedení na trh. To by mohl být důležitý krok ke zvýšení důvěry v platformy založené na rostlinách a k jejich dalšímu rozvoji. Vývoj rostlinných vakcín je navíc v souladu se současnými trendy, jako jsou upouštění od živočišných vakcín, rostoucí počet lidí vyznávajících veganství a potřeba hypoalergenních alternativ. To naznačuje, že pokud se podaří překonat stávající technologické překážky, jako jsou například náklady na čištění, rostlinné vakcíny mohou v následujících desetiletích najít širší uplatnění. Přestože dosud nesplnily všechna očekávání, jejich vysoká rychlost výroby, možnost orální aplikace a soulad s etickými a medicínskými trendy naznačují, že tato platforma může hrát významnější roli v boji proti lidským i zvířecím chorobám v budoucnosti.

8. Seznam použité literatury

(*přehledové články)

Ali Z, Abul-faraj A, Li L, Ghosh N, Piatek M, Mahjoub A, Aouida M, Piatek A, Baltes NJ, Voytas DF, Dinesh-Kumar S, Mahfouz MM (2015). Efficient virus-mediated genome editing in plants using the CRISPR/Cas9 system. *Mol Plant*. 8(8):1288–1291.

Anderson R, May R (1982). Directly transmitted infectious diseases: Control by vaccination. *Science*, 215 (4536): 1053–1060.

*Artzen CJ (1997). Edible vaccines. *Public Health Rep*. May-Jun;112(3):190-7.

Ashraf S, Singh PK, Yadav DK, Shahnawaz M, Mishra S, Sawant SV, Tuli R (2005). High level expression of surface glycoprotein of rabies virus in tobacco leaves and its immunoprotective activity in mice. *J Biotechnol*. 119(1):1-14.

* Behrooz D, Farajnia S, Toorchi M, Zakerbostanabad S, Noeparvar S, Jr C (2008). DNA-Delivery Methods to Produce Transgenic Plants. *Biotechnology*. 7:385-402.

*Brahmbhatt M (2005). Avian and Human Pandemic Influenza: Economic and Social Impacts. World Bank.

CDC. (2024, listopad 5). Avian Influenza in Birds: Causes and How It Spreads. <https://www.cdc.gov/bird-flu/virus-transmission/avian-in-birds.html>.

CDC. (2024, srpen 28). FAQ Flu Season 2023-2024. <https://www.cdc.gov/flu/season/faq-flu-season-2023-2024.htm>.

Clarke JL, Paruch L, Dobrica MO, Caras I, Tucureanu C, Onu A, Ciulean S, Stavaru C, Eerde A, Wang Y, Steen H, Haugslien S, Petrareanu C, Lazar C, Popescu CI, Bock R, Dubuisson J, Branza-Nichita N (2017). Lettuce-produced hepatitis C virus E1E2 heterodimer triggers immune responses in mice and antibody production after oral vaccination. *Plant Biotechnol J*. 15(12):1611-21.

ClinicalTrials.gov. (2024, srpen 20). Study of a Recombinant Coronavirus-Like Particle COVID-19 Vaccine in Adults. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04636697?tab=history&a=26#version-content-panel>.

Elbohy OA, Iqbal M, Daly JM, Dunham SP (2024). Development of Virus-like Particle Plant-Based Vaccines against Avian H5 and H9 Influenza A Viruses. *Vet Sci*. 11(2):93.

Elkholy S, Ismail R, Bahieldin A, Sadik A, Madkour M (2009). Expression of Hepatitis B surface Antigen (HBsAg) gene in transgenic banana (*Musa sp.*). *Arab J. Biotech*. 291-302.

Enders JF, Weller TH, Robbins FC (1949). Cultivation of the Lansing Strain of Poliomyelitis Virus in Cultures of Various Human Embryonic Tissues. *Science*. 109(2822):85-7.

Farsad AS, Malek Zadeh S, Moshtaqi N, Fotouhi F, Zibaei S (2016). Transient expression of HA1 antigen of avian influenza virus (H5N1) in alfalfa, soybean and lettuce leaves by agroinfiltration. *Agric Biotechnol J.* 8:61-80.

FDA. (2019). Yellow Fever Vaccine. <https://www.fda.gov/media/76015/download>.

Federal Reserve Bank of St. Louis. (2024, srpen 7). PBANSOPUSDM. <https://fred.stlouisfed.org/series/PBANSOPUSDM>.

*Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID (1988). Early efforts at control: variolation, vaccination, and isolation and quarantine. *History of International Public Health*, No. 6. Geneva: World Health Organization. 245-76.

Fikrig E, Barthold SW, Kantor FS, Flavell RA (1990). Protection of mice against the Lyme disease agent by immunizing with recombinant OspA. *Science.* 250(4980):553-6.

*Forbes. (2024, září 2). ЦБ объяснил рост цен на яйца повышенным спросом среди фармацевтических компаний. <https://www.forbes.ru/biznes/505782-cb-ob-asnil-rost-cen-na-ajca-povysennym-sprosom-sredi-farmaceutviceskih-kompanij?ysclid=m0gq8528ks226679563>.

Gardasil9. (2024, srpen 22). Cost information. <https://www.gardasil9.com/patient-a/cost/>.

Goodpasture EW, Woodruff AM, Buddingh GJ (1931). The cultivation of vaccine and other viruses in the chorioallantoic membrane of chick embryos. *Science.* 74(1919):371-2.

Government of Canada. (2025, leden 29). Medicago. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/covid19-industry/drugs-vaccines-treatments/vaccines/medicago.html#a1>.

Gravelle TB, Phillips JB, Reifler J, Scotto TJ (2022). Estimating the size of "anti-vax" and vaccine hesitant populations in the US, UK, and Canada: comparative latent class modeling of vaccine attitudes. *Hum Vaccin Immunother.* 18(1):2008214.

Hager KJ, Pérez Marc G, Gobeil P, Diaz RS, Heizer G, Llapur C, Makarkov AI, Vasconcellos E, Pillet S, Riera F, Saxena P, Geller Wolff P, Bhutada K, Wallace G, Aazami H, Jones CE, Polack FP, Ferrara L, Atkins J, Boulay I, Dhaliwall J, Charland N, Couture MMJ, Jiang-Wright J, Landry N, Lapointe S, Lorin A, Mahmood A, Moulton LH, Pahmer E, Parent J, Séguin A, Tran L, Breuer T, Ceregido MA, Koutsoukos M, Roman F, Namba J, D'Aoust MA, Trepanier S, Kimura Y, Ward BJ; CoVLP Study Team (2022). Efficacy and safety of a recombinant plant-based adjuvanted Covid-19 vaccine. *N Engl J Med.* 386(22):2084-96.

Hiatt A, Cafferkey R, Bowdish K (1989). Production of antibodies in transgenic plants. *Nature.* 342(6245):76-8.

Hilleman MR, Buynak EB, Weibel RE, Stokes J Jr (1968). Live, attenuated mumps-virus vaccine. *N Engl J Med.* 278(5):227-32.

Hood E, Gelvin S, Melchers L, Hoekema A (1993). New *Agrobacterium* helper plasmids for gene transfer to plants. *Transgenic Res.* 2:208–218.

Huang Z, LePore K, Elkin G, Thanavala Y, Mason H (2008). High-yield rapid production of hepatitis B surface antigen in plant leaf by a viral expression system. *Plant Biotechnol J.* 6:202-9.

Chilton M-D, Drummond MH, Merlo DJ, Sciaky D, Montoya AL, Gordon MP, Nester EW (1977). Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis. *Cell* 11:263–271.

Jenner E (1801). On the origin of the vaccine inoculation. *Med Phys J.* 5(28):505-8.

Katz SL, Kempe CH, Black FL, Lepow ML, Krugman S, Haggerty RJ, Enders JF (1960). Studies on an attenuated measles-virus vaccine. VIII. General summary and evaluation of the results of vaccination. *Am J Dis Child.* 100:942-6.

Kelley B (2007). Very large scale monoclonal antibody purification: the case for conventional unit operations. *Biotechnol Prog.* 23(5):995-1008.

Kennedy A, Lavail K, Nowak G, Basket M, Landry S (2011). Confidence about vaccines in the United States: understanding parents' perceptions. *Health Aff (Millwood).* 30(6):1151-9.

Kim MY, Copland A, Nayak K, Chandele A, Ahmed MS, Zhang Q, Diogo GR, Paul MJ, Hofmann S, Yang MS, Jang YS, Ma JK, Reljic R (2018). Plant-expressed Fc-fusion protein tetravalent dengue vaccine with inherent adjuvant properties. *Plant Biotechnol J.* 16(7):1283-94.

*Kim YH, Hong KJ, Kim H, Nam JH (2022). Influenza vaccines: past, present, and future. *Rev Med Virol.* 32(1):e2243.

Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy DR, Schiller JT (1992). Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89(24):12180-4.

Kumar GB, Ganapathi TR, Revathi CJ, Srinivas L, Bapat VA (2005). Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic banana plants. *Planta.* 222(3):484-93.

Lamphear BJ, Jilka JM, Kesl L, Welter M, Howard JA, Streatfield SJ (2004). A corn-based delivery system for animal vaccines: an oral transmissible gastroenteritis virus vaccine boosts lactogenic immunity in swine. *Vaccine.* 22(19):2420-4.

Le Mauff F, Mercier G, Chan P, Burel C, Vaudry D, Bardor M, Vézina LP, Couture M, Lerouge P, Landry N (2015). Biochemical composition of haemagglutinin-based influenza virus-like particle vaccine produced by transient expression in tobacco plants. *Plant Biotechnol J.* 13(5):717-25.

*Ma JK, Drake PM, Christou P (2003). The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nat Rev Genet.* 4(10):794-805.

Magistà S, Albanesi M, Chaoul N, Di Bona D, Di Leo E, Nettis E, Caiaffa MF, Macchia L (2020). Safety of measles, mumps, and rubella vaccine in egg allergy: in vivo and in vitro management. *Clin Mol Allergy.* 18(1):21.

*McCarthy M (2014). US signs contract with ZMapp maker to accelerate development of the Ebola drug. *BMJ.* 349:g5488.

MCGC. (2025, leden 29). Overseas Consolidated Subsidiary, Medicago to Cease Operations. https://www.mcgc.com/english/news_release/pdf/01468/01708.pdf.

*Miller G (1957). *The Adoption of Inoculation for Smallpox in England and France.* University of Pennsylvania Press.

Morgenfeld M, Lentz E, Segretin ME, Alfano EF, Bravo-Almonacid F (2014). Translational fusion and redirection to thylakoid lumen as strategies to enhance accumulation of human papillomavirus E7 antigen in tobacco chloroplasts. *Mol Biotechnol.* 56(11):1021-31.

Nemchinov LG, Liang TJ, Rifaat MM, Mazyad HM, Hadidi A, Keith JM (2000). Development of a plant-derived subunit vaccine candidate against hepatitis C virus. *Arch Virol.* 145(12):2557-73.

Nuijten M (2021). Pricing Zolgensma - the world's most expensive drug. *J Mark Access Health Policy.* 10(1):2022353.

*Olayide O, Arnold M, Paull J, Hennig B, Lyons K (2019). World Maps of GMOs and Organic Agriculture. 6-8.

Pasteur M (1881). An Address on Vaccination in Relation to Chicken Cholera and Splenic Fever. *Br Med J.* 2(1076):283-4.

Pew Research Center. (2024, srpen 30). About half of U.S. adults are wary of health effects of genetically modified foods, but many also see advantages. <https://www.pewresearch.org/short-reads/2020/03/18/about-half-of-u-s-adults-are-wary-of-health-effects-of-genetically-modified-foods-but-many-also-see-advantages/>.

*Plant vaccines: edible, but how credible? (1996). *CVI Forum.* 1996:10-13.

Plotkin SA, Farquhar JD, Katz M, Buser F (1969). Attenuation of RA 27-3 rubella virus in WI-38 human diploid cells. *Am J Dis Child.* 118(2):178-85.

Pniewski T, Kapusta J, Bociąg P, Wojciechowicz J, Kostrzak A, Gdula M, Fedorowicz-Strońska O, Wójcik P, Otta H, Samardakiewicz S, Wolko B, Płucienniczak A (2011). Low-dose oral immunization with lyophilized tissue of herbicide-resistant lettuce expressing hepatitis B surface antigen for prototype plant-derived vaccine tablet formulation. *J Appl Genet.* 52(2):125-36.

Prajapati K, Bhadaniya B, Fefar D, Padodara R, Kumbhani T (2021). An Economical Impact of Newcastle Disease Outbreaks in Various Commercial Broiler Chicken Farms During 2020-21 in Gujarat, India. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 10:411-420.

PREVAIL II Writing Group; Multi-National PREVAIL II Study Team; Davey RT Jr, Dodd L, Proschan MA, Neaton J, Neuhaus Nordwall J, Koopmeiners JS, Beigel J, Tierney J, Lane HC, Fauci AS, Massaquoi MBF, Sahr F, Malvy D (2016). A Randomized, Controlled Trial of ZMapp for Ebola Virus Infection. *N Engl J Med.* 375(15):1448-56.

Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, Fausther-Bovendo H, Wei H, Aviles J, Hiatt E, Johnson A, Morton J, Swope K, Bohorov O, Bohorova N, Goodman C, Kim D, Pauly MH, Velasco J, Pettitt J, Olinger GG, Whaley K, Xu B, Strong JE, Zeitlin L, Kobinger GP (2014). Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 514(7520):47-53.

Quist D, Chapela IH (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature.* 414(6863):541–543.

Rassy D, Smith RD (2013). The economic impact of H1N1 on Mexico's tourist and pork sectors. *Health Econ.* 22(7):824-34.

Repiquet R (1891). Méthode de M. Pasteur pour prévenir la rage après morsure.

*Rybicki EP (2014). Plant-based vaccines against viruses. *Virol J.* 11:205.

Ryu G, Ahn G, Cha JY, Silvano KJ (2024). Production of plant-based recombinant vaccine against porcine deltacoronavirus in the form of bacteria-like particles using *Lactococcus lactis*. *J Plant Biol.* 67:153-60.

Schillberg S, Raven N, Spiegel H, Rasche S, Buntru M (2019). Critical Analysis of the Commercial Potential of Plants for the Production of Recombinant Proteins. *Front Plant Sci.* 10:720.

Scotti N, Alagna F, Ferraiolo E, Formisano G, Sannino L, Buonaguro L, De Stradis A, Vitale A, Monti L, Grillo S, Buonaguro FM, Cardi T (2009). High-level expression of the HIV-1 Pr55gag polyprotein in transgenic tobacco chloroplasts. *Planta.* 229(5):1109-22.

Shahid N, Samiullah TR, Shakoor S, Latif A, Yasmeen A, Azam S, Shahid AA, Husnain T, Rao AQ (2020). Early Stage Development of a Newcastle Disease Vaccine Candidate in Corn. *Front Vet Sci.* 7:499.

Shoji Y, Farrance CE, Bautista J, Bi H, Musiychuk K, Horsey A, Park H, Jaje J, Green BJ, Shamloul M, Sharma S, Chichester JA, Mett V, Yusibov V (2012). A plant-based system for rapid production of influenza vaccine antigens. *Influenza Other Respir Viruses.* 6(3):204-10.

Sinatti D, Mastellone F, Gelsomino M, Bersani G, Sopo SM (2022). The measles, mumps, rubella, varicella vaccination was safe in children with acute egg food protein-induced enterocolitis syndrome but anxiety was high. *Acta Paediatr.* 111(8):1594-5.

Siriwattananon K, Manopwisedjaroen S, Shanmugaraj B, Rattanapisit K, Phumiamorn S, Sapsutthipas S, Trisiriwanich S, Prompetchara E, Ketloy C, Buranapraditkun S, Wijagkanalan W, Tharakhet K, Kaewpang P, Leetanasaksakul K, Kemthong T, Suttisan N, Malaiwijitnond S, Ruxrungtham K, Thitithanyanont A, Phoolcharoen W (2021). Plant-produced receptor-binding domain of SARS-CoV-2 elicits potent neutralizing responses in mice and non-human primates. *Front Plant Sci.* 12:682953.

Smith T, O'Kennedy MM, Ross CS, Lewis NS, Abolnik C (2023). The production of Newcastle disease virus-like particles in *Nicotiana benthamiana* as potential vaccines. *Front Plant Sci.* 14:1130910.

Sohi M, Pitesky M, Gendreau J (2023). Analyzing public sentiment toward GMOs via social media between 2019-2021. *GM Crops Food.* 14(1):1-9.

Song SJ, Shin GI, Noh J, Lee J, Kim DH, Ryu GR, Ahn G, Jeon H, Diao HP, Park Y, Kim MG, Kim WY, Kim YJ, Sohn EJ, Song CS, Hwang I (2021). Plant-based, adjuvant-free, potent multivalent vaccines for avian influenza virus via *Lactococcus* surface display. *J Integr Plant Biol.* 63(8):1505-20.

Statista. (2024, srpen 14). Worldwide production of grain in 2024/25, by type. <https://www.statista.com/statistics/263977/world-grain-production-by-type/>.

Tacket CO, Mason HS, Losonsky G, Estes MK, Levine MM, Arntzen CJ (2000). Human immune responses to a novel norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. *J Infect Dis.* 182(1):302-5.

Taylor B, Miller E, Farrington CP, Petropoulos MC, Favot-Mayaud I, Li J, Waight PA (1999). Autism and measles, mumps, and rubella vaccine: no epidemiological evidence for a causal association. *The Lancet.* 353(9169):2026–2029.

*Taylor NJ, Fauquet CM (2002). Microparticle bombardment as a tool in plant science and agricultural biotechnology. *DNA Cell Biol.* 21(12):963-77.

Thanavala Y, Mahoney M, Pal S, Scott A, Richter L, Natarajan N, Goodwin P, Arntzen CJ, Mason HS (2005). Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(9):3378-82.

Theiler M, Smith HH (1937). The effect of prolonged cultivation in vitro upon the pathogenicity of yellow fever virus. *J Exp Med.* 65(6):767-86.

*Trombetta CM, Marchi S, Manini I, Lazzeri G, Montomoli E (2019). Challenges in the development of egg-independent vaccines for influenza. *Expert Rev Vaccines.* 18(7):737-50.

U.S. Department of Agriculture. (2024, srpen 12). Food Data Central – Nutrients. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2346401/nutrients>.

U.S. Department of Agriculture. (2024, srpen 14). Food Data Central – Nutrients. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2512381/nutrients>.

U.S. Food and Drug Administration. (2023). Food Code 2022: Recommendations of the United States Public Health Service. <https://www.fda.gov/media/164194/download>.

UNICEF. (2021). Ebola vaccines prices. <https://www.unicef.org/supply/media/6956/file/Ebola-vaccines-prices-11012021.pdf>.

Vakciny.net. (2018). Příbalová informace: Encepur pro děti. <https://www.vakciny.net/object?id=236>.

Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM, Malik M, Berelowitz M, Dhillon AP, Thomson MA, Harvey P, Valentine A, Davies SE, Walker-Smith JA (1998). Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *The Lancet*. 351(9103):637–641.

Wang Y, Deng H, Zhang X, Xiao H, Jiang Y, Song Y, Fang L, Xiao S, Zhen Y, Chen H (2009). Generation and immunogenicity of Japanese encephalitis virus envelope protein expressed in transgenic rice. *Biochem Biophys Res Commun*. 380(2):292-7.

Ward BJ, Séguin A, Couillard J, Trépanier S, Landry N (2021). Phase III: Randomized observer-blind trial to evaluate lot-to-lot consistency of a new plant-derived quadrivalent virus-like particle influenza vaccine in adults 18-49 years of age. *Vaccine*. 39(10):1528-33.

Webster DE, Smith SD, Pickering RJ, Strugnell RA, Dry IB, Wesselingh SL (2006). Measles virus hemagglutinin protein expressed in transgenic lettuce induces neutralising antibodies in mice following mucosal vaccination. *Vaccine*. 24;24(17):3538-44.

Wesley RD, Woods RD (1993). Immunization of pregnant gilts with PRCV induces lactogenic immunity for protection of nursing piglets from challenge with TGEV. *Vet Microbiol*. 38(1-2):31-40.

WHO. (2024, srpen 20). WHO makes new recommendations for Ebola treatments – calls for improved access. <https://www.who.int/news/item/19-08-2022-who-makes-new-recommendations-for-ebola-treatments-----calls-for-improved-access>.

WHO. (2024, září 2). Pandemic influenza vaccine manufacturing process and timeline. <https://www.who.int/news/item/06-08-2009-pandemic-influenza-vaccine-manufacturing-process-and-timeline>.

WHO. (2025, duben 24). Measles vaccination coverage. <https://immunizationdata.who.int/global/wiise-detail-page/measles-vaccination-coverage>.

WHO. (2025, leden 12). Smallpox. https://www.who.int/health-topics/smallpox#tab=tab_1.

Wigdorovitz A, Carrillo C, Dus Santos MJ, Trono K, Peralta A, Gómez MC, Ríos RD, Franzone PM, Sadir AM, Escribano JM, Borca MV (1999). Induction of a protective antibody response to foot and mouth disease virus in mice following oral or parenteral immunization with alfalfa transgenic plants expressing the viral structural protein VP1. *Virology*. 255(2):347-53.

Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, Felgner PL (1990). Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science*. 247(4949 Pt 1):1465-8.

World Bank. (2025, duben 25). GDP (current US\$) – Mexico. <https://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.MKTP.CD?locations=MX>.

Wu J, Yu L, Li L, Hu J, Zhou J, Zhou X (2007). Oral immunization with transgenic rice seeds expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus induces protective immune responses in chickens. *Plant Biotechnol J*. 5(5):570-8.

Xepapadaki P, Fiocchi A, Grabenhenrich L, Roberts G, Grimshaw KE, Fiandor A, Larco JJ, Sigurdardottir S, Clausen M, Papadopoulos NG, Dahdah L, Mackie A, Sprickelman AB, Schoemaker AA, Dubakiene R, Butiene I, Kowalski ML, Zeman K, Gavrili S, Keil T, Beyer K (2016). Incidence and natural history of hen's egg allergy in the first 2 years of life—the EuroPrevall birth cohort study. *Allergy*. 71(3):350-7.

Yang M, Sun H, Lai H, Hurtado J, Chen Q (2018). Plant-produced Zika virus envelope protein elicits neutralizing immune responses that correlate with protective immunity against Zika virus in mice. *Plant Biotechnol J*. 16(2):572-80.

Yang ZQ, Liu QQ, Pan ZM, Yu HX, Jiao XA (2007). Expression of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus in transgenic rice and its immunogenicity in mice. *Vaccine*. 25(4):591-8.

Zákony pro lidi. (2024, září 16). Zákon č. 78/2004 Sb. <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-78#cast5>.