

Neue Aspekte in der grünen Gentechnik

Herausforderung für die experimentelle Überwachung



Landesamt für Umweltschutz - Fachkolloquium, 15.12.2011
Anke Belter, FG13



SACHSEN-ANHALT

- 1. Kurzer Einblick in die aktuelle Methodik der experimentellen Gentechniküberwachung im LAU**
- 2. Möglichkeiten der Klärung der Herkunft / Quelle von (gentechnisch veränderten) Organismen ?**
- 3. Sachgerechte quantitative Bewertung von Mehrfach- Befunden in Saatgut**
- 4. Kontrolle von Pflanzen, die zu zeitlich begrenzter Proteinproduktion mit gv Viren infiziert wurden**

- 1. Kurzer Einblick in die aktuelle Methodik der experimentellen Gentechniküberwachung im LAU**
- 2. Möglichkeiten der Klärung der Herkunft / Quelle von (gentechnisch veränderten) Organismen ?**
- 3. Sachgerechte quantitative Bewertung von Mehrfach- Befunden in Saatgut**
- 4. Kontrolle von Pflanzen, die zu zeitlich begrenzter Proteinproduktion mit gv Viren infiziert wurden**

Molekulargenetische Nachweise von gentechnischen Veränderungen, d.h. von Fremdgenen in Organismen:

- aus gentechnischen Anlagen (Laboratorien)



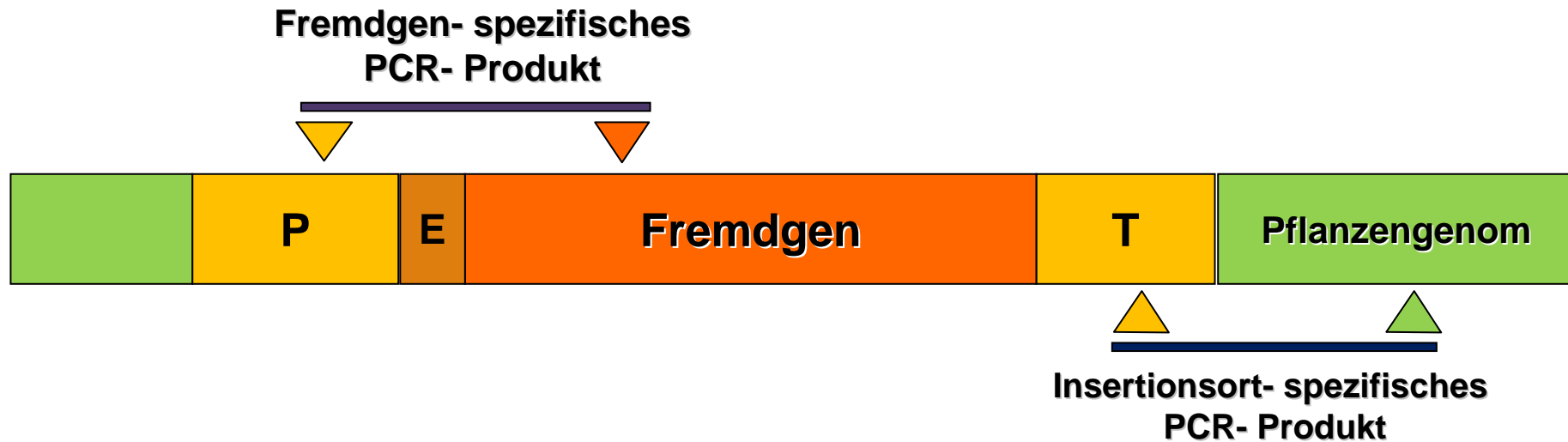
- von Freisetzungsf lächen gentechnisch veränderter Pflanzen (Freilandversuche)



- beim Inverkehrbringen (z. B. in konventionellem Saatgut)



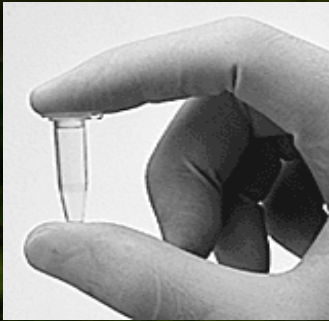
Methode der Wahl ist hierfür die **PCR** (Polymerase- Kettenreaktion):



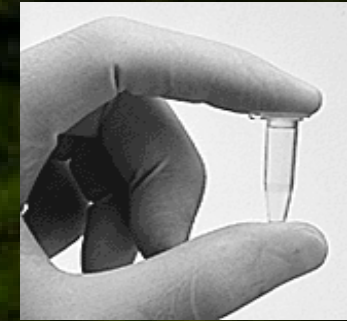
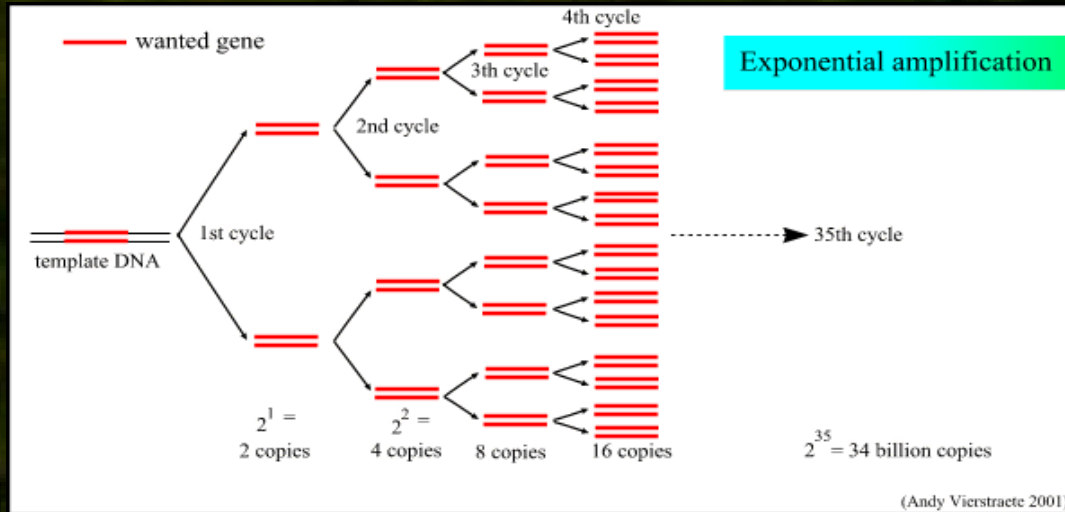
Beispiel für Nachweis- Primer für gentechnisch veränderten Mais MON810:

Vorwärts- Primer: 5'-TCG AAG GAC GAA GGA CTC TAA CG- 3'

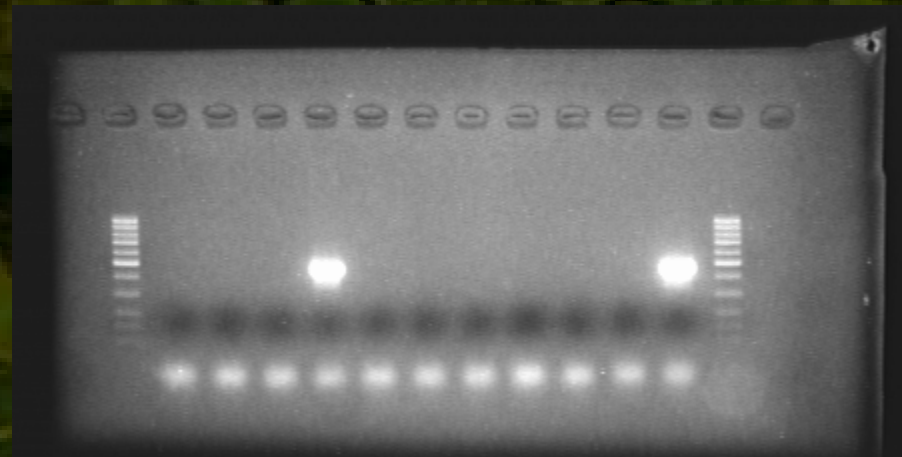
Rückwärts- Primer: 5'-TCC ATC TTT GGG ACC ACT GTC G - 3'



vorher



nachher



Analysenergebnis

1. Kurzer Einblick in die aktuelle Methodik der experimentellen Gentechniküberwachung im LAU
2. Möglichkeiten der Klärung der Herkunft / Quelle von (gentechnisch veränderten) Organismen ?
3. Sachgerechte quantitative Bewertung von Mehrfach- Befunden in Saatgut
4. Kontrolle von Pflanzen, die zu zeitlich begrenzter Proteinproduktion mit gv Viren infiziert wurden

Diese Frage hat u. U. Relevanz für die Entscheidung über Haftungsansprüche, wenn GVO- Pflanzen unklarer Herkunft in konventionellen Ackerflächen gefunden werden und laut GenTG (§ 32, gesamtschuldnerische Haftung) gekennzeichnet werden müssen.

Hier hilft die eben vorgestellte Routinemethodik nicht weiter, da ein GVO- Befund bereits vorliegt.

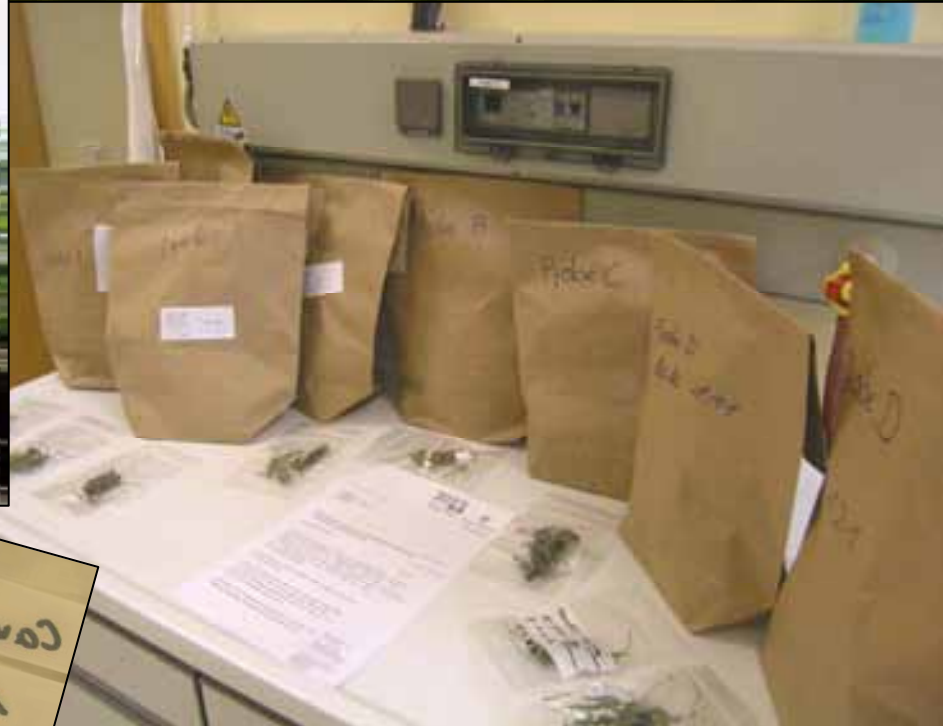
Vielmehr müssen verschiedene in Frage kommende Pflanzen (oder andere Organismen) daraufhin untersucht werden, ob sie aus einer gemeinsamen Quelle stammen oder nicht.

Was benötigt wird, hat eigentlich gar nichts mit Gentechnik zu tun, sondern mit

Verwandschaftsanalytik.



2010: Bitte um Amtshilfe vom LKA Sachsen-Anhalt



Versuch der Klärung, ob Cannabisfunde von verschiedenen Fällen aus einer Quelle stammen.

Literaturrecherche:

Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458
2009 by Pontificia Universidad Católica de Valparaíso -- Chile

Vol.12 No.1, Issue of January 15, 2009

Received May 20, 2008 / Accepted August 7, 2008

This paper is available on line at <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol12/issue1/full/7/>

DOI: 10.2225/vol12-issue1-fulltext-7 RESEARCH ARTICLE

RAPD analysis of seized marijuana (*Cannabis sativa* L.) in Turkey

Emine Pinarkara

Department of Animal Sciences

Biometry-Genetics Unit

Faculty of Agriculture

Selcuk University, 42075

Campus, Konya, Turkey

Tel: 903322232811

Fax: 903322410108

E-mail: eminepinarkara@hotmail.com

In dieser Arbeit wurden 29 Proben untersucht und dafür 22 verschiedene RAPD- Primer (a 10 Oligonukleotide) eingesetzt.

Für unsere Analysen habe ich davon die sechs ausgewählt, die die meisten unterschiedlichen Banden erzeugt hatten.

RAPD- Analyse (abgewandelte PCR):

Benötigt wird nur ein kurzer (RAPD)- Primer pro PCR- Reaktion: 5'-**A-C-C-G-T**-3

Mittels RAPD amplifizierte DNA aus *Individuum A* Länge des Produkts = **34 nt**

A-C-C-G-T-G-G-G-T-C-A-A-G-A-C-A-C-G-G-**G**-C-A-C-T-G-T-A-A-T-A-**C**-G-G-T
T-G-G-C-A-C-C-C-A-G-T-T-C-T-G-T-G-C-C-**C**-G-T-G-A-C-A-T-T-A-**T-G-C-C-A**

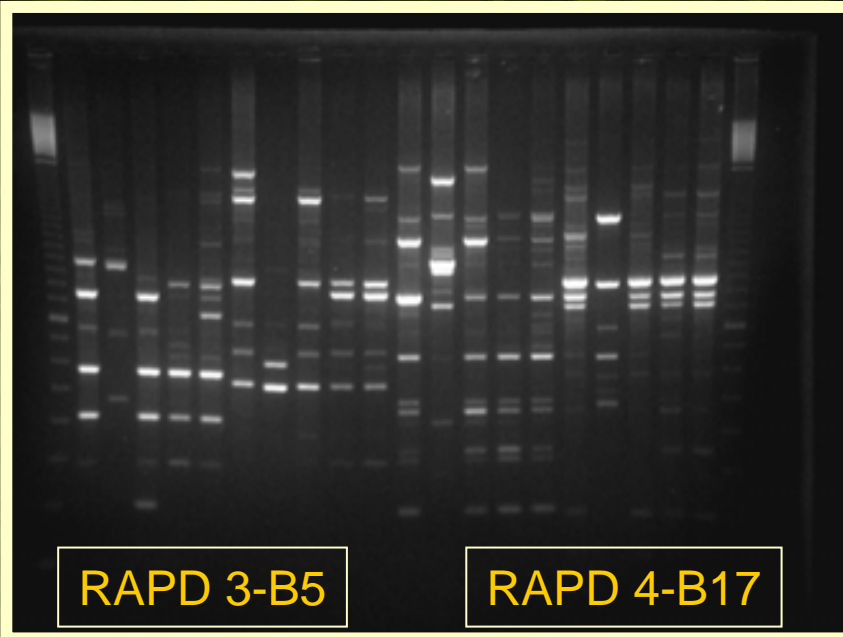
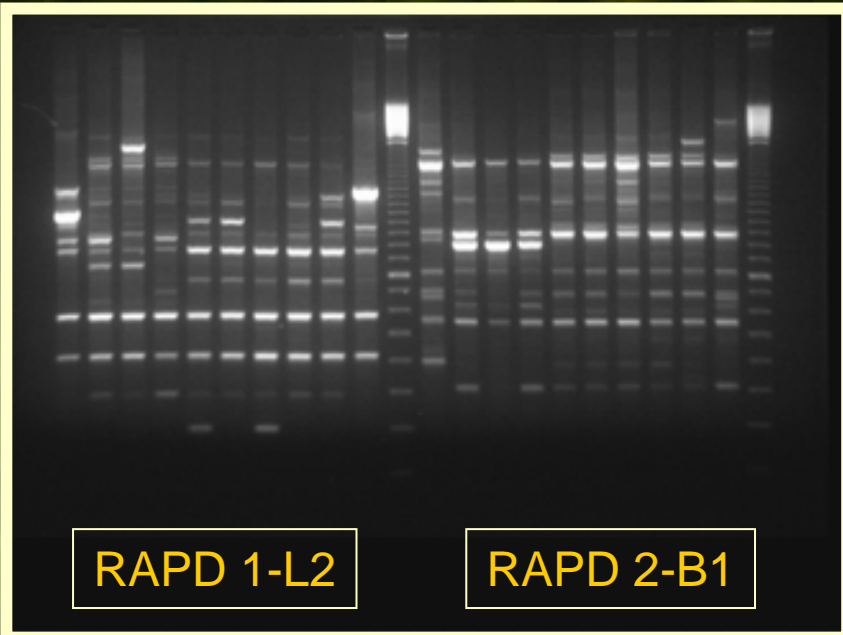
▲ ▲

Mittels RAPD amplifizierte DNA aus *Individuum B* Länge des Produkts = **20 nt**

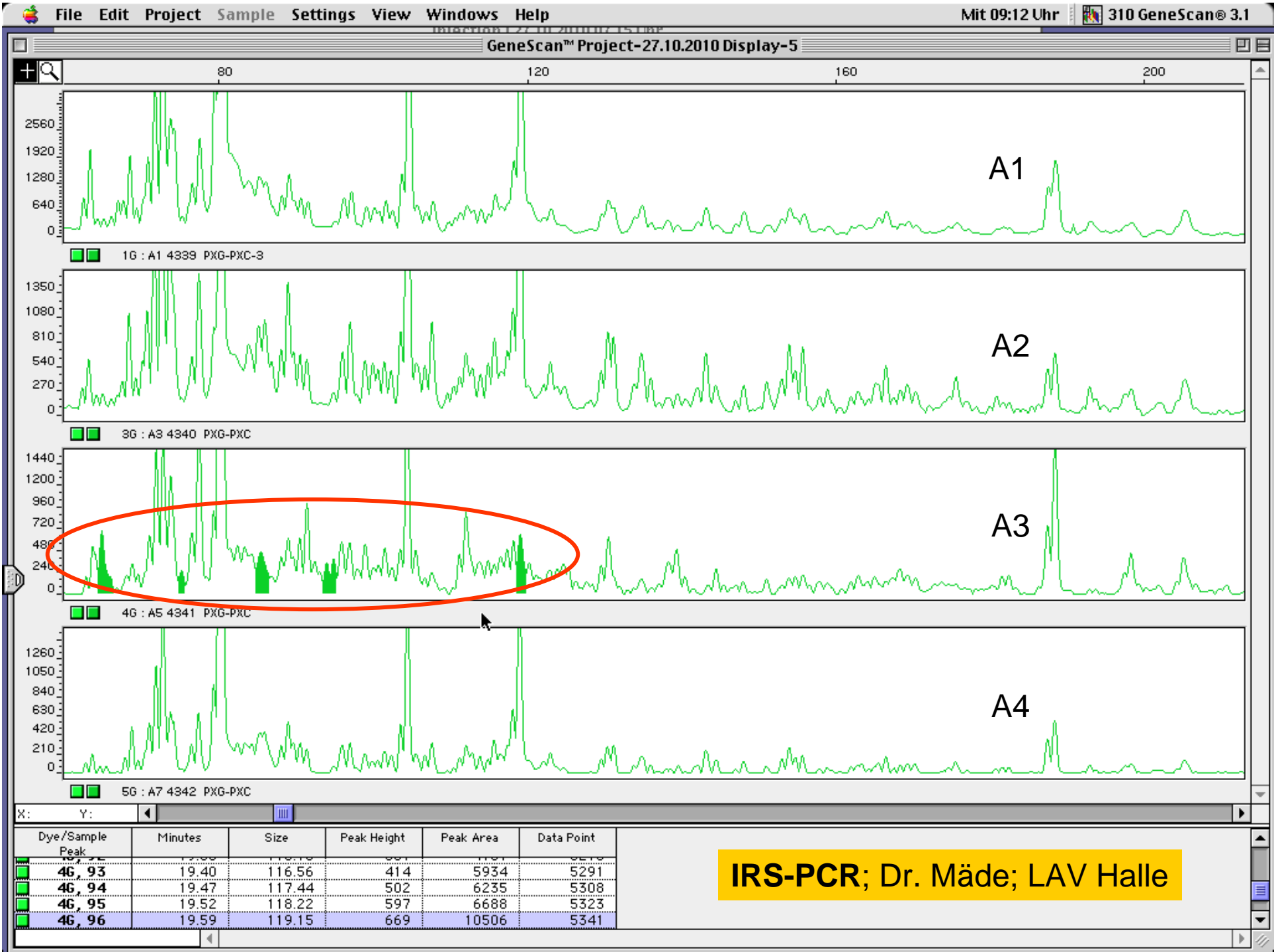
A-C-C-G-T-G-G-G-T-C-A-A-G-A-C-A-C-G-G-**T**-C-A-C-T-G-T-A-A-T-A-**T**-G-G-T
T-G-G-C-A-C-C-C-A-G-T-T-C-T-G-**T-G-C-C-A**-G-T-G-A-C-A-T-T-A-**T-A**-C-C-A

▲ ▲

Mutation Mutation

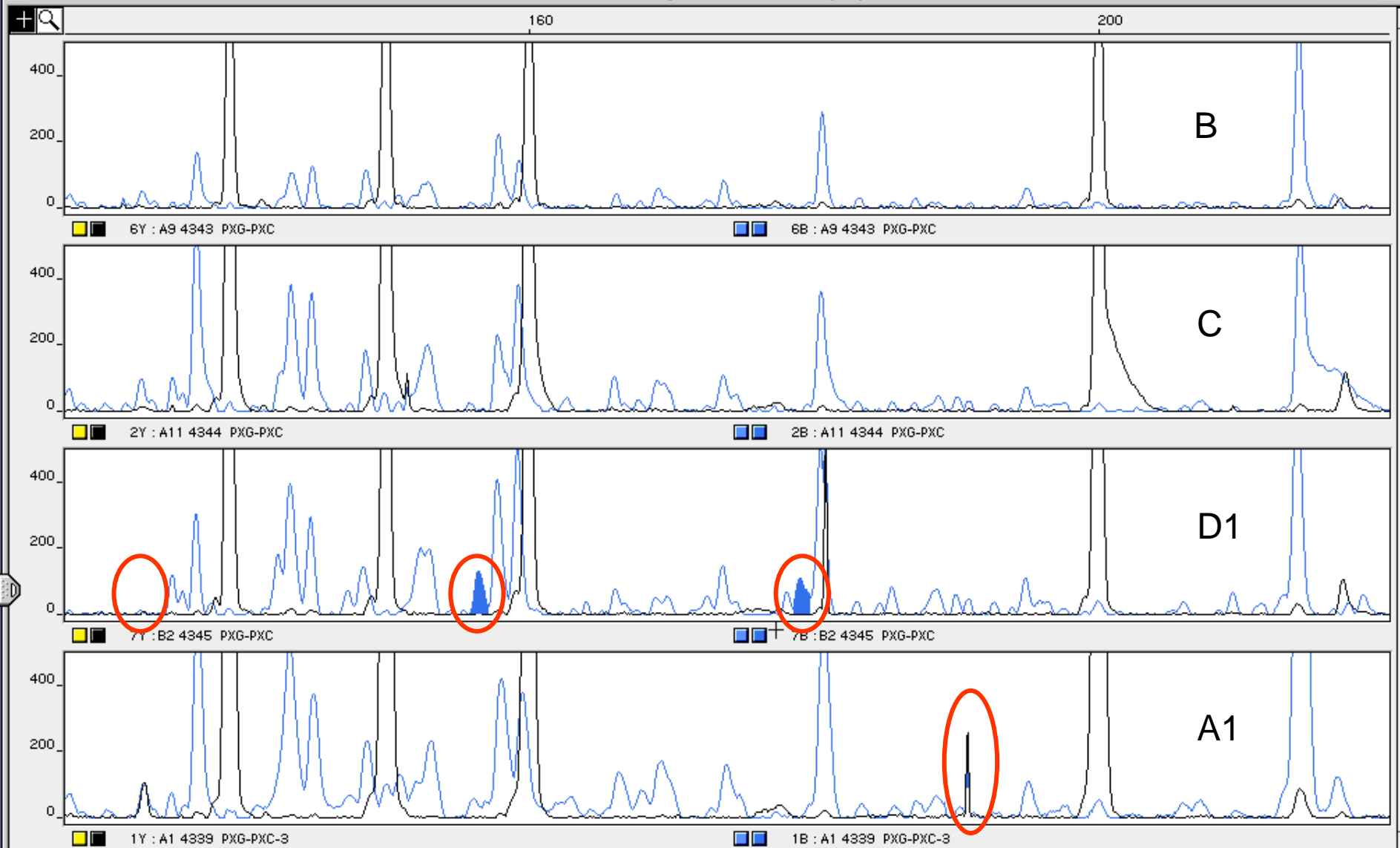


	A1	A2	A3	A4	B	C	D1	D2
L2a	1	1	0	1	1	1	1	1
L2b	1	1	1	1	1	1	1	1
L2c	0	0	1	0	0	0	0	0
B1a	1	1	0	0	0	1	1	0
B1b	0	0	0	0	1	0	0	0
B1c	1	0	1	1	0	0	0	0
B1d	1	0	0	1	0	1	0	1
B2a	1	1	0	1	1	1	0	1
B2b	0	0	0	0	1	1	0	0
B2c	0	0	1	0	0	0	0	0
B5a	1	1	0	1	0	1	1	1
B5b	1	1	1	1	1	1	0	1
B5c	0	0	0	0	0	1	1	1
B14a	0	0	1	0	0	0	0	0
B14b	1	0	0	0	0	0	0	0
B14c	0	0	0	1	1	0	0	0
B17a	1	1	1	1	1	1	1	1
B17b	0	0	1	0	0	0	0	0
B17c	1	1	1	1	0	0	0	0



IRS-PCR; Dr. Mäde; LAV Halle

GeneScan™ Project-27.10.2010 Display-8



Dye/Sample Peak	Minutes	Size	Peak Height	Peak Area	Data Point
7B, 102	21.56	157.83	413	4968	5878
7B, 103	21.65	159.22	517	5951	5903
7B, 104	22.63	173.64	150	1881	6171
7B, 105	23.01	179.09	110	1830	6274

IRS-PCR; Dr. Mäde; LAV Halle

Untersuchungsergebnis:

Das Material der Proben A1, A2, A4, C und D2 ist eng miteinander verwandt, ohne dass es sich dabei aber um Klone (identische Proben) handelt.

Das untersuchte Probenmaterial aus den Proben B und D1 zeigt im Vergleich zu den anderen Proben mehr Unterschiede.

Am deutlichsten unterscheidet sich das Material aus Probe A3 von allen anderen Proben.

Schlussfolgerung: Die Pflanzen wurden ursprünglich eher aus Samen angezogen und nicht aus vegetativem Material.

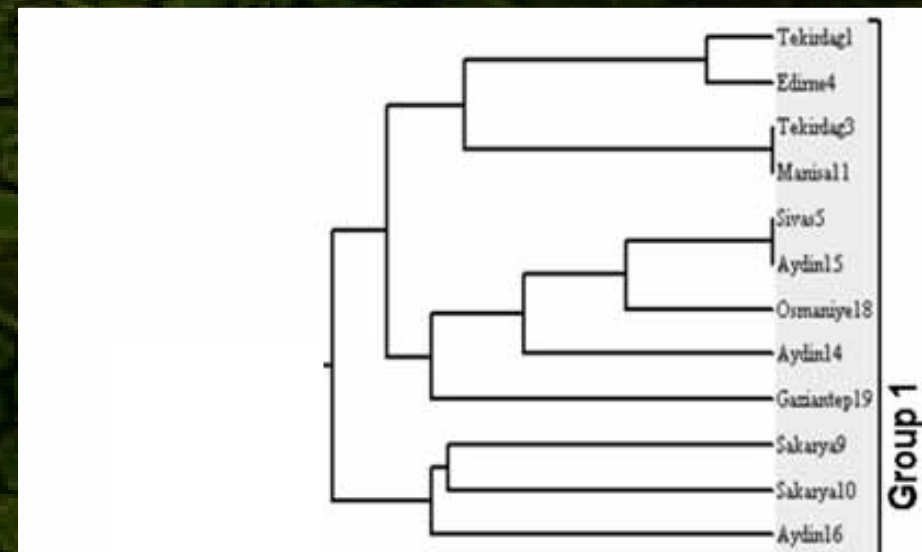
Hinweise auf gentechnische Veränderungen im untersuchten Pflanzenmaterial gab es nicht.

Für die Zukunft:

Fallen zukünftig öfter solche und ähnliche Analysen an, müsste eine entsprechende Auswerte- Software angeschafft werden, die es ermöglicht, die jeweils unterschiedlichen Banden computergestützt zu erfassen und die daraus abzuleitende Probengruppierung vorzunehmen.

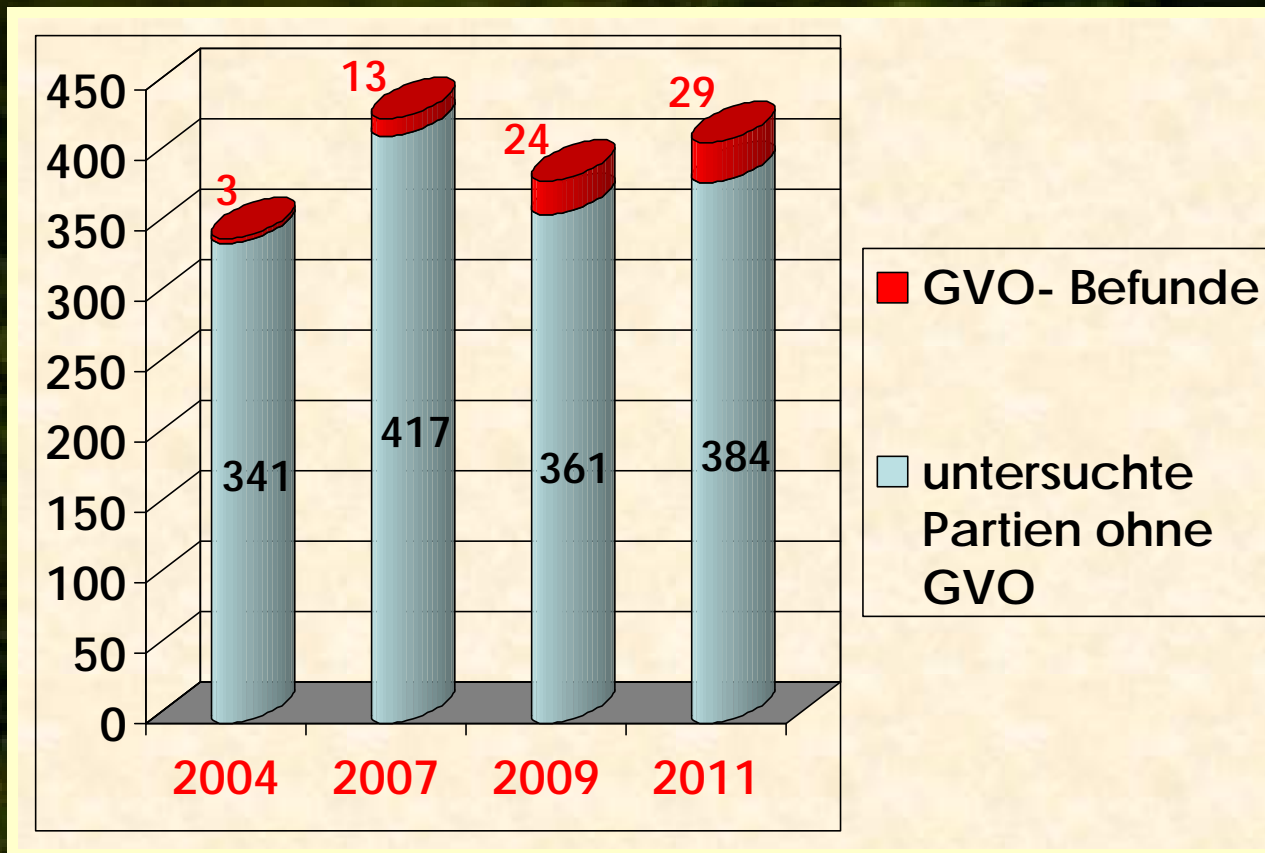
Das ist besonders bei vielen zu vergleichenden Proben ohne Alternative.

Vorteil: Das Verfahren ist auch für alle anderen Organismen anwendbar, nicht nur für Pflanzen.



www.ejbiotechnology.info/content/vol12/issue1/full/7/

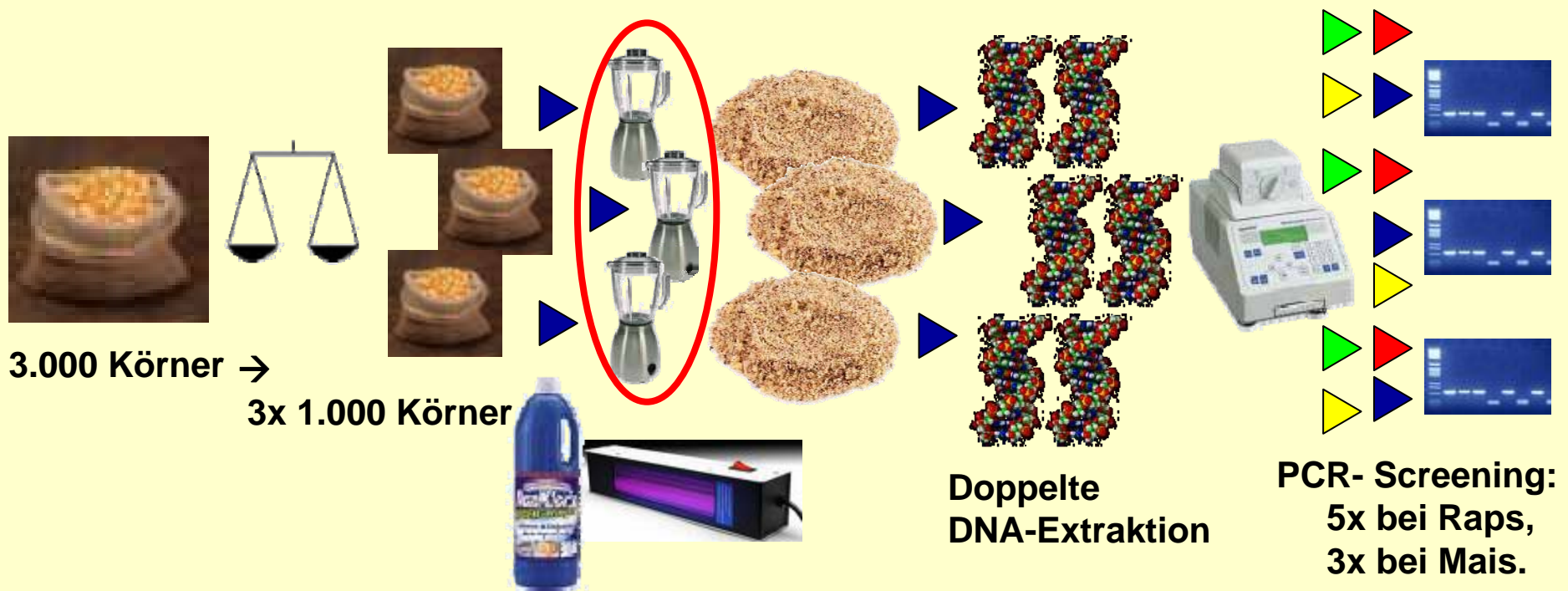
1. Kurzer Einblick in die aktuelle Methodik der experimentellen Gentechniküberwachung im LAU
2. Möglichkeiten der Klärung der Herkunft / Quelle von (gentechnisch veränderten) Organismen ?
3. Sachgerechte quantitative Bewertung von Mehrfach- Befunden in Saatgut
4. Kontrolle von Pflanzen, die zu zeitlich begrenzter Proteinproduktion mit gv Viren infiziert wurden



Übersicht: GVO- Befunde in Maissaatgut deutschlandweit

(untersucht werden jährlich stichprobenartig etwa 10% der aufbereiteten Saatgutpartien)

Ablauf einer Saatgut- Analyse



Für die Analyse (einschließlich Probenvorbereitung) von 1-4 Saatgutproben benötigt das LAU derzeit 1 Woche, für 5- 8 Saatgutproben mind. 2 Wochen.

Ergibt das Screening einen Verdacht auf GVO- Bestandteile, sind noch mind. 2 Tage (Raps) bzw. 1 Woche (Mais) notwendig, um das Event herauszufinden.

Beispiel: GVO- Befunde im Maissaatgut 2009

- 19 von 24 mit 1 GVO- Mais- Event (meist MON810)
- 2 Partien mit je *zwei* GVO- Mais- Events
- 1 Partie mit *drei* GVO- Mais- Events
- 2 Partien mit je *vier* GVO- Mais- Events

Bei Berücksichtigung des so genannten Vollzugsschwellenwertes* von 0,1 %, auf den sich die Bundesländer einigen konnten, gibt es künftig ein Problem mit der richtigen Beurteilung von Saatgutproben durch die Analysenlabore:

„stacked Events“



* für zum Anbau zugelassene GVO in konventionellem Saatgut

Wie unterscheide ich Einzel- von stacked Events?

Ein Korn mit vier verschiedenen gentechnischen Veränderungen (= stacked event):

0,1 % GVO

?

0,4 % GVO

Vier Körner mit je einer gentechnischen Veränderung

?

Ein Korn mit einer und ein Korn mit drei gentechnischen Veränderungen oder

Je 2 Körner mit je zwei gent. Veränderungen

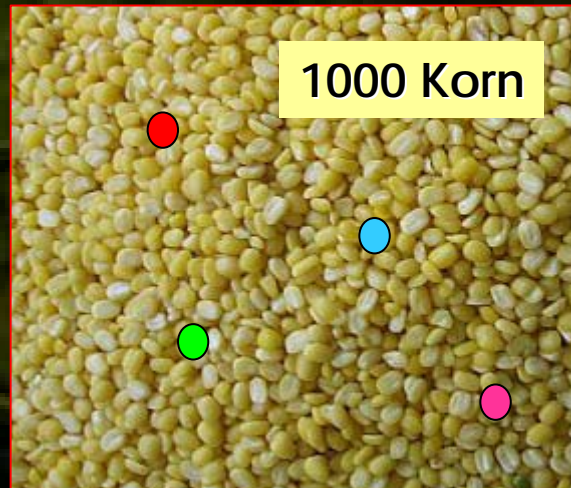
0,2 % GVO

?

0,3 % GVO

2 Körner mit je einer und 1 Korn mit zwei gentechnischen Veränderungen

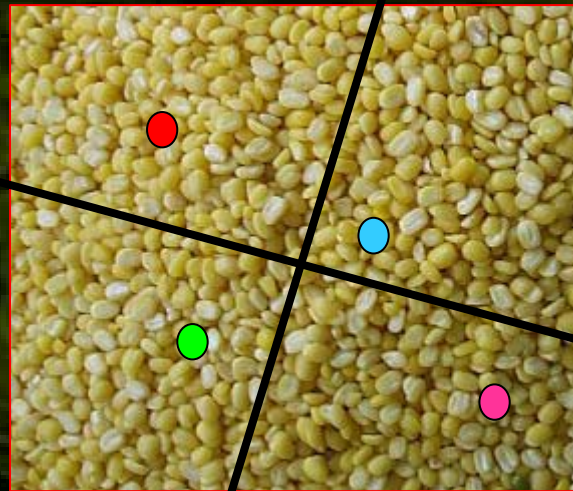
?



Wie unterscheide ich Einzel- von stacked Events?

Eine Lösung: jedes Korn *einzel*n untersuchen = nicht praktikabel

Die Wahrheit liegt ...



... wie immer
in der Mitte.

Oder: Partien *immer* beanstanden = führt zu großen Einbußen bei den Saatgutherstellern, d. h. zur Anfechtung vor Gericht !

Lösungsansatz:

Unterteilung der Untersuchungsprobe in immer kleinere Teilproben genau so lange, bis mit hinreichender Sicherheit Einzel- oder stacked Events ausgeschlossen bzw. nachgewiesen werden können.

Problem:

Die Größe der Untersuchungsprobe muss von Anfang an so bemessen sein, dass nach einem positiven Anfangsbefund genügend kleinere Teilproben daraus gewonnen werden können. Bei Mais ist das nicht gut praktikabel, weil die probenehmende Behörde praktisch das ganze Gebinde beproben, sprich: kaufen müsste. Und das *für alle Proben*, auch für die Mehrzahl der negativen Proben.

Denn:

Eine nachträgliche Beprobung der auffälligen Partie kann bei einem GVO-Gehalt an der Nachweisgrenze zu einem völlig anderen Ergebnis führen.

1. **Kurzer Einblick in die aktuelle Methodik der experimentellen Gentechniküberwachung im LAU**
2. **Möglichkeiten der Klärung der Herkunft / Quelle von (gentechnisch veränderten) Organismen ?**
3. **Sachgerechte quantitative Bewertung von Mehrfach- Befunden in Saatgut**
4. **Kontrolle von Pflanzen, die zu zeitlich begrenzter Proteinproduktion mit gv Viren infiziert wurden**

transkript

1-2/2010

Life Sciences-Magazin | 16. Jahrgang



Anke Belter

Landesamt für Umweltschutz, FG13



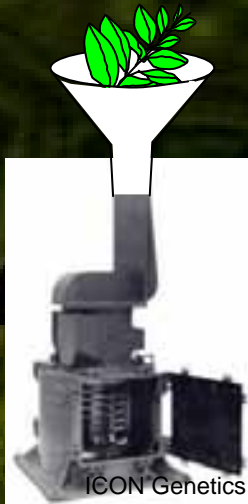
Fachkolloquium

15. Dezember 2011

patienten-
spezifische
Tumor-
Antikörper



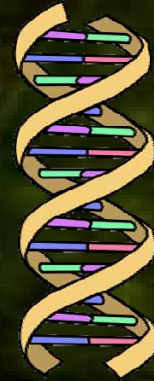
Reinigung



Pflanzenextraktion
nach wenigen Tagen



tumorspezifisches
Antigen aus
Patientenmaterial



verschied.
Komponenten



Agro-
Infiltration



Bezug zur Gentechnik- Überwachung:



Agro-
Infiltration:



Tauchbecken mit großen
Volumina Bakterienlösung
(Agrobakterien +
Pflanzenvirus-Vektoren)



**Überprüfung des Anlagen-
Containments**

**Überprüfung der Pflanzen
auf **Virusausbreitung,
Virus- Lebensdauer und
Virus- Rekombination****

(ggf. Neubildung aus den
zwei Pflanzenviren → evtl.
neue Merkmale ?)



Dazu sind Untersuchungen in
Pflanzen notwendig, da lebende
Viren nachzuweisen sind. PCR-
Analysen sind nicht ausreichend.



Beispiele dafür, dass die Themen in der Gentechnik (nicht nur in der Grünen Gentechnik) komplexer werden und zwar in einem atemberaubenden Tempo.

Eine Überwachungsbehörde kann meist nur schrittweise „hinterher“ agieren. Aber Schrittzahl und –länge dürfen nicht zu groß werden, wenn grundsätzlich eine sachgerechte Überwachung gewährleistet werden soll.

Das sehe ich als unsere größte Herausforderung an.