

Διάλεξη 4

Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί

(Κ. Μαθιόπουλος)

Μοριακή Οικολογία και Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί (GMOs)

Τι είναι ένας ΓΤΟ;

"Γενετικά Τροποποιημένος Οργανισμός (ΓΤΟ)" είναι ο οργανισμός (μικρόβιο, φυτό ή ζώο) στον οποίο το γενετικό υλικό τροποποιήθηκε με τρόπο που δεν συμβαίνει φυσιολογικά με διασταύρωση και/ή φυσικό ανασυνδυασμό

Ευρύς ορισμός: κάθε μικροοργανισμός, φυτό ή ζώο που αναπτύσσεται μέσω διασταύρωσης και επιλογής

Λίγη Ιστορία

- *E. coli* K12 (1970). No disasters attributed to cloning experiments.
- 1986: the first field trial of a GM plant.
- 1987-1990: 90 applications for field trials.
- 1991: 170 applications for field trials.
- 1998: 15000 field applications done.
- microbes, plants and animals

Τι Ίσθθησε στη Δημιουργία Γ.Τ.Ο.

- Αυξανόμενη Ζήτηση για τρόφιμα από τη δεκαετία του '50
- Green Revolution. Έδωσε λύσεις και ξεπεράστηκε
- Απώλεια καλλιεργήσιμης γης
- Αυξανόμενη Ρύπανση και Μόλυνση του Περιβάλλοντος
- Ανάπτυξη της Γενετικής (Βιοτεχνολογίας)
- Δυνητική απάντηση στα προβλήματα του πλανήτη

Πλεονεκτήματα των Γ.Τ.Ο.

- Καλλιέργειες:
 - Βελτιωμένη γεύση και ποιότητα
 - Μειωμένος χρόνος ωρίμανσης
 - Αυξημένη θρεπτική αξία, καρποφορία και ανθεκτικότητα
 - Βελτιωμένη αντίσταση στις ασθένειες, ζιζάνια και έντομα
 - Νέα προϊόντα και μεγαλύτερος αριθμός τεχνικών

Πλεονεκτήματα των Γ.Τ.Ο.

- Ζωική Παραγωγή:
 - Αυξημένη αντίσταση (σε ασθένειες) παραγωγικότητα, ανθεκτικότητα και τροφική αποτελεσματικότητα
 - Μεγαλύτερη παραγωγή κρέατος, αυγών και γάλακτος
 - Βελτιωμένη υγεία ζώων και περισσότερες διαγνωστικές μέθοδοι

Πλεονεκτήματα των Γ.Τ.Ο.

- Περιβάλλον:
 - «Φιλικά» ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα
 - Οικονομία χύματος, νερού και ενέργειας
 - Καλύτερη διαχείριση φυσικών απορριμμάτων

Πλεονεκτήματα των Γ.Τ.Ο.

- Κοινωνικά:
 - Εξασφάλιση τροφής για τον αυξανόμενο πληθυσμό της γης
 - Ιδιαίτερα για τις αναπτυσσόμενες χώρες

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Ασφάλεια:
 - Δυνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία:
Αλλεργίες, δημιουργία ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και άλλες άγνωστες συνέπειες
 - Δυνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον:
Κατά λάθος μεταφορά γονιδίων μέσω αναπαραγωγής, άγνωστες συνέπειες σε άλλους οργανισμούς (π.χ. βακτήρια εδάφους)
 - Περιορισμός της βιοποικιλότητας

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Πρόσβαση και Πνευματική Περιουσία:
 - Κυριαρχία στην παγκόσμια παραγωγή τροφίμων λίγων εταιρειών
 - Αυξανόμενος βαθμός εξάρτησης των αναπτυσσόμενων χωρών από τις βιομηχανοποιημένες χώρες
 - Βιοπειρατεία-εκμετάλλευση φυσικών πόρων των αναπτυσσόμενων χωρών από τις ανεπτυγμένες

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Ηθικοί:
 - Παραβίαση των ορίων των φυσικών οργανισμών
 - Μεταβολή των φυσικών διαδικασιών μέσω ανάμιξης γονιδίων μεταξύ των ειδών
 - Αντιρρήσεις στην κατανάλωση ζωικών γονιδίων μέσω φυτικών οργανισμών και αντίστροφα

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Δυσκολίες στην πληροφόρηση του καταναλωτή:
 - Δεν έχει θεσπιστεί επαρκές νομοθετικό πλαίσιο σε μερικές χώρες (π.χ. ΗΠΑ)
 - Ανάμιξη Γ.Τ. καλλιεργειών με παραδοσιακές δυσκολεύει τις προσπάθειες ετικετοποίησης και σήμανσης

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Κοινωνικοί
 - Η πρόοδος μπορεί να στραφεί προς όφελος των ανεπτυγμένων χωρών και σε βάρος των υπό ανάπτυξη




Επιθυμητά χαρακτηριστικά

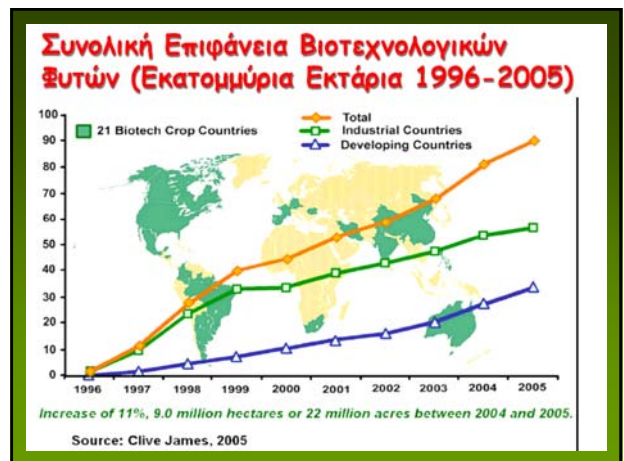
- Αντίσταση στα παράσιτα
- Αντοχή στα ζιζανιοκτόνα
- Αντοχή στους ιούς
- Αντοχή στην ξηρασία
- Αύξηση θρεπτικής αξίας
- Βελτίωση καρπού
- Τροποποίηση ωρίμανσης

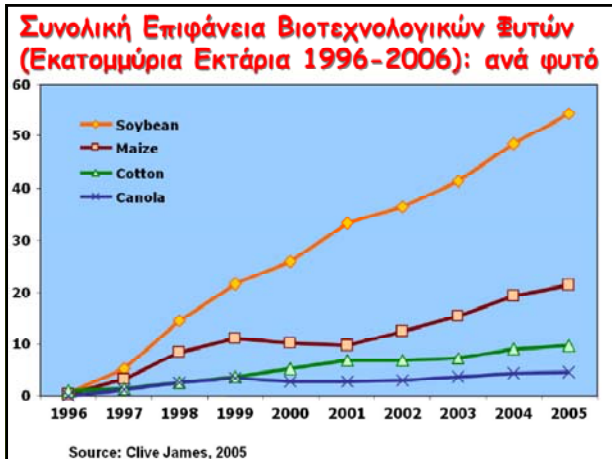



Ευρέως καλλιεργούμενα ΓΤ φυτά



- Bt cotton in China
- White BT maize, South Africa
- Roundup Ready® soybean, Argentina
- Herbicide tolerant canola in Canada



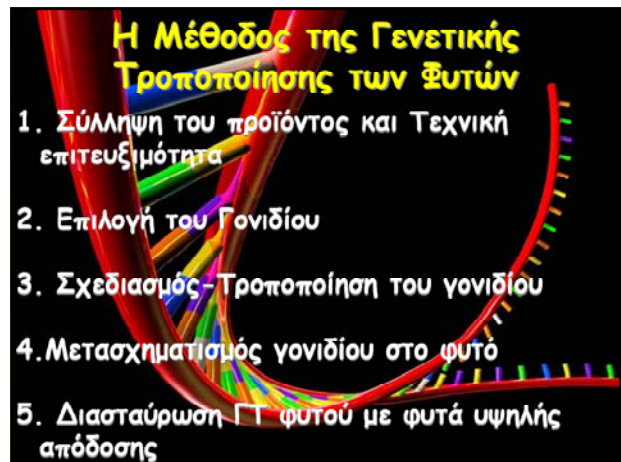


Κυρίαρχα Biotech Φυτά, 2005

S. No.	Crop	MHa	%Biotech
1	Herbicide tolerant soybean	54.4	60
2	Bt maize	11.3	13
3	Bt/herbicide tolerant maize	6.5	7
4	Bt cotton	4.9	5
5	Herbicide tolerant Canola	4.6	5
6	Bt/herbicide tolerant cotton	3.6	4
7	Herbicide tolerant maize	3.4	4
8	Herbicide tolerant cotton	1.3	2
Total		90.0	100%

Συνολική αξία της Biotech αγοράς Φυτών, 2005

Year	Value (Million \$US)
1996	115
1997	842
1998	1973
1999	2703
2000	2734
2001	3235
2002	3656
2003	4152
2004	4663
2005	5248
Total	29321



Επιλογή επιθυμητού χαρακτήρα - Γονιδίου



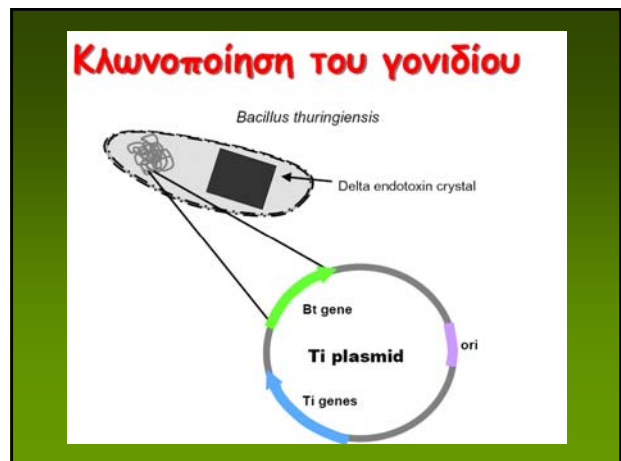
Φυτά εντομοκτόνα

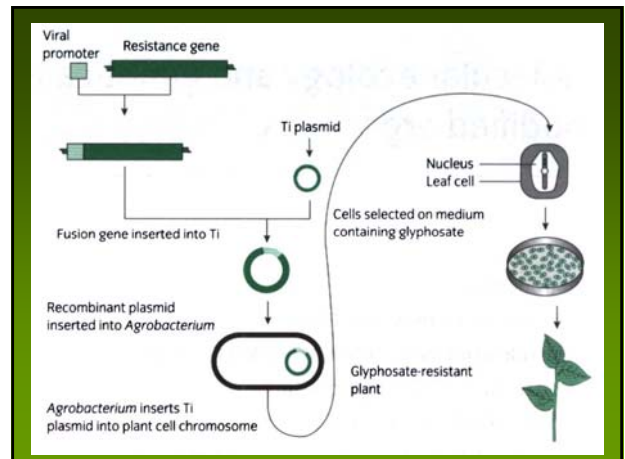
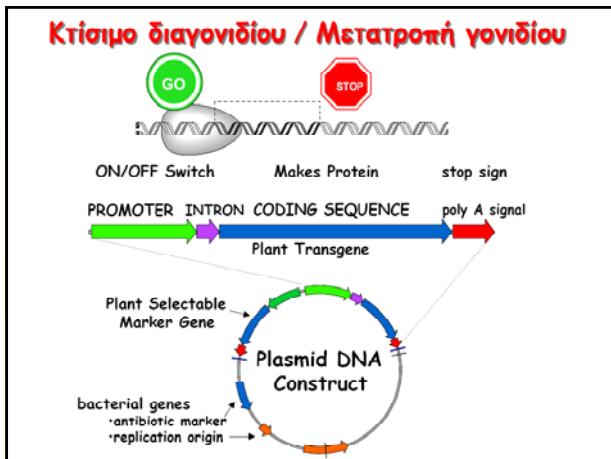
Bacillus thuringiensis πρωτεΐνη, δ-ενδοτοξίνη, που σκοτώνει τα παράσιτα του καλαμποκιού



Αντοχή στα ζιζανιοκτόνα: Round Up έτοιμα φυτά

Agrobacterium tumefaciens πρωτεΐνη με αντοχή στο ζιζανιοκτόνο Round Up (glyphosate)

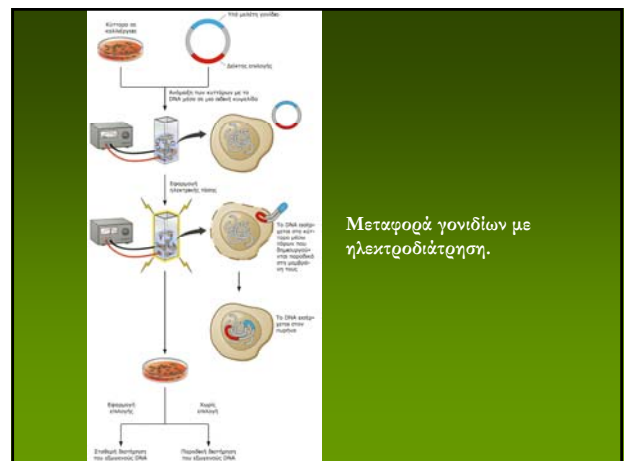




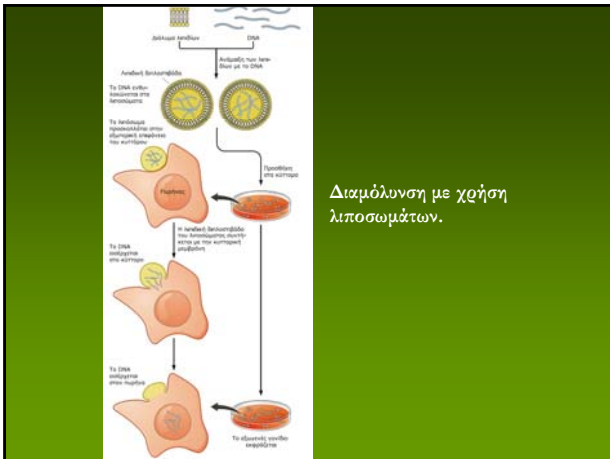
Γενετικός Μετασχηματισμός

- Ενσωμάτωση εξωγενούς DNA στη γαμετική σειρά οργανισμών
- Δημιουργία σταθερής αλλαγής του φαινοτύπου
 - Δημιουργία GMOs
 - Απαντήσεις σε ερωτήματα για:
 - τη φυσιολογική δράση του ενσωματωμένου DNA
 - τη γενετική δράση του ενσωματωμένου DNA
 - Ταυτοποίηση και κλωνοποίηση γονιδίων
 - *in vivo* αξιολόγηση *in vitro* μεταλλάξεων

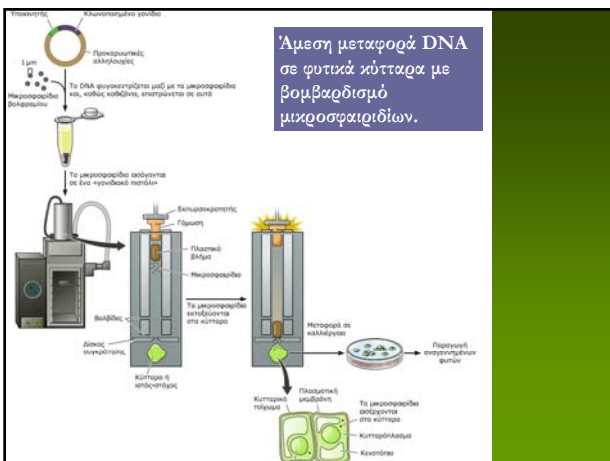
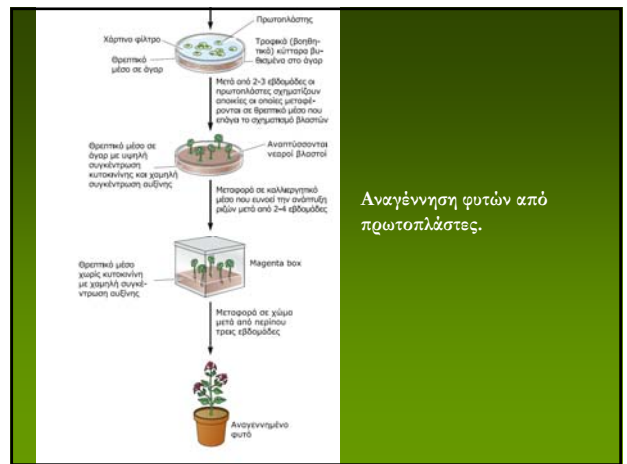
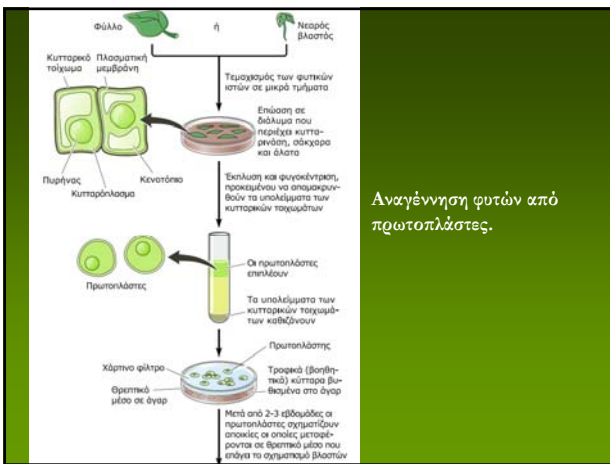
Βασικές αρχές μετασχηματισμού ευκαρυωτικών κυττάρων



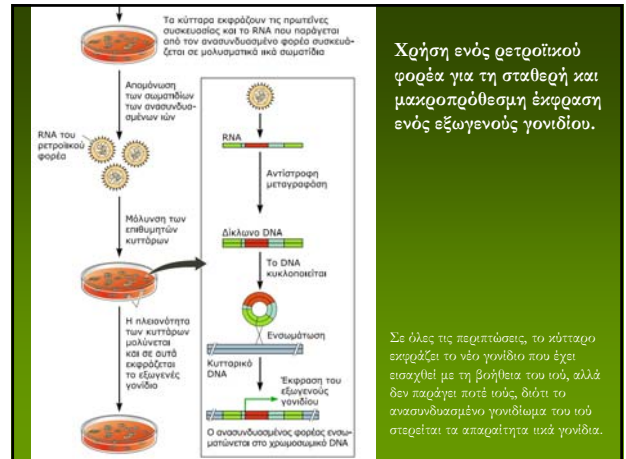
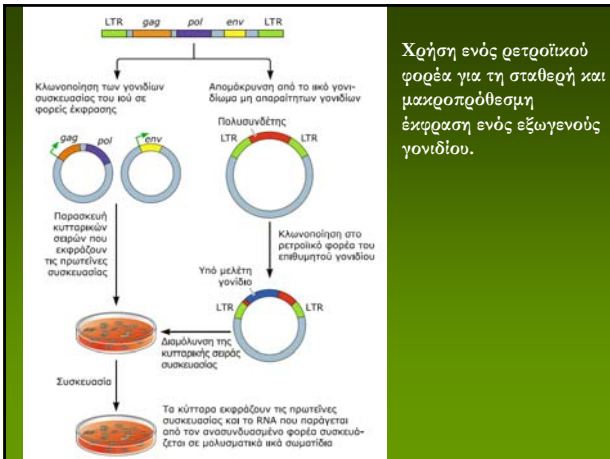
Μεταφορά γονιδίων με ηλεκτροδιάτρηση.



Μεταφορά DNA σε φυτικά κύτταρα

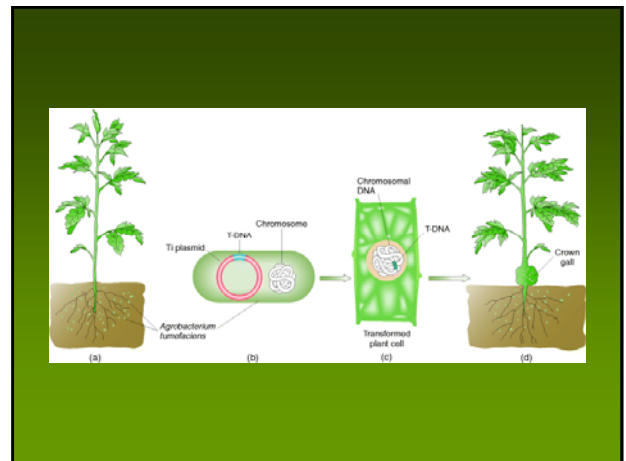


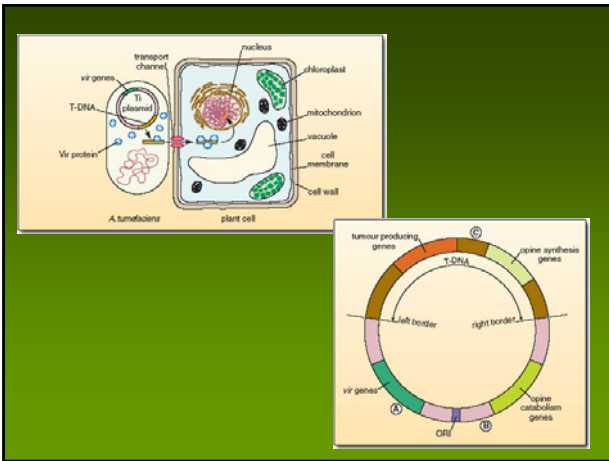
Χρήση ικών φορέων



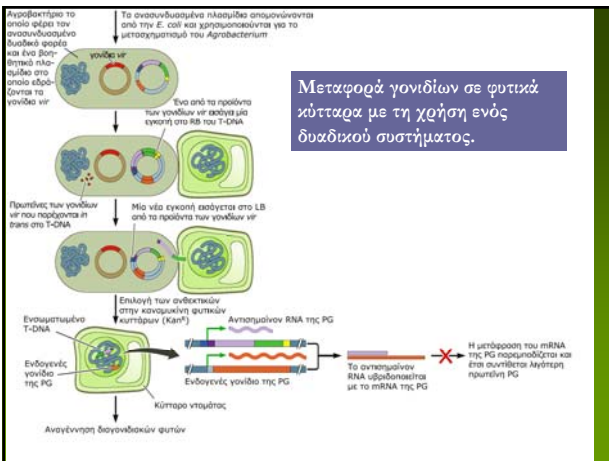
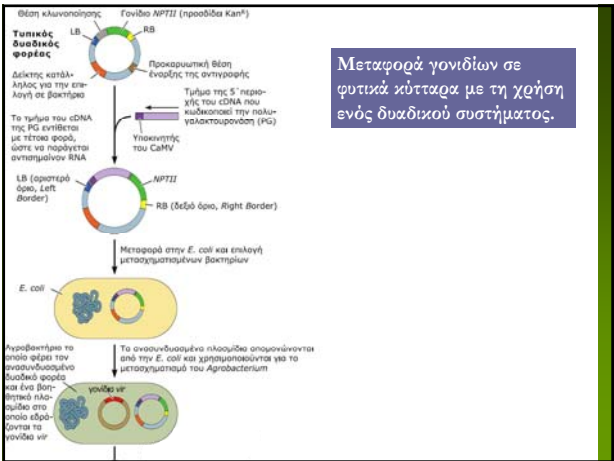
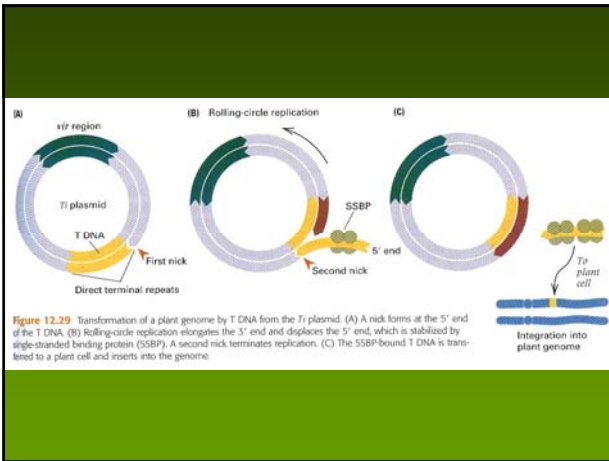
Χρήση του Ti πλασμιδίου για εισαγωγή νέων γονιδίων στα φυτά

- Το *Agrobacterium tumefaciens* μολύνει φυτικά κύτταρα δημιουργώντας φυτικούς όγκους.
- Το πλασμίδιο Ti (~200 kb) είναι υπεύθυνο για την ενσωμάτωση μέρους του (T DNA).
- Το T DNA κωδικοποιεί πρωτεΐνες που προκαλούν κυτταρική διαίρεση (→ όγκοι).
- Κωδικοποιεί ένζυμα που μετατρέπουν την αργινίνη σε νοπαλίνη (ή οκτοπίνη) που χρειάζονται για την ανάπτυξη του *A. tumefaciens*.

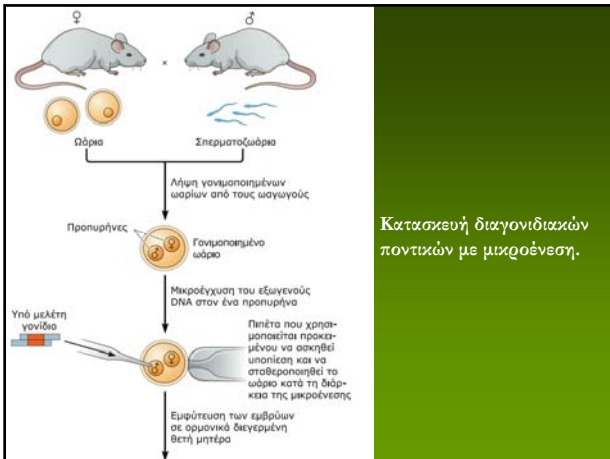




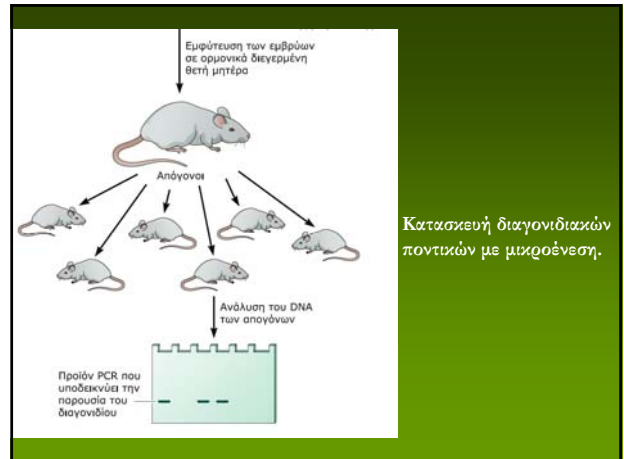
- Για το φυτικό μετασχηματισμό:
 - Οι T DNA αλληλουχίες αντικαθίστανται από τις επιθυμητές αλληλουχίες.
 - Ένα δεύτερο πλασμίδιο που περιέχει τα *vir* γονίδια επιτρέπει τη κινητοποίηση του διαμορφωμένου T DNA.



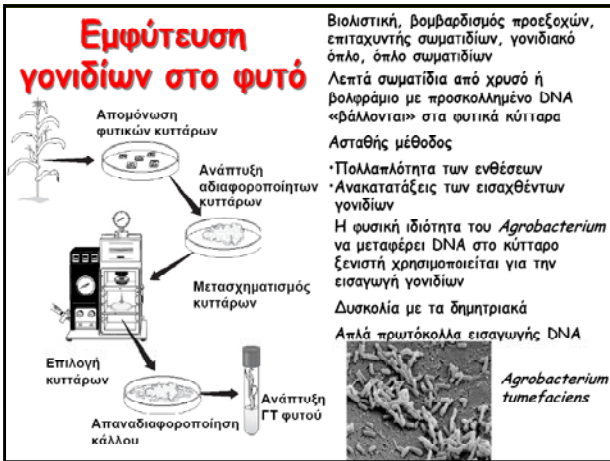
Δημιουργία διαγονιδιακών ζώων με άμεση έγχυση DNA σε έμβρυα



Κατασκευή διαγονιδιακών ποντικών με μικροέγχυση.



Κατασκευή διαγονιδιακών ποντικών με μικροέγχυση.



ΓΤ Φυτά: Τρία Μείζονα Ζητήματα

- > Τροφική ασφάλεια και περιβαλλοντικές συνέπειες
- > Διεθνές εμπόριο
- > Αυξανόμενος έλεγχος της γεωργίας από λίγες πολυεθνικές

ΓΤΟ και Διατροφική Ασφάλεια

Η Γενετική μηχανική δημιουργεί νέους γενετικούς συνδυασμούς

Ενδεχόμενα ανεπιθύμητα αποτελέσματα αλλεργιών ή τοξικότητας

Όλα τα ΓΤΟ ελέγχονται εκτενώς πριν την εμπορευματοποίηση

- τροφές για ανθρώπινη κατανάλωση και ζωική θρέψη
- προϊόντα κτηνοτροφίας (κρέας, γαλακτοκομικά, κλπ)

Σήμανση ή Όχι Σήμανση:

Οι ετικέτες πρέπει να δίνουν ακριβείς πληροφορίες για τη σύνθεση του προϊόντος

Διαφύλαξη ταυτότητας - μέθοδοι, ανοχές, κόστι

ΓΤΟ και Περιβαλλοντικές Επιπτώσεις

Η Γενετική μηχανική δημιουργεί νέους γενετικούς συνδυασμούς

Όλα τα ΓΤΟ ελέγχονται εκτενώς πριν την εμπορευματοποίηση

- Επίδραση στη γεωργία εδάφους και νερού
- Διαχείριση ανθεκτικότητας στα έντομα
- Μεταφορά γονιδίων/χαρακτήρα σε συγγενή ζιζάνια
- Άλλη επίδραση στο γεωργικό περιβάλλον

Τα ΓΤ Φυτά έχουν Σημαντικά Περιβαλλοντικά Οφέλη

- Μειωμένη χρήση χημικών εντομο-φαιτοκτόνων
- Περισσότερο αειφορική διαχείριση παρασίτων
- Καλύτερος έλεγχος διάβρωσης με πιο ορθολογικότερων πρακτικών
- Αυξημένη αποδοτικότητα παραγωγής / ανά μονάδα ενέργειας που δαπανάται

Υπέρ-ΓΤΟ Επιχειρήματα:

- Οι ΓΤΟ είναι εκ των πραγμάτων ασφαλέστεροι και συμβατικοί
- Ερευνώνται και ρυθμίζονται επισταμένως
- 400,000,000 εκ. ευρώ, 8.5 εκατομμύρια αγρότες, 10 χρόνια επιτυχίας χωρίς σοβαρά προβλήματα
- Πιο παραγωγικοί και καλύτεροι για το περιβάλλον

Αντί-ΓΤΟ Επιχειρήματα:

- Εξελισσομαστε με τις τροφές μας, άρα είναι ασφαλείς για μας...
- Οι τεχνικές γονιδιακής μεταφοράς είναι «αφύσικες»
- Η μεταφορά γονιδίων μεταξύ ειδών παραβιάζει τα σύνορα των ειδών
- Οι διαγονιδιακοί οργανισμοί μπορεί να καταλήξουν σε νέα απρόβλεπτα προβλήματα...
- Δεν παίζουμε το Θεό με τη Μητέρα Φύση
- Απώλεια Βιοποικιλότητας

Υπέρ / Αντί ΓΤΟ Επιχειρήματα:

- Ποιος προβάλλει τα επιχειρήματα;
- Υπάρχουν αποδείξεις ότι συμβαίνουν νέες αλλαγές;
- Οι παρατηρήσεις τους ελέγχθηκαν και επιβεβαιώθηκαν;
- Ή είναι θεωρητικές και υποθετικές;
- Οι ανησυχίες δικαιολογούνται από την ανάγκη προφύλαξης;

Εσείς τι πιστεύετε:

- Επιστημονικές αποδείξεις, γεγονότα
 - Πηγές και αυθεντίες
 - Απαλλαγμένοι από συμφέροντα, πολιτικές και προκαταλήψεις
 - Προκατειλημμένα κατασκευάσματα και ιδεολογίες
 - Διάισηση και πραγματικότητα
- © Greenpeace

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Ασφάλεια:
 - Δυνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία:
- Αλλεργίες, δημιουργία ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και άλλες άγνωστες συνέπειες

Βt καλαμπόκι κατά τη διάρκεια επικονίασης μπορεί να προκαλέσει ασθένειες σε ανθρώπους κοντά στον αγρό

Ένα ολόκληρο χωριό με 39 ανθρώπους, που ζούσαν δίπλα σε μεγάλο χωράφι Βt καλαμποκιού (Dekalb 818 ΥΕ) στις Φιλιππίνες, προσβλήθηκε από ασθένεια

Πνευμονιά, εντερικά και δερματικά προβλήματα με πυρετό
Τα συμπτώματα συνέπεσαν στη διάρκεια της δια αέρος μεταφοράς της γύρης που μερικοί λόγω γειτνίασης ίσως την ανέπνευσαν

Σε απάντηση στην Βt-τοξίνη, IgA, IgE και IgM αντισώματα βρέθηκαν στο αίμα τους υποδεικνύοντας μια ανοσολογική αντίδραση στην ΓΤ γύρη

Το φαινόμενο μελετήθηκε από Νορβηγικό Ινστιτούτο το 2004

Θνησιμότητα σε αρουραίους

- ✓ Πρόσφατη Ρωσική μελέτη (2005) βρήκε ότι 55,6% των απογόνων θηλυκών αρουραίων που είχαν τραφεί με ΓΤ σόγια πέθαιναν μέσα σε 3 εβδομάδες
- ✓ Τα θηλυκά ποντίκια είχαν φάει 5-7 γρ της ποικιλίας Roundup Ready
- ✓ Σε αντίθεση πέθαινε μόνο το 9% των απογόνων ποντικών που είχαν τραφεί με μη-ΓΤ σόγια
- ✓ Επιπλέον, οι απόγονοι της ΓΤ σόγια ζύγιζαν 36% λιγότερο από 20 γρ τις πρώτες 2 εβδομάδες σε σύγκριση με τους υπόλοιπους που ζύγιζαν μόνο 6,7% λιγότερο
- ✓ Μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα δε επιβεβαιώθηκαν από άλλους

Dr. Irina Ermakova of the Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences (RAS).

Η ποικιλία Starlink του καλαμποκιού προκαλεί αλλεργία και προβληματίζει



Kraft Food recalls all taco shells sold nationwide under Taco Bell Brand

SOURCE: Washington Post, September 11, 2009

Και ο αντίλογος

Οι αλλεργίες ταλαιπωρούν ανθρώπους και ζώα για χιλιετίες
Κάθε ΓΤ φυτό που εγκρίνεται έχει ελεγχθεί για τη δυνατότητα να προκαλεί αλλεργίες
Κάθε νέα πρωτεΐνη που παράγεται από ΓΤ φυτά ελέγχεται αυστηρά για αλλεργίες
Τα πιο σημαντικά tests είναι:

- Ο βαθμός ομοιότητας με άλλα αλλεργιογόνα
- Η σταθερότητα των πρωτεϊνών στη διάρκεια της πέψης
- Έλεγχος με αίμα από άτομα που είναι ευαίσθητα σε αλλεργίες
- Έλεγχος σε ζώα

Πως προφυλάγεται κάποιος από τις νέες τροφές με 100δες νέες πρωτεΐνες

Κίνδυνοι εξαιτίας των Γ.Τ.Ο.

- Δυνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον:
- Κατά λάθος μεταφορά γονιδίων μέσω αναπαραγωγής
- Άγνωστες συνέπειες σε άλλους οργανισμούς

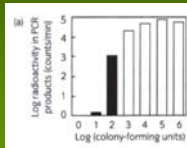
- Περιορισμός της βιοποικιλότητας

Περιβαλλοντικοί κίνδυνοι από τα GMOs

- Πιθανότητα εξάπλωσης GMOs πέρα από το σημείο απελευθέρωσής τους, πιθανά ανταγωνίζοντας τα "άγρια" είδη?
- Πιθανότητα εξάπλωσης των νέων γονιδίων πέρα από τους ξενιστές τους σε άλλα είδη?
- Πιθανότητα επίδρασης των νέων γονιδίων σε είδη που αλληλεπιδρούν με το GMOs?

Ο ρόλος της μοριακής οικολογίας στην έρευνα των GMOs

- Έλεγχος των απελευθερώσεων των GMOs με γενετικούς και μοριακούς δείκτες.



(a)



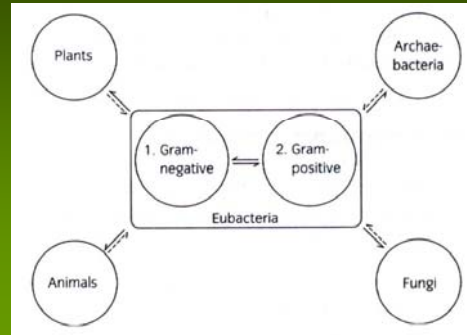
(b)

- Έλεγχος της γονιδιακής ροής από τα GMOs σε άλλα είδη.

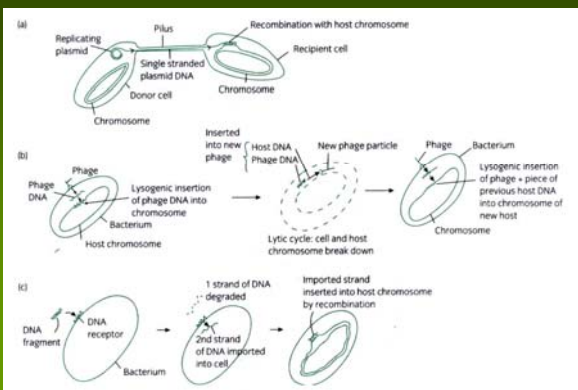
Οριζόντια Γονιδιακή Μεταφορά (Horizontal Gene Transfer: HGT)

- Μεταφορά γενετικής πληροφορίας μεταξύ σύγχρονων γενεών οργανισμών.
- Μπορεί να συμβεί στο ίδιο ή σε διαφορετικά είδη.
- Έχει τη δυνατότητα ταχείας εξάπλωσης στο περιβάλλον.

Ο κεντρικός ρόλος των βακτηριδίων στην Οριζόντια Γονιδιακή Μεταφορά (HGT)



Μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς

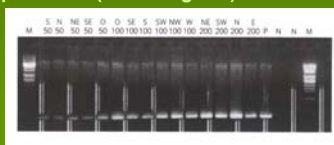


Επίδραση των GMOs στις φυσικές κοινότητες

- Οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι τα GMOs έχουν μικρή έως καθόλου επίδραση στις φυσικές μικροβιακές κοινότητες.
- Δύο επιφυλάξεις:
 - Η δυνατότητα μέτρησης της μικροβιακής ποικιλομορφίας είναι περιορισμένη.
 - Οι περισσότερες από τις έρευνες αυτές χρηματοδοτούνται από εταιρείες που παράγουν GMOs.

Μεταφορά γονιδίων από τα GMOs σε άλλους οργανισμούς

- Κάθετη γονιδιακή μεταφορά στο ίδιο ή σε συγγενικά είδη.
 - Μεταφορά γύρης με έντομα ή άνεμο.
 - Ελαιοκράμβη (*Brassica napus* → *B. rapa*, *B. oleracea*): μέτρηση ποσοστού υβριδίων.
 - Ζαχαρότευτλα (*Beta vulgaris*).



Η επίδραση των διαγονιδίων σε άλλα είδη

- Εισαγωγή τοξικών γονιδίων σε φυτά.
 - Το παράδειγμα της τοξίνης Bt.
 - Bt cotton has Cry1Ac against tobacco budworm
 - Bt tomatoes have Cry1Ac against lepidopteran
 - Bt potatoes have Cry3A against Colorado beetles
 - Bt corn against European corn borer
 - But: Bt corn pollen against *Danaus plexippus* and *Papilio polyxenes*

Μόλυνση από Γύρη

- Γύρη από ΓΤ καλαμπόκι μπορεί να παρασυρθεί και να μολύνει φυτά που προορίζονται για αγορές μη-ΓΤ προϊόντων
- Καρποί που θα προκύψουν από τη επιμόλυνση αυτή θα ανιχνευτούν ως ΓΤ

Τα προβλήματα θα μπορούσαν να αποφευχθούν

- Καλλιεργητές καλαμποκιάς συννορεύουν θα μπορούσαν να συνεννοηθούν μεταξύ τους για τις προθέσεις καλλιέργειας
- Πολλοί παραγωγοί ΓΤ καλαμποκιάς και μερικά μη-ΓΤ. Θα μπορούσαν να τα φυτεύουν όπου θα χρησίμευαν ως buffer για τους γειτονικούς μη-ΓΤ αγρούς

Μόλυνση των μη-ΓΤ Ψυτών

Ερωτήματα που προκύπτουν:

Η μόλυνση των σπόρων είναι ένα μακροχρόνιο πρόβλημα στην παραγωγή καλαμποκιού και άλλων διασταυρούμενων φυτών. Γιατί αυτό είναι διαφορετικό;

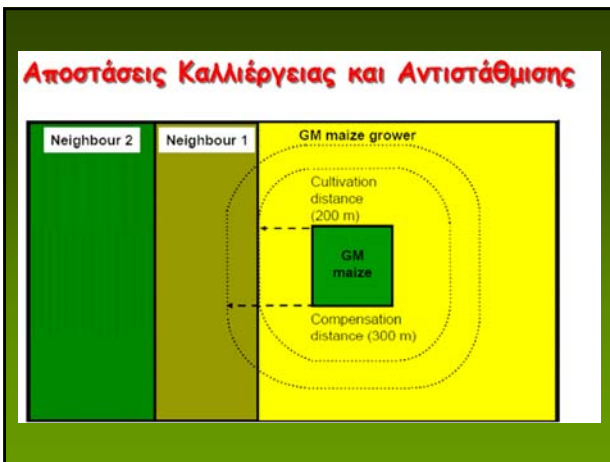
Το πρόβλημα προέρχεται από τη γύρη ή από τον προσδιορισμό των ΓΤ γονιδίων ως μολευματικά;

Έχει νόημα ο κανόνας της «μη-ανοχής»;

Πόσο όμοια είναι τα σημερινά φυτά με αυτά που φύτευαν οι παππούδες μας;

Θα μπορούσαν οι «προειδοποιήσεις των γειτόνων» να διευκολύνει το πρόβλημα;

Υπάρχουν άλλοι τρόποι αντιμετώπισης;



Βt Καλαμπόκι και η Πεταλούδα Monarchus

- Εργαστηριακή μελέτη γύρης καλαμποκιού στο Cornell University (Nature, 1999)
- Πρόσφατα δεδομένα πεδίου δείχνουν πολύ λίγα ή καθόλου ανεπιθύμητα αποτελέσματα για το καλαμπόκι

Η πεταλούδα monarch έγινε αποτέλεσμα αντικείμενο σημαντικής επιστημονικής προσοχής και προφοράς ως προς τα αποτελέσματα των ΓΤ φυτών σε οργανισμούς μη-στόχους. Ενώ μερικά ΓΤ φυτά είναι ικανά να καταπολεμήσουν ορισμένα έντομα, υπήρξε προβληματισμός ως προς τις επιπτώσεις σε έντομα μη-στόχους όπως η Monarchus που μπορεί επίσης να προσβληθεί. Αν και αρχικές εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι υψηλές συγκεντρώσεις Βt γύρης μπορεί να προσβάλουν την πεταλούδα, επακόλουθα πειράματα εργαστηρίου και πεδίου κατέληξαν ότι οι πεταλούδες δεν θα βρουν ποτέ τις απαιτούμενες συγκεντρώσεις γύρης ώστε να δημιουργηθεί πρόβλημα

Γενετική βελτίωση με Τεχνητή Επιλογή

Τεσσίνθη → Καλαμπόκι

Πρόγονος του καρότου → Καρότο

The diagram illustrates the process of genetic improvement through artificial selection. It shows two examples: 1) Teosinte (wild ancestor) being selected to become Corn (modern crop). 2) The wild carrot root (wild ancestor) being selected to become the modern carrot (modern crop).

Γενετική βελτίωση με Τεχνητή Επιλογή

Ποικιλίες Ψυτών

The diagram illustrates the genetic improvement of cabbages and peppers through artificial selection. It shows the evolution from wild ancestors to modern varieties: Wild cabbage to Kohlrabi (100 AD), Cauliflower (1300), and Broccoli (Italy, 1500). It also shows the evolution of wild peppers to various modern varieties like Cabbage (100 AD) and Brussels sprouts (Belgium, 1700).

Γενετική βελτίωση με Τεχνητή Επιλογή

Ράτσες Ζώων

Πολλά Φυτά δεν υπήρξαν ποτέ στη Φύση

Einkorn X Άγριο σιτάρι = Emmer X Γιδόχορτο = Σιτάρι

Πολλά Φυτά δεν υπήρξαν ποτέ στη Φύση

Fragaria chiloensis Χιλή X *Fragaria virginiana* Βορειοανατολική Αμερική
 → *Fragaria ananassa* Παρίσι Βοτανικό κήποι 1766

Ρυθμίσεις ΓΤΟ σε Εθνικό επίπεδο

Ευρωπαϊκή Ένωση:

- De facto ποτατισμός από τον Ιούνιο του 1999
- Από το 2005 πιο ευέλικτη πολιτική με ανά κράτος αποφάσεις
- Απαιτείται σήμανση σε όλες τις τροφές που περιέχουν ΓΤΟ

Ηνωμένες Πολιτείες:

- Πολύ ευέλικτη διαδικασία άδειας παραγωγής και διακίνησης βασισμένη στον ανά περίπτωση φάκελο
- Γενικώς δεν απαιτείται σήμανση των ΓΤΟ

Άλλες χώρες έχουν αρχίσει να εκπονούν ρυθμιστικά σχέδια αναλόγως των κοινωνικο-πολιτικών κατεστημένων (από πλήρη απαγόρευση - πλήρη αποδοχή)

Ρυθμίσεις Σήμανσης στη ΕΕ

- Τροφές με λιγότερο από 0.9% ΓΤ γονιδιακού προϊόντος **Δεν απαιτείται σήμανση**
- Προϊόντα που προέρχονται από ΓΤ φυτά **Απαιτείται σήμανση**
- Εφαρμόζεται ακόμη και αν το προϊόν δεν περιέχει ΓΤ γονίδιο Π. χ.: **Σιρόπι καλαμποκιού** δεν περιέχει την Β1 πρωτεΐνη αλλά πρέπει να σημανθεί
- Ζωοτροφές από ΓΤ φυτά **Εφαρμόζονται οι ίδιες αρχές**

Ρυθμίσεις Ιχνηλασιμότητας για την ΕΕ

- Τροφές που περιέχουν ΓΤ πρέπει να δηλώνονται **εξ αρχής**
- Μια συμβιβαστική ρύθμιση:** Ορισμένοι επιθυμούν τον έλεγχο κάθε σταδίου της παραγωγής

Ιχνηλασιμότητα των ΓΤΟ



Γιατί ο έλεγχος για ΓΤΟ:

- **Νομοθεσία**
 - ΗΠΑ: Σήμανση τροφών "GM-Free" <5% ΓΤ
 - ΕΕ: Σήμανση τροφών "ΓΤ" εάν >1% ΓΤ
 - Ιαπωνία: Σήμανση τροφών "ΓΤ" εάν >5%
- **Εξαγωγές**
- **Τι συμβαίνει με τις μη σημασμένες τροφές:**

Πως ελέγχουμε για ΓΤΟ

ELISA:

Έλεγχος παρουσίας πρωτεϊνών που εκφράζονται από τη γενετική τροποποίηση

Υπέρ: Γρήγορο, φθινό, χαμηλής τεχνολογίας

Κατά: Εξειδίκευση για κάθε φυτό, σταθερότητα πρωτεΐνης



PCR:

Έλεγχος για παρουσία εισαγόμενου ξένου DNA

Υπέρ: Ταυτοποίηση διαφορετικά ΓΤ φυτά, σταθερότητα DNA

Κατά: Ακριβό, χρονοβόρο

Ποιες τροφές δίνουν αξιόπιστο φυτικό DNA:

Very Reliable	Reliable	Less Reliable	Very Difficult / Not Possible
Fresh corn	Veggie sausages	Veggie burgers	Oil
Fresh papaya	Tortilla chips	Fried corn snacks	Salad dressing
Corn bread mix	Flavored tortilla chips	Popcorn	Cereal (eg cornflakes)
Corn meal	Puffed corn snacks	Fries	Wheat flour
Soy flour	Meatballs and burgers containing soy protein	Potato chips	
	Soy-based protein drinks/powders		

Πως ελέγχουμε για ΓΤΟ

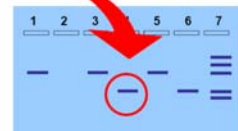
Έλεγχος για ΓΤΟ με PCR:

1. Άλεσμα τροφής
2. Εξαγωγή DNA από το δείγμα
3. Έλεγχος δείγματος DNA για αξιόπιστο φυτικό DNA
4. Έλεγχος δείγματος DNA για γενετικές τροποποιήσεις

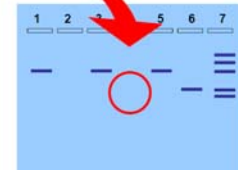


Ανάλυση αποτελεσμάτων

ΓΤΟ
Θετικό



ΓΤΟ
αρνητικό



- 1: non-GMO food with plant primers
- 2: non-GMO food with GMO primers
- 3: Test food with plant primers
- 4: Test food with GMO primers
- 5: GMO positive template with plant primers
- 6: GMO positive template with GMO primers
- 7: PCR MW Ruler

Table 1. Genetically modified plants approved for marketing in the EU under Council Directive 90/269/EEC.

Product	Line	Notifier	Main traits	Commission Decision No/Date
Tomato		Florigene	Modified flower colour	26/10/98 (MS consult)
Tomato		Florigene	Modified cone life	26/10/98 (MS consult)
Tomato		Florigene	Modified flower colour	21/12/97 (MS consult)
Maize	Zea mays L. line MON 810	Monsanto	Expression of the Bt <i>cry3A</i> gene	96/24/EEC of 22 April 1996
Maize	Zea mays L. line Bt11	Novartis	Tolerance to glyphosate herbicides and expression of the Bt <i>cry3Ab</i> gene	96/24/EEC of 22 April 1996
Maize	Zea mays L. T25	AgriGen	Tolerance to glyphosate herbicides	96/24/EEC of 22 April 1996
Round seed rape	Brassica napus L. var. oleracea	AgriGen	Tolerance to glyphosate herbicides	96/24/EEC of 22 April 1996
Tomato	Brassica napus L. var. oleracea	Piglet Genetic Systems	Tolerance to glyphosate herbicides	97/59/EEC of 6 June 1997
Seed rape	Brassica napus L. var. oleracea	Piglet Genetic Systems	Tolerance to glyphosate herbicides	97/59/EEC of 6 June 1997
Maize	Zea mays L. Line Bt11 (Monsanto)	Ciba-Geigy	Tolerance to glyphosate herbicides and expression of Bt endotoxin gene	97/56/EEC of 23 January 1997
Maize (starline "Cibola")	Cochlosium intybus L.	Bio-Zaden BV	Tolerance to glyphosate herbicides	96/424/EEC of 26 May 1996
Soybean	Glycine max L. (var. Roundup Ready)	Monsanto	Tolerance to glyphosate	96/21/EEC of 3 April 1996
Seed rape	Brassica napus L. var. oleracea	Piglet Genetic Systems	Tolerance to glyphosate herbicides	96/158/EEC of 6 February 1996
Tobacco	var. Petit Havana	BETA	Tolerance to imidacloprid	94/395/EEC of 8 June 1994

Genetic modification

- Τα τρία βασικά χαρακτηριστικά του διαγονιδίου:
 - Υποκινητής (promoter)
 - Το διαγονίδιο
 - Ο τερματιστής (terminator)
- Marker gene??

Approved reference genes

Maize	Hmg (MON810), adh-70bp (NK603, MON863), adh-136bp (T25), Adh-136 (Bt11)"
Cotton	SAH7 (281-24-236x3006-210-23), Adh (LL25), Acp1 (Mon1445)
Rice	Phospholipase D
Canola	Cruciferin (Ms1, Ms8, Rf1,2,3), Fat A (GT73), BnACCg8 HMGI
Soybean	Lectin 100bp (A2704-12), lectin 72bp (40-3-2)
Sugar beet	Glutamine synthetase
Potato	UGP-ase
Tomato	Lat 52

Country	Production	
	million tonnes	percent
EU-25	0.8	0.3
India	7.0	3.1
Russia	15.5	6.3
China	17.5	7.6
Argentina	39.0	17.0
Brazil	64.5	28.2
U.S.	84.8	37.0
GLOBAL	228.9	100.0

Table 4: global production of soy 2004/05

Figure 5: global production of soy 2004/05

Figure 6: EU-15 imports of soy 2003

1. Sampling

- A "W" walk through the crop
- The number of samples taken will depend on the level of contamination suspected or the level of statistical assurance required:
 - 100 plants give a 95% confidence limit of detecting a 3% contamination level
 - 200 plants give a 95% confidence limit of detecting a 1.5-% contamination level
 - 300 plants give a 95% confidence limit of detecting a 1-% contamination level
 - 3000 plants give a 95% confidence limit of detecting a 0.1% contamination level

2. GMO testing methods

- 1. Low-tech methods:
 - Phenotypic characterization (herbicide bioassays). Allows detection of the presence or absence of a specific trait. So far only tests for traits as resistance or tolerance to herbicides are available. Such tests can be used to test for presence or absence of herbicide resistant GMO varieties and is termed herbicide bioassays. They consist of conducting germination tests on solid germination media in the presence of a specific herbicide, where non-GMO and GMO seeds show distinct characteristics.
 - Available for:
 - Roundup Ready soybean, maize, cotton and oilseed rape, and Liberty Link maize
 - Accurate and inexpensive
 - In the future bioassays for insect-resistant or other GMO varieties may be developed

• **Protein methods:**

- Immunoassay is the current method for detection and quantification of new (foreign) proteins introduced through genetic modification of plants.
- The crucial component of an immunoassay is an antibody with high specificity for the target molecule (antigen).
- Immunoassays can be highly specific and samples often need only a simple preparation before being analysed.
- Moreover, immunoassays can be used qualitatively or quantitatively over a wide range of concentrations.
- Similar to herbicide bioassays, immunoassays require separate tests for each trait in question.

- ELISA test kits provide the quantitative results in hours with detection limits less than 0.1%.

• **2. Hi-tech methods:**

- 2.1. Qualitative PCR analysis

- general screening of GMOs using primers that recognize common DNA:
 - CaMV 35S promoter, nos promoter, nos terminator
 - **How about plants normally infected with CaMV?**
- specific gene detection
- specific event detection: junction sequences in the integration site

Summarised comparison of the ELISA and PCR methods

Method	Tests for	Duration	Ease of use	Results
ELISA	Protein	2 - 8 hours	Moderate; requires familiarity with laboratory practices; tests are crop and variety specific	Confirms specific genetic modification and allows quantification.
PCR	DNA	1 - 3 days	Difficult; requires specialised equipment and training	Very sensitive; prone to false positives; confirms presence of GM DNA and allows quantification.

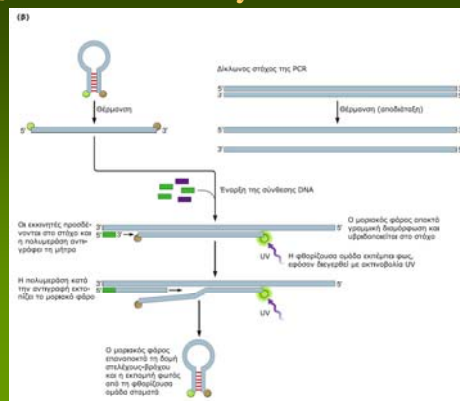
- 2.2. Quantitative PCR: based on analysis using one or more broad-spectrum primer sets that recognize common transgenic elements, such as the CaMV 35S promoter, the nos terminator, or one of the inserted genes

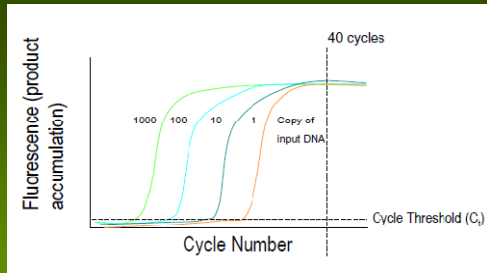
- But, different maize events may contain from 1 to 4 copies of the 35S promoter: quantification based on this sequence can thus overestimate the percent of GMO in the sample
- Therefore quantification based on **event-specific primers** provides not only more precise results regarding the type of GMO present but also more accurate quantitative results

Conventional competitive PCR



Quantification by Real-time PCR





Time course of Real-time PCR

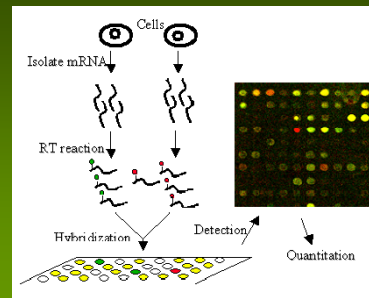
- PCR detection level: 0,01%

Table 3. Comparison of genome size of some plant species and corresponding genome copies in defined amount of DNA

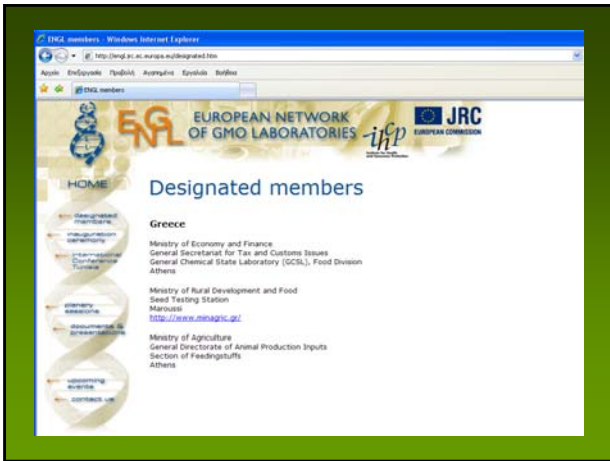
Sample	Genome size	Genome copies in 1 µg DNA	Genome copies in 1 ng DNA
Maize	5 x 10 ⁹ bp	1,85 x 10 ⁷	185
Soybean	1,55 x 10 ⁹ bp	5,98 x 10 ⁵	598
Tobacco	3,8 x 10 ⁸ bp	2,43 x 10 ⁵	245
Rice	4 x 10 ⁸ bp	2,31 x 10 ⁵	2310

For example, in a 4 kb plasmid, containing a 1 kb insert, 25% of the input DNA is the target of interest. Conversely, a 1 kb gene in the maize genome (5 x 10⁹ bp) represents approximately 0.00002% of the input DNA. Approximately 1,000,000-fold more maize genomic DNA is required to maintain the same number of target copies per reaction. For optimised results, > 104 copies of the target sequence should be used as a starting template to obtain a signal in 25 - 30 cycles.

2.3. Microarrays



- The first GMO chip kit developed by GeneScan Europe has been introduced to the market.
 - The new DNA chip screens and identifies GMOs in raw materials, processed food, and animal feed. The chip provides results of a total of 14 separate analyses.
- The present GMO chip kit detects species-specific DNA of plants and viruses, generally used genetic construction elements, and specifically introduced genetic modifications for the identification of approved and non-approved plant varieties.
- The GMOchip version “The European” detects specific DNA from:
 - soybean, maize, oilseed rape, rice, CaMV (species)
 - the following GMOs: RR-soybean, Maximizer Bt 176 maize, Bt11 maize, Yieldgard Mon810 maize and Bt-Xtra maize
- Further versions of GMO chips adapted to regulations in regions and countries other than the European Union are under development.



- The European Network of GMO Laboratories (ENGL) is a unique platform of EU experts that play an eminent role in the development, harmonisation and standardisation of means and methods for sampling, detection, identification and quantification of Genetically Modified Organisms (GMOs) or derived products in a wide variety of matrices, covering seeds, grains, food, feed and environmental samples.

- The network was inaugurated in Brussels on December 4th 2002 and it currently consists of more than 100 national enforcement laboratories, representing all 27 EU Member States plus Norway and Switzerland. Its plenary meetings are open to particular observers, such as to representatives from Acceding and Candidate Countries.

The image shows the cover and contents page of the "Detecting GMOs" training course. The cover features the title "Detecting GMOs (Genetically Modified Organisms)" and describes it as an interactive course. The contents page lists various topics and materials included in the course, such as "Screen samples" and "How to obtain EU publications".

