

Tècniques emprades per a la detecció d'organismes modificats genèticament

Amb l'exigència de l'etiquetatge de determinats aliments fabricats a partir dels organismes modificats genèticament (OMG) s'han de posar a punt uns mètodes adaptats a cada tipus d'aliment i a cada transgènic que s'estigui buscant, cal que els mètodes siguin fiables i sensibles, que puguin respondre a la legislació i la informació al consumidor. Tota aquesta feina també comporta estar en contacte amb altres laboratoris europeus que també es dediquin a les mateixes determinacions.

Etiquetatge

El fet que el Servei d'Anàlisis Biològiques Quantitatives del Departament de Genètica Molecular del CSIC hagi esdevingut un servei per a l'anàlisi d'aquest tipus de productes ha vingut donat per la normativa quant a l'anàlisi dels OMG. Fins ara, la normativa —de maig de 1998— deia que s'havia d'etiquetar qualsevol aliment modificat genèticament. Van aparèixer protestes perquè, de vegades, un aliment pot semblar procedent d'OMG, però potser no ho és, sinó que ha patit una contaminació que es pot detectar a l'analítica. Per exemple, si s'ha fet servir un mateix camió per transportar uns productes transgènics i, posteriorment, el mateix tipus de producte no transgènic.

Finalment, s'ha publicat una nova normativa —10 de gener de 2000— que obliga a etiquetar qualsevol aliment en què el percentatge d'OMG estigui per sobre de l'1 %. La presència d'OMG en aliments amb una concentració inferior a aquest valor es considera que és deguda a una conta-

minació i no cal etiquetar-los com a OMG.

El procés d'anàlisi

El treball analític que desenvolupa aquest servei d'anàlisi es basa en comprovar si, en l'aliment a analitzar, hi ha cap transgènic introduït. Com que el transgènic conté un fragment de DNA modificat, en primer lloc es realitza una extracció del DNA d'aquest aliment i, posteriorment, una purificació. Normalment, es fa servir una solució tampó per fer aquesta extracció —sovint difícil—, ja que hi ha productes que estan molt elaborats, i el DNA de l'aliment s'ha degradat en aquest procés d'elaboració.

Els productes en què ha estat relativament fàcil detectar DNA de blat de moro o de soia s'indiquen a continuació. Es mira el DNA del blat de moro o

TERESA ESTEVE

Servei d'Anàlisis Biològiques Quantitatives del Departament de Genètica Molecular del CSIC

Definicions

Transgènic: organisme que porta gens provinents d'una altra espècie.

Organisme modificat genèticament (OGM): organisme que pot portar un o més gens d'una altra espècie o pot ser un gen de la mateixa espècie però que, senzillament, ha estat modificat i no ha calgut introduir cap gen addicional.

Alguns dels cultius ja comercialitzats

Blat de moro: protecció contra el taladre o broca.

Colza: resistent a herbicides

Cotó: protecció contra les orugues.

Patata: protecció contra l'escarabat de la patata.

Soia: resistents a herbicides (glifosat).

Tabac: protecció contra el virus del tabac.

Tomàquet: protecció contra els insectes.

de la soia perquè són els que estan autoritzats i, per tant, els que cal etiquetar.

Hi ha altres productes en què és molt difícil poder detectar el DNA, com els additius, els colorants, els extractes naturals de vitamines, les begudes alcohòliques d'elevada graduació, etc. Aquesta dificultat radica en la impossibilitat d'extreure'n el DNA i, per tant, no es pot arribar a dir si hi ha cap transgènic introduït.

Un cop feta l'extracció, s'aplica la tècnica PCR (reacció en cadena de la polimerasa), de manera que el DNA extret s'amplifica 2⁴⁰ vegades, tenint en compte que se n'ha d'extreure una quantitat suficient per, després, poder veure en un gel d'agarosa si el transgènic estava introduït o no.

Controls analítics

Sempre que es dona un resultat negatiu —l'aliment no prové d'un OMG— cal garantir dues coses. Primera, que aquesta anàlisi de PCR ha funcionat bé i, per això, per a cada seqüència de mostres, es fa un control positiu i un control negatiu, analitzant de manera paral·lela les mostres, una sèrie de controls provinents de plantes transgèniques —positiu— i plantes no transgèniques —negatiu. La segona és el control intern, de manera que el DNA extret de l'aliment sigui apte per aplicar una PCR. És a dir, que estigui suficientment lliure d'inhibidors, que s'hagi extret suficient quantitat per poder-lo veure i que el DNA no hagi estat degradat. Aquests controls interns es basen en l'extracció d'un gen present, tant en plantes transgèniques com no transgèniques, i que és específic de la planta. Així doncs, per a la soia s'empra la lectina i per al blat de moro la invertasa. Els nivells de detecció estan al voltant del 0,01 %.

Alternatives analítiques

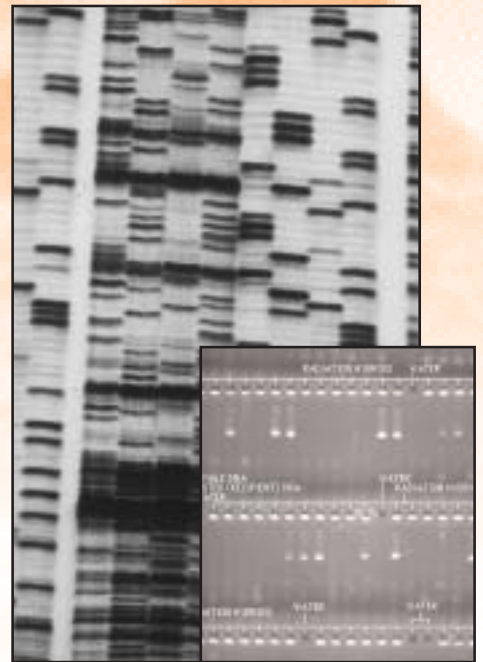
El transgens introduïts s'han de conèixer i, per això, s'han de dissenyar uns cebadors o *primers* que tinguin una seqüència coneguda. Això fa que s'hagin d'anar dissenyant per a cada OMG que surt al mercat i que sigui autoritzat. També es pot fer un *screening* (tècnica que permet detectar d'una manera qualitativa la presència d'un analit determinat) d'unes seqüències reguladores que estan presents en quasi tots els OMG autoritzats. Per tal que un gen comenci a transcriure's, és a dir, funcionar, necessita un promotor. Però, generalment,

el promotor és a l'inici de la cadena, i regula la transcripció del gen. El 35S és un promotor molt actiu que està molt introduït en plantes. També es necessita un terminador que reguli la finalització d'aquesta transcripció. Aquest tipus de determinacions són menys sensibles, menys específiques, no ens precisa la varietat de la planta, ni quin transgen està introduït. Només indica que en pot haver, però sense especificar.

Al CSIC es busquen els transgens específics, que són els que majoritàriament estan introduïts. Per a la soia és el RR-soia, i per al blat de moro és el Bt176.

Una altra alternativa és emprar la Nested PCR, que amplifica dues vegades. Això es fa quan es pensa que el percentatge de DNA modificat serà molt baix. En aquest cas s'obté molta més sensibilitat.

El que està fent actualment aquest servei és una anàlisi semiquantitativa. Això vol dir que amb estàndards externs prequantificats i fent-ne diferents dilucions, es fa una quantificació visual de les bandes de la mostra. Tot i això, i tenint en compte que la tècnica semiquantitativa no és tan precisa (la precisió no arriba a un ordre de magnitud), aquest servei també està posant a punt la PCR quantitativa que serà necessària arran de la nova normativa que marca un 1 % de concentració màxima d'OMG.



A Europa existeix un projecte, en el qual participen tretze laboratoris de diferents països, per trobar uns mètodes (extraccions i determinacions analítiques) que s'estableixin com a *normalitzats* per a que tothom pugui emprar-los. Es tracta de normalitzar uns mètodes perquè, segons quin s'aplica, no es pot extreure el DNA i, per tant, es poden obtenir resultats negatius, quan realment, potser, un aliment determinat ha patit alguna modificació genètica i no es detecta, cosa que provoca, a més, anàlisis contradictòries de la mateixa mostra a diferents laboratoris.

Tipus de empreses que estan sol·licitant anàlisis d'OMG

Agricultors o sitges	30 %
Transformadors de productes intermedis	11 %
Alimentació general	30 %
Dietètica	16 %
Begudes alcohòliques	3 %
Altres laboratoris d'anàlisi	10 %

Percentatges de transgènics trobats fins ara per aquest servei en les mostres analitzades (en % de les mostres):

	nivell > 0,1 %	nivell > 0,01 %
Blat de moro (transgen específic Bt176)	15 %	22 %
Soia (transgen específic RR-soia)	23 %	24 %
Mostres analitzades amb el promotor 35S	20 %	no hi ha prou sensibilitat per a aquest nivell