



Kandidaatintutkielma

Geenimuunneltu ruoka

Eero Kivelä

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

KIRJALLISUUSTUTKIELMA

1.	Johdanto	3
2.	Geenimuuntelun menetelmät	4
2.1.	Mikroinjektio	4
2.2.	Biolistinen geeninsiirto	4
2.3.	Elektroporaatio	5
2.4.	Transposoni	6
2.5.	Bakteerivektori	6
2.6.	CRISPR-Cas	7
2.7.	Sinkisorminukleaasi	8
2.8.	Transcription activator-like effector nuclease	9
3.	GM-ruuan ja tavallisen ruuan erot	9
3.1.	Ravintoarvot	9
3.1.1.	A-vitamiini	10
3.1.2.	Rauta	10
3.1.3.	Folaatti	10
3.1.4.	Sinkki	11
3.2.	Sadon koko	11
3.3.	Hinta	11
4.	Ympäristövaikutukset	11
4.1.	Torjunta-aineet	12
4.2.	Kasvivirukset	12
4.3.	Kuivuus	13
4.4.	GM-viljelykasvien leviäminen luontoon	14
4.5.	Kasvihuonepäästöt	14
5.	Terveysvaikutukset ihmisiin	15
6.	Kirjallisuusviitteet	16

Käytetyt lyhenteet

ABA	Abscisic acid
AREB	ABA-responsive element binding protein
Cas	CRISPR-associated protein
CRISPR	Clustered regularly interspaced short palindromic repeats
EFSA	Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen
GM	Geenimuunneltu
HDR	Homologi ohjattu korjaus
miRNA	mikro-RNA
NHEJ	Non-homologinen päiden liittäminen
PRSV	Papaya ringspot virus
siRNA	pieni häiritsevä RNA
T-DNA	Siirtäjä-DNA
TALE	Transcription activator-like effector
TALEN	Transcription activator-like effector nuclease
ZFN	Sinkkisorminukleaasi

1. Johdanto

Maatalous alkoi noin 12 000 vuotta sitten ja mahdollisti ihmisten määrän kasvun miljoonista yksilöistä miljardeihin tänä päivänä. Ihmiset viljelivät viljejä versioita tämän päivän viljelykasveista, kuten vehnää, ohraa, herneitä, riisiä ja maissia sekä pitivät hyötyeläimiä, kuten nautaeläimiä, vuohia, lampaita ja sikoja (National Geographic Society, 2024). Tietämättä DNA:sta tai geeneistä, ihmiset alkoivat vaikuttamaan näiden villien kasvien ja eläinten perimään valintajalostuksella. Valintajalostuksessa eliöt, joilla on haluttuja ominaisuuksia paritetaan, jotta niiden jälkeläiset säilyttävät nämä ominaisuudet.

Yhdistyneiden Kansakuntien YK:n (n. d.) ennusteen mukaan maailman väestö tulee kasvamaan jopa 10 miljardiin vuoteen 2100 mennessä. YK:n mukaan väestön kasvu on nopeinta Afrikassa. Varsinkin Afrikassa ruokaturvatilanne on huono jo tänä päivänä. Ruokaturva tarkoittaa mahdollisuutta saada turvallista ja ravitsevaa ruokaa, joka mahdollistaa aktiivisen ja terveen elämän. Länsimaissa ruokaturvatilanne on hyvä. Vuonna 2022 Suomessa oli paras tilanne ruokaturvaan nähden. Edullisuus, saatavuus, laatu sekä kestävyys saivat kaikki hyvät arvot (The Economist, 2022).

Ruuantuotannolla on suuri vaikutus ympäristöön. Ruuantuotanto aiheuttaa noin neljänneksen kasvihuonekaasupäästöistä, joista hyötyeläimet aiheuttavat noin kolmasosan. Ruuantuotanto käyttää noin puolet asuttavaksi kelpaavasta maasta, mikä on johtanut biodiversiteetin laskemiseen, kun metsiä on raivattu maataloutta varten. Varsinkin hyötyeläinten kasvatusta kuluttaa paljon maata, jopa $\frac{3}{4}$ maataloudelle käytetystä maasta on hyötyeläinten käytössä. Ruuantuotanto kuluttaa myös 70 % maailman makeasta vedestä (Ritchie ym., 2022).

Ruokaturvan takaamiseen sekä samalla ruuantuotannon ympäristövaikutusten minimoimiseen on monia tekijöitä. Yksi näistä tekijöistä on geenimuunneltu (GM) ruoka.

Maailman terveysjärjestön (2014) mukaan GM-organismi on organismi, jonka perimää on muunneltu tavalla, jollaista ei esiinny luonnossa lisääntymisen ja rekombinaation seurauksena. Geenimuuntelun tarkoituksena on parantaa, jotakin eliön ominaisuutta esimerkiksi lisätä eliön kasvunopeutta. GM-ruoka on ruokaa, jonka valmistuksessa on käytetty GM-organismeja (Euroopan komissio, n.d.).

GM-ruoka herättää monissa epäluuloja. Huolenaiheisiin liittyy GM-ruuan turvallisuus, sen vaikutus terveyteen sekä ympäristöön. Nämä huolenaiheet ovat havaittavissa monien maiden tiukassa lainsäädännössä GM-ruuan suhteen. Esimerkiksi 2013 monissa Euroopan maissa hyönteisille resistentin geenimuunnellun maissin viljely estettiin (Euroopan parlamentti, 2015).

2. Geenimuuntelun menetelmät

Miten GM-organismeja tehdään? Geenimuuntelua varten on kehitetty useita menetelmiä. Yksinkertaisin geenin muuntelun menetelmä on mikroinjektio, jossa DNA pakotetaan tumaan neulalla (Jaffe & Terasaki, 2004). DNA voidaan pakottaa tumaan myös ampumalla pieniä DNA:lla peitetyjä partikkeleita soluihin (Lacroix & Citovsky, 2020). DNA:n pääsyä tumaan voidaan helpottaa sähkövirralla elektroporaatiossa (Kotnik ym., 2019). Geenimuuntelussa voidaan hyödyntää luontaisia ominaisuuksia. Luontaisesti monien eliöiden genomissa esiintyvillä transposoneilla voidaan aiheuttaa mutaatioita (Muñoz-López & García-Pérez, 2010; Kirov, 2023). Monia kasveja infektoiva *Agrobacterium*-kannan bakteereja voidaan käyttää hyväksi geenimuuntelussa (Gelvin, 2003). Kenties tunnetuin geenimuuntelun menetelmä on CRISPR-Cas, joka on monilta bakteereilta ja arkeilta löytyvä puolustusmekanismi vierasta perimää vastaan. CRISPR-Cas-menetelmän suurin etu on sen tarkkuus, jolla geenejä voidaan liittää tai poistaa genomista (Terns & Terns, 2011). Muita tarkkoja geenimuuntelun menetelmiä on myös kehitetty, kuten sinkkisorminukleaasit (Chen ym., 2019) ja transcription activator-like effector nuclease (Malzahn ym., 2017).

2.1. Mikroinjektio

Mikroinjektiossa soluun siirretään vierasperäistä materiaalia neulalla. Injektio tehdään solu kerrallaan, mikä on työlästä, mutta mahdollistaa tarkan hallinnan kuinka paljon materiaalia soluun pääsee (Jaffe & Terasaki, 2004). Vierasperäinen materiaali voi olla proteiinia, mRNA:ta tai DNA:ta (Jones ym., 2018). DNA voidaan injektoida suoraan tumaan (Rülicke & Hübscher, 2000). Mikroinjektiota voidaan käyttää yhdessä CRISPR-Cas9-mekanismin kanssa, jotta DNA:n integroituminen genomiin voidaan ohjata tarkasti (Abe ym., 2023).

2.2. Biolistinen geeninsiirto

Biolistinen geeninsiirto on menetelmä luoda GM-organismeja siirtämällä vierasperimä kasviin tai muuhun organismiin mikropartikkelien (Lacroix & Citovsky, 2020) tai vielä pienempien nanopartikkelien avulla (O'Brien & Lummis, 2011). Biolistinen geeninsiirto on varsinkin kasveille hyödyllinen menetelmä, sillä kasvien soluseinä voi vaikeuttaa muita geenimuuntelumenetelmiä. Mikropartikkeli peitetään DNA:lla ja ammutaan soluun. Mikropartikkeli voi jäädä solulimaan tai eri organelleihin ja täten voidaan muokata tumassa olevan perimän lisäksi mitokondriota ja plasteja, kuten kloroplasti (Lacroix & Citovsky, 2020).

Biologistisen geeninsiirron etuja ovat sen helppous, sillä geeniasetta, jolla mikropartikkelit ammutaan kasviin, voidaan kohdentaa kasvin yksittäisiin elimiin tai koko kasviin ja itse kasvia ei yleensä tarvitse muokata ennen käsittelyä. Myös käytettävän DNA:n valmistaminen on helppoa. DNA voi olla bakteereilla tuotettu plasmidi tai PCR:lla tuotettua lineaarista DNA:ta. Eri plasmideja voidaan myös käyttää saman aikaisesti vain sekoittamalla plasmidit keskenään (Lacroix & Citovsky, 2020).

Koska mikropartikkeli ammutaan soluun, se tekee reiän soluseinään sekä kalvoihin. Soluun kohdistuva vahinko voi olla niin vakava, että solu kuolee (Lacroix & Citovsky, 2020). Tätä vahinkoa voidaan vähentää käyttämällä nanopartikkeleita (O'Brien & Lummis, 211). Tavallisesti DNA integroituu satunnaisesti solun genomiin, mutta menetelmän tarkkuutta voi parantaa käyttämällä biologistista geeninsiirtoa siirtämään CRISPR-Cas9-mekanismiin reagensseja soluun (Banakar ym., 2019).

2.3. Elektroporaatio

Elektroporaatiossa soluihin kohdistetaan sähkövirtapulsseja, mikä lisää solukalvojen läpäisevyyttä. Solujen kalvojännite on tavallisesti -40 mV:n ja -70 mV:n välillä. Kalvojännitettä muuttamalla keinotekoisesti solukalvossa tapahtuu rakenteellisia muutoksia, mikä mahdollistaa tavallisesti kalvoa läpäisemättömien molekyylien, kuten DNA:n kulkemisen kalvon läpi (Kotnik ym., 2019).

Mekanismista, joka mahdollistaa läpäisevyyden lisäämisen, on monta teoriaa. Sähkövirta voi aiheuttaa reikiä solukalvoon. Sähkövirta voi muokata solukalvon lipidejä esimerkiksi peroksidaatiolla, joka aiheuttaa rakenteellisia muutoksia lipidien hännissä, joka lisää solukalvon läpäisevyyttä vedelle, ioneille ja pienille molekyyille. Sähkövirta voi aiheuttaa muutoksia ionikanavissa tai akvaporiineissa muuttaen ionien ja veden läpäisevyyttä. Sähkövirran tulee saavuttaa niin kutsuttu kriittinen arvo, jossa solukalvon läpäisevyys kasvaa tarpeeksi (Kotnik ym., 2019). Reversiibelissä elektroporaatiossa solun korjausmekanismit palauttavat solun normaaliin tilaan. Irreversiibelissä elektroporaatiossa liian monta pulssia tai liian korkea sähkövirta johtaa solukuolemaan, sillä solu ei kykene korjaamaan aiheutunutta vahinkoa (Batista ym., 2021). Monet tekijät vaikuttavat kuinka suuren sähkövirran tarvitsee, jotta saavutetaan kriittinen arvo. Esimerkiksi solutyypin, siirrettävä molekyyli, lämpötila tai solun koko ja muoto ovat muutamia tekijöitä (Kotnik ym., 2019).

Elektroporaatiota voidaan käyttää moniin soluihin, mutta kasvisoluista pitää tehdä protoplasteja eli soluseinä pitää poistaa (Potter & Heller, 2010). Elektroporaatiota voidaan käyttää yhdessä

CRISPR-Cas9-mekanismien kanssa, jotta DNA:n integroituminen genomiin voidaan ohjata tarkasti (Lin ym., 2020).

2.4. Transposoni

Transposonit ovat luontaisesti eliöiden genomissa esiintyviä DNA-sekvenssejä, jotka kykenevät liikkumaan eliön genomissa. Transposonit ovat tärkeitä evoluution kannalta, sillä ne aiheuttavat muutoksia eliön genomissa riippuen minne ja miten ne liikkuvat genomissa. Transposonit voivat käyttää leikkaa-liitä-mekanismia, jossa transposoni leikataan irti genomista ja siirretään uuteen paikkaan (Muñoz-López & García-Pérez, 2010) tai kopio-liitä-mekanismilla, missä DNA:sta transkriptoidusta RNA:sta tehdään DNA:ta käänteistranskriptaasilla, joka liitetään genomiin (Beauregard, Curcio & Belfort, 2008).

Tupsumetalliyökkösestä löytynyt IFP2-transposonielementti liittyy itsensä vain TTAA-sekvenssiin, joka löytyy jo runsaasti T+A-nukleotideja sisältävästä genomista (Cary ym., 1989).

Transposoneja voidaan käyttää aiheuttamaan mutaatioita eliön perimässä. Täten sillä voidaan lisätä geneettistä ja fenotyypistä monipuolisuutta esimerkiksi viljelykasveissa yhdistämällä menetelmä kasvinjalostukseen sekä lisäämällä transposonien aktiivisuutta (Kirov, 2023).

2.5. Bakteerivektori

Agrobacterium-kantaan kuuluvat bakteerit infektoivat useita eri kasveja muuntamalla kasvin perimää. *Agrobacterium* infektoi kasvin plasmidilla ja siirtää siirtäjä-DNA:n (T-DNA) osaksi kasvin omaa perimää. Kannan mukaan plasmidi voi olla joko tumor-inducing (Ti) tai root-inducing (Ri) plasmidi (Gelvin, 2017). Plasmidi on noin 200–800 tuhatta emäsparia pitkä, josta T-DNA on noin 10–30 tuhatta emäsparia (Gelvin, 2003). Plasmidi koodaa virulenssigeenissä VirD1-helikaasi- ja VirD2-endonukleasientsyymejä, jotka kykenevät tunnistamaan T-DNA-sekvenssin molemmilta puolilta lyhyet homologiset sekvenssit ja leikkaamaan T-DNA:n irti plasmidista. VirD1 ja VirD2 leikkaavat vain yhden juosteen eli leikattu T-DNA on yksijuosteinen. VirD2 liitetään kovalenttisesti T-DNA-juosteen 5'-päähen muodostaen T-juosteen (Gelvin, 2017).

Virulenssigeeni koodaa useita muita proteiineja, jotka muodostavat tyypin IV erityisjärjestelmän (T4SS), jolla T-juoste ja muita virulenssiproteiineja siirretään kasvin solulimaan. Kasvin solulimassa VirE2-proteiinit sitoutuvat ei-kovalenttisesti T-juosteeseen muodostaen T-kompleksin, joka suojaa T-DNA:ta. T-kompleksi siirretään kasvin tumaan

VirD2:sta sekä VirE2:sta löytyvillä tumapaikannussignaaleilla (Gelvin, 2003; Gelvin 2017). T-DNA:n uskottiin integroituvan transkriptionaalisesti aktiivisiin geeneihin, promoottorialueisiin tai sekvensseihin, joissa on paljon A+T nukleotidejä, mutta nykyisin satunnainen integroituminen on uskotumpi malli. *Agrobacterium* voi mahdollisesti aiheuttaa kaksoisjuosteen katkeamisia kasvin genomiin, mutta siitä ei ole varmuutta (Gelvin, 2021). Koko integroitumismekanismi ei ole selkeä, mutta siihen osallistuu useita kasvin omia proteiineja. Mahdollisia proteiineja ovat esimerkiksi transkriptiotekijä VIP2, joka osallistuu T-DNA:n integroimiseen genomiin sekä kinaasi CAK2M, joka RNA-polymeraasi II:n kautta aktivoi TATA-sekvenssiin sitoutuvia proteiineja ja auttaa T-DNA:n kohdistamista kromatiiniin. Myös muita kasvin proteiineja osallistuu T-DNA:n integroitumiseen muun muassa riippuen siitä, millä mekanismilla T-DNA integroituu genomiin (Lacroix & Citovsky, 2013). Todennäköisesti T-DNA integroituu kasvin genomiin non-homologisella päiden liittämällä (NHEJ) (Gelvin, 2021). VIP1-transkriptiotekijän uskottiin osallistuvan T-DNA:n ohjaamiseen kromatiiniin (Lacroix & Citovsky, 2013), mutta uudemman tutkimuksen mukaan sitä ei tarvita (Lapham ym., 2018). Menetelmän tarkkuutta on parannettu yhdistämällä se CRISPR-Cas-systeemiin, jossa *Agrobacteriumin* avulla CRISPR-Cas-systeemi kuljetetaan kasvin tumaan (Zhang ym., 2019).

2.6. CRISPR-Cas

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) ja CRISPR-associated (Cas) proteiini on monista bakteereista ja arkeista löytyvä puolustusmekanismi vierasta perimää vastaan esimerkiksi viruksen infektoidessa solun. Solu tunnistaa PAM (protospacer adjacent motif) sekvenssin ja integroi sitä edeltävän protospacer-sekvenssin osaksi CRISPR-lokusta. Solun omassa genomissa ei ole PAM-sekvenssiä, jolla solu estää CRISPR-mekanismia hyökkäämästä solun omaan perimään. CRISPR-lokuksessa on 30–40 emäsparia pitkiä toistuvia sekvenssejä, jotka erottavat eri kohteista saatuja vieraita sekvenssejä. CRISPR-lokuksesta transkriptoidaan pre-CRISPR RNA (pre-crRNA). Pre-crRNA leikataan lyhyemmiksi crRNA:ksi, jotka koostuvat yhdestä kohteesta saadusta vieraasta perimästä, jolla Cas-proteiini tunnistaa saman vieraan perimän sekä pätkästä erotussekvenssiä, jolla Cas mahdollisesti tunnistaa crRNA:n. Cas tunnistaa vieraan perimän crRNA:n emäspariutumalla vieraan perimän kanssa ja leikkaa sen. Cas-proteiineja on useita erilaisia ja yhdestä organismista voi löytyä monia eri Cas-proteiineja. Esimerkiksi osa Cas-proteiineista kykenevät leikkaamaan DNA:ta ja osa RNA:ta. Joidenkin Cas-proteiinien täytyy tunnistaa PAM-sekvenssi perimästä ennen kuin se voi leikata sen. Joitakin Cas-proteiineja tarvitaan crRNA:n valmistuksessa. Cas-proteiini voi myös tarvita toisia Cas-proteiineja toimiakseen. (Terns & Terns, 2011).

DNA:ta leikkaava Tyypin II Cas9-proteiini on geenimuuntelussa usein käytetty Cas-proteiini. Cas9 ei tarvitse muita Cas-proteiineja toimiakseen, mutta leikattavaa DNA-sekvenssissä on seurattava PAM-sekvenssi. Cas9 tunnistaa NGG-sekvenssin, missä N on mikä tahansa nukleotidi, jota seuraa kaksi guaniinia. Leikattavan sekvenssin Cas9 tunnistaa single guided RNA:n (sgRNA) avulla. SgRNA koostuu crRNA:sta sekä trans-activating crRNA:sta (tracrRNA), jotka on yhdistetty yhdeksi RNA-juosteeksi (Chen ym., 2019). Tyypin II CRISPR-Cas-systeemeissä pre-crRNA:n leikkaamiseen valmiiksi crRNA:ksi tarvitaan tracrRNA. TracrRNA on komplementaarinen pre-crRNA:n erotussekvensseille ja muodostaa kaksoisjuosteen sen kanssa. RNase III leikkaa kaksoisjuosteisen RNA:n, jolloin saadaan valmis crRNA. Cas9 tarvitsee tracrRNA:ta myös DNA:han sitoutumista varten, joten crRNA ja tracrRNA voidaan yhdistää yhdeksi RNA-juosteeksi geenimuuntelua varten (Jinek ym., 2012).

Cas9 tunnistaa DNA sekvenssin sgRNA:n perusteella ja leikkaa DNA-kaksoisjuosteen. Perimää voidaan muokata käyttämällä solun kaksoisjuosteen korjausmekanismeja joko NHEJ:llä tai homologi-ohjattua korjausta (HDR). NHEJ voi tapahtua kaikissa solusyklin vaiheissa ja sillä voidaan poistaa, lisätä tai korvata lyhyitä sekvenssejä genomista. NHEJ-mekanismi ei tarvitse vastinkromosomia, mutta voi johtaa mutaatioihin leikkauskohdassa. HDR tarjoaa mahdollisuuden tarkempaan ja isompien muutoksien tekemiseen genomissa. HDR-mekanismi on aktiivinen vain solun S- ja G2-vaiheissa. HDR-mekanismi korjaa leikatun kaksoisjuosteen templaatin avulla, joka voi olla sisarkromatidi tai soluun lisätty DNA-sekvenssi, joka sisältää leikkauskohtaan halutun sekvenssin muutoksen (Chen ym., 2019).

2.7. Sinkkisorminukleaasi

Sinkkisorminukleaasit (ZFN) ovat keinotekoisia proteiineja, jotka koostuvat DNA:ta sitovasta osasta eli sinkkisormesta sekä DNA:ta leikkaavasta osasta eli nukleaasista. Nukleaasina käytetään FokI-restriktioentsyymiä, koska sillä on luontaisesti erottuneet DNA:ta sitova ja DNA:ta leikkaava osa. Sinkkisormi tunnistaa kolmen emäsparin DNA-sekvenssin ja täten yhdistämällä nukleaasiin monta eri sinkkisormea voidaan DNA tunnistaa ja leikata tarkasti. Sinkkisormet erotetaan toisistaan viidestä seitsemään emäsparia pitkillä sekvensseillä. Itse sinkkisormia riittää kolme kappaletta tunnistamaan DNA tarpeeksi tarkasti. Leikatakseen DNA:ta FokI-restriktioentsyymien nukleaasin täytyy muodostaa dimeeri, mikä tekee menetelmästä tarkemman, sillä kahden ZFN:än on sitouduttava DNA:han ennen kuin DNA voidaan leikata. Solu korjaa leikatun DNA:n joko NHEJ- tai HDR-mekanismilla ja aiheuttaa samanlaisia muutoksia genomissa kuin CRISPR-Cas-menetelmässä eli genomiin voidaan lisätä DNA-sekvenssejä tai aiheuttaa mutaatioita leikkauskohdassa (Carroll, 2011).

Sinkkisormet tunnistavat DNA-sekvenssin sinkkisormen alfa-kierteen avulla. Alfa-kierteessä on kolme aminohappoa, jotka niiden sijainnin perusteella kykenevät pariutumaan kolmen emäksen kanssa DNA:ssa. Näiden kolmen aminohapon muuntaminen vaikuttaa siihen, minkä kolmen emäksen sekvenssin sinkkisormi tunnistaa (Grover ym., 2010).

2.8. Transcription activator-like effector nuclease

Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) on keinotekoinen proteiini, joka koostuu DNA:ta sitovasta transcription activator-like effector (TALE) sekä DNA:ta leikkaavasta osasta eli nukleaasista. Nukleaasina käytetään sinkkisorminukleaasin tavoin FokI-restriktioentsyymin nukleaasi-osaa. DNA:ta sitova osa on *Xanthomonas*-bakteerin TALE:n, jolla bakteeri tavallisesti muokkaa kasvin genomin ekspressiota itselleen hyödylliseksi. TALE:n koostuu 34 aminohapon toistoista, jotka tunnistavat DNA-sekvenssin. Toistoja voi olla muutamista kymmeneen kappaletta. Yhden TALE:n toiston sekvenssin 12 ja 13 aminohappo pariutuu tietyn DNA:n emäksen kanssa. Näin ollen järjestämällä tietyt TALE:nit peräkkäin voidaan tunnistaa haluttu DNA-sekvenssi, jonka FokI-nukleaasi leikkaa. Tämän jälkeen solu korjaa leikatun DNA:n joko NHEJ- tai HDR-mekanismeilla, johtuen mutaatioihin leikkauskohdassa sekä DNA-sekvenssien lisäämiseen tai poistamiseen genomista (Malzahn ym., 2017).

3. GM-ruuan ja tavallisen ruuan erot

Millaisia muutoksia geenimuuntelulla tehdään? GM-ruuan ja tavallisen ruuan välillä voi olla monia erilaisuuksia sekä kuluttajien että maanviljelijöiden näkökannalta. Huomattavin ero GM-ruuan ja tavallisen ruuan välillä voi olla ravintoarvoissa. Esimerkiksi kultainen riisi, joka sisältää paljon β -karoteenia (Tang ym., 2009). Viljelijöiden kannalta suuri ero on GM-kasvien sadoissa sekä liikevoitossa, jotka voivat olla huomattavasti suurempia (Klümperin ja Qaimin, 2014). Näiden tekijöiden takia GM-ruoka voi olla hyödyllistä varsinkin vähätuloisissa maissa.

3.1. Ravintoarvot

Biofortifikaatiossa kasveihin lisätään hivenaineita, jotta voidaan ehkäistä piilonälkää, jossa väestö kärsii joidenkin hivenaineiden puutosta. Biofortifikaatiota voidaan toteuttaa kasvienjalostuksella, käyttämällä lannoitteita tai geeniteknillisin menetelmin. Kasvienjalostus on hidasta sekä rajattu kasvin geenistöön. Lannoitteiden levittäminen on työlästä, kasvit eivät

kykene ottamaan joitain hivenaineita maaperästä sekä kaikki kasvit eivät ota hivenaineita maaperästä yhtä tehokkaasti kasvin lajin sekä maaperän mukaan (Hefferson, 2015).

3.1.1. A-vitamiini

A-vitamiinin puutos aiheuttaa muun muassa hämäräsokeutta ja vakavissa tapauksissa sokeutta sekä heikentää immuunipuolustusta, joka nostaa kuolleisuutta lapsilla ripulista, tuhkarokosta ja hengityselinsairauksista. A-vitamiinin puutosta kärsitään varsinkin Afrikassa ja Kaakkois-Aasiassa (Song ym., 2023). Kultainen riisi on yksi tapa lisätä A-vitamiinin saantia. Kultainen riisi on riisiä, jota on muokattu tuottamaan β -karoteenia. Keho tekee β -karoteenista A-vitamiinia (Tang ym., 2009). Kultainen riisi on todettu turvalliseksi Kanadassa (Health Canada, 2018). Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) (2018) totesi, että kultaisesta riisistä ei todettu turvallisuuskysymyksiä ja että kultainen riisi ei eroa tavallisesta riisistä muuta kuin β -karoteenin suhteen. Kultaisen riisin viljely oli hyväksytty Filippiineillä, mutta maan korkein oikeus määräsi, että kultaisen riisin levittämien tuli pysäyttää ympäristön huolenaiheen takia (Filippiinien korkein oikeus, 2023).

3.1.2. Rauta

Raudan puute aiheuttaa anemiaa, jossa hemoglobiinin pitoisuus on alhainen. Anemia aiheuttaa monia ongelmia muun muassa väsymystä, huimausta sekä hengenahdistusta. Anemiasta kärsivät varsinkin naiset ja lapset Afrikassa ja Kaakkois-Aasiassa (Maailman terveysjärjestö, 2023a). Riisin rautapitoisuutta voidaan nostaa muun muassa siirtämällä ferritiini-geeni soijasta riisiin (Vasconcelos ym., 2003) sekä lisäämällä NAS- ja OsYSL2-geenien ekspressioita, jotka tehostavat raudan siirtoa kasveissa (Masuda ym., 2012).

3.1.3. Folaatti

Folaatin puute aiheuttaa anemiaa sekä puutetta muissa verisoluissa. Folaatin puute aiheuttaa myös neurologisia ongelmia, kuten masennusta sekä ongelmia raskauden aikana (Khan & Jialal, 2023). Folaatin puutetta esiintyy maailmanlaajuisesti, mutta enemmän vähätuloisissa maissa (Rogers ym., 2018). Monissa länsimaissa on saatavilla ruokaa, joka on biofortifikoitu folaatilla (Khan & Jialal, 2023). Folaatin määrää ruuassa voidaan lisätä myös geeniteknisin menetelmin, kuten lisäämällä ADCS-geenin ekspressiota, joka nosti folaattipitoisuutta 19-kertaiseksi tomaateissa (Díaz de la Garza ym., 2007). Maissin ja vehnän folaattipitoisuus nousi

kahdesta kuusinkertaiseksi yhdistämällä ADCS-geenin yliekspressio GCHI-geenin yliekspression kanssa (Liang ym., 2019).

3.1.4. Sinkki

Sinkin puute aiheuttaa ongelmia muun muassa raskauden aikana, lapsen kasvussa sekä immuunipuolustuksessa. Sinkin puutteesta kärsitään varsinkin Afrikassa ja Kaakkois-Aasiassa (Wessells & Brown, 2012). Maailman terveysjärjestön (2023b) mukaan vakava sinkin puute on harvinainen, mutta lievistä kohtalaiseen tapauksia voi olla paljon. Sinkkipitoisuutta voidaan nostaa samalla ferritiini-geenillä kuin raudan pitoisuutta lisätessä (Vasconcelos ym., 2023).

3.2. Sadon koko

Klümperin ja Qaimin (2014) meta-analyysin mukaan keskiverto sadon koko on 21 % suurempi GM-viljelykasveilla, joka johtuu pääosin tehokkaammasta tuholaistorjunnasta. Hyönteisille vastustuskykyiset kasvit antavat hieman suuremman sadon kuin rikkakasvien torjunta-aineita kestävät GM-viljelykasvit.

3.3. Hinta

GM-siemenet ovat tavallisia siemeniä kalliimpia, mutta säästöt vähentyneestä hyönteistorjunta-aineiden käytöstä sekä suuremmasta sadosta ylittää siementen hinnan nousun. GM-ruokaa tuottavien maanviljelijöiden voitot olivat 69 % suurempia kuin tavallista ruokaa tuottavien maanviljelijöiden (Klümper & Qaim, 2014).

4. Ympäristövaikutukset

Geenimuuntelulla voi olla monia ympäristövaikutuksia. Viljelykasveista voidaan tehdä kestävämpiä haittahyönteisiä ja kuivuutta vastaan, sekä vastustuskykyisiä rikkakasvientorjunta-aineille ja kasvivirusille. GM-viljelykasvien ympäristövaikutuksista voi herätä huolenaiheita muun muassa torjunta-aineiden käytöstä, kasvihuonepäästöistä sekä GM-viljelykasvien kasvamisesta vapaasti luonnossa, johtuen niiden paremmasta kyvystä kestää eri olosuhteita.

4.1. Torjunta-aineet

Yksi ensimmäisistä viljellyistä GM-viljelykasveista on BT-viljelykasvit, jotka ovat olleet käytössä 1990-luvulta kuten esimerkiksi BT-maissi ja BT-puuvilla. BT-viljelykasvit tuottavat *Bacillus thuringiensis*-bakteerin hyönteismyrkkyjä. BT-viljelykasvit voivat tuottaa useita eri hyönteismyrkkyjä, mikä tehostaa niiden kykyä puolustautua haitta hyönteisiä vastaan ja samalla vähentää maanviljelijöiden tarvetta levittää hyönteismyrkkyjä itse. BT-viljelykasveista ovat hyötäneet myös ei-GM-kasvit, sillä tuhohyönteisten määrä alueilla, jossa BT-viljelykasveja kasvatettiin, on laskenut (Gassmann & Reisig, 2023). Pelkkä BT-viljelykasvien käyttö voi johtaa tuhohyönteisiä kehittämään vastustuskyvyn hyönteismyrkyille. Vastustuskyvyn leviämistä voidaan estää kasvattamalla ei-BT-viljelykasveja, jolloin syntyy tuhohyönteisiä ilman resistenssiä, jotka lisääntyvät resistenssikykyisten kanssa, mikä estää resistenssin leviämistä. Alueelle voidaan myös vapauttaa steriilejä yksilöitä, mikä myös estää resistenssin leviämistä. Näillä menetelmillä puuvillakoi kyettiin hävittämään Yhdysvalloista sekä Meksikosta (Tabashnik, 2020). Hyönteisille vastustuskykyiset GM-viljelykasvit ovat johtaneet huomattavasti vähentyneeseen hyönteismyrkkyjen käyttöön (Klümper & Qaim, 2014).

Hyönteisten lisäksi rikkakasvit aiheuttavat haittaa viljelykasveille. Rikkakasvien torjuntaa on voitu helpottaa tekemällä viljelykasveista vastustuskykyisiä torjunta-aineille. Glyfosaatti on hyvin laajassa käytössä oleva rikkakasvien torjunta-aine (Benbrook, 2016). Useita glyfosaatille vastustuskykyisiä GM-rapsi viljelykasveja on hyväksytty Australiassa (Office of the Gene Technology Regulator, 2021). Kanadassa on hyväksytty useita glyfosaatille vastustuskykyisiä GM-viljelykasveja, kuten esimerkiksi maissi (Canadian Food Inspection Agency, 2014; Health Canada, 2014), rapsi (Canadian Food Inspection Agency, 2012; Health Canada, 2012) sekä soija (Canadian Food Inspection Agency, 2007; Health Canada, 2007). Vastustuskykyisten GM-viljelykasvien käyttö on johtanut lisääntyneeseen glyfosaatin käyttöön, joka puolestaan on aiheuttanut resistenssin leviämiseen rikkakasveissa (Benbrook, 2016). On suositeltavaa käyttää muita torjunta-aineita, jotka vaikuttavat rikkakasveihin ennen itämistä yhdessä viljelymenetelmien kanssa, jotka parantavat viljelykasvien kilpailukykyä rikkakasvien kanssa. Suositellaan myös muita tapoja rikkakasvien torjuntaan, jotka eivät käytä torjunta-aineita kuten rikkakasvien siementen kerääminen ja tuhoaminen sadonkorjuun aikana (Beckie ym., 2019).

4.2. Kasvivirukset

Kasvivirukset aiheuttavat suurta haittaa maanviljelijöille. Havaijilla 1990-luvulla Papaya ringpot virus (PRSV) aiheutti suuren pudotuksen papaijan tuotannossa. Havaijin Puna-alueella, jossa 95 % Havaijin papaijoista kasvatettiin, melkein kaikki papaijat saivat tartunnan. Alueella

alettiin viljellä kahta PRSV:lle resistenttiä GM-papajaa, mikä pelasti alueen papajian tuotannon. GM-papajian genomiin oli lisätty kopio PRSV:n kuoriproteiinista, mikä teki kasveista immuuneja virukselle (Ferreira ym., 2002). Immunitetti perustuu kasvien luontaiseen puolustuskykyyn viruksia vastaan: RNA-interferenssiin. GM-kasvi tekee viruksen proteiinia koodaavasta genomista RNA:ta, RNA leikataan pienemmiksi mikro-RNA:ksi (miRNA) tai pieni häiritsevä RNA:ksi (siRNA). RNA induced silencing complex (RISC) tunnistaa miRNA:n tai siRNA:n emäspariutumalla viruksen perimän ja joko leikkaa tai hiljentää sen (Akbar ym., 2022).

Myös muista viljelykasveista on tehty vastustuskykyisiä kasviviruksille. Esimerkiksi peruna on yksi maailman tärkeimmistä viljelykasveista. Perunaa infektoi monet eri virukset, joita vastaan on kehitetty resistenttejä perunoita kasvinjalostuksella. On tehty GM-perunoita, jotka ovat muun muassa Potato virus Y, Potato leafroll virus, Potato virus X sekä Potato virus S-resistenttejä (Hameed ym., 2018). Resistenssi perustuu samaan kuin PRSV-resistanssi papajassa. Virusten kuoriproteiineja lisätään perunan genomiin, mikä johtaa RNA-interferenssin aktivoitumiseen (Hameed ym., 2018). Vehnästä on tehty resistentti vehnän juovamosaiikkivirukselle myös RNA-interferenssillä (Fahim ym., 2012). Monista kasveista on tehty resistenttejä kurkun mosaiikkivirukselle, kuten kurpitsasta, paprikasta ja tomaatista. Kurpitsasta, luumuista, pavuista sekä maniokista on tehty resistenttejä niitä infektoiville viruksille (Niraula & Fondong, 2021).

4.3. Kuivuus

Kuivuus johtaa muun muassa pienempiin satoihin sekä lisääntyneeseen tarpeeseen maanviljelijöille kastella peltoja. Veden puute johtaa moniin muutoksiin kasvin fysiologiassa, kuten vähentynyt fotosynteesi, ravintojen otto maaperästä sekä kasvu, estynyt kukkiminen ja lehtien kuihtuminen. Kuivuuden sietokyky perustuu kasvin kykyyn estää veden haihtumista, tehostaa veden ottoa sekä kasvien stressivasteeseen veden puutteesta (Sami ym., 2021).

Abscisic acid (ABA) ohjaa ilmarakojen sulkeutumista sekä geeniekspressiota, mikä vähentää veden haihtumista. ABA-responsive element binding protein (AREB) ohjaa ABA:n tuottoa. AREB1-geenin yliekspressio johti parantuneeseen kuivuuden sietoon soijassa sekä riisissä (Sami ym., 2021).

4.4. GM-viljelykasvien leviäminen luontoon

Koska GM-viljelykasvien ominaisuudet usein tehostavat niiden kasvua huonoissa olosuhteissa, se herättää kysymyksen GM-viljelykasvien leviämisestä luontoon sekä risteytymisestä viljelykasvien villien versioiden kanssa. Tämä voisi johtaa viljelykasvin muuntumisen rikkakasviksi, tai mikäli kasvia pidetään rikkakasvina, se voi tehostaa sen kykyä selviytyä luonnossa (Snow, 2002). GM-kasvien geenit voivat levitä pitkiäkin matkoja. GM-kasvien siitepölyä on löydetty jopa 21 km:n päästä kasvupaikasta (Watrud ym., 2004). Yksi ratkaisu GM-ominaisuuksien leviämisen estämiseen oli luoda viljelykasveja, jotka eivät tuota toimivia siemeniä tai siitepölyä. Tämä olisi tehnyt maanviljelijöistä riippuvaisia siementen valmistajista ja pakottanut heidät ostamaan uusia siemeniä joka vuosi (Niiler, 1999). Aiheesta ei löydy uusia artikkeleita ja vaikuttaa siltä, että lisääntymiskyvyttömiä GM-viljelykasveja ei ole käytössä tällä hetkellä.

Muun muassa GM-rapsia on löytynyt kasvamasta luonnossa maissa, jossa GM-rapsia viljellään, kuten Australiassa, Kanadassa ja Yhdysvalloissa sekä maissa, jotka maahantuovat GM-rapsia, kuten monet EU-maat, Iso-Britannia ja Japani. GM-rapsia on löytynyt Sveitsissä, jossa sitä ei viljellä tai maahantuoda. GM-rapsia on löytynyt myös Argentiinassa vuonna 2012, vaikka sen maahantuonti kiellettiin vuonna 2007. GM-rapsia löytyy muun muassa peltojen läheltä, teiden varsilta sekä satamista (Sohn ym., 2021).

Sohn ym. (2021) mainitsevat, että vaikka GM-viljelykasveja on löydetty usein luonnosta niiden haittavaikutuksista ympäristöön ei ole raportteja. Vaikuttaa siltä, että GM-viljelykasvien leviäminen luontoon ei ainakaan tällä hetkellä ole vakava ongelma. Sohn ym. (2021) antavat kuitenkin useita ehdotuksia estää GM-viljelykasvien leviämistä luontoon perustuen heidän omaan ja muiden artikkeleihin. Kuljetuksen aikana kuorma-autot tulisi täyttää vähemmällä siemenillä sekä peittää hyvin. Peltojen ja jalostuslaitosten välimatkoja tulisi lyhentää. GM-rapsi pellot tulisi eristää ympäristöstä. Syvää kyntöä tulisi välttää kolmesta neljään viikkoa sadonkorjuun jälkeen ja pelto tulisi kytää ennen seuraavaa sadon istuttamista. Tulisi käyttää rikkakasvien torjunta-aineita ja viljellä toista kilpailukykyistä viljelykasvia GM-rapsin jälkeen. Tulisi pitää tarkkaa kirjanpitoa mitä missäkin pellossa on viljelty.

4.5. Kasvihuonepäästöt

Maailmanlaajuisesti GM-viljelykasvit ovat johtaneet alempiin hiilidioksidipäästöihin. Säästöt tulevat vähentyneestä polttoaineen käytöstä, sillä peltoja tarvitsee kytää vähemmän sekä levittää vähemmän torjunta-aineita. Vähentynyt kyntäminen on myös johtanut peltojen toimimiseen paremmin hiilinieluinä (Brookes & Barfoot, 2020).

5. Terveysvaikutukset ihmisiin

Kenties suurin huolenaihe mitä GM-ruuasta kuulee, on sen vaikutus terveyteen. Tämän takia monissa maissa GM-organismien pääsy markkinoille on tarkasti hallittu, mikä takaa GM-ruuan turvallisuuden. Kenties tiukimmat vaatimukset ovat Euroopan unionissa (EU). EU:ssa GM-organismien riskejä ihmisten ja eläinten terveyteen sekä ympäristöön tutkii Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen (EFSA). EFSA antaa neuvoa päättävälle elimille, kuten Euroopan komissiolle tai yksittäisille jäsenmaille. EFSA myöntää hyväksytyille GM-organismeille 10 vuoden lisenssin. Yksittäiset jäsenmaat voivat kuitenkin olla sallimatta GM-kasvien viljelyä sen maaperällä. GM-organismien valmistaja lähettää EFSA:lle tiedot GM-organismista, jonka perusteella EFSA arvioi mahdolliset riskit. EFSA arvioi muun muassa erot GM-organismien ja sen luontaisen version välillä, kuten ulkonäkö, sadon koko ja ravintoarvot. EFSA arvioi myös mahdollisen myrkyllisyyden ja allergeenisuuden sekä vaikutuksen ympäristöön. EFSA vaatii myös GM-kasvien seuranta- ja hyväksynnän jälkeen. Seurantaan kuuluu mahdollisten ympäristövaikutusten tarkkailu. GM-ruuan mahdollisia vaikutuksia ihmisten ja eläinten terveyteen pitää seurata, mikäli GM-ruuan ravintoarvot eroavat luontaisesta versiosta tai GM-ruuassa on lisääntyneitä allergeenejä (Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen, 2024).

Euroopan ulkopuolella GM-ruuan pääseminen markkinoille noudattaa samoja periaatteita. Kanadassa GM-ruokien turvallisuutta tutkii Health Canada. GM-ruuan tuottaja, maahantuojat tai kehittäjät antavat Health Canadalle tiedot tehdyistä geenimuunnoksista, joiden perusteella Health Canada arvioi mahdolliset riskit. Health Canada vertailee GM-ruokaa tavalliseen ruokaan sen ravintoarvoissa sekä arvioi GM-ruuan mahdollisia myrkyjä ja allergeenejä. Pidemmän aikavälin tutkimus voi olla osa riskien arviointia, mikäli GM-ruuan ravintoarvot eroavat tavallisesta ruuasta huomattavasti tai GM-ruoka tuo esille uuden ominaisuuden, jota ei ole vielä markkinoilla (Health Canada, 2022).

Yhdysvalloissa GM-organismien turvallisuutta tutkii kolme virastoa. Elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) tutkii GM-ruuan turvallisuutta ihmisille ja eläimille. FDA vaatii samat turvallisuusstandardit GM-ruualta kuin tavalliselta ruualta. Yhdysvaltain ympäristöviranomainen (EPA) tutkii GM-kasvien tuottamia hyönteismyrkkyjä, niiden vaikutusta ihmisten terveyteen sekä ympäristöön. Yhdysvaltain maatalousministeriön alaisena toimiva Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) tutkii GM-kasvien vaikutusta muihin kasveihin, jotta ne eivät olisi haitallisia toisille kasveille (Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto, 2024).

GM-ruuan pääsystä markkinoille päättävät virastot eivät tee itse testejä, vaan päätökset perustuvat ammattilaisten arvioon mahdollisista terveys- tai ympäristövaikutuksista, jonka perusteella tuotteelle voidaan määrätä esimerkiksi tarkempaa seuranta markkinoille pääsyn jälkeen. Näin voidaan tehdä, koska yleensä GM-ruoka ei tuo mitään täysin uutta markkinoille. Tämän takia myöskään pitkän aikavälin tutkimusta GM-ruuan terveysvaikutuksista ihmisiin ei tarvita, sillä ei ole syytä epäillä, että GM-ruualla olisi mitään terveysvaikutuksia, joita tavallisella ruualla ei olisi (Health Canada, 2022).

6. Kirjallisuusviitteet

- Abe, T., Kaneko, M., & Kiyonari, H. (2023) A reverse genetic approach in geckos with the CRISPR/Cas9 system by oocyte microinjection. *Developmental Biology*, 497, 26-32. doi.org/10.1016/j.ydbio.2023.02.005
- Akbar, S., Wei, Y., & Zhang, M. Q. (2022). RNA Interference: Promising Approach to Combat Plant Viruses. *International journal of molecular sciences*, 23(10), 5312. doi.org/10.3390/ijms23105312
- Banakar, R., Eggenberger, A. L., Lee, K., Wright, D. A., Murugan, K., Zarecor, S., Lawrence-Dill, C. J., Sashital, D. G., & Wang, K. (2019) High-frequency random DNA insertions upon co-delivery of CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein and selectable marker plasmid in rice. *Scientific reports*, 9(1), 19902. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55681-y>
- Batista Napotnik, T., Polajžer, T., & Miklavčič, D. (2021). Cell death due to electroporation - A review. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*, 141, 107871. doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107871
- Beauregard, A., Curcio, M., & Belfort, M. (2008). The take and give between retrotransposable elements and their hosts. *Annual review of genetics*, 42, 587–617. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091549>
- Beckie, H. J., Ashworth, M. B., & Flower, K. C. (2019). Herbicide Resistance Management: Recent Developments and Trends. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(6), 161. doi.org/10.3390/plants8060161
- Benbrook C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental sciences Europe*, 28(1), 3. doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0
- Brookes, G., & Barfoot, P. (2020). Environmental impacts of genetically modified (GM) crop use 1996-2018: impacts on pesticide use and carbon emissions. *GM crops & food*, 11(4), 215–241. doi.org/10.1080/21645698.2020.1773198
- Canadian Food Inspection Agency. (2007). DD2007-67: Determination of the Safety of Monsanto Canada Inc.'s Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Event MON 89788. Government of Canada. Haettu 10.4.2024 osoitteesta <https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/approved-under-review/decision-documents/dd2007-67/eng/1310747054261/1310747227072>

Canadian Food Inspection Agency. (2012). Decision Document 2012-90: Determination of the Safety of Monsanto Canada Inc. Canola (*Brassica napus*) Event MON 88302. Government of Canada. Haettu 10.4.2024 osoitteesta <https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/approved-under-review/decision-documents/dd-2012-90/eng/1369340657511/1369340712069>

Canadian Food Inspection Agency. (2014). Decision document DD2014-105: Determination of the safety of Stine Seed Farm, Inc.'s corn (*Zea mays* L.) event HCEM485. Government of Canada. Haettu 9.4.2024 osoitteesta <https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/approved-under-review/decision-documents/dd2014-105/eng/1465482670690/1465482729115>

Carroll D. (2011). Genome engineering with zinc-finger nucleases. *Genetics*, 188(4), 773–782. doi.org/10.1534/genetics.111.131433

Cary, L., Goebel, M., Corsaro, B., Wang, H., Rosen, E., & Fraser, M. (1989). Transposon mutagenesis of baculoviruses: analysis of *Trichoplusia ni* transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Virology*, 172(1), 156–169. doi.org/10.1016/0042-6822(89)90117-7

Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., & Gao, C. (2019). CRISPR/Cas Genome Editing and Precision Plant Breeding in Agriculture. *Annual review of plant biology*, 70, 667–697. doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049

Díaz de la Garza, R. I., Gregory, J. F., 3rd, & Hanson, A. D. (2007). Folate biofortification of tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(10), 4218–4222. doi.org/10.1073/pnas.0700409104

Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen. (2024). GMO. Haettu 24.4.2024 osoitteesta <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/gmo>

Euroopan komissio (julkaisuaika tuntematon) Genetically Modified Organisms. Haettu 3.10.2023 osoitteesta <https://europa.eu/!6gHyVt>

Euroopan parlamentti (2015). Eight things you should know about GMOs. Haettu 23.4.2024 osoitteesta <https://www.europarl.europa.eu/topics/en/article/20151013STO97392/eight-things-you-should-know-about-gmos>

Fahim, M., Millar, A. A., Wood, C. C., & Larkin, P. J. (2012). Resistance to Wheat streak mosaic virus generated by expression of an artificial polycistronic microRNA in wheat. *Plant biotechnology journal*, 10(2), 150–163. doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00647.x

Ferreira, S. A., Pitz, K. Y., Manshardt, R., Zee, F., Fitch, M., & Gonsalves, D. (2002). Virus Coat Protein Transgenic Papaya Provides Practical Control of Papaya ringspot virus in Hawaii. *Plant disease*, 86(2), 101–105. doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.2.101

Filippiinien korkein oikeus. (2023). SC Issues Writ of Kalikasan on Genetically Modified Rice and Eggplant Products. Haettu 20.3.2023 osoitteesta <https://sc.judiciary.gov.ph/sc-issues-writ-of-kalikasan-on-genetically-modified-rice-and-eggplant-products/>

Gassmann, A. J., & Reisig, D. D. (2023). Management of Insect Pests with Bt Crops in the United States. *Annual review of entomology*, 68, 31–49. doi.org/10.1146/annurev-ento-120220-105502

- Gelvin S. B. (2003). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: the biology behind the "gene-jockeying" tool. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 67(1), 16–37. doi.org/10.1128/MMBR.67.1.16-37.2003
- Gelvin S. B. (2017). Integration of *Agrobacterium* T-DNA into the Plant Genome. *Annual review of genetics*, 51, 195–217. doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035320
- Gelvin S. B. (2021). Plant DNA Repair and *Agrobacterium* T-DNA Integration. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8458. doi.org/10.3390/ijms22168458
- Grover, A., Pande, A., Choudhary, K., Gupta, K., & Sundar, D. (2010). Re-programming DNA-binding specificity in zinc finger proteins for targeting unique address in a genome. *Systems and synthetic biology*, 4(4), 323–329. doi.org/10.1007/s11693-011-9077-4
- Hameed, A., Zaidi, S. S., Shakir, S., & Mansoor, S. (2018). Applications of New Breeding Technologies for Potato Improvement. *Frontiers in plant science*, 9, 925. doi.org/10.3389/fpls.2018.00925
- Health Canada. (2007). Novel food information: Glyphosate tolerant soybean MON 89788. Government of Canada. Haettu 10.4.2024 osoitteesta <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/glyphosate-tolerant-soybean-89788-novel-food-information.html>
- Health Canada. (2012). TruFlex Roundup Ready Canola MON 88302. Government of Canada. Haettu 10.4.2024 osoitteesta <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/truflex-trade-roundup-ready-canola-88302.html>
- Health Canada. (2014). Novel Food Information – Glyphosate tolerant Corn – HCEM485. Government of Canada. Haettu 9.4.2024 osoitteesta <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/glyphosate-tolerant-corn.html>
- Health Canada. (2018). Provitamin A Biofortified Rice Event GR2E (Golden Rice). Government of Canada. Haettu 20.3.2024 osoitteesta <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/golden-rice-gr2e.html>
- Health Canada. (2022). Novel foods: Safety of genetically modified foods. Government of Canada. Haettu 24.4.2024 osoitteesta <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/safety.html>
- Hefferon K. (2015). Nutritionally enhanced food crops; progress and perspectives. *International journal of molecular sciences*, 16(2), 3895–3914. <https://doi.org/10.3390/ijms16023895>
- Jaffe, L., & Terasaki, M. (2004). Quantitative microinjection of oocytes, eggs, and embryos. *Methods in cell biology*, 74, 219–242. doi.org/10.1016/s0091-679x(04)74010-8
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 337(6096), 816–821. doi.org/10.1126/science.1225829

- Jones, V., Bucher, M., Hambleton, E., & Guse, A. (2018). Microinjection to deliver protein, mRNA, and DNA into zygotes of the cnidarian endosymbiosis model *Aiptasia* sp. *Scientific reports*, 8(1), 16437. doi.org/10.1038/s41598-018-34773-1
- Khan, K., & Jialal, I. (2023). Folic Acid Deficiency. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535377/>
- Kirov I. (2023). Toward Transgene-Free Transposon-Mediated Biological Mutagenesis for Plant Breeding. *International journal of molecular sciences*, 24(23), 17054. doi.org/10.3390/ijms242317054
- Klümper, W., & Qaim, M. (2014). A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PloS one*, 9(11), e111629. doi.org/10.1371/journal.pone.0111629
- Kotnik, T., Rems, L., Tarek, M., & Miklavčič, D. (2019). Membrane Electroporation and Electroporabilization: Mechanisms and Models. *Annual review of biophysics*, 48, 63–91. doi.org/10.1146/annurev-biophys-052118-115451
- Lacroix, B., & Citovsky, V. (2013). The roles of bacterial and host plant factors in *Agrobacterium*-mediated genetic transformation. *The International journal of developmental biology*, 57(6-8), 467–481. doi.org/10.1387/ijdb.130199bl
- Lacroix, B., & Citovsky, V. (2020). Biolistic Approach for Transient Gene Expression Studies in Plants. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2124, 125–139. doi.org/10.1007/978-1-0716-0356-7_6
- Lapham, R., Lee, L. Y., Tsugama, D., Lee, S., Mengiste, T., & Gelvin, S. B. (2018). VIP1 and Its Homologs Are Not Required for *Agrobacterium*-Mediated Transformation, but Play a Role in *Botrytis* and Salt Stress Responses. *Frontiers in plant science*, 9, 749. doi.org/10.3389/fpls.2018.00749
- Lin, J., Fan, Y., & Lin, X. (2020). Transformation of *Cryptococcus neoformans* by electroporation using a transient CRISPR-Cas9 expression (TRACE) system. *Fungal genetics and biology: FG & B*, 138, 103364. doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103364
- Liang, Q., Wang, K., Liu, X., Riaz, B., Jiang, L., Wan, X., Ye, X., & Zhang, C. (2019). Improved folate accumulation in genetically modified maize and wheat. *Journal of experimental botany*, 70(5), 1539–1551. doi.org/10.1093/jxb/ery453
- Maailman terveysjärjestö (2014). Food, genetically modified. Haettu 19.1.2024 osoitteesta <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/food-genetically-modified>
- Maailman terveysjärjestö (2023a). Anaemia. Haettu 22.3.2024 osoitteesta <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/anaemia>
- Maailman terveysjärjestö (2023b). Zinc supplementation and growth in children. Haettu 5.3.2024 osoitteesta <https://www.who.int/tools/elena/interventions/zinc-stunting>
- Malzahn, A., Lowder, L., & Qi, Y. (2017). Plant genome editing with TALEN and CRISPR. *Cell & bioscience*, 7, 21. doi.org/10.1186/s13578-017-0148-4
- Masuda, H., Ishimaru, Y., Aung, M. S., Kobayashi, T., Kakei, Y., Takahashi, M., Higuchi, K., Nakanishi, H., & Nishizawa, N. K. (2012). Iron biofortification in rice by the introduction of multiple genes involved in iron nutrition. *Scientific reports*, 2, 543. <https://doi.org/10.1038/srep00543>

- Mitra, R., Fain-Thornton, J., & Craig, N. (2008). piggyBac can bypass DNA synthesis during cut and paste transposition. *The EMBO journal*, 27(7), 1097–1109. doi.org/10.1038/emboj.2008.41
- Muñoz-López, M., & García-Pérez, J. (2010). DNA transposons: nature and applications in genomics. *Current genomics*, 11(2), 115–128. doi.org/10.2174/138920210790886871
- National Geographic Society (2024) The Development of Agriculture. Haettu 19.3.2024 osoitteesta <https://education.nationalgeographic.org/resource/development-agriculture/>
- Niiler, E. (1999) Terminator technology temporarily terminated. *Nature Biotechnology*, 17, 1054. doi.org/10.1038/15034
- Niraula, P. M., & Fondong, V. N. (2021). Development and Adoption of Genetically Engineered Plants for Virus Resistance: Advances, Opportunities and Challenges. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(11), 2339. doi.org/10.3390/plants10112339
- O'Brien, J., & Lummis, S. (2011) Nano-biostics: a method of biolistic transfection of cells and tissues using a gene gun with novel nanometer-sized projectiles. *BMC biotechnology*, 11, 66. doi.org/10.1186/1472-6750-11-66
- Office of the Gene Technology Regulator (2021) Genetically modified (GM) canola in Australia. Australian Government, Department of Health and Aged Care. Haettu 9.4.2024 osoitteesta <https://www.ogtr.gov.au/resources/publications/genetically-modified-gm-canola-australia>
- Potter, H., & Heller, R. (2003). Transfection by electroporation. *Current protocols in molecular biology*, Chapter 9, Unit–9.3. doi.org/10.1002/0471142727.mb0903s62
- Ritchie, H., Rosado, P., & Roser, M. (2022). Environmental Impacts of Food Production. *Our World in Data*. Haettu 19.3.2024 osoitteesta <https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food>
- Rogers, L. M., Cordero, A. M., Pfeiffer, C. M., Hausman, D. B., Tsang, B. L., De-Regil, L. M., Rosenthal, J., Razzaghi, H., Wong, E. C., Weakland, A. P., & Bailey, L. B. (2018). Global folate status in women of reproductive age: a systematic review with emphasis on methodological issues. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1431(1), 35–57. doi.org/10.1111/nyas.13963
- Rülicke, T., & Hübscher, U. (2000). Germ line transformation of mammals by pronuclear microinjection. *Experimental physiology*, 85(6), 589–601. doi.org/10.5167/uzh-841
- Sami, A., Xue, Z., Tazein, S., Arshad, A., He Zhu, Z., Ping Chen, Y., Hong, Y., Tian Zhu, X., & Jin Zhou, K. (2021). CRISPR-Cas9-based genetic engineering for crop improvement under drought stress. *Bioengineered*, 12(1), 5814–5829. doi.org/10.1080/21655979.2021.1969831
- Snow, A. (2002) Transgenic crops –why gene flow matters. *Nature Biotechnology*, 20, 542. doi.org/10.1038/nbt0602-542
- Sohn, S. I., Pandian, S., Oh, Y. J., Kang, H. J., Ryu, T. H., Cho, W. S., Shin, E. K., & Shin, K. S. (2021). A Review of the Unintentional Release of Feral Genetically Modified Rapeseed into the Environment. *Biology*, 10(12), 1264. doi.org/10.3390/biology10121264
- Song, P., Adeloye, D., Li, S., Zhao, D., Ye, X., Pan, Q., Qiu, Y., Zhang, R., Rudan, I., & Global Health Epidemiology Research Group (GHERG) (2023). The prevalence of vitamin A deficiency and its public health significance in children in low- and middle-income countries:

A systematic review and modelling analysis. *Journal of global health*, 13, 04084.
doi.org/10.7189/jogh.13.04084

Tabashnik, B., Liesner, L., Ellsworth, P., Unnithan, G., Fabrick, J., Naranjo, S., Li, X., Dennehy, T., Antilla, L., Staten, R., & Carrière, Y. (2020) Transgenic cotton and sterile insect releases synergize eradication of pink bollworm a century after it invaded the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(1). doi.org/10.1073/pnas.2019115118

Tang, G., Qin, J., Dolnikowski, G. G., Russell, R. M., & Grusak, M. A. (2009). Golden Rice is an effective source of vitamin A. *The American journal of clinical nutrition*, 89(6), 1776–1783. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27119>

Terns, M., & Terns, R. (2011) CRISPR-based adaptive immune systems. *Current opinion in microbiology*, 14(3), 321–327. doi.org/10.1016/j.mib.2011.03.005

The Economist (2022) Global Food Security Index 2022. Haettu 19.3.2024 osoitteesta <https://impact.economist.com/sustainability/project/food-security-index/#rankings-and-trends>

Vasconcelos, M., Datta, K., Oliva, N., Khalekuzzaman, M., Torrizo, L., Krishan, S., Oliveira, M., Goto, F., & Datta, S. (2003) Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. *Plant Science*, 164(3), 371–378. [doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00421-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00421-1)

Watrud, L. S., Lee, E. H., Fairbrother, A., Burdick, C., Reichman, J. R., Bollman, M., Storm, M., King, G., & Van de Water, P. K. (2004). Evidence for landscape-level, pollen-mediated gene flow from genetically modified creeping bentgrass with CP4 EPSPS as a marker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(40), 14533–14538. doi.org/10.1073/pnas.0405154101

Wessells, K. R., & Brown, K. H. (2012). Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PloS one*, 7(11), e50568. doi.org/10.1371/journal.pone.0050568

Yhdistyneet Kansakunnat. (julkaisuaika tuntematon) Population. Haettu 19.3.2024 osoitteesta <https://www.un.org/en/global-issues/population>

Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto. (2018). Biotechnology Notification File No. 000158 Note to the File. Haettu 20.3.2024 osoitteesta <https://www.fda.gov/media/113374/download>

Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto. (2024). How GMOs Are Regulated in the United States. Haettu 24.4.2024 osoitteesta <https://www.fda.gov/food/agricultural-biotechnology/how-gmos-are-regulated-united-states>

Zhang, Z., Hua, L., Gupta, A., Tricoli, D., Edwards, K. J., Yang, B., & Li, W. (2019). Development of an Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing. *Plant biotechnology journal*, 17(8), 1623–1635. doi.org/10.1111/pbi.13088