DEFINIZIONE DI OGM

- Un OGM, che può essere un virus, un batterio, un fungo, una pianta o un animale, viene definito, con terminologia ufficiale, come un: "organismo il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genetica naturale" (Art. 2, Direttiva 2001/18/CE del 12/03/01)
- In una pianta che si vuole modificare vengono inseriti uno o più geni, prelevati da altri organismi, anche molto lontani dal punto di vista della parentela genetica,in modo da introdurre nuove caratteristiche morfologiche o funzionali, cioè nuovi caratteri, che è impossibile ottenere tramite i metodi tradizionali, dato che questi organismi non possono incrociarsi tra loro e generarne altri.

Per ottenere un O.G.M., chiamato anche organismo transgenico si usano le biotecnologie, cioè l'insieme delle tecnologie che permettono di usare esseri viventi per scopi produttivi.

Ci sono due tipi di biotecnologie:

- •AVANZATE (Ingegneria Genetica): Tecnologie che permettono lo studio e le operazioni sugli organismi, per la trasformazione in O.G.M.
- •TRADIZIONALI:Tecnologie antichissime, basate sulla fermentazione, altre su incroci tra organismi di razza diversa.

OGM: UNA CLASSIFICAZIONE

Kaare Nielsen, con riferimento al gene codificante, cioè portatore del carattere di interesse, ha proposto di adottare una nomenclatura precisa per differenziare i vari organismi "ingegnerizzati", ponendo cinque livelli lungo i quali la distanza genetica tra la pianta ricevente il gene e il "donatore" (virus, batterio, fungo, vegetale, animale) aumenta progressivamente. Quindi si può parlare di OGM:

- 1) intragenici (il DNA proviene dalla stessa specie)
- 2) familigenici (il DNA proviene da specie affini, interfeconde)
- 3) lineagenici (il DNA proviene da specie della stessa linea filogenetica)
- 4) transgenici (il DNA proviene da specie filogeneticamente lontane),
- 5) xenogenici (il DNA esogeno è costituito da geni artificiali).

Solo i primi due gruppi di organismi sono ottenibili anche con gli incroci tradizionali, perché non si infrangono le barriere naturali, che separano tra loro le specie e i generi diversi.

Nature biotechnology, 21, 227-8 (2003)

PANORAMICA DEI BENEFICI CHE SI VOGLIONO CONSEGUIRE

- 1. ottenere colture immuni dall'azione dannosa degli insetti fitofagi e dei microrganismi fitopatogeni (funghi, virus), quindi senza perdite nel raccolto e senza l'uso di pesticidi;
- 2. evitare gli effetti letali dei diserbanti che ricadono anche sul raccolto e sull'ambiente;
- 3. diminuire in modo rilevante le perdite economiche derivanti dal deterioramento delle derrate alimentari durante la conservazione tra il momento della raccolta e quello della vendita al dettaglio;
- 4. coltivare piante in ambienti proibitivi, come quelli aridi, freddi, con terreni salinizzati o impoveriti da eccessivo sfruttamento agricolo;
- 5. accrescere il contenuto nutrizionale endogeno dei prodotti agricoli (fortificazione degli alimenti);
- 6. eliminare all'origine la presenza negli alimenti di sostanze che provocano allergie e intolleranze;
- 7. somministrare molecole ad azione farmacologica prodotte direttamente dalle stesse piante.

LE PRINCIPALI COLTURE E NAZIONI BIOTECH NEL 2006

- L'estensione mondiale di colture G.M. è di 102 milioni di ha.
- Gli OGM affermati sono soia, mais, cotone e colza
- Nel 2006 sono apparsi zucca, papaya ed erba medica
- Le coltivazioni transgeniche si concentrano per il 99% in soli otto Paesi: USA (54,6 milioni di ettari, pari al 53,5% sul totale), Argentina (18,0 milioni di ettari), Brasile (11,5 milioni di ettari), Canada (6,1 milioni di ettari), India (3,8 milioni di ettari) Cina (3,5 milioni di ettari), Paraguay (2,0 milioni di ettari), Sud Africa (1,4 milioni di ettari).

GLI UNICI CARATTERI G.M. DI SUCCESSO

- Fino ad oggi solo due caratteri g.m., introdotti in mais, soia, cotone e canola (colza), hanno avuto successo, prima sul piano biotecnologico e poi a livello di mercato: la tolleranza al diserbante e la resistenza a certi insetti (lepidotteri). Nella condizione più frequente questi caratteri sono presenti singolarmente nella stessa pianta (i casi più noti sono la soia RR tollerante il diserbante e il mais Bt, o il cotone Bt, resistente agli insetti), ma esistono anche piante che, in seguito a una doppia ingegnerizzazione, li possiedono ambedue (es. il mais resistente agli insetti e tollerante il diserbante).
- Nel 2006 si sono aggiunti zucca (resistente a virus), papaya (resistente a virus) ed erba medica (tollerante l'erbicida): è ancora presto per poterne valutare il risultato commerciale

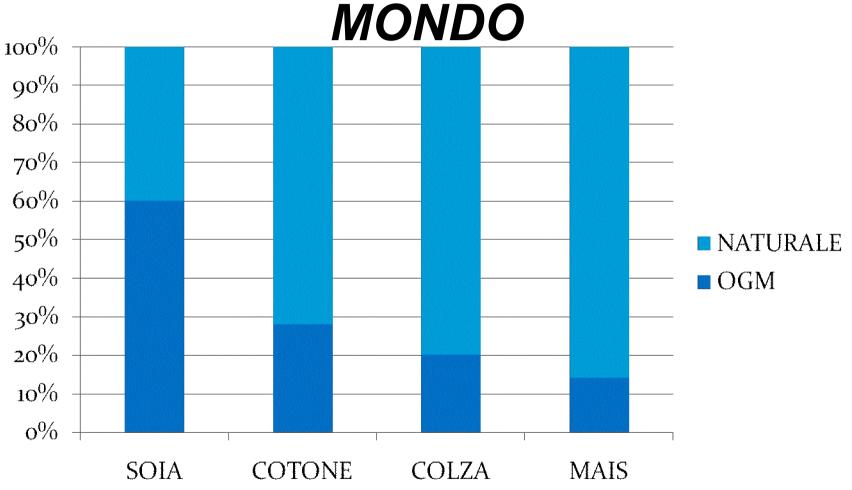
ASPETTI PROBLEMATICI (1)

- scarsa precisione e affidabilità della tecnica di ingegneria genetica, il che può dar luogo anche a piante geneticamente modificate instabili nel tempo;
- rischio di selezionare popolazioni di patogeni resistenti ai pesticidi, a causa dell'eccesso nell'uso dello stesso agente antiparassitario (ad esempio il *Bt*);
- rischio di selezionare piante infestanti tolleranti agli erbicidi, a causa dell'eccesso nell'uso dello stesso agente chimico (ad esempio il glifosato);
- insorgenza di allergie non sempre prevedibili con gli attuali test;

ASPETTI PROBLEMATICI (2)

- impoverimento dell'agrobiodiversità e della biodiversità (poche colture standardizzate);
- alterazione di regimi dietetici corretti (vedi la dieta mediterranea) con l'introduzione massiccia e inutile, se non dannosa, di prodotti agricoli nutrizionalmente fortificati;
- perdita di libertà da parte di molti agricoltori, trasformati in lavoratori dipendenti al servizio delle aziende proprietarie dei brevetti;
- minaccia per la sovranità alimentare delle nazioni.

% Dei PRODOTTI OGM NEL



Stato	Milioni di ha	% di	prodotti	
		ogm		
USA	49,8	55,3	Soia,mais,cotone,zucca,colza	
Argentina	17,1	19	Soia, mais, cotone	
Brasile	9,4	10	Soia	
Canada	5,8	6,4	Colza, mais, soia	
Cina	3,3	3,6	Cotone	
Paraguay	1,8	2	Soia	
India	1,3	1,4	Cotone	
Sud Africa	0,5	0,5	Mais, soia, cotone	
Uruguay	0,3	0,3	Soia, mais	
Australia	0,3	0,3	Cotone	
Romania	0,1	0,1	Soia	
Messico	0,1	0,1	Soia, cotone	
Spagna	0,1	0,1	Mais	
Filippine	0,1	0,1	Mais	
TOTALE	90 milioni di	<i>100 %</i>		
	ha			

Esempi di colture agrarie transgeniche: soia e colza resistenti all'erbicida glifosate

Problema della selettività di una coltura agli erbicidi

Soluzione:

Rendere la coltura resistente all'azione tossica di un erbicida totale e relativamente poco pericoloso per l'ambiente

Primi esempi:

Soia transgenica per un gene batterico (CP4 EPSPS) che la rende insensibile all'azione dell'erbicida Glifosate (Soia Roundup-Ready Monsanto, 1996)

Colza transgenico con i geni CP4 EPSPS e GOX – glifosato ossidoreduttasi, che degrada il glifosate (Colza RR, Monsanto, 1996)

COME SI TRASFORMANO LE PIANTE

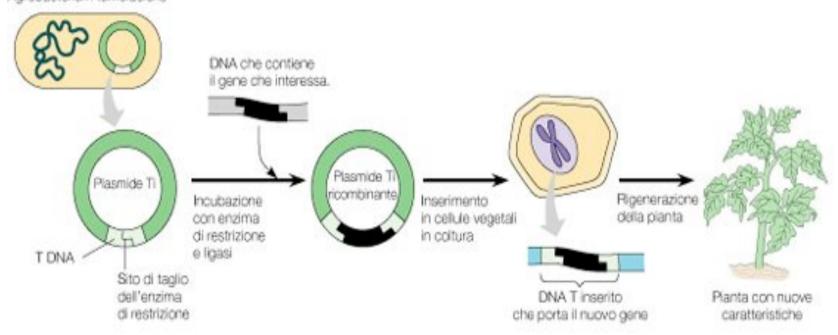
creazione di piante transgeniche per un gene di nostro interesse implica tre fasi fondamentali:

- · Clonare il nostro gene, in un vettore e trasformare E.coli
- Trasferirlo in *Agrobatterium tumefaciens*
- Utilizzare questo Agrobatterio modificato per trasferire il nostro gene in cellule vegetali, selezionando le cellule trasformate da quelle normali e rigenerando da queste piante transgeniche

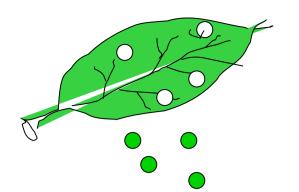
Quindi:

prima si inserisce il gene in un vettore, si trasferisce il costrutto in *E.coli* e si trasferisce nuovamente il costrutto in un Agrobatterio disarmato. Una volta ottenuto e controllato il ceppo di Agrobatterio ricombinante, si utilizza per infettare cellule vegetali. Esistono vari sistemi utilizzabili per questo scopo; fra i piu' diffusi i dischi fogliari o protoplasti.

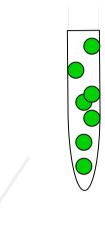
Agrobacterium tumefaciens



- Il plasmide Ti viene isolato dal batterio Agrobacterium turnetaciens; quindi, nella sua regione T viene inserito, per mezzo delle tecniche standard del DNA ricombinante, un frammento di DNA estraneo.
- Quando il plasmide ricombinante viene introdotto nelle cellule della pianta in cottura, il DNA T si integra nel DNA cromosomico della pianta.
- Appena la cellula della pianta si divide, ciascun discendente riceve una copia del DNA T e di tutti i geni estranei di cui esso è portatore. Se viene rigenerata una pianta intera, tutte le sue cellule conterranno – e potranno esprimere – i nuovi geni.



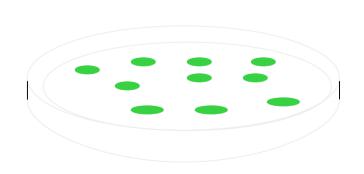
excisione di dischi fogliari di circa 2 mm

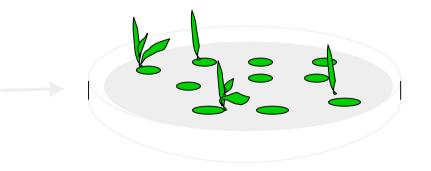


Breve incubazione dei dischi fogliari con una coltura di Agrobatteri (5-10 × 106/ml) contenenti il gene d'interesse

Co-coltivazione in terreno a basso rapporto auxina/ citochinina, in presenza di carbellicina e di Km

Dopo la germinazione i trasformanti si trasferiscono in terreno di radicazione





Metodi alternativi di trasferimento genico vegetale: elettroporazione

- E' possibile trasformare specie monocotiledoni con Agrobacterium ma, l'efficienza è molto bassa, dunque, nonostante l'interesse agronomico di queste specie, l'uso di Agrobacterium non è consigliabile.
- Un metodo poco efficiente, consiste nell'ottenere protoplasti per poi trattarli sostanzialmente come cellule di mammifero cioè, per esempio, con Ca_3 (PO_4)₂.

Un modo più efficace consiste nell'introduzione diretta del DNA usando metodi fisico-chimici

- Il metodo più efficace è l'elettroporazione di protoplasti. Un' alta concentrazione di DNA viene mescolata a una sospensione di protoplasti e sottoposta ad un intenso campo elettrico dell'ordine di 250-500 V/cm.
- Efficienza di trasformazione: 0,1-l'1% x protoplasti di riso e di mais

Metodi alternativi di trasferimento genico vegetale: cannoncino balistico

Dalla prima alla terza generazione, il futuro della ricerca

-<u>Prima generazione di piante transgeniche</u>-input traits-comprende le piante tolleranti gli erbicidi, quelle resistenti agli insetti e quelle che contengono ambedue le caratteristiche.

maggiore interesse per l'agricoltore

- -<u>Seconda generazione di piante transgeniche</u>-output traits-piante con contenuto di nutrienti modificato o con vitamine aggiunte o piante per uso non alimentare
- maggiore interesse per il consumatore(accettazione degli OGM)
- -Terza generazione di piante transgeniche-medicinal traits-le piante sono utilizzate come veri e propri bioreattori, in grado di produrre principi attivi farmaceutici, estratti alla fine della coltivazione e ottenuti generalmente mediante l'inserimento di geni umani.

PIANTE MODIFICATE GENETICAMENTE

SPECIE MODIFICATE GENETICAMENTE PISELLO MELANZANA CETRIOLO ABETE **POMODORO** MELO COTONE ASPARAGO RAFANO MELONE ERBA MEDICA AVENA RAVIZZONE MIRTILLO FRAGOLA BARBABIETOLA NOCE RISO FRUMENTO DA ZUCCHERO SEDANO PAPAYA GIRASOLE BROCCOLO SOIA PATATA GRANOTURCO CANNA DA SUSINO PATATA KIWI ZUCCHERO TABACCO AMERICANA LAMPONE CAROTA VITE LATTUGA PEPE CAVOLFIORE PIOPPO CAVOLO LINO

Seconda generazione

Golden rice

Pomodoro Flavr Savr

Animali transgenici: pesci a crescita aumentata attraverso l'inserimento di geni di pesce fusi a promotori forti che ne aumentano l'espressione (salmone, carpa cinese)

Varietà non ad alto valore commerciale Livelli di espressione del tratto inserito non omogenei Interazione del gene inserito con il metabolismo dell'ospite Il pomodoro è stata la prima pianta transgenica messa sul mercato (USA, '94); dimensioni maggiori e conservazione più lunga sono le sue caratteristiche principali.

Si è intervenuti, sul pomodoro in cui l'enzima poligatturonasi degrada la parete cellulare, in tal modo il frutto, maturando, diventa più molle e può facilmente danneggiarsi durante il trasporto.

Oggi esistono negli U.S.A., pomodori biotecnologici non deperibili: il FLAVR SAVR e il FRESH WORLD FARMS(FWS).

Il FLAVR SAVR si ottiene con l'ANTISENSE TECHNOLOGY, si seleziona il gene della poligatturonasi e lo si reinserisce con la sequenza invertita: ciò impedisce la trascrizione e il risultato è un pomodoro che può restare sulla pianta fino a piena maturazione e affrontare le fasi di raccolta e trasporto conservando una buona consistenza solida.

Il FWS è un pomodoro che dura da trenta a quaranta giorni prima di deperire; con la tecnica del DNA ricombinante si introduce nei semi il gene che codifica il soppressore dell'enzima che produce l'ETILENE, responsabile della normale maturazione dei pomodori.

Il riso è uno dei cibi più studiati dai genetisti.

Questo cereale è la principale e a volte l'unica fonte di sussistenza per le popolazioni orientali; tale tipo di dieta è priva di vitamina A, la cui carenza provoca gravi disturbi, addirittura la cecità.

Il Golden rice è una linea di riso ad alto contenuto in beta-carotene (la provitamina A) introdotta nel 2000 per combattere la carenza di questa vitamina riscontrata in alcuni Paesi. Questa linea non è stata mai coltivata con successo significativo in quanto la varietà trasformata era agronomicamente scadente e con basso contenuto di vitamina. Si sta lavorando ad un "Golden rice 2"

Le piante come bioreattori

Alcune proteine ricombinanti umane con valore terapeutico prodotte in piante

Specie	Proteina umana ricombinante	Bibliografia
Tabacco, girasole (piante)	Ormone della crescita	Barta et al. 1986
Tabacco, patate (piante)	Albumina serica	Sijmons et al. 1990
Tabacco (piante)	Fattore di crescita dell'epidermide	Higo et al. 1993
Riso (piante)	α-interferone	Zhu et al. 1994
Tabacco (colture cellulari)	Eritropoietina	Matsumoto et al. 1995
Tabacco (piante)	Emoglobina	Dieryck et al. 1997
Tabacco (colture cellulari)	Interleuchine 2 e 4	Magnuson et al. 1998
Tabacco (colture di radici)	Fosfatasi alcalina placentale	Borisjuk et al. 1999
Riso (colture cellulari)	α _t -Antitripsina	Terashima et al. 1999
Tabacco (semi)	Ormone della crescita	Leite et al. 2000
Tabacco (cloroplasti)	Ormone della crescita	Staub et al. 2000

Vaccini ricombinanti prodotti nelle piante

Antigene	Pianta ospite		Bibliografia
Antigene B di superficie del virus dell'herpes	Tabacco		Mason et al. 1992
Glicoproteina del virus della rabbia	Fornodoro		McGarvey et al. 1995
Proteina del rivestimento del virus Norwark	Tabacco, pomodoro		Mason et al. 1996
Polipeptide VP1 del virus dell'afta epizootica	Arabidopsis	4	Carrillo et al. 1998
Subunità B della tossina colerica	Patata		Arakawa et al. 1998
Glicoproteina B del citomegalovirus umano	Tabacco		Tackaberry et al. 1999

Specie: Glycine max (SOIA)

Evento: (GTS40-3-2)





P- 35S: promotore del "Cauliflower mosaic virus"

CTP: sequenza di un "chloroplast transit peptide" da *Petunia hybrida* che funge da peptide segnale per il transito del prodotto transgenico nel cloroplasto

CP4 EPSPS: gene della 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasi da *Agrobacterium* sp. (strain CP4) che conferisce la resistenza al glifosato, ingrediente attivo dell'erbicida Roundup

NOS 3': terminatore del gene della nopalina sintasi da Agrobacterium tumefaciens

AZIENDA NOTIFICANTE: Monsanto

MATERIALE DI RIFERIMENTO: -farine di soia contenenti diverse percentuali di soia GTS 40-3-2; IRMM 410-S (Fluka) -farina di soia 100% OGM (ENSE)

La soia transgenica è arrichita di acidi grassi insaturi per risolvere molte patologie cardiovascolari (trombosi,arteriosclerosi...), patologie che affliggono una larga fetta della popolazione adulta dei paesi sviluppati.

Abbastanza diffusa e contestata è la soia RR (Roundup Ready), che resiste agli erbicidi. Le polemiche nascono dal fatto che a causa di questa proprietà aggiuntiva si ha l'aumento dell'uso di erbicidi e il rischio che residui di tali "veleni" rimangano sulla pianta e arrivino fino nel piatto del consumatore.

- -La soia è presente nel 90% dei biscotti e dei prodotti di pasticceria, perché ne aumenta la friabilità.
- L'olio di soia è uno degli ingredienti più usati negli oli di semivari.
- La lecitina di soia fa da emulsionante nella cioccolata, negli snack, nei budini, ecc... Quasi sempre sulle etichettature appare solo la scritta "emulsionanti".
- La soia viene utilizzata nelle salamoie per la cottura dei prosciutti e in molti piatti pronti.

-Proteine estratte dalla soia vengono aggiunte a molti alimenti industriali a base di carne, come il ripieno di ravioli e tortellini. Sull'etichetta si trova solo la dicitura "proteine vegetali". La soia, indicata sull'etichetta come "proteina vegetale", è usata anche nei gelati per aumentarne il volume e la sofficità.

- Il latte di soia è venduto come surrogato del latte in polvere materno per i bambini che non lo tollerano.
- La farina di soia, usata insieme a quelle di cereali, serve per migliorare le qualità nutrizionali dei prodotti da forno.

IL MAIS

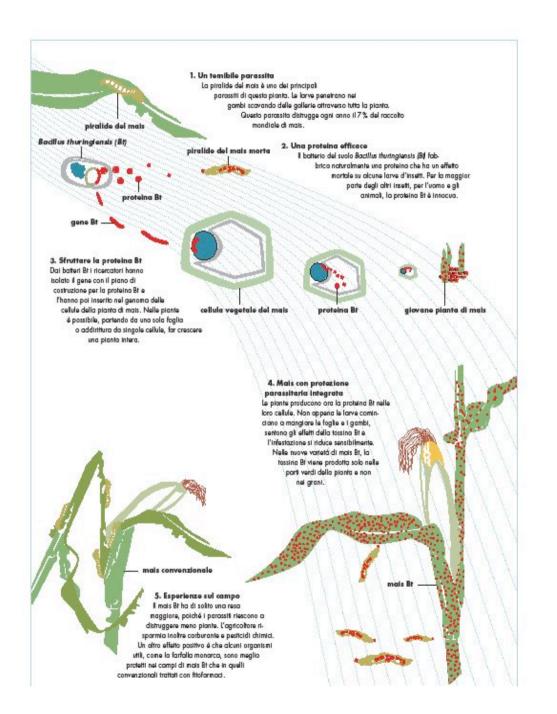
Il più noto alimento transgenico è il mais bt, molto produttivo rispetto al fratello "naturale", grazie alla capacità di uccidere le larve di lepidotteri e di resistere agli erbicidi.

Il mais dell Ciba-Geigy contiene il gene per una tossina chiamata Bt (perchè ricavata da Bacillus thuringiensis), che rende i tessuti della pianta capaci di sintetizzare la glicoproteina selettivamente tossica per gli insetti dannosi, ma innocua per tutti gli altri animali e per l'uomo.

Purtroppo nella costruzione di tali piante transgeniche è stato usato come marcatore un gene per la resistenza all'ampicillina, uno dei principali antibiotici sia nella medicina umana che in veterinaria.

Non è ancora stata esclusa la possibilità che tale gene si trasferisca alla flora batterica degli animali nutriti con mangime a base di mais geneticamente modificato, incrementando la già deplorata diffusione di ceppi batterici resistenti agli antibiotici.

Mais Bt www.genzelas.ch



IL MAIS

- il mais è usato nelle salse al pesto preconfezionate sia come olio sia come amido (addensante);
- budini, gelatine, gelati lo contengono, per avere una maggiore consistenza;
- in forma di farina e di maltodestrina (addensante) il mais è usato nelle creme e nelle minestrine;
- l'amido di mais viene utilizzato come ingrediente del lievito, è, quindi, anche nel pane;
- le gomme da masticare contengono sorbitolo (dà il gusto fresco) e sciroppo di glucosio, entrambi derivati dal mais

IL MAIS

- amido modificato di mais si trova nei condimenti preconfezionati (come quelli per insalate);
- farina di mais è usata quasi sempre nei fiocchi di cereali per la prima colazione;
- derivati del mais sono contenuti nei prodotti da forno, perché servono a migliorare l'aspetto della crosta;
- il malto prodotto dal mais viene utilizzato nella lavorazione industriale della birra;
- l'olio, l'amido e l'amido modificato di mais sono usati nella produzione della maionese industriale e di altre salse;
- anche gli alimenti per neonati, come gli omogeneizzati, contengono amido di mais;
- il mais è più visibile nei prodotti di largo consumo come il grano per insalate, la polenta e i pop corn.

Colza

La colza (*Brassica napus o Brassica napus oleifera*) (anche, ma raro, il colza) è una pianta, dal fiore giallo brillante (o bianco a seconda della varietà), appartenente alle Brassicaceae.

Coltivata nei climi nordici (soprattutto in Canada, Stati Uniti, Regno Unito, Germania, Francia e Olanda) come alimento per animali, fonte di olio vegetale alimentare e come combustibile nel biodiesel. La colza è uno dei raccolti principali in India, coltivato sul 13% dei terreni agricoli. In Europa, la colza viene coltivata principalmente come foraggio (per via dell'elevato contenuto di lipidi e medio di proteine)

L'olio di colza viene ricavato dai semi della pianta. L'olio viene usato in alimentazione dopo essere stato raffinato e miscelato ad altri oli poiché all'origine ha sapore e odore poco gradevoli. L'olio di colza contiene acido erucico, leggermente tossico per gli esseri umani in grandi dosi ma usato come additivo alimentare in piccole dosi.

Proprio per il contenuto di acido erucico l'olio di colza non era ammesso per l'alimentazione umana in Italia. La legislazione varia in altri paesi.

Canola è una specifica varietà di colza dal basso contenuto di acido erucico che è stata sviluppata in Canada: il suo nome è composto da Canadian oil low acid

Cotone

Il cotone (Gossypium, Linnaeus 1758) è una pianta arbustiva della famiglia delle Malvacee, originaria del subcontinente indiano e delle regioni tropicali e subtropicali dell'Africa e delle Americhe.

Le fibre dei semi costituiscono il 56% di tutte le fibre naturali impiegate in tessuti, cordami, lana-cotone, carta e rayon.

L'olio estratto dal seme si usa a scopo alimentare e nella fabbricazione di margarina, saponi e mangimi per animali.

La normativa UE

Un passo indietro....

- Pre-1998: DIRETTIVA 90/220/CE
 - Autorizzata l'emissione deliberata nell'ambiente, a scopo di ricerca e sviluppo, di 17 diversi organismi geneticamente modificati (di cui 14 piante e due vaccini)
- 1998-2004: MORATORIA DI FATTO*.
 - Nel 1997 alcuni Stati membri iniziano a rifiutare l'autorizzazione all'uso di OGM nei propri territori, e nel 1998 votano per un blocco delle autorizzazioni fino a che non sia garantito il diritto di scelta dei cittadini attraverso appropriate norme di etichettatura

^{*} Nessun nuovo OGM è stato autorizzato in questo lasso di tempo.

Dalla moratoria alla direttiva 18/2001

La moratoria produce polemiche da parte di paesi grandi esportatori di materiale GM, quali USA, Canada e Argentina. Si arriva ad una situazione di stallo sul piano della ricerca biotecnologica

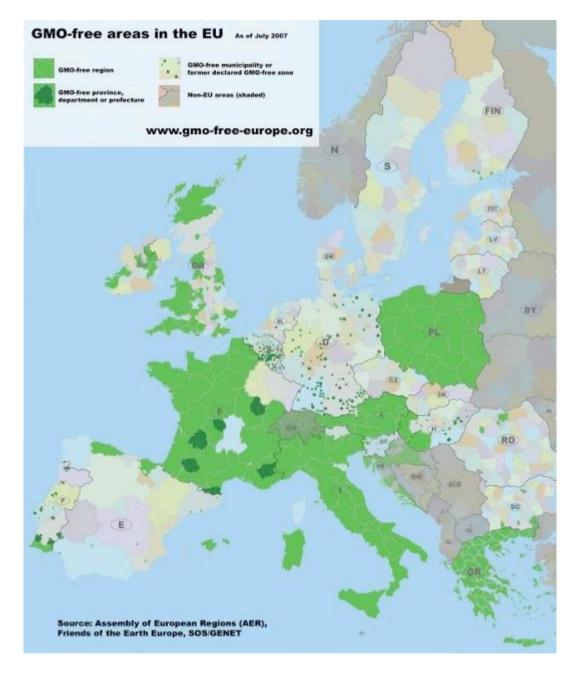
Si arriva ad una normativa basata sul principio di precauzione:

- □ **Direttiva 2001/18/CE**, che, sostituendo la 90/220/CEE, riscrive le regole base per l'approvazione di un nuovo OGM;
- □ Regolamenti 1829 e 1830/2003/CE, sull'autorizzazione e l'etichettatura/tracciabilità degli alimenti e dei mangimi (food & feed) costituiti o derivati da OGM;
- □ Raccomandazione 556/2003, che indica le linee guida sulla coesistenza tra colture OGM e convenzionali, cui le norme nazionali e regionali dovrebbero allinearsi.

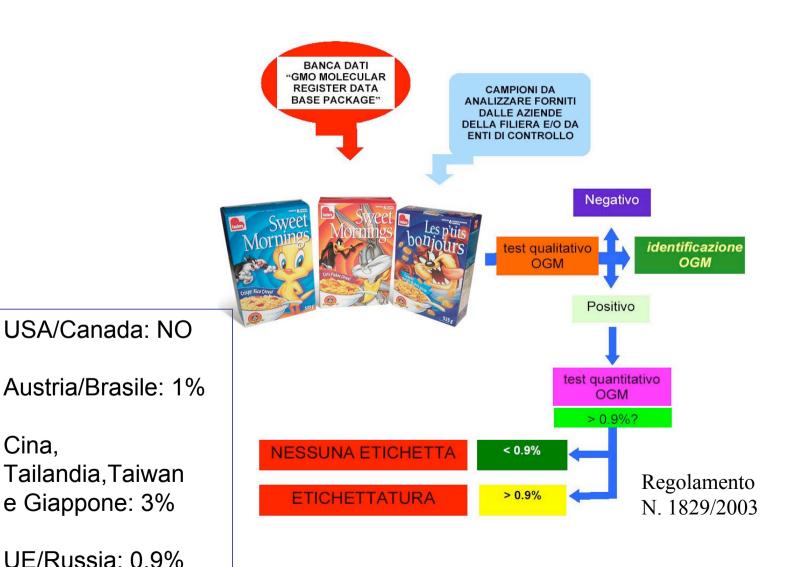
Linee guida normative UE

- Rintracciabilità ed Etichettatura
 - □ Tutti gli alimenti e i mangimi GM devono essere etichettati come tali e quindi rintracciabili, senza considerazione del fatto che contengano o no proteine di DNA
- OGM non autorizzati non possono essere presenti in nessun cibo o mangime
- I produttori di OGM dovranno prendere misure atte ad evitare la contaminazione
- L'onere e i costi dell'etichettatura rimarranno a carico dei produttori di OGM

Europa
aree libere da
Organismi
Genicamente
Modificati



PROCEDURE PER IL RILEVAMENTO, L'IDENTIFICAZIONE E LA QUANTIFICAZIONE DI OGM PER OTTEMPERARE ALLE DISPOSIZIONI UE PER L'ETICHETTATURA



Metodi di rilevamento degli OGM: vantaggi e svantaggi

Analisi delle proteine

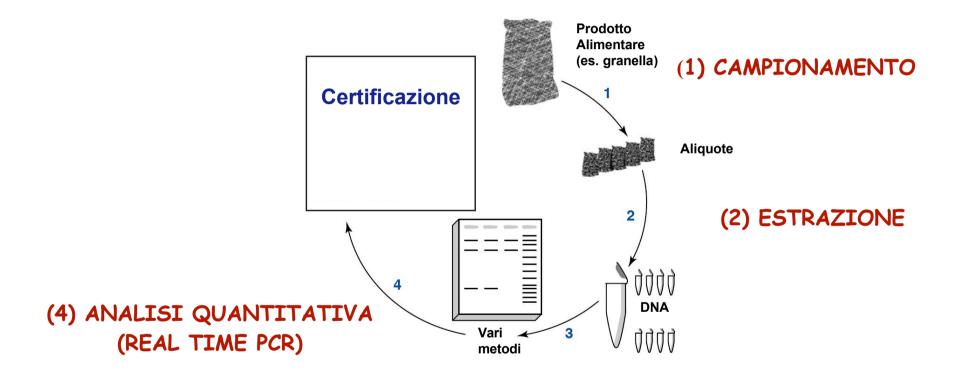
- economici
- di semplice esecuzione
- rapidi
- non applicabili:
 - ad alimenti finiti
 - quando non vengono espresse nuove proteine
- non adatti per analisi quantitative
- non evento-specifici

Analisi del DNA (PCR)

- sensibili
- specifici
- Applicabili ad alimenti finiti
- 😻 quantitativi
- di lunga esecuzione
- costosi
- richiedono personale altamente specializzato e strutture adeguate

Controllo ufficiale

SCHEMA PER IL RILEVAMENTO DI PRODOTTI OGM



(3) ANALISI QUALITATIVA (PCR)

ESTRAZIONE DNA DA MATRICI COMPLESSE:

POLENTA PRECOTTA

CRACKERS

SNACK AL CIOCCOLATO

Fasi della ricerca di OGM

- 1. Ricerca ingrediente (specie vegetale)
- 2. Screening GM
- 3. Identificazione OGM (specifico evento di trasformazione)
- 4. Quantificazione OGM

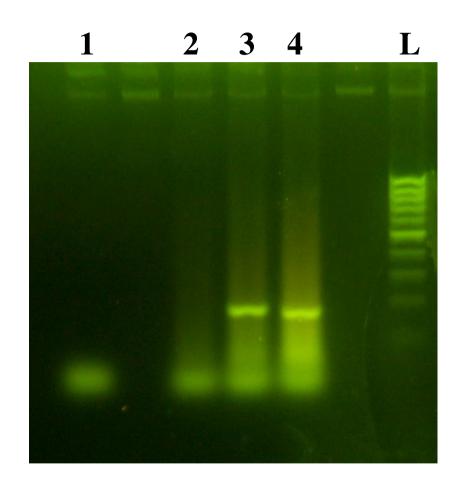


LIVELLI DI SPECIFICITÀ **35S EPSPS** NOS Genoma pianta Alta Primer evento-specifici Primers costrutto-specifici Primer gene-specifici Primer per screening Bassa

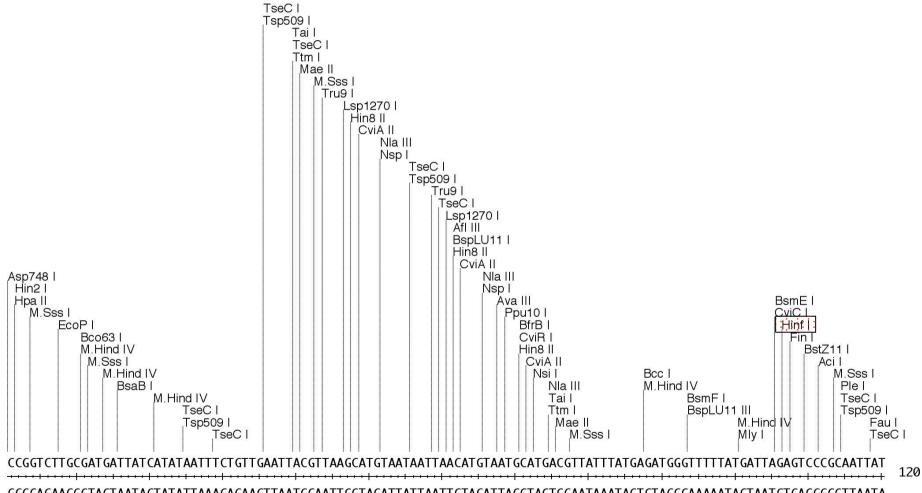
Examples of Transgenic Events with 35S Promoter Sequences

Event Name	P35S	T-35S	NOS
non GM maize	_	-	-
Event176	+	+	-
Bt11	+	-	+
T25	+	+	-
Mon810	+	-	?
GA21	_	-	+
NK603	+	-	+
Mon802	+	-	+
MON863	+	?	?
TC1507	+	?	?
Non GM soy	-	-	-
GM soy (RR)	+	-	+

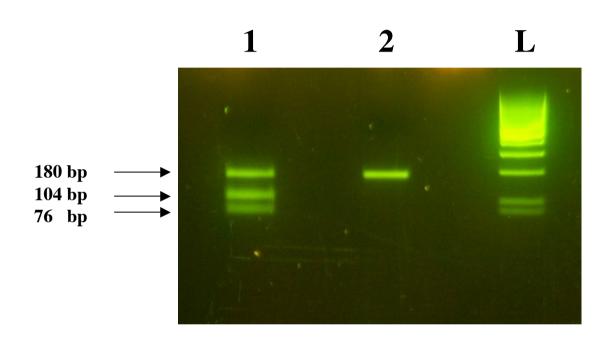
PCR QUALITATIVA T-NOS SU DNA ESTRATTO DA POLENTA



MAPPA DI RESTRIZIONE DEL FRAMMENTO DI 180 bp T-NOS



DIGESTIONE CON Hinf I DEL FRAMMENTO DI 180 bp T-NOS



Eventi ricercati in Italia Domani

· Soia

Oggi

- Soia RR

· Mais

- MON810
- MON863
- B+11
- T25
- Bt176
- NK603
- GA2
- TC 1507
- DAS 59122 (in corso di autorizzazione)
- StarLink

· Riso

- LL RICE 601
- LL RICE 62
- Bt 63

http://gmo-crl.jrc.it/statusofdoss.htm

Stato di avanzamento dei dossier di validazione del CRL (aggiornato al 6/9/2007):

Metodi validati (28):

16 mais

1 barbabietola

2 cotone

2 riso

5 colza

1 soia

1 patata

Metodi in corso di validazione (36):

14 mais

8 cotone

6 colza

4 soia

1 Brevibacterium

1 prodotto da lievito

2 prodotti da E.coli

Totale 64



Analisi qualitativa: Real-time PCR

Campione	Leu tRNA	Adh1	Le1	p35S	tNOS	Bt11	RRS
Merendina confezionata	+	+	+	-	-	NT	NT
Polenta	+	+	-	+	-	+	NT
Noccioline ricoperte di paprika	+	+	-	-	-	NT	NT
Palline di mais	+	+	-	-	-	NT	NT
Snack dietetico alla frutta	+	-	-	-	-	NT	NT
Shake Mix (prodotto dietetico)	+	+	+	+	+	-	+
Noccioline di soia	+	-	+	-	-	NT	NT
Pane di soia	+	-	+	+	+	NT	+
Snack a gusto di pizza	+	-	-	-	-	NT	NT
Latte di soia	+	-	+	+	+	NT	+

Analisi quantitativa: Real-time PCR

OGM	Campione	Contenuto (%)		
mais Bt11	Polenta	0.07% ± 0.05%		
	Latte di soia	< LOQ		
soia Roundup Ready	Pane di soia	0.22% ± 0.09%		
	Shake Mix	< LOQ		

I risultati sono espressi come contenuto % di OGM ± l'incertezza estesa. Il LOQ (limite di quantificazione) per il metodo specifico per la soia RR è pari a 0.05%.