

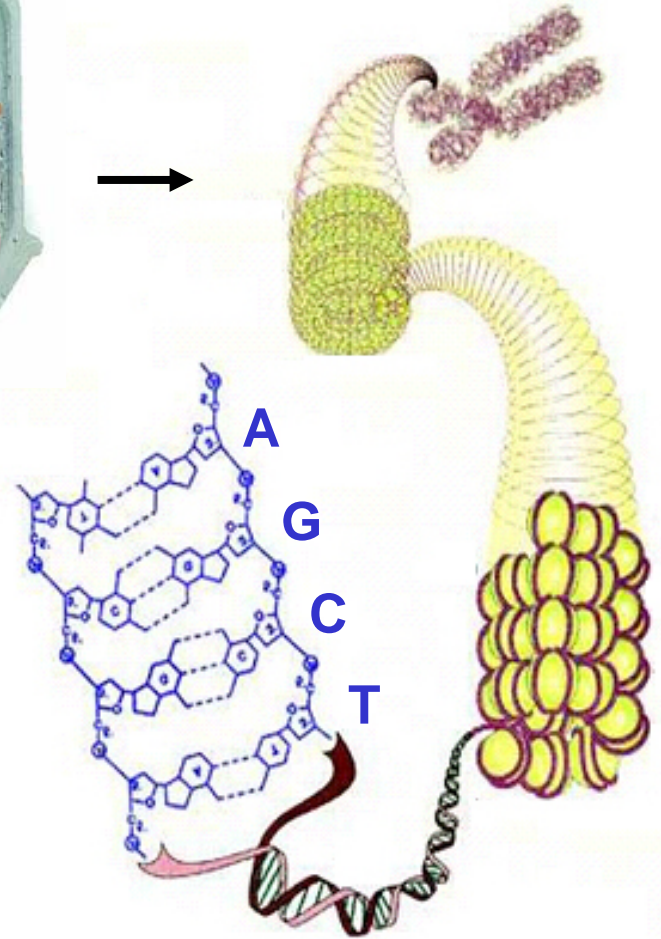
Pflanzen-Gentechnologie: Methoden, Anwendungen + Risiken

Benedikt Kost

**Heidelberg Institut für
Pflanzenwissenschaften**

bkost@hip.uni-hd.de

Gene > Proteine > Eigenschaften von Zellen/Pflanzen



GEN

Promoter

kodierende Region



DNA

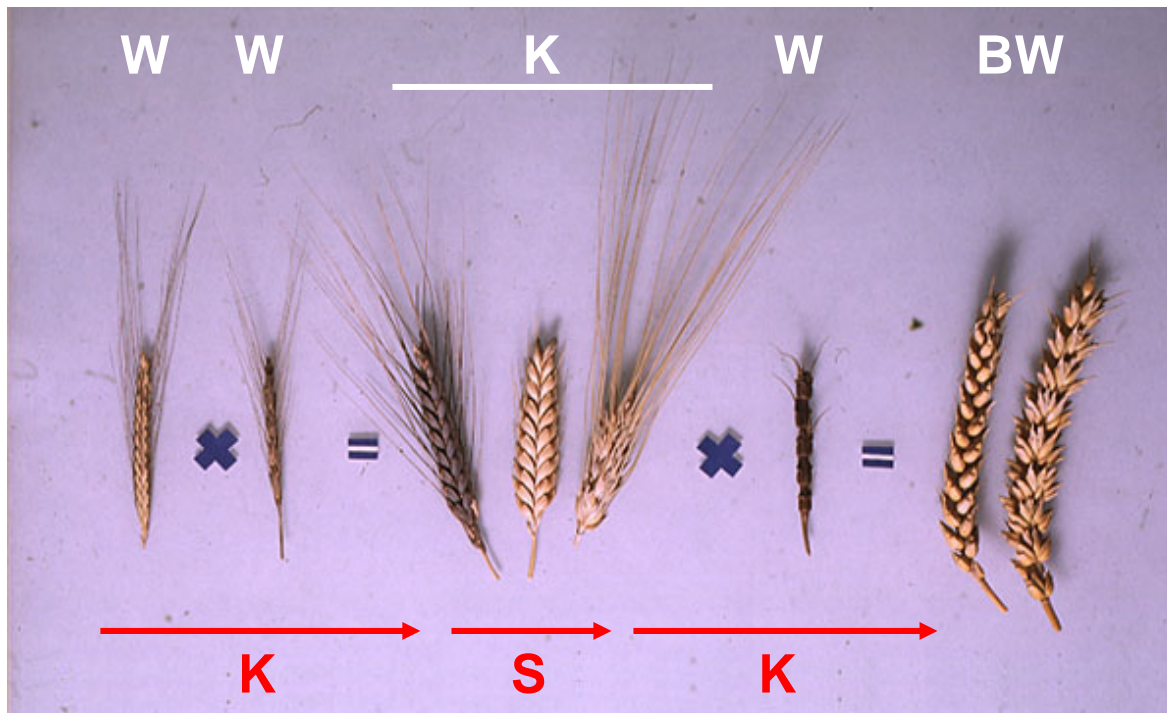
Transkription/Translation



Protein

Veränderung von Pflanzen durch konventionelle Züchtung

ENTWICKLUNG DES KULTURWEIZENS



- W:** Wildformen
(seit ~5000 Jahren
-> „Ötzi“)
- K:** frühe Kulturformen
- BW:** Brotweizen

Veränderung des Genoms:

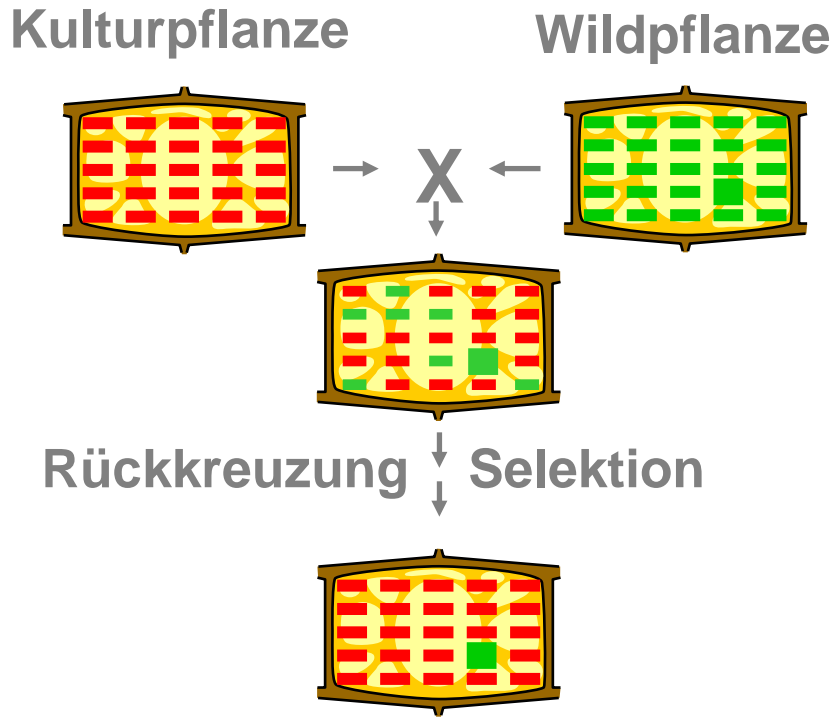
Kreuzung (**K**):

Selektion (**S**):

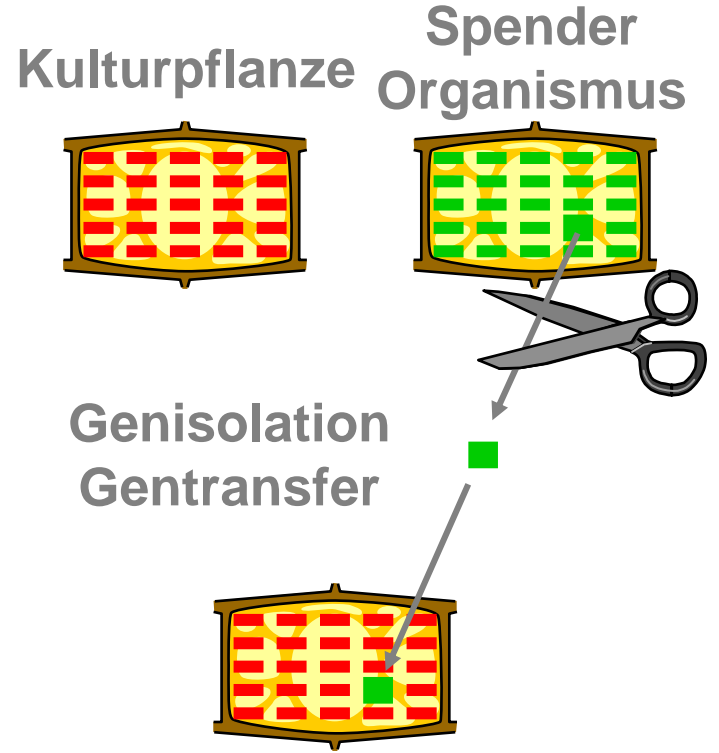
Vermischung der Genome verwandter Arten
spontane Mutationen

Vergleich konventionelle Züchtung / Gentechnologie

Züchtung



Gentechnologie



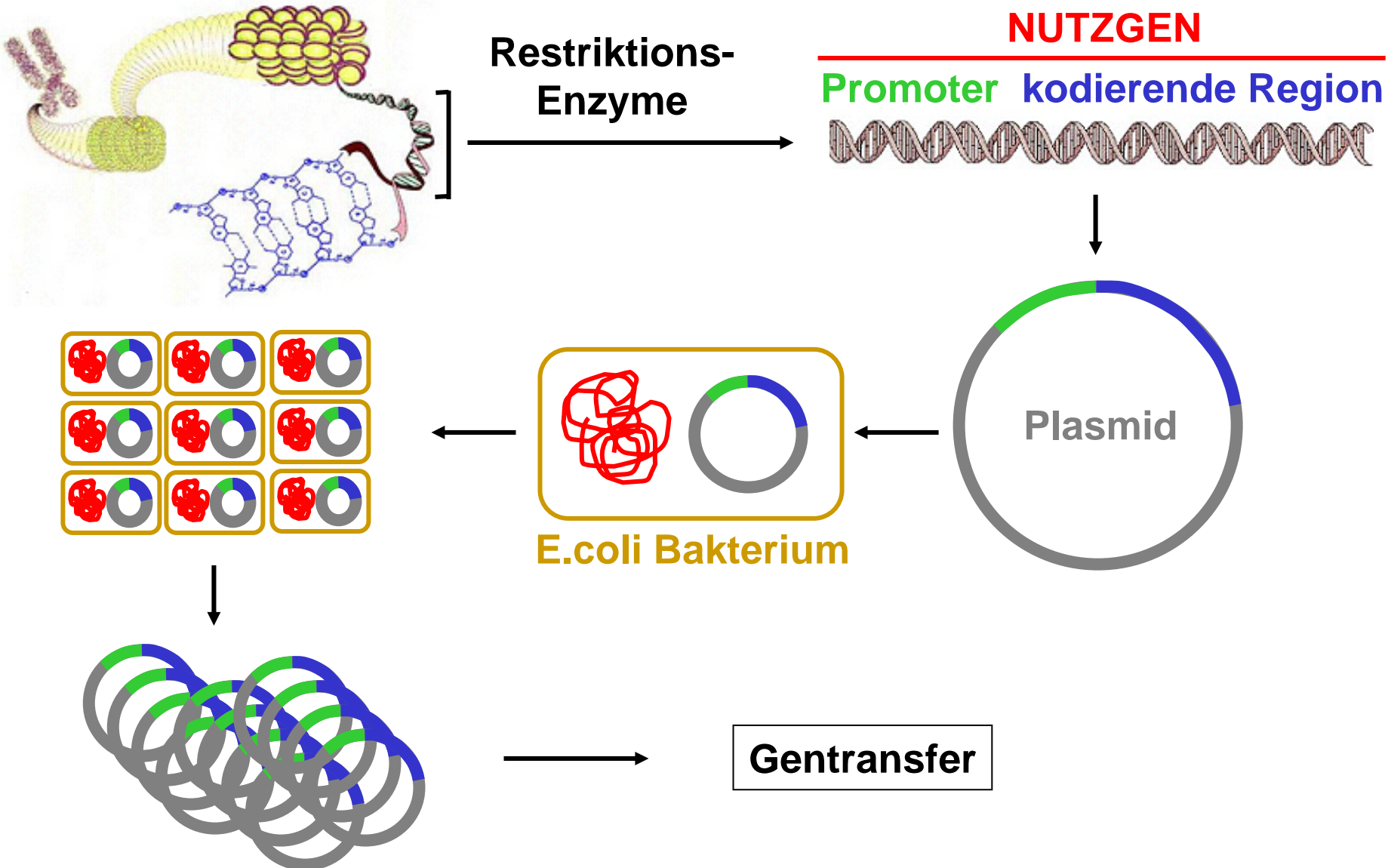
zufällige Genmischung
langsamer
innerhalb Artgrenzen



gezielter Gentransfer
schneller
über Artgrenzen hinweg

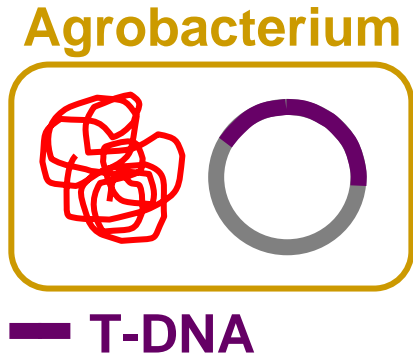
=> Chancen, Risiken

Genisolation (Klonierung)



Gentransfer: *Agrobacterium tumefaciens*

Natur



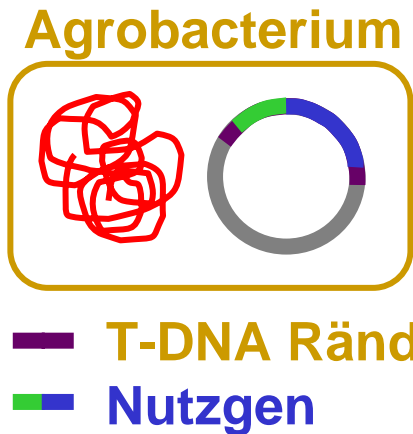
T-DNA
Transfer



Tumor
Bildung



Labor



T-DNA
Transfer

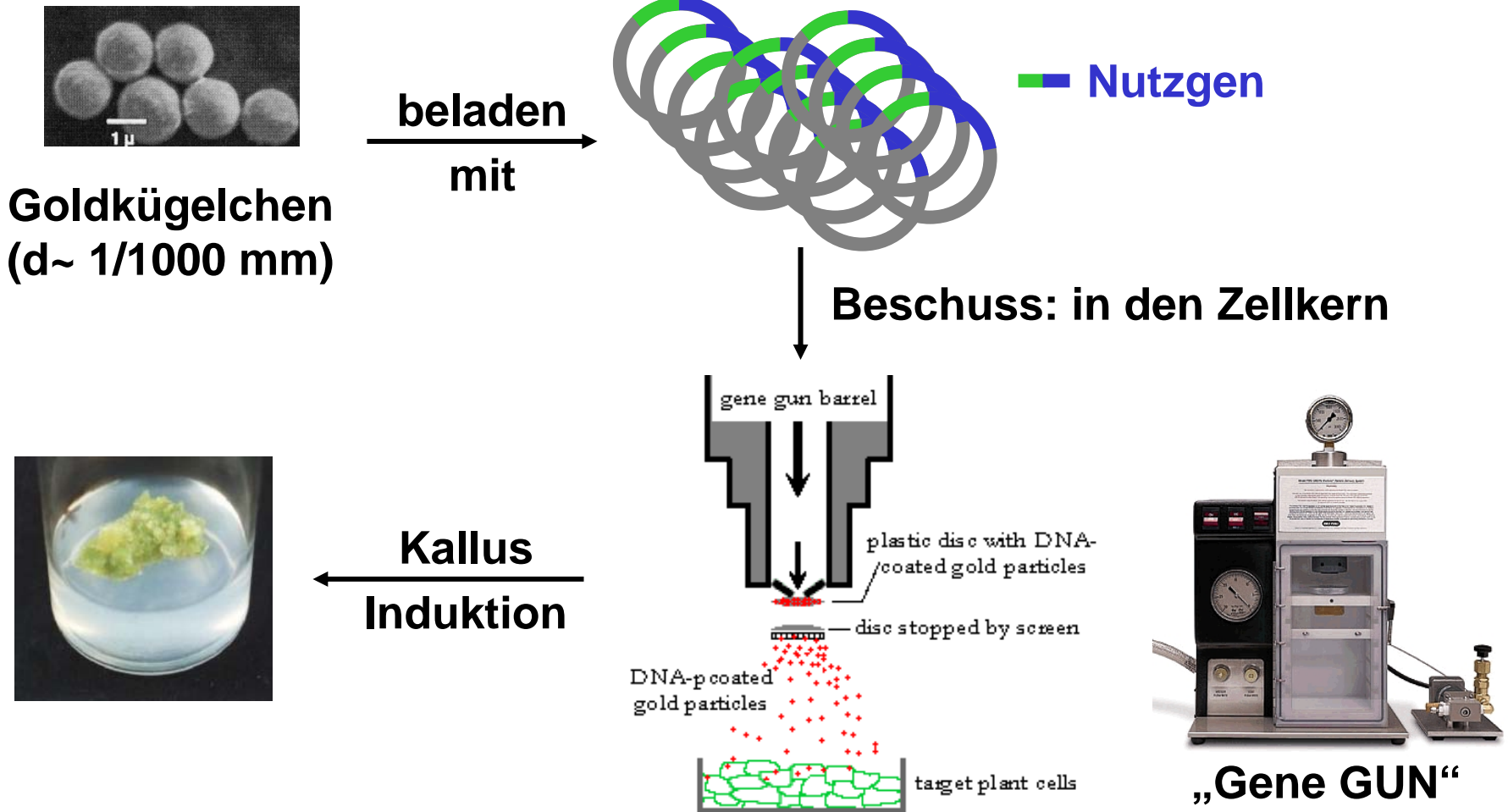


Kallus
Induktion



- > Einbau ins Genom: zufällig
- > Standardmethode für viele Pflanzen (Soja, Tabak etc)
- > funktioniert schlecht für gewisse Pflanzen (Mais, Weizen etc.)

Gentransfer: Partikel Beschuss

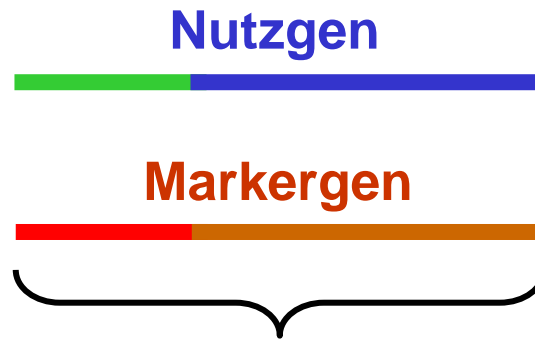


- > Einbau ins Genom: zufällig
- > Gentransfer in Reis, Weizen, Mais

Regeneration von transgenen Pflanzen: Selektion

Gentransfer => Kalli > transgene und nicht transgene Zellen:

-> Co-Transfer von:

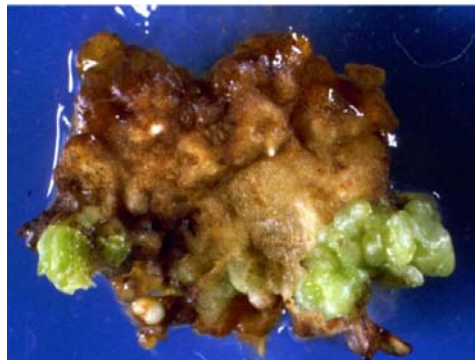


**Herbizid Resistenz:
(Antibiotika Resistenz)**

BASTA

-> Nach Gentransfer:

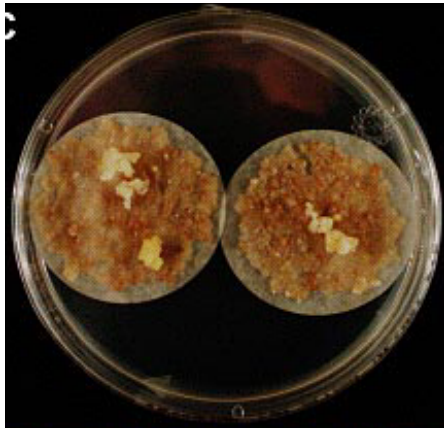
**Kalli werden mit
Herbiziden (Antibiotika)
behandelt**



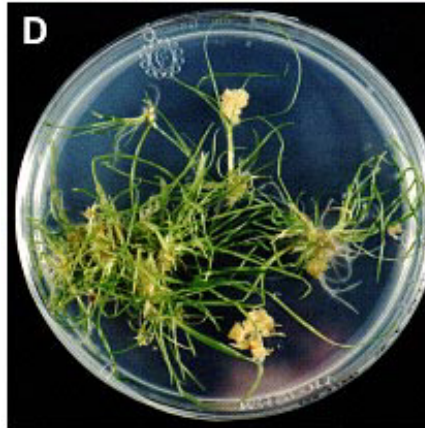
**=> nur transgene
(resistente) Zellen
überleben**

Regeneration von transgenen Pflanzen: Organogenese

transgene Kalli
nach Selektion

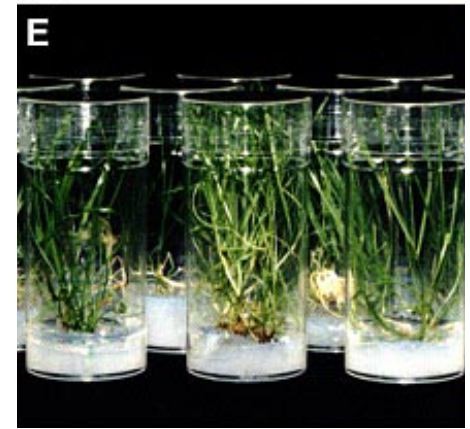


Bildung von
Sprossen



> Zytokinine

Bildung von
Wurzeln



> Auxin



=> regenerierte transgene Pflanzen
im Gewächshaus

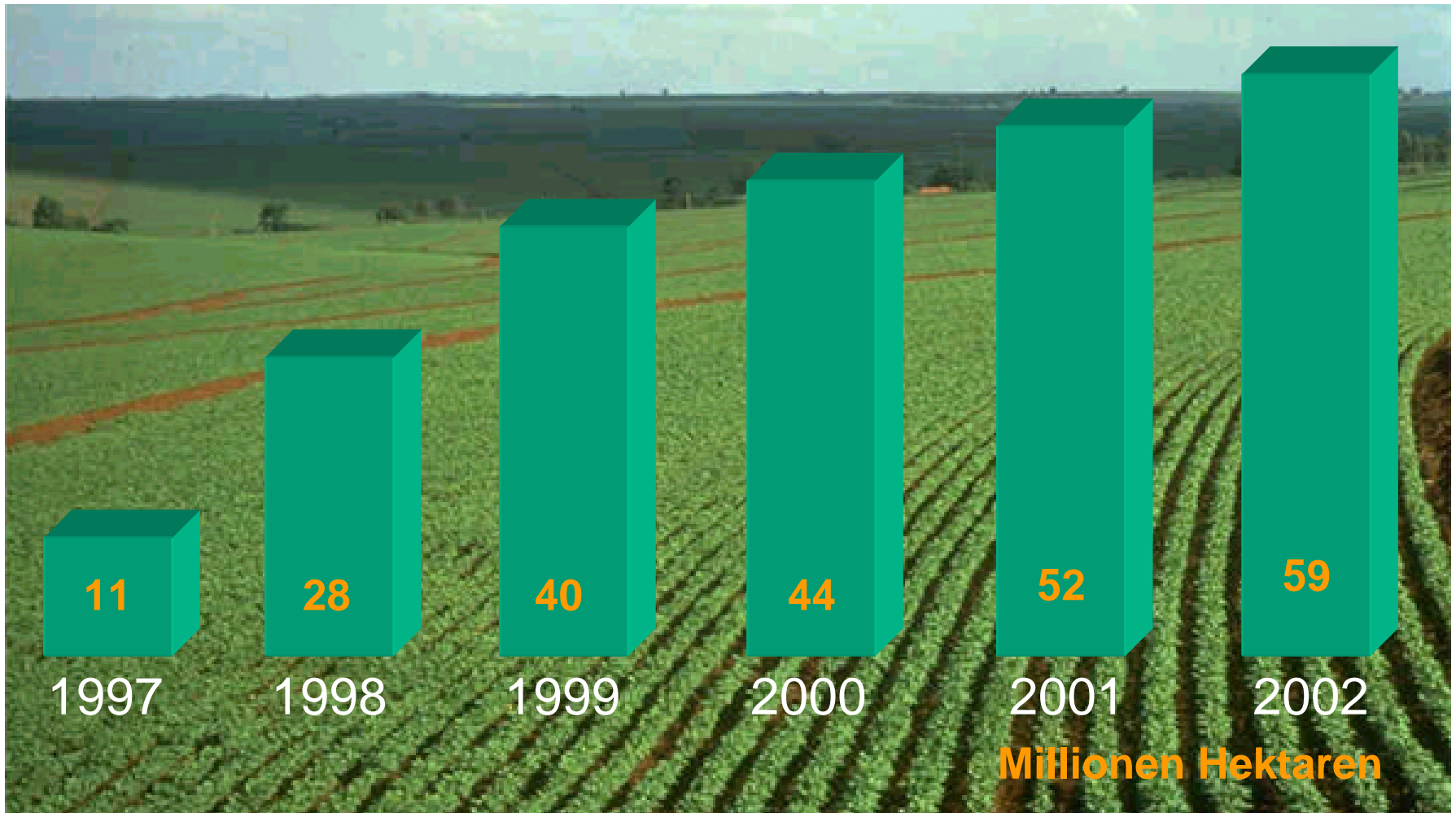
Transgene Pflanzen: Biotechnologische Anwendungen

- > **Herbizid Resistenz***
- > **Stress Resistenz** - Kälte, Trockenheit...
- > **Pathogen Resistenz** - Insekten*
- andere (Pilze, Viren...)
- > **erhöhter Nährstoffgehalt** - Aminosäuren, Vitamine** ...
- > **Ertragserhöhung**
- > **verlustfreie Lagerung/Transport nach der Ernte***
- > **Pflanzen als Biofabriken:** - Enzyme, Antikörper, Biopolymere...

* **bereits landwirtschaftlich angebaut**

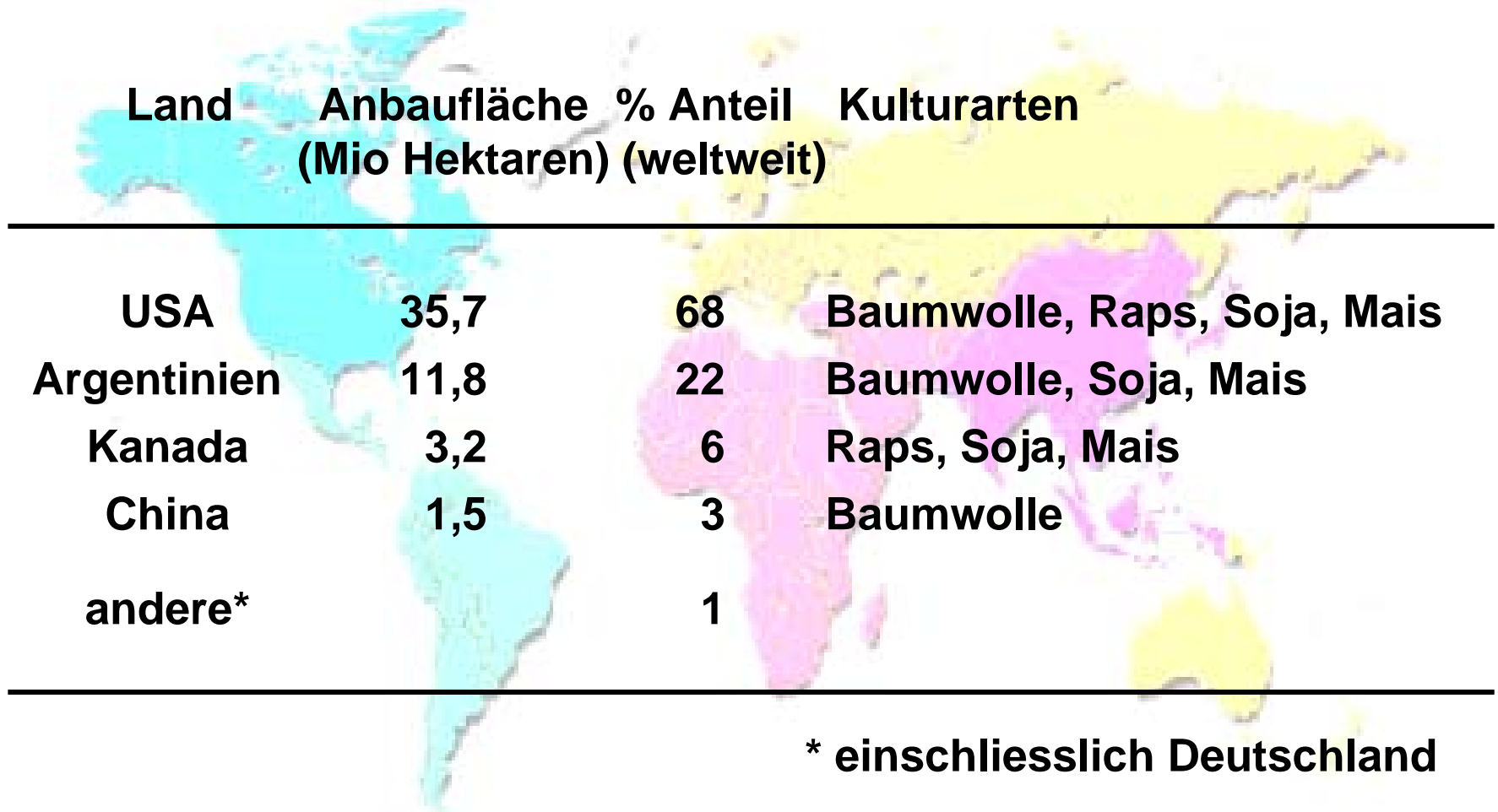
** **auf dem Weg zur landwirtschaftlichen Nutzung**

Transgene Kulturpflanzen: Gesamtanbaufläche weltweit



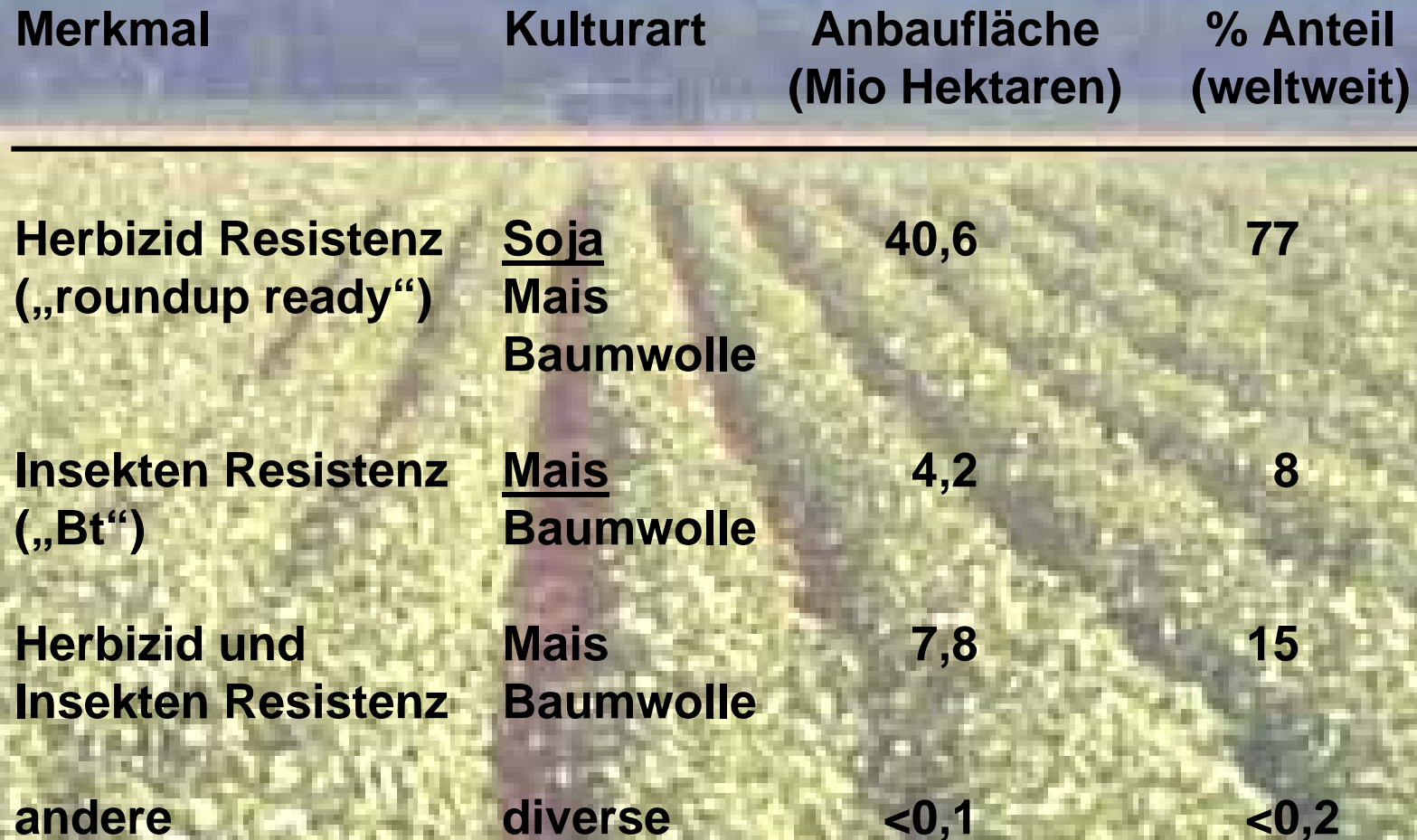
> Gesamtfläche von Deutschland: 36 Millionen Hektaren

Transgene Pflanzen: Anbaufläche nach Ländern (2001)



* einschliesslich Deutschland

Transgene Pflanzen: Anbaufläche nach Merkmal (2001)



Merkmal	Kulturart	Anbaufläche (Mio Hektaren)	% Anteil (weltweit)
Herbizid Resistenz („roundup ready“)	<u>Soja</u> Mais Baumwolle	40,6	77
Insekten Resistenz („Bt“)	<u>Mais</u> Baumwolle	4,2	8
Herbizid und Insekten Resistenz	Mais Baumwolle	7,8	15
andere	diverse	<0,1	<0,2

Beispiel 1: „Bt“ Mais

Bacillus thuringiensis: Bt-Toxin (Protein)

- tötet Insekten: Abbauprodukt zerstört Darmwand
- absolut ungiftig für andere Organismen
- > Bt-Toxin Präparate:
 - Pflanzenschutzmittel (Insektizid)
 - D: seit 1964 > ökologischer Obst + Gemüseanbau

Bt-Mais (Firma Syngenta)

- 2002: 13% der weltweiten Anbaufläche von transgenen Pflanzen
- Transgen:

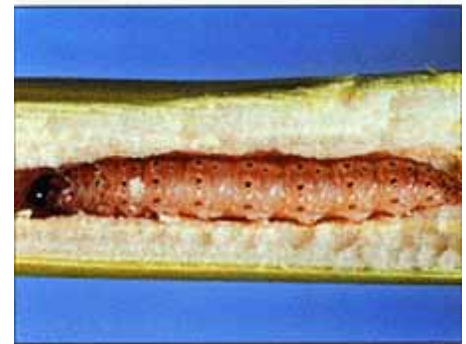
CaMV35Sp

Cry1Ab

CaMV35Sp: viraler, konstitutiver Promoter

Cry1Ab: *B. thuringiensis* Bt-toxin

Maiszünsler
(bedeutendster
Maisschädling)



Vorteile: - Insektenbekämpfung: geringerer Kosten- und Arbeitsaufwand
- kein Insektizid Einsatz

Beispiel 2: „golden rice“

Vitamin A Mangel:

- 100-140 Mio Kinder weltweit (Asien!) betroffen
- jedes Jahr erblinden 500'000 davon

„golden rice“

- entwickelt an der ETH Zürich (Ingo Potrykus, 2000)
- > IRRI (International Rice Research Institute, Philippinen)
 - > Herstellung von Kulturvarianten (noch nicht abgeschlossen)

- Transgene:



Glu: Reis Glutelin Promoter (Endosperm spezifisch)

Ctr1: *E. Uredovora* Caroten Desaturase (Chloroplasten import signal)

Psy: Narzissen Phytoen Synthase

=> Produktion von pro-VitaminA in Reiskörnern:

Allerdings nicht ausreichend für Tagesdosis?

- 2005: Syngenta > Mais Psy: 23x mehr pro-VitaminA >> „golden rice 2“

wildtyp



„golden“

Vorteil: Bekämpfung von Vitamin A Unterversorgung

Potentielle Risiken: direkte Gefährdung von Menschen

Direkte Toxizität von Transgenen und Proteinen für die sie kodieren?

- > Nahrungsmittel sind generell voll von Genen (DNA) und Proteinen
- > Gene (DNA) sind nicht toxisch, Protein im allgemeinen auch nicht
 - > Ausnahme: Proteintoxine mit sehr spezifischen Wirkmechanismen

Allergien?

- > Proteine können Allergien verursachen
- > neue Nahrungsmittel, transgen oder nicht, können Allergien auslösen
- > Zulassungsverfahren für transgene Kulturarten: Allergiepotenzial?

Übertragung von Transgenen auf den Menschen?

- > Nahrungsmittel und damit der Darm sind voll von Genen (DNA)
- > Gentransfer von Nahrungsmitteln auf den Menschen: nicht beobachtet

Potentielle Risiken: Verbreitung von Antibiotika Resistenzen

Gentransfer: transgene Kulturpflanzen -> pathogene Bakterien?

- > Bakterien können freie DNA aufnehmen einbauen: Genom/Plasmide
 - > Pathogene Bakterien können sich im menschlichen Darm aufhalten
 - > Übertragung von Antibiotika Resistenzgenen von transgenen Kulturpflanzen auf bakterielle Pathogene möglich!
-
- > Zulassung neuentwickelter transgene Kulturpflanzen
keine Antibiotika Resistenzgene!
 - > Markergene: Herbizid statt Antibiotika Resistenzgene

Potentielle Risiken: Gefährdung der Umwelt

Ausbreitung von transgenen Kulturpflanzen in der Umwelt?

Langzeit Studie in England:

- Kulturpflanzen setzen sich in natürlich Ökosystemen nicht durch
 - > werden innerhalb weniger Jahre verdrängt
- kein Unterschied zwischen transgenen (Herbizid/Insekten Resistenz) und normalen Kulturpflanzen

Auskreuzen: Übertragung von Transgenen auf verwandte Pflanzen?

- > Nordamerika: Studien deuten auf Transgenübertragung von Kultur-Mais in den USA auf Mexikanische Wildformen
 - > Europa: Kulturarten (ausser Raps) > keine verwandten Wildformen
- Feldversuche in D: Transgen Übertragung von Bt Raps auf
- nicht transgenen Kultur-Raps
 - auf verwandte Wildformen (nicht fertile Hybride)

„roundup ready“ Soja



Roundup (Firma Monsanto)

- Total-Herbizid: tötet (fast) alle Pflanzen ab
- Wirkstoff: Glyphosate
- Blockiert das Enzym EPSPS (Protein):
Biosynthese von essentiellen Aminosäuren (Trp, Tyr, Phe)

„Roundup ready“ Soja (Firma Dekalb)

- 2002: 62% der weltweiten Anbaufläche von transgenen Pflanzen
- Transgen:



CaMV35Sp CTP4 CP4 EPSPS

CaMV35Sp: viraler, konstitutiver Promoter

CP4 EPSPS: *A. tumefaciens* EPSPS > Glyphosate insensitiv

CTP4: Chloroplasten import signal (*Arabidopsis thaliana*)

Vorteile: - Unkrautbekämpfung: geringerer Kosten- und Arbeitsaufwand
- reduzierter Herbizid Einsatz
-> Produzenten orientiert: „Input trait“

„flavr savr“ Tomate

Pektin:

- Zellwandbestandteil
- hält Pflanzenzellen zusammen
- > Fruchtreifung:
Enzyme PG (Protein) baut Pektin ab
=> Frucht wird weich

„flavr savr“ Tomate (Firma Calgene Inc.)

- 1994: erste transgene Pflanze auf dem Markt

- Transgenen:

CaMV35Sp

lePG

„antisense“!

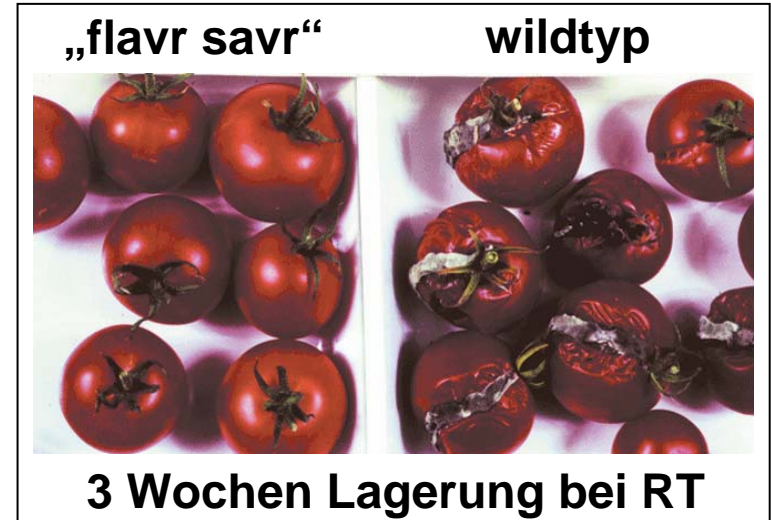
CaMV35Sp: viraler, konst. Promoter

le PG: Tomaten PG gen

=> reduzierte PG expression: Tomaten werden langsamer weich

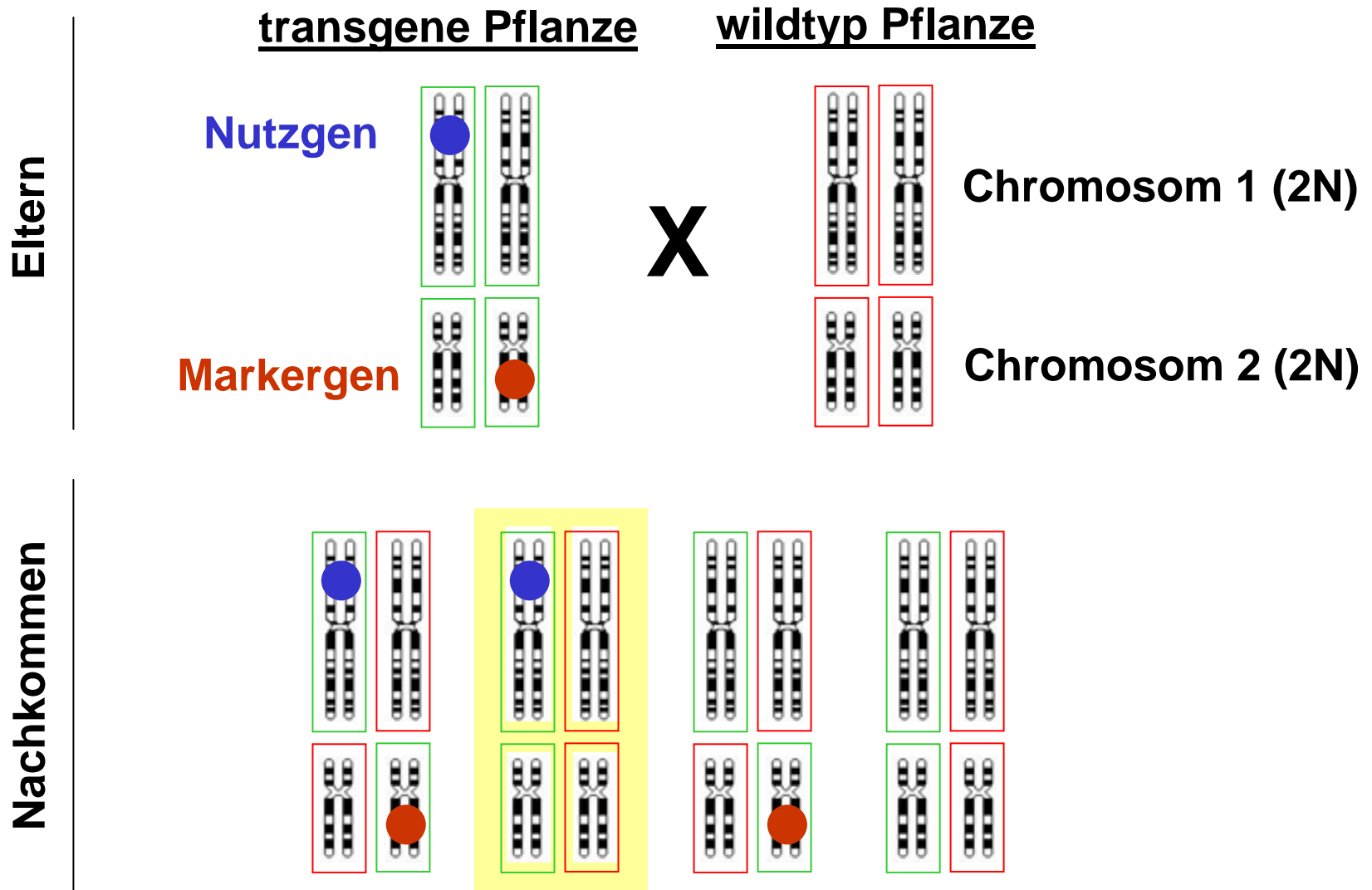
- enthält Kanamycin Resistenz Markergen (Selektion nach Gentransfer):
-> Pflanzen spezifischer Promoter

Vorteile: - Tomaten können an der Pflanze ausreifen: mehr Geschmack
- Konsumenten orientiert: „Output trait“



Option: Elimination von Markergenen (Antibiotika Resistenz!)

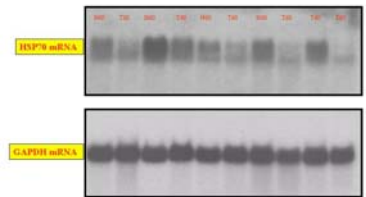
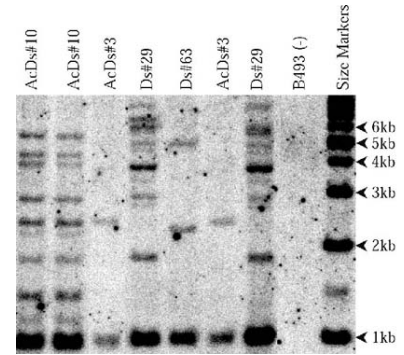
Eine mögliche Methode: unabhängiger Co-Gen Transfer + Rückkreuzung



Auswahl geeigneter transgener Pflanzen

Molekulare Analyse:

- > Anzahl Transgen Kopien in Genom?
 - > **Southern Blotting**
- > Transgen „Expression“ (Wo und wie stark)?
 - > Wieviel Protein wird gebildet?
 - > **Northern Blotting, Q-PCR, Western Blotting**
- > Transgen Einbauorte im Genom?
 - > **Kreuzungen, Tail-PCR (Genom Sequenz)**



Physiologische Analyse:

- > normale Entwicklung?
 - > **Vergleich wildtyp / transgene Pflanzen**
- > Effekte der Transgen-Expression?
 - im Gewächshaus
 - im Freiland
 - > **Vielfalt von Methoden: Transgen abhängig**

