



Finns GMO i livsmedel?

Text: Ammie Berglund, lektor i biologi
Katedralskolan i Uppsala

Är det möjligt att testa matvaror för innehåll av genmodifierat innehåll i skolan? Svaret är ja! Det som krävs är en metod för att få fram DNA, tillgång till en PCR-apparat och kännedom om lämpliga primers samt möjlighet att köra gelelektrofores.

Att testa om det finns genmodifierade organismer, GMO, i livsmedel är en av de spännande laborationerna som biotekniklever vid Katedralskolan i Uppsala får göra. Eleverna förbereder sig med hjälp av Livsmedelsverkets hemsida där de tar reda på vilka livsmedel som kan innehålla spår av GMO (se www.slv.se, sök på Rapporten och välj sedan Genteknik. Sök också på Genmodifierad mat). De tar sedan med egna matvaror till första labbtillfället. Ett bra tips för att hitta GMO-produkter är att söka i butiker med rikt utbud av majs- och sojaprodukter från Asien och Amerika.

Genomförande

Under det första labbtillfället preparerar eleverna DNA från matvarorna och startar PCR-reaktionerna. Vid efterföljande labbtillfälle kör eleverna ut sin PCR-produkt på gel. Eleverna kan gärna gjuta gelen själva och körningen tar sedan cirka 30 minuter.

Livsmedlen testas för eventuellt innehåll av GMO genom att söka efter DNA-sekvensen för 35S-promotorn (CaMV 35S promotorn). I PCR-körningen tillförs primers som gör att denna gen amplifieras. CaMV 35S-promotorn används i många konstruerade "genpaket" och blir ett signalement för att DNA-innehållet är genetiskt modifierat. Promotorn kommer ursprungligen från ett växtvirus och används eftersom den gen som kopplas till promotorn kommer att uttryckas i hög grad och vara aktiv i växtens alla vävnader.

Om livsmedlet saknar modifierat DNA bildas ingen PCR-produkt eftersom de primers man använder i PCR-reaktionen inte kommer att hitta sekvensen för 35S-promotorn. Ett negativt resultat utesluter inte att det ändå finns modifierat DNA i provet eftersom det kan ha blivit något fel under DNA-extraktionen. För att kontrollera att extraktionen lyckats kör man en extra PCR-reaktion och använder primers för en region i kloroplast-DNA. Om det bildas ett band för kloroplast-DNA men inget för 35S-promotorn, kan man med större säkerhet dra slutsatsen det inte finns något genmodifierat DNA i provet. Kloroplast-DNA-fragmentet och 35S-promotorn är olika långa, vilket gör att de kan skiljas åt med gelelektrofores. Genom att använda en referens med DNA-sekvenser (till exempel 100–1000 baspar) som storleks-

standard kan man bestämma storleken på okända band. Ett bildanalysprogram, till exempel Logger pro, underlättar.

När undersökningen är klar brukar eleverna på Katedralskolan i Uppsala få redovisa med en rapport som innehåller en bakgrund om GMO i livsmedel, resultaten i form av bilder på gelerna, en referensgraf på stegens band samt storleksbestämning av okända band. I en efterföljande diskussion tar eleverna ställning till frågorna: Stämde era resultat med vad ni förväntade er? Varför/varför inte? Förklara! Felkällor och svagheter i metoden och själva genomförandet ska diskuteras och realistiska förslag till förbättringar ska kunna ges.

Svårigheter?

När det gäller det praktiska är pipettering av små volymer en svårighet. För att minimera risken att en felaktig pipettering förstör hela laborationen minskar vi antalet pipetteringar genom att förbereda PCR-rör med en mastermix (REDtaq, Sigma-Aldrich). Eleverna får också öva på att pipettera små volymer av karamellfärgade lösningar. Tipsa om att placera dropparna på insidan av PCR-röret strax ovanför den färdiga mastermixen. Om man placerar dropparna högre upp i PCR-röret finns risken att de fastnar i skarven mellan lock och rör. Se också till att centrifugera ned allt i röret innan PCR-körningen.

En annan svårighet som uppstår är när eleverna ska tolka gelerna. I fronten på gelen bildas ofta band för de nukleotider och primers som finns kvar (särskilt om PCR-reaktionen inte gett så mycket produkt). Man kan i vissa fall även få flera band som troligen orsakas av att primerdimerer bildas. (Primerdimerer är flera primersekvenser som sitter ihop.) Det är bra om eleverna laddar sina prover så att de har kloroplastkontrollen och den eventuella 35S-PCR-produkten i brunnarna bredvid varandra för att man snabbt ska se om DNA-extraktionen lyckats. Man kan vidare använda intensiteten på de band som motsvarar



Mia Pontoppidan, lektor i biologi vid Katedralskolan i Uppsala.

nukleotider och primers för att dra slutsatser om hurvida PCR-reaktionen fungerat bra eller inte.

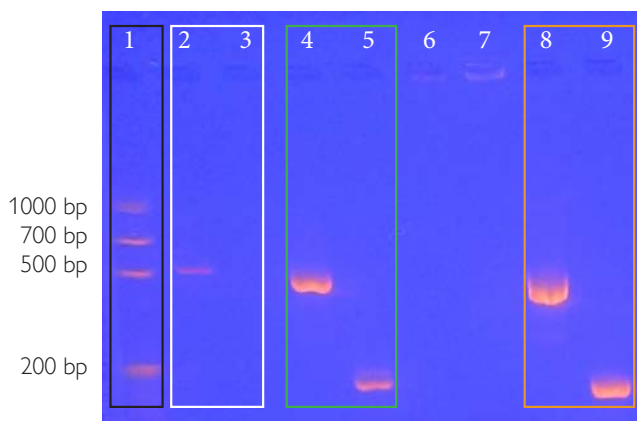
Vilka slutsatser dras?

Ofta får man positiva svar från sojaprodukter. Men det finns en stor variation i hur duktiga eleverna är på att laborera (pipettera!). Detta påverkar resultatet. Om det är mycket låg halt av GMO i produkten kan det även hända att man inte får ett positivt resultat när man kör ett enda test, men om samma produkt testas upprepade gånger kan man få fram ett positivt svar. Enligt Livsmedelverkets kontrollhandbok (se referens nästa sida) ska man vid kontroll av en produkt ta ut minst tio delprover (som sedan blandas för att få ett representativt urval av produkten). Vi har ingen möjlighet att bedöma halten av GMO i den produkt som testas. För att göra detta krävs andra metoder (realtids-PCR används av Livsmedelsverket). Slutligen påverkar kvaliteten på den produkt man prövar resultatet. DNA bryts ned med tiden och om en förpackning varit öppen under en tid eller produkten utsatts för värme kan kvaliteten på DNA vara dålig.

Spetsutbildningen

Mia Pontoppidan, lektor i biologi vid Katedralskolan i Uppsala, har utvecklat flera spännande laborationer till spetsutbildningen i bioteknik. Tillsammans med labbtekniker Åsa Steinholtz har ett protokoll tagits fram för test av GMO i mat. Primers som används finns publicerade i vetenskapliga artiklar. För dig som är beredd att beställa primers själv, kan detta vara ett kostnadseffektivt alternativ till de kit som går att beställa från exempelvis Bio-Rad.

Mia Pontoppidan fick, tillsammans med lärarkollegan Mats Hansson, Ingvar Lindqvistpriset av Kungliga Vetenskapsakademien 2012. På följande sida får vi ta del av några av hennes tankar kring laborationerna i bioteknik på spetsutbildningen.



Bilden visar en gel med nio brunnar/rader, resultatet från den labb från BioRad som deltagare i Bioresursdagen genomförde.

Svart ram: Rad 1 visar storleksmarkör/stege med bestämda storlekar på DNA-fragmenten. Används för att avgöra storleken på okända DNA-fragment i de övriga raderna.

Orange ram, positiva kontroller: Rad 8 visar kloroplast-DNA. Rad 9 visar 35S-promotom.

Vit ram: Havregryn analyseras, som enligt uppgift inte ska vara genmodifierade. Bandet i rad 2 är en kontroll på att DNA från havregryn amplifierats (visar på kloroplast-DNA som ska finnas hos allt växtmaterial). Att det saknas band i rad 3 tyder på att havregrynen inte är genmodifierade.

Grön ram: Rad 4 och 5 visar majs mjöl från Mexiko. Rad 4 kloroplast-DNA och rad 5 positivt resultat för 35S-promotom. Resultatet visar att majs mjölet innehåller GMO, vilket man kan se på att bandet i rad 5 överensstämmer med den positiva kontrollen i rad 9.

Vad ger de extra laborationerna på spetsutbildningen i bioteknik?

För de elever som är intresserade är det en kick att komma till en utbildning som ger lite mer. De extra inslagen av lite längre och mer utmanande laborationer är en fantastiskt bra förberedelse för fortsatta studier och det är kul! Eleverna gillar det vi gör och de blir duktiga.

Vad tänker du på när du utvecklar laborationer?

Det är viktigt att man inte konkurrerar och försöker göra exakt samma som sedan görs på universitetet. Vår roll är att bredda och skapa intresse inom bioteknik. Det ska vara roligt och det måste vara kopplat till verkligheten. Hur man ramar in en laboration har stor betydelse. Laborationen ska vara en del av en större helhet. Man måste skapa förväntningar på en lagom nivå och lyfta frågan: Varför är det här spännande? Lika viktigt är att fånga upp eleverna under och efter laborationen. Eleverna behöver bli sedda i det praktiska arbetet och i mötet med de resultat de får fram.

Vilken typ av inramning ger du laborationen?

En frågeställning som är intressant att diskutera är: *Är det rätt att märka livsmedel med "Fri från GMO"?* En komplex fråga som engagerar. Livsmedelsverket menar att märkningen i första hand handlar om redlighet snarare än livsmedelssäkerhet. Men om man kan hitta spår av GMO i produkter märkta med "Fri från GMO", är märkningen då vilseledande? Frågorna skapar stor nyfikenhet: Ska eleverna verkligen själva kunna avslöja GMO i maten?

Referenser

Kontakta Mia Pontoppidan (persmpn@katedral.se) för att få tillgång till den laboration som beskrivs i artikeln och som används på Katedralskolan i Uppsala.

En liknande laboration för analys av GMO i livsmedel kan inköpas som färdigt kit från företaget Bio-Rad (www.bio-rad.com, se Life Science Education, PCR Amplification Kits).

Material från Livsmedelsverket (www.slv.se, använd sökfunktionen):

- Kontrollhandbok – Provtagning. Del 8
- Rapport från GMO-projektet 2011. Undersökning av förekomsten av GMO i livsmedel
- Rapport från GMO-projektet 2009. Undersökning av GMO-livsmedel – förekomst, spårbarhet och märkning
- Rapport från GMO-projektet 2008. Undersökning av GMO-livsmedel – förekomst, spårbarhet och märkning