



Gıda Zincirindeki Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Analizi

Hamide şenyuva - John Gilbert, *FoodLife International*
Edip Sincer, *Sincer Dış Ticaret*

sincer





Gıda Zincirindeki Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Analizi

Hamide şenyuva - John Gilbert, FoodLife International
Edip Sincer, Sincer Dış Ticaret

Klasik Bitkisel Üretim

Klasik bitkisel üretimde, türler arası çaprazlama, üstün özelliklere sahip yeni türler yaratmak için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu tür klasik yöntemler 100 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır. Yakın geçmişte doku kültürü teknikleri yardımıyla normalde doğada bulunmayan türler de geliştirilmiştir. Hedeflenen üstün özellikler arasında verim artışı, kuraklığa veya küflere karşı direnç sayılabilir. Bitki yetiştiriciliği çoğu zaman oldukça yavaş bir süreçtir ve bir bilim olduğu kadar sanattır da. Sonuçları yetiştiricinin tecrübe ve yeteneklerine bağlı olarak ortaya çıkar.

Genetiği Değiştirilmiş Bitkiler (GDO)

Buna karşın, bitkilerin genetik özelliklerinin değiştirilmesi laboratuvar ortamında gerçeleşir. Bitkinin DNA'sının (genetik mühendisliği ile) başka bir kaynaktan (örneğin: bir mikroorganizmadan) özel bir gen nakledilerek değiştirilmesini ve böylece arzu edilen bir özelliğe kavuşturulmasını içerir. Örneğin; 'Roundup Ready™' soya bir mikroorganizmadan (*Agrobacterium tumefaciens*) alınarak soyanın DNA'sına eklenen herbisite dirençli bir gen içerir. Bu GDO soya, glifosat ve glufosinat herbisitlerine dirençlidir. Bu nedenle soya üretimi sırasında bitkinin gelişimini etkilemeden yabancı otlarla mücadele kolaylıkla yapılabilir. Geniş etkili bu tür herbisitler sadece herbisite dirençli bitki türlerinde kullanılabilir ve çiftçiye yabancı ot mücadelesinde büyük avantaj sağlar.

Normalde bitki üzerindeki bu tür genetik manipülasyonlar sadece bir tek istenilen özelliğin aktarılmasıyla değil, belirli bir gen zincirinin nakliyle yapılır. Bu zincir promotör (başlatıcı, İng. 'promoter') gen denilen ve bitkiye istenilen özelliği kazandıran (örneğin hebisit direnci) bir yapıdan ve terminatör (sonlayıcı, İng. 'terminator') ve markör (işaretleyici, belirteç, İng. "marker") genlerden oluşur. Promotör, terminatör ve markör genler kendi içerisinde spesifik değişimlerdir ve gerçekleşen değişimin ne olduğu konusunda fikir vermezler. Ancak, bu genler bitkinin genetik bir değişime maruz kalıp kalmadığını anlamada (tarama amaçlı) iyi bir işarettir. Genetik değişikliğin türünün ve miktarının belirlenmesi için ise daha detaylı araştırma gerekir.

Hangi bitki türleri genetik değişime uğratılmıştır ve neden?

Ticari amaçlı üretimde kullanılan ilk genetik modifikasyonlardan biri Flavr Savr™ olarak bilinen bir domates türüdür (http://en.wikipedia.org/wiki/Flavr_Savr). Bu modifikasyon sonucu, meyvenin yumuşamasına yol açan bir enzimin (polygalacturonase) üretimi durdurulur. Normalde domatesler, raf ömürlerini uzatmak amacıyla, olgunlaşmadan önce toplanarak yapay yollarla olgunlaştırılırlar. Flavr Savr™ domates ise tam olgunluğa erişinceye kadar toplanmayarak aromaların gelişmesine imkan verilir ve buna rağmen uzun raf ömrüne sahip olabilir. Bugün ise genetiği değiştirilmiş bitki türlerinin amacı çiftçiye veya tarım kimyasalları sanayine birçok avantaj sağlamaktır. Genetiği değiştirilmiş soya, mısır, kolza tohumu ve pamuk herbisit direnci ve bazı zararlılara (Örneğin: mısır kurdu, ing "European Corn Boer/Ostrinia nubilalis") karşı direnç amacıyla üretilmektedir. Genetiği değiştirilmiş diğer bitki türleri arasında pirinç (A vitamini miktarının artırılması amacıyla), papaya (Papaya Ringspot virüsüne direnç), patates, şeker pancarı ve keten tohumu bulunmaktadır.

GDO konusunda yasal yaklaşımlar

ABD ve Avrupa Birliği arasında yasal düzenlemeler konusunda farklılıklar olsa da, her iki bölgede de temel kural sadece onaylı GDO'ların kullanımına izin verilmesidir. Bu nedenle GDO'lu ürünleri piyasaya sürece kişiler devlet kurumlarından onay almaları zorunludur. Bu izin süreci son derece detaylı çalışmaları gerektirir. Tohum ve tarım kimyasalı üreticisi şirketlerin izin başvuru genetiği değiştirilmemiş türlerle eşdeğerliği ve hem çevre hem de insan sağlığına etkileri gösteren çok detaylı dosyalar içerir. ABD ve AB arasındaki temel fark; AB'de GDO içeriği %0.9'u geçen gıda maddelerinin etiketlenmesi zorunluken ABD'de böyle bir etiketleme zorunluluğunun



olmamasıdır. AB'de GDO içeren yemlerde etiketleme zorunluluğu olmasına rağmen bu yemlerle beslenen hayvanların ürünlerin (süt, yumurta ve et gibi) etiketlenmesi zorunlu değildir.

Gıda zincirinde GDO

Mısır gıda sanayinde yaygın kullanılan bir hammaddedir. Mısırın işlenmesinden elde edilen bir çok ürün de işlenmiş gıda maddelerinde katkı olarak kullanılır. Örneğin kuru öğütme ile elde edilen mısır ürünleri mısır gevreği gibi kahvaltılık ürünlerin ana hammaddesidir. Mısırdan ayrıca nişasta elde edilir. Mısır nişastasından elde edilen glukoz şurubu şekerli ürünlerde ve karamel olarak yaygın kullanıma sahipken, mısır şurubundan elde edilen maddeler gıda boyası olarak da kullanılır. Ayrıca, mısır özü yağı nebati yağlar arasında önemli bir paya sahiptir. Mısırın işlenmesi sırasında ortaya çıkan bir çok yan ürün yem sanayinde kullanılır. Soya fasulyesi de yem sanayi için önemlidir. Soya AB'de en çok kullanılan yem hammaddesidir. Yemlerdeki proteinin %55'i soya kaynaklıdır. Yemler ayrıca genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalardan elde edilen enzimler ve katkılarla da zenginleştirilir.

Bu nedenle, GDO mısır gibi ürünlerin gıda zincirine girmeden ve işlenmeden önce kontrolü ve denetimi zorunludur. Hammadde kontrolü yapılmadığı takdirde; gıda zincirine giren ve çeşitli ürünlerde katkı maddesi olarak kullanılan GDO'lu ürünlerin tespiti için çok sayıda işlenmiş son ürünün analizi gerekir. Ayrıca, işlenmiş ürünlerdeki ısı işlemden dolayı DNA bozulması olacağından analizlerde teknik zorluklar ortaya çıkar. Ancak, yasal açıdan bakıldığında izin verilmeyen GDO türleri gıda zinciri girdiğinde yapılacak analizlerin işlenmiş son ürünlerde yoğunlaşması zorunlu hale gelir.



Ürünlerinin "GDO'suz" olduğundan emin olmak isteyen gıda üreticilerinin tüm gıda zincirinde izlenebilirliği (Identity Preservation (IP), ürünün çiftlikten alınıp nihai ürün olarak tüketiciye sunulmasına kadar geçen her aşamada, kullanılan girdilerin tanımlanmasını gerektiren, üretici ve tüketiciler için gıda zincirindeki bütün ürünleri izleyebilme olanağı veren bir yöntem) sağlaması zorunludur. Bunu sağlamanın yolu, öncelikle, çiftçinin kullandığı tohumun GDO'suz olduğunun belirlenmesi için analiz edilmesidir. GDO'suz ürün üreten çiftçilerin GDO'lu ürünlerden GDO'suz ürünlere bulaşma olmadığını kontrol etmeleri gerekmektedir. Genellikle GDO'lu ve GDO'suz ürünlerin yetiştirildiği araziler arasında 300 metre mesafe bırakılması

tavsiye edilir. Hasat sonrasında da işleme ve nakliye sırasında GDO'lu ve GDO'suz ürünler farklı ekipmanlar kullanılarak ayrılmalıdır.

ABD "StarLink" adlı mısır türünün sadece insan tüketimi dışı amaçlar için üretimine izin vermektedir. Bunun nedeni "StarLink"de yer alan bir Bt Protein türünün daha yavaş sindirilmesi nedeniyle bazı kişilerde allerjik reaksiyonlara yol açtığı gözlemlenmesidir. Bu sınırlamaya rağmen "StarLink" mısıra işlenmiş gıda maddelerinde rastlanmıştır. Bunun bir örneği Taco Bell restoranlarında görülmüş ve büyük kamuoyu tepkisi sonucu firma büyük miktarda ürünü restoranlarından geriye çekmek zorunda kalmıştır. Bu örnek GDO'lu ve GDO'suz ürünlerin ayrılmasının ne derece zor olduğunu ve özellikle yasaklanmış ürünlerin ne tür problemler yaratacağını göstermesi açısından önemlidir.

GDO analizi zorunluluğu

AB'deki Rapid Alert sistemi 2008 yılında gıda ve yem sanayine yönelik 34 ithal üründe kullanımına izin verilmeyen GDO varlığı bildirmiştir. Bu bildirimlerden on dokuzu Çin'den gelen Bt63 türü GDO'lu pirinçtir. 2009 yılında ise yine Çin'den 3 Bt63 pirinç, 1 Bt63 pirinç erişttesi ve 1 adet de Tayland pirinci tespit edilmiştir. Bu bildirimlerden de anlaşılacağı üzere hammaddelerin ve işlenmiş ürünlerin kullanımına izin verilmeyen GDO'lar açısından analiz zorunludur. AB pazarına ürün satan ihracatçıların da %0.9'luk etiketleme kanununa uyma zorunluluğu vardır. Tüketicilerin GDO konusunda hassas olduğu pazarlarda ise üreticiler tüm ürünlerini GDO'suz kaynaklardan üretme kararı alabilmekte ve bu amaçla kullandıkları hammaddeleri analiz yoluna gitmektedirler.

SureFood® GMO real-time PCR ürünleri

SureFood®PREP

(DNA Hazırlığı)

PREP® Plant

PREP® Plant X

SureFood® GMO SCREEN

(Kalitatif real-time PCR / Tarama)

SureFood® GMO 35S/NOS Screening

SureFood® GMO 35S/NOS/FMV Screening

SureFood® GMO 35 S

SureFood® GMO NOS

SureFood® GMO FMV

SureFood® GMO BAR

SureFood® GMO CaMV

SureFood® GMO PLANT PLUS V

SureFood® GMO PLANT PLUS R

SureFood® PLANT PLUS LC

SureFood® P35S:BAR Rice Screening

SureFood® GMO IDENT

(Kalitatif real-time PCR / İdentifikasyon)

SureFood® GMO LibertyLink 601 Rice

SureFood® GMO Bt63 Rice

SureFood® GMO QUANT

(Kantitatif real-time PCR)

SureFood® GMO Roundup Ready Soya

SureFood® GMO Bt176 Corn

SureFood® GMO Bt11 Corn

SureFood® GMO T25 Corn

SureFood® GMO LibertyLink Canola

SureFood® GMO MON810 Corn

SureFood® GMO 35S Corn

SureFood® GMO 35S Soya

SureFood® GMO RR2Y Soya



GDO analizleri uzman moleküler biyologlar ve gelişmiş laboratuvar alt yapısı gerektirse de, analiz maliyetleri görece düşüktür ve tüketicilerin GDO'suz ürün talebini karşılamak amacıyla uygulanması kolaydır.

GDO tespit metodları

GDO analizlerinde kullanılan iki temel yöntem mevcuttur: ELISA yöntemiyle GDO'ya özgü bir proteinin taranması veya daha yaygın kullanılan moleküler biyoloji teknikleri. ELISA yönteminin en büyük dezavantajı sadece bir tip proteini tespit edebilmesi, dolayısıyla yaygın ve etkin bir tarama için çok sayıda analiz zorunluluğudur. Diğer yandan, moleküler biyoloji teknikleri daha geniş bir tarama alanına sahiptirler ve dolayısıyla GDO varlığı konusunda daha kesin sonuç verdiklerinden tercih edilirler.

Değiştirilmiş DNA'nın Polimerize Zincir Reaksiyonu (PCR) ile tespiti

GDO'lu ürünün tespiti ve ölçümü işleminin ilk adımı DNA'nın izolasyonu ve saflaştırılmasıdır. Mısır gibi hammaddelerde bu işlem görece kolaydır. Ancak ısıtma işlemi görmüş, dolayısıyla DNA'sında bozulma olmuş, işlenmiş ürünlerde bu işlem zorlaşır. Kek veya bisküvi gibi pişmiş ürünlerde ürün yüzeyindeki DNA bozulması daha fazla, ürünün içerisindeki DNA'lar daha sağlam durumdadır. Galeta unu ile kaplanmış bir balık numunesi analiz ederken de ürünün tamamını kullanmak yerine sadece dış yüzeydeki kaplamayı analiz etmek daha doğru bir yoldur. Alınan numunenin temsili olmasına ve homojen hale getirilmesine özen göstermek gerekir.

PCR yöntemi son derece hassastır ve bu nedenle öğütme ekipmanı gibi yerlerden kaynaklanacak çok düşük miktardaki kontaminasyonların bile önüne geçilmesi ve tozlardan bulaşmanın engellenmesi gerekir. Bu nedenle numunenin hazırlandığı laboratuvar ile analizin yapıldığı laboratuvarların iyi izole edilmesi şarttır.

Numunenin yapısına göre (asitli, yağlı vb.) farklı DNA izolasyon teknikleri kullanılır. Bu tekniklerde hücre duvarı parçalanarak hücresel ve organel membranlardan (lysis) DNA'nın ayrılması için sodyum dodesil sulfat gibi deterjanlar ve çeşitli sindirim

enzimleri kullanılır. Lysis aşamasından sonra DNA, PCR baskılayıcı maddelerden ayrıştırılır. **SureFood® PREP kitiyle**, 65 °C'deki Lysis aşamasını takiben satrifüj uygulanır ve DNA'nın santrifüj filtresine bağlanması sağlanır. Son aşamada ise filtre yıkanarak DNA alınır.

Saflaştırılmış DNA PCR ile analiz edilir. Real-time polimerize zincirleme reaksiyon günümüzde mikrobiyoloji ve adli tıpta yaygın kullanılan bir yöntemdir. PCR DNA'yı kopyalayarak çoğaltma ve bunu müteakip ölçme amacıyla kullanılır. Bu yöntem DNA'daki spesifik bir zincirin tespitine ve ölçümüne (DNA kopya sayısı) imkan verir. Bu tespit yapılması için bir nükleik asit zinciri olan "primer" DNA kopyalamanın başlangıç noktası olarak kullanılır. Tespit aşamasında çeşitli metodlar kullanılabilir, **SureFood®** sisteminde floresans ile işaretlenmiş hibridizasyon propları (FAM/TAM-RA işaretli TaqMan) kullanılır.

SureFood® GMO screen tarama sistemi dört adet primer sağlar ve birlikte kullanıldıklarında Genetik Modifikasyonun en yaygın dört sekansını tespitte imkan verir - 35S ve FMV promotör, NOS terminatör ve BAR. Bu yöntemle soya, mısır, kolza tohumu, pirinç, papaya, şeker pancarı, patates ve keten tohumu gibi ürünlerdeki tüm 28 türün taranması mümkündür.



SureFood® – güvenli gıda için real-time PCR teknolojisi

Real-time PCR sistemleri:

GDO:

Tarama: 35S, NOS, FMV, BAR, CaMV, PLANT PLUS
İdentifikasyon: Liberty Link Pirinç, Bt63 Pirinç
Kantifikasyon: Roundup Ready Soya, Bt176 Mısır, Bt11 Mısır, T25 Mısır, Liberty Link, Kanola, MON810 Mısır, 35S Mısır, 35S Soya, RR2Y Soya

Allergenler:

Soya, Fındık, Yer fıstığı, Badem, Kereviz, Gluten, Ceviz, Susam, Hardsal, Balık, Acıbadım, Kabuklular, Yumuşakçalar, Antepfıstığı, Kaju

Tür Tayini:

İdentifikasyon: Kedi & Köpek, Siğir, Domuz, Tavuk, Hindi (ve PCR-ELISA teknolojisi ile diğer türler)
Kantifikasyon: Siğir, Domuz, Tavuk

Patojenler:

Salmonella, Listeria monocytogenes ve tarama, Campylobacter, STEC tarama, Staphylococcus aureus, Vibrio tarama, Norovirus
PATHOGEN PLUS kitleri internal inhibisyon kontrol içerir.

İlgili matrisler için optimize edilmiş SureFood® PREP nükleik asit ekstraksiyon kitleri.

sincer

Ziya Gökalp Bul. 17/4, Alsancak, İzmir 35220
Tel : +90.232.464-8006
Faks: +90.232.464-8007
email: bilgi@sincer.com.tr, www.sincer.com.tr

r-biopharm

