

ΧΗΜΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ: ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Κουτίνας Αθανάσιος
Ομότιμος Καθηγητής, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστημίου Πατρών

Δομή του κεφαλαίου

- (i) Εισαγωγή (παραδείγματα χαρακτηριστικών μεταλλαγμένων τροφίμων, διάδοση της παραγωγής μεταλλαγμένων τροφίμων)
- (ii) Τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA (recombinant DNA technology)
- (iii) Χαρακτηριστικές ιδιότητες για μετάλλαξη
- (iv) Μοριακές επεμβάσεις για ω -3 λιπαρά οξέα, βιοσυνθέσεις ουσιών, πρόσθετα τροφίμων, αρχικές καλλιέργειες, ένζυμα, βελτίωση κρέατος και γάλακτος, βελτίωση flavor
- (v) Πρωτεϊνική μηχανική (protein engineering)
- (vi) Μοριακή ανάλυση

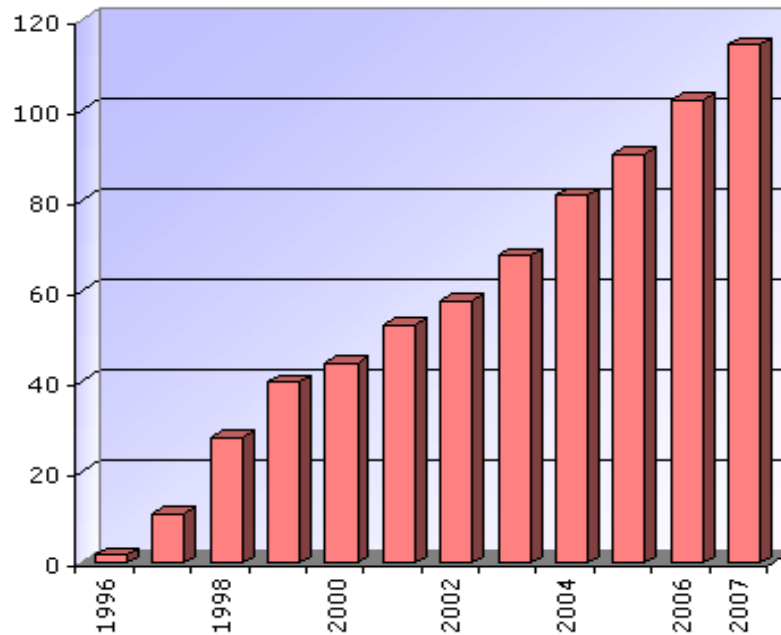
Γιατί παράγονται τα μεταλλαγμένα τρόφιμα

- Γενικοί Στόχοι: Βελτίωση χρώματος, λειτουργικότητας, αντίστασης στην αλλοίωση, κόστους, Flavor, συντήρησης
- Παραδείγματα:
 - (i) Βελτίωση της αναλογίας α-χλωροφύλης /β-χλωροφύλης από 3:1 σε 1:3
 - (ii) Παραγωγή ανθοκυανινών με φαίνυλο ή μεθυλο ομάδες σε θέση 4
Τα παραπάνω σταθεροποιούν το χρώμα των φυτικών τροφίμων
 - (iii) Παραγωγή κρέατος με λίγο λίπος
 - (iv) Παραγωγή τομάτας με αυξημένα στερεά συστατικά
 - (v) Παραγωγή αραβοσίτου με πρωτεΐνες με μεγάλη συγκέντρωση μεθειονίνης

Γιατί παράγονται τα μεταλλαγμένα τρόφιμα

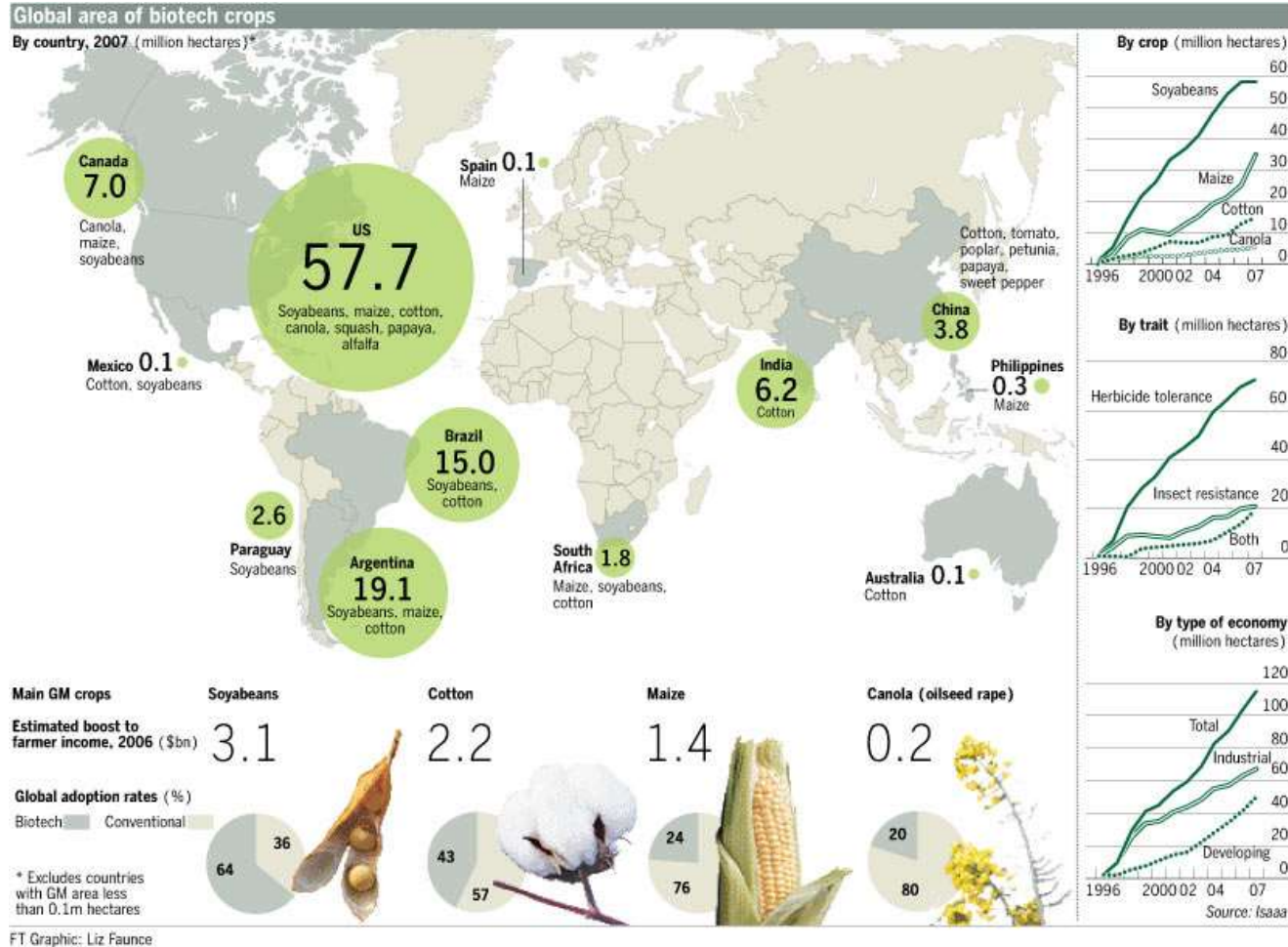
- (vi) Αποφυγή της παρεμπόδισης της βιοδιαθεσιμότητας της βιταμίνης B12
- (vii) Μη χρησιμοποίηση ενζύμων
- (viii) Ανάπτυξη του plant tissue engineering για να αποφύγουμε τα συνθετικά πρόσθετα
- (ix) Σικονίνη από *Lithospermum erythrorhizon*. Τοκοφερόλη από blue green algae και θοματίνη από θαμνώδες φυτό
- (x) Protein engineering για δημιουργία ανθεκτικών συστατικών στα τρόφιμα
- (xi) Ανάπτυξη μοριακών τεχνικών για την ασφάλεια και ποιοτικό έλεγχο των τροφίμων

Διάδοση μεταλλαγμένων τροφίμων



Καλλιεργήσιμες εκτάσεις με γενετικά τροποποιημένα φυτά, 1996-2007, σε εκατομ. εκτάρια
(<http://www.gmo-compass.org/>)

Διάδοση μεταλλαγμένων τροφίμων



- 5 Παγκόσμιες περιοχές γενετικά τροποποιημένων φυτών, (ISSA Brief 35-2006)

Βιοχημεία γενετικής μετάλλαξης οργανισμών

- Συμβολή της Χημείας Τροφίμων
 - (i) Σύνδεση χημικής σύστασης των τροφίμων με διατροφική αξία, μεθόδους παραγωγής βιομηχανικών τροφίμων και με την κατανάλωση ενέργειας
 - (ii) Στην ασφάλεια των τροφίμων, το κόστος και την καταπολέμηση της πείνας
 - (iii) Στην ανάπτυξη των μοριακών τεχνικών όπως FISH, PCR
 - (iv) Στον εντοπισμό των χαρακτηριστικών ιδιοτήτων των τροφίμων για τις οποίες πρέπει να γίνουν οι μεταλλάξεις
 - (v) Εφαρμογή της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA στην τροποποίηση μικροοργανισμών, παραγωγικών φυτών αλλά και ζώων

Τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA

Recombinant DNA Technology

Περιλαμβάνει :

Βασικές αρχές, τροποποίηση μικροοργανισμών, παραγωγικών φυτών και ζώων

Χαρακτηριστικά που έχουν τροποποιηθεί:

ω-3 λιπαρά οξέα, ορμόνη σοματοτροπίνη, βιοσύνθεση αιθυλενίου, ένζυμο πολυγαλακτουρονάση, ένζυμα τροφίμων, αρχικών καλλιεργειών, πρόσθετα τροφίμων

Υβριδοποίηση συστημάτων DNA για ανίχνευση παθογόνων

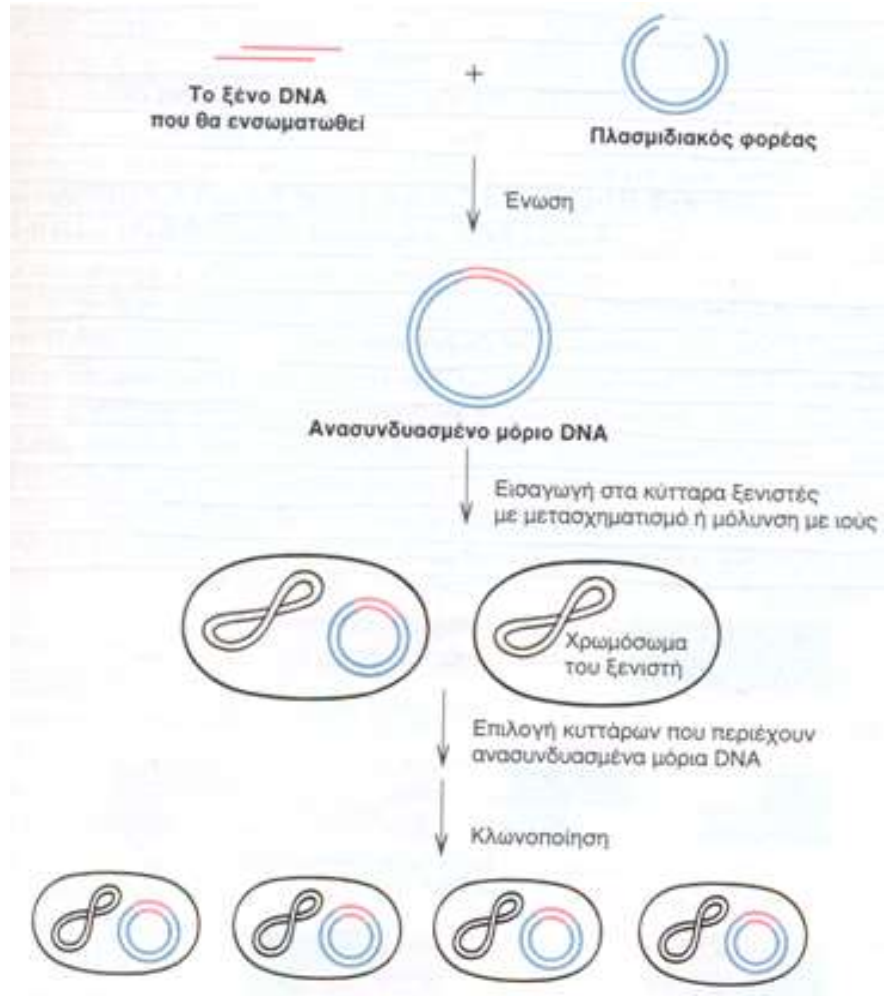
Ανασυνδυασμένο DNA

- (i) Παρέχει τη δυνατότητα για την ανάλυση και τροποποίηση γονιδίων και πρωτεϊνών**
- (ii) Βασίζεται στα περιοριστικά ένζυμα που κόβουν το DNA και στην DNA λιγάση που συνενώνουν τμήματά του**
- (iii) Επιτυγχάνεται το κόψιμο του DNA σε μικρότερα τμήματα, η ένωση μικρότερων τμημάτων DNA , κάνουν την αντιγραφή του και αντιγράφεται αντίστροφα το RNA**
- (iv) Μελέτη δομής γονιδίων και τεχνικές για ανίχνευση μικροοργανισμών με υβριδισμό με συμπληρωματικούς ανιχνευτές DNA ή RNA**
- (v) Ιοί είναι πιο αποτελεσματικοί στο να προωθούν το δικό τους DNA ή RNA στο κύτταρο του δέκτη οργανισμού**
- (vi) Συνθετικά γονίδια με επιθυμητή αλληλουχία και ανιχνευτές με υψηλή εξειδίκευση παράγονται με την σύνθεση DNA σε στερεά φάση**

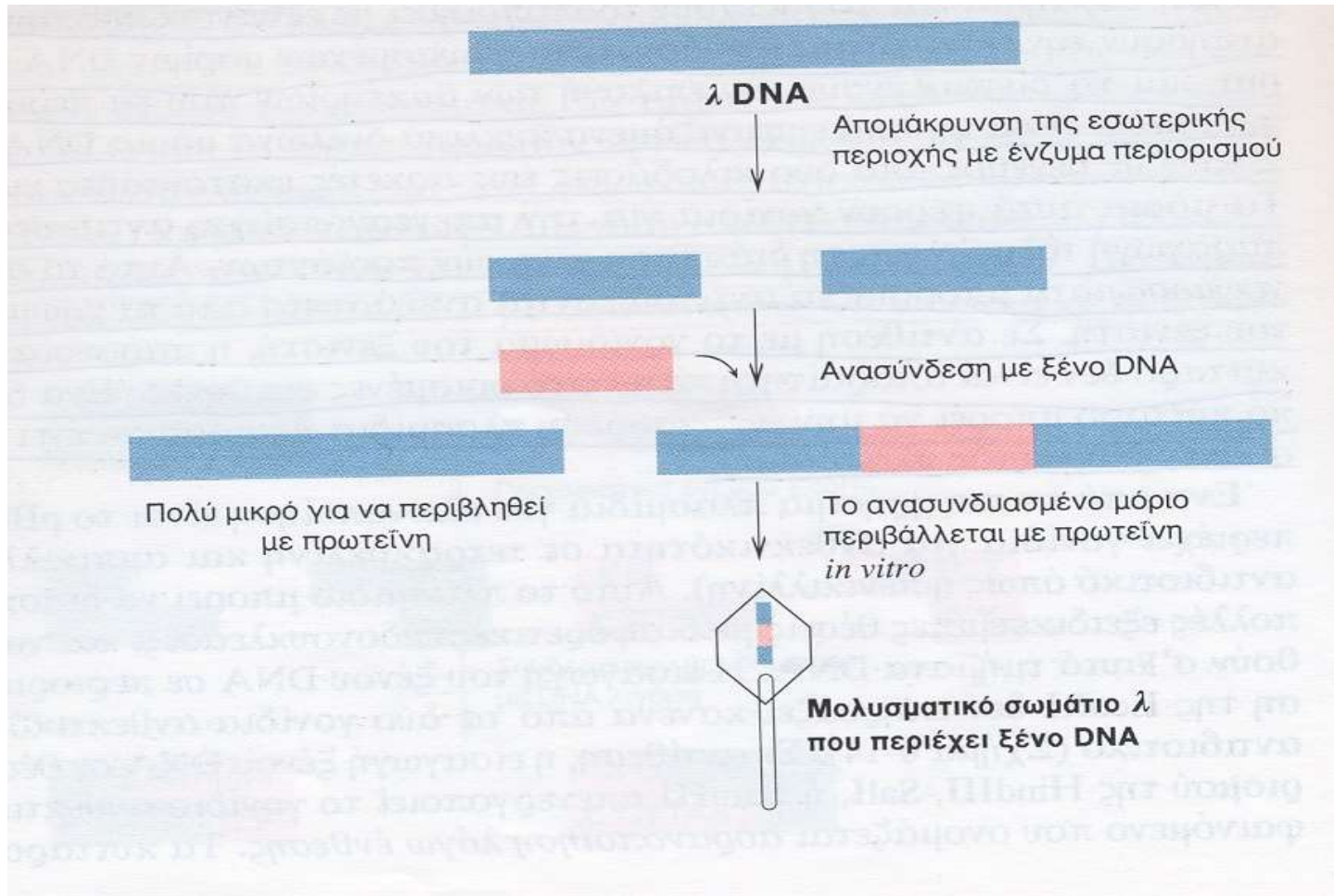
Παρασκευή γονιδιωμάτων, κλωνοποίηση και έκφραση

- (i) Με την τεχνολογία του recombinant DNA technology παράγονται νέοι συνδυασμοί DNA που μπορούν να κλωνοποιηθούν και να εισαχθούν στο δέκτη
- (ii) Η κλωνοποίηση γίνεται σε τρία στάδια (α) Παρασκευή ανασυνδυασμένου DNA (b) Εισαγωγή στα κύτταρα, (c) εντοπισμός των κυττάρων που έχουν τροποποιηθεί
- (iii) Η εισαγωγή σε ευκαριωτικά κύτταρα γίνεται από το υλικό μιας καλλιέργειας, ενώ στα φυτικά και ζωικά με ένεση
- (iv) Εναλλακτική μεθοδολογία είναι η μόλυνση με ανασυνδυασμένου ιούς
- (v) Ο εντοπισμός κυττάρων με rDNA μπορεί να γίνει με δημιουργία αποικιών και ανίχνευση με συμπληρωματικό ανιχνευτή με ταυτοποίηση της ακολουθίας(sequence)

rDNA

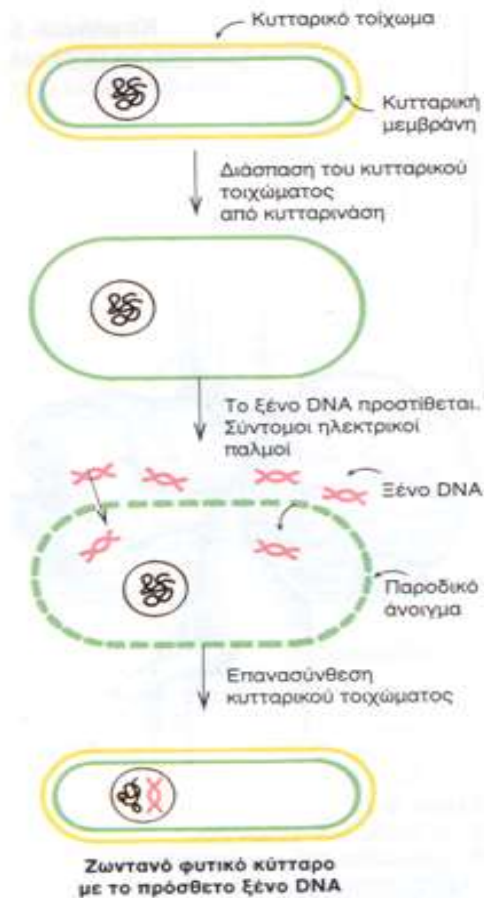


Φάγοι σαν φορείς κλωνοποίησης



Γενετική τροποποίηση παραγωγικών φυτών για την παραγωγή τροφίμων

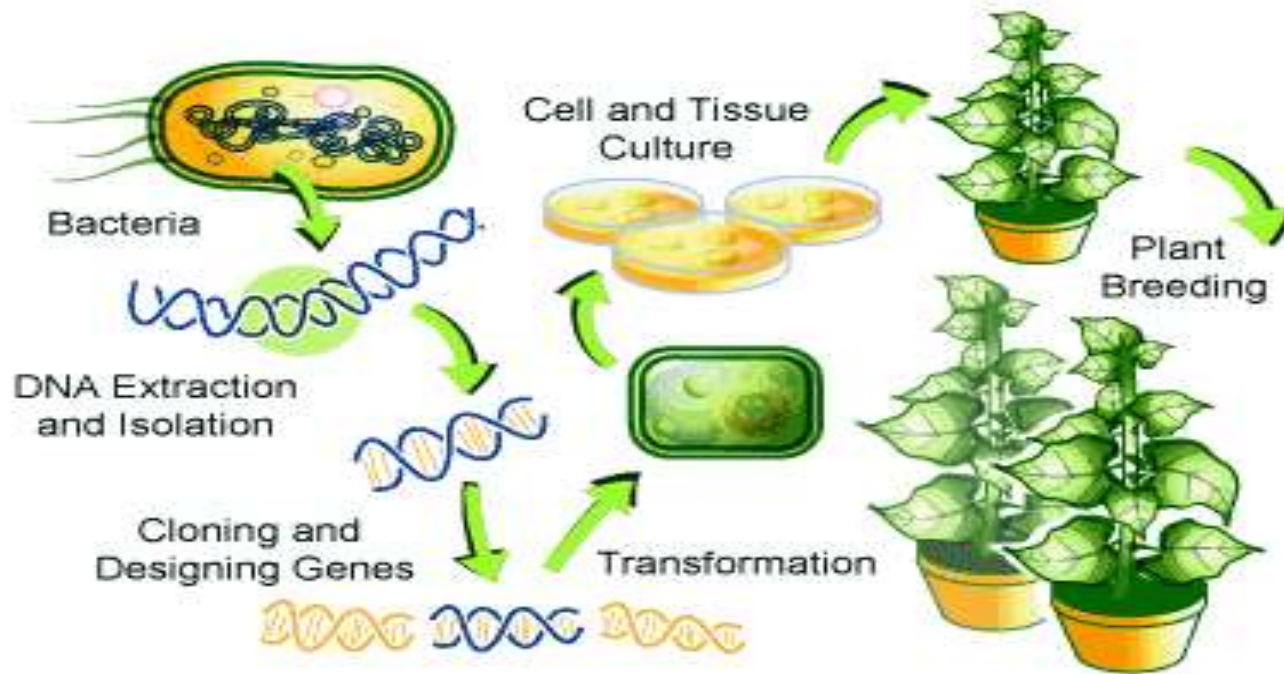
- Εδώ να μπει το σχήμα της σελίδας 11 των σημειώσεων



- 13

Τροποποίηση παραγωγικών φυτών με μεταφορά γονιδίων από βακτήρια

- Εδώ να μπει το σχήμα της σελίδας 12 των σημειώσεων



Σχηματική περιγραφή της δημιουργίας γενετικά τροποποιημένων φυτών

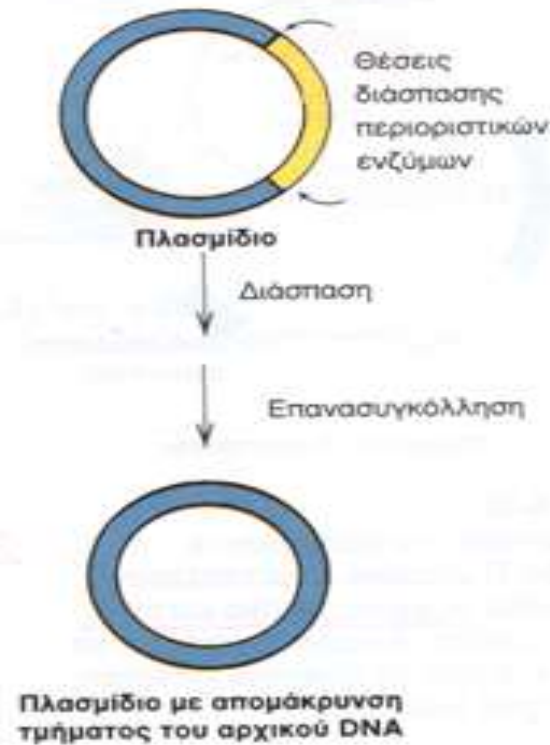
Γενετική τροποποίηση ζώων για παραγωγή τροφίμων

- (i) Η εισαγωγή rDNA για μετάλλαξη ζώων γίνεται με 3 μεθόδους
- (ii) Η πρώτη αφορά εισαγωγή ξένου DNA που διαχωρίζεται με φωσφορικό ασβέστιο. Αυτό εισάγεται στο χρωμοσωμικό DNA με μικρή απόδοση
- (iii) Η δεύτερη αφορά την εισαγωγή rDNA με ένεση στα κύτταρα
- (iv) Η Τρίτη μέθοδος περιλαμβάνει την μεταφορά γονιδίων μέσω ιών και κυρίως ρετρο-ιών
- (v) Η rDNA technology χρησιμοποιήθηκε για την μετάλλαξη χοίρων για παραγωγή άπαχου κρέατος και αύξηση της παραγωγής κρέατος
- (vi) Η ορμόνη σωματοτροπίνη
- (vii) Το γονίδιο της σωματοτροπίνης μπήκε σε πλασμίδιο και με ένεση σε γονιμοποιημένο ωάριο ποντικίου και μετά στη μήτρα

Παραγωγή με μετάλλαξη σε συγκεκριμένη θέση

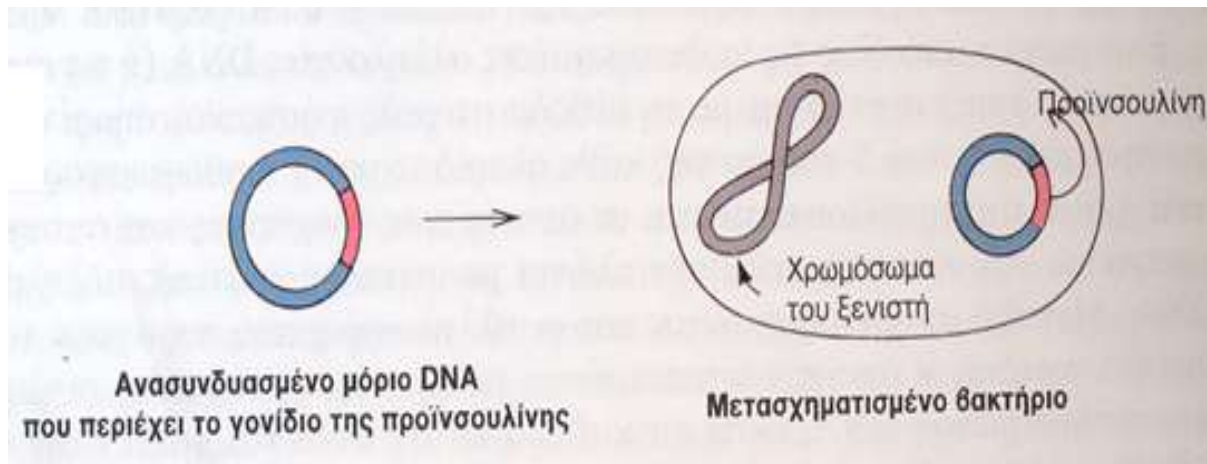
- (i) Έτσι παράγουμε πρωτεΐνη κάποιου ενζύμου ή μια λειτουργική πρωτεΐνη π.χ Θωματίνη σαν γλυκαντική ύλη.
- (ii) Protein Engineering: Συνδυασμός δομής πρωτεΐνης με τη δομή του γονιδίου
- (iii) Εισαγωγή στο DNA αλληλουχίας που να εκφράζει την νέα αλληλουχία των αμινοξέων της πρωτεΐνης
- (iv) Αντικατάσταση σερίνης με κυστεΐνη: Η σερίνη κωδικοποιείται με μια αλληλουχία νουκλεοτιδίων TCT (C= σερίνη) και η κυστεΐνη με TGT(G=κυστεΐνη). Το TGT πρέπει να μπει στο DNA για να γίνει η μετάλλαξη.
- (v) Για να γίνει αυτό παρασκευάζεται εκκινητής cDNA της περιοχής του γονιδίου που συζητάμε που θα περιέχει TGT αντί TCT.

Απομάκρυνση μέρους πλασμιδίου



Υβριδοποίηση με συμπληρωματικό cDNA

- (i) Ευκαριωτικό DNA δεν μπορεί να κλωνοποιηθεί και να εκφραστεί στο βακτήριο *E.coli*
- (ii) Αποφεύγεται με την εισαγωγή στα κύτταρα βακτηρίου ανασυνδυασμένο DNA συμπληρωματικό του mRNA



Μεταφορά χρήσιμων χαρακτηριστικών

- (i) Η μεταφορά χαρακτηριστικών δίνει τη δυνατότητα για ανάπτυξη πρώτων υλών που ενδιαφέρουν τη βιομηχανία τροφίμων
- (ii) Για την μεταφορά γονιδίων από βακτήρια σε φυτά χρησιμοποιήθηκε το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* που προκαλεί την ασθένεια των φυτών crown gall που προκαλείται από μεταφορά θραύσματος DNA από ένα βακτηριακό πλασμίδιο στο πυρηνικό γονιδίωμα του φυτού.
- (iii) Αυτό το βακτηριακό πλασμίδιο ονομάστηκε από τους ερευνητές T-DNA και οδήγησε σε ανάπτυξη vectors για επανάληψη στο *E. coli* μεταφορά στο *Agrobacterium* και στη συνέχεια μεταφορά στα φυτά
- (iv) Οι μέθοδοι για την μεταφορά T-DNA είναι η electroporation και η χρήση υψηλής ενέργειας
- (v) Έτσι έγινε η μετάλλαξη της σόγιας του αραβοσίτου και του ρυζιού

Μεταλλαγμένοι σπόροι

- (i) Έχουν δημιουργηθεί για τον έλεγχο της παραγωγής των παραγωγικών φυτών από τις εταιρείες που αναπτύσσουν την τεχνολογία των μεταλλαγμένων
- (ii) Προς τούτο η μία προσέγγιση αφορά την αρσενική στειρότητα (male sterility) και η άλλη είναι η μοριακή Fingerprinting
- (iii) Για την αρσενική στειρότητα εφαρμόζεται η σύντηξη πρωτοπλαστών (fusion) που οδηγεί στη μεταφορά γονιδίων που ελέγχουν την αρσενική στειρότητα
- (iv) Έτσι τα F1 υβρίδια που παράγονται σώζουν τους σπόρους των F1 υβριδίων που διατηρούν τα χρήσιμα χαρακτηριστικά της μετάλλαξης. Όμως οι F2 σπόροι δεν έχουν τα χαρακτηριστικά αυτά και έχουν ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά
- (v) Το Fingerprinting είναι είναι μοριακή μέθοδος για να χαρακτηριστεί η γενετική πληροφορία νέων breeding lines

Εφαρμογές της τεχνολογίας rDNA στα τρόφιμα

- (i) Εφαρμόζεται με μεταφορά γονιδίων που εκφράζουν επιθυμητές χαρακτηριστικές ιδιότητες στο DNA παραγωγικών οργανισμών από όπου παράγονται τα τρόφιμα

Παραδείγματα

- (α) Ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών καπνού και τομάτας σε ιούς
 - (β) Μεταφορά γονιδίου στα φυτά από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* που παράγει τοξίνη που θανατώνει τα έντομα
 - (γ) Ανάπτυξη παραγωγικών στελεχών ανθεκτικών στην υγρασία
- (ii) Οφέλη στο Food Processing
- (α) Νέες λειτουργικές ιδιότητες στα τρόφιμα: Παραγωγή διαφόρων στελεχών ρυζιού το καθένα να είναι κατάλληλο για διαφορετική χρήση. Όπως για μαγείρεμα, μπύρα, σούπες, γρήγορο μαγείρεμα, κ.α
 - (β) Ιδιότητες αμύλου για την υφή δημητριακών για breakfast
 - (γ) Συντήρηση λαχανικών και φρούτων στο φυτό για μεγάλο χρονικό διάστημα

Χαρακτηριστικά ποιότητας με βιοτεχνολογία

(i) Χαρακτηριστικά ποιότητας στα τρόφιμα μέσω τεχνολογίας ζυμώσεων

(α) Αποφυγή χημικών συντηρητικών

(β) Βελτίωση αρώματος στα ποτά, συντήρησης του άρτου

(γ) Παραγωγή αντιμικροβιακών συστατικών μέσω των μοκροοργανισμών

(δ) Παραγωγή και χρήση προβιοτικών

(ε) Παραγωγή ενζύμων

(ii) Χαρακτηριστικά ποιότητας μέσω της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA

Η rDNA τεχνολογία εφαρμόζεται εκεί που η τεχνολογία ζυμώσεων δεν είναι αποτελεσματική

(α) Ανάπτυξη νέων στελεχών οργανισμών

(β) Τροποποιεί τις παραμέτρους ποιότητας των πρώτων υλών των τροφίμων

Παράμετροι που επηρεάζονται από την rDNA τεχνολογία

- (i) Flavor (ειδικό flavor)
- (ii) Το χρώμα των τροφίμων
- (iii) Η αναλογία των υδατανθράκων και γλυκεριδίων στις πρώτες ύλες (καλαμπόκι)
- (iv) Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες

Το flavor επηρεάζεται και από την τεχνολογία των ζυμώσεων

Το χρώμα, η αναλογία και η περιεκτικότητα των υδατανθράκων δεν μπορούν να επηρεαστούν από την τεχνολογία των ζυμώσεων

Άλλες παράμετροι που επηρεάζονται μόνο από rDNA technology

- (α) Η περιεκτικότητα των καρπών σε λάδι
- (β) Το μέγεθος και το βάρος της σκλήθρας του σκόρδου
- (γ) Το χρώμα της τομάτας
- (δ) Η περιεκτικότητα του σακχαρότευτλου σε σακχαρόζη