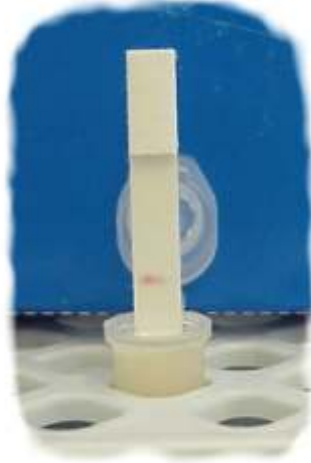


# NACHWEIS VON GEN-SOJA

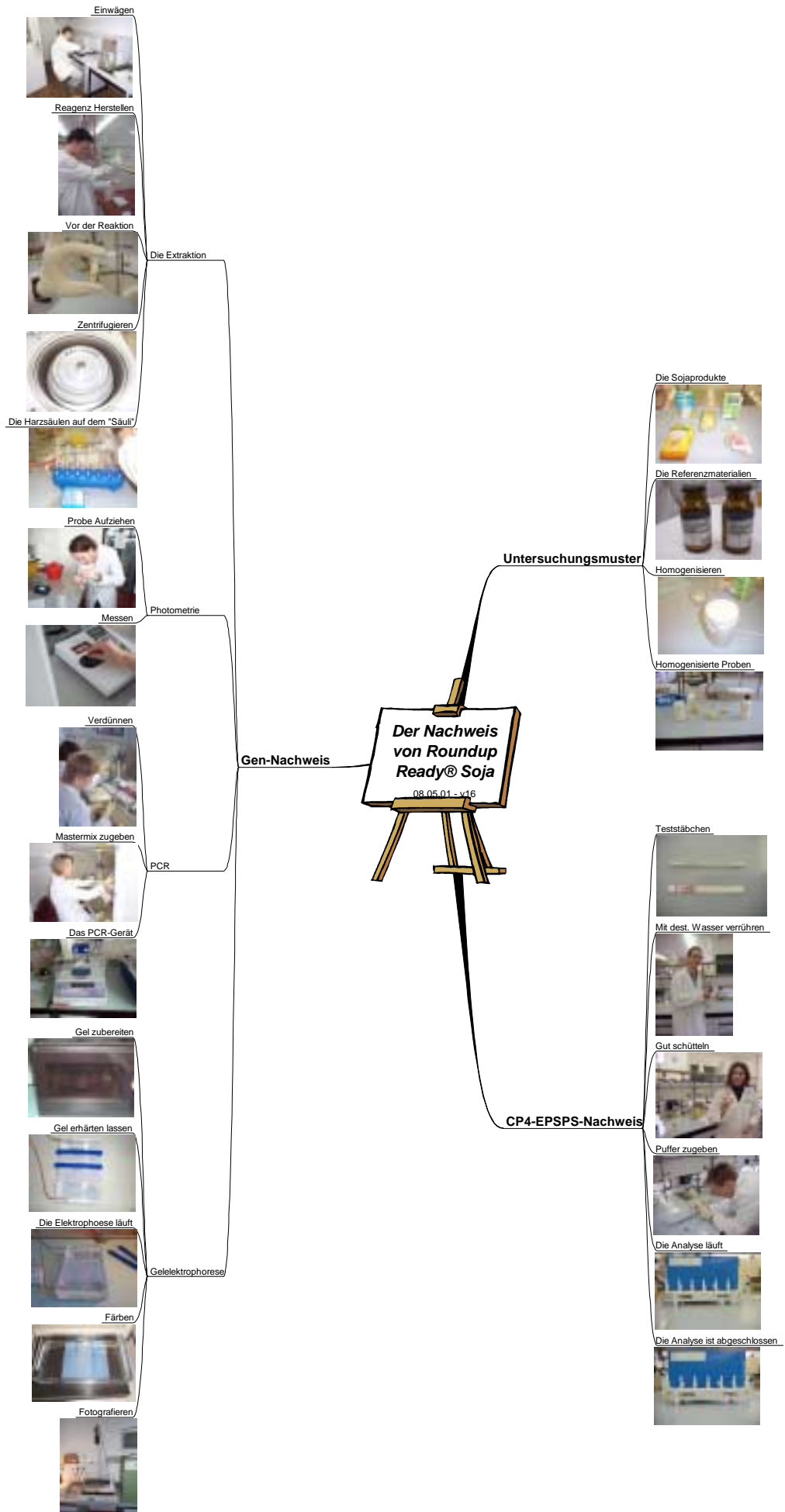


Mai 2001



CLAa99 GIBB





<b>1. DAS WESENTLICHE IN KÜRZE .....</b>	<b>1</b>
<b>2. DIE VORGESCHICHTE .....</b>	<b>1</b>
<b>3. ZIELSETZUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>4. PRAKTISCHE ARBEITEN.....</b>	<b>1</b>
<b>4.1 VORINFORMATIONEN.....</b>	<b>1</b>
4.1.1 WAS IST ROUNDUP READY®?.....	1
4.1.2 WIE FUNKTIONIERT DIE ROUNDUP READY® RESISTENZ?.....	1
4.1.3 WELCHE ANSÄTZE HABEN DIE BEIDEN METHODEN?.....	2
4.1.4 VERGLEICH DER BEIDEN METHODEN .....	2
<b>4.2 UNTERSUCHUNGSMUSTER.....</b>	<b>3</b>
4.2.1 BESCHREIBUNG.....	3
„Holle“ Sojabohnen Gelb .....	3
Bio Sojaflocken.....	3
„Alpro“ Soja Drink .....	3
Bio Sojadrink.....	3
„Naturviva“ Sojaragout.....	3
Referenzmaterial 5% (1).....	3
Referenzmaterial 5% (2).....	3
4.2.2 ANMERKUNG ZU DEN LEBENSMITTELN .....	4
4.2.3 HOMOGENISIERUNG .....	4
<b>4.3 DER GEN NACHWEIS.....</b>	<b>4</b>
4.3.1 EXTRAKTION .....	4
4.3.1.1 Theorie.....	4
4.3.1.2 Durchführung .....	4
4.3.2 PHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG DER KONZENTRATION VON DESOXYRIBONUKLEINSÄUREN .....	5
4.3.2.1 Zweck.....	5
4.3.2.2 Theorie.....	5
4.3.2.3 Durchführung .....	5
4.3.2.4 Resultate .....	6
4.3.3 POLYMERASE CHAIN REAKTION (PCR) .....	6
4.3.3.1 Methode .....	6
4.3.3.2 Primer.....	6
4.3.3.3 Theorie.....	7
4.3.3.3.1 Methode .....	7
4.3.3.3.2 Anwendung .....	7
4.3.3.4 Durchführung .....	8
4.3.4 AGAROSE-GELELEKTROPHORESE.....	8
4.3.4.1 Theorie.....	8
4.3.4.2 Durchführung .....	9
4.3.5 RESULTATE .....	10
4.3.6 DISKUSSION DER RESULTATE.....	10
<b>4.4 TESTSTÄBCHEN.....</b>	<b>12</b>
4.4.1 PRINZIP .....	12
4.4.2 DURCHFÜHRUNG.....	12
4.4.3 RESULTAT DES TESTS.....	13
4.4.4 DISKUSSION DER RESULTATE.....	13
<b>5. AUSEINANDERSETZUNG MIT PROBLEMEN VON GENENTISCH VERÄNDERTEN ORGANISMEN(GVO) .....</b>	<b>14</b>
<b>5.1 NUTZEN UND RISIKO .....</b>	<b>14</b>
5.1.1 EINSATZ IN DER LANDWIRTSCHAFT .....	14
5.1.2 EINSATZ IN DER INDUSTRIE UND UMWELTECHNIK .....	14
5.1.3 EINSATZ IN DER MEDIZIN .....	15
5.1.4 RISIKO UND SICHERHEIT .....	15

<b>5.2 ETHISCHE BEDENKEN – DARF DER MENSCH ALLES TUN, WAS ER KANN?</b> .....	<b>17</b>
5.2.1 ETHIK IST EINE FRAGE DER GESELLSCHAFT .....	17
5.2.2 BENACHTEILIGUNG DER 3. WELT.....	17
5.2.3 AKZEPTANZ DER GENTECHNIK.....	17
5.2.4 VERZICHT WEGEN SCHLECHTEM IMAGE.....	17
5.2.5 GENSCHUTZINITIATIVE .....	17
5.2.6 ARGUMENTE DER BEFÜRWORDER DER GENTECHNIK .....	18
5.2.7 ARGUMENTE DER GEGNER DER GENTECHNIK.....	18
<b>5.3 RECHTLICHE SITUATION IN DER SCHWEIZ.....</b>	<b>19</b>
5.3.1 GESETZ .....	19
5.3.2 ANBAU .....	19
5.3.3 GVO IN LEBENSMITTELN.....	19
5.3.4 IM GESETZ DER SCHWEIZ GELTEN FOLGENDE DEFINITIONEN:.....	19
5.3.5 AUSZUG AUS DER LEBENSMITTELVERORDNUNG; GESETZ BEZÜGLICH DER DEKLARATION .....	19
5.3.5.1 <i>nicht Deklariert:</i> .....	19
5.3.5.2 „ohne Gentechnik hergestellt“ .....	20
5.3.5.3 <i>Mikroorganismen</i> .....	20
5.3.6 BEISPIELE.....	20
5.3.7 SCHUTZ VON MENSCH UND UMWELT:.....	21
5.3.8 HAFTPFLICHT: .....	21
5.3.9 ENTWICKLUNG DER GENTECHNOLOGIE IN DER SCHWEIZ:.....	21
5.3.10 ANBAU IM AUSLAND.....	22
5.3.11 DIE USA .....	23
DIE EU (1997) .....	23
<b>6. FEEDBACK .....</b>	<b>24</b>
6.1 WAS HABEN WIR GELERNT? .....	24
6.2 WIE HABEN WIR DIE ARBEIT EMPFUNDEN? .....	24
<b>7. DANKSAGUNGEN .....</b>	<b>24</b>
<b>8. MITWIRKENDE .....</b>	<b>25</b>

**ANHANG A - METHODEN AUS DEM SCHWEIZERISCHEN LEBENSMITTELBUCH**

**ANHANG B - ANLEITUNG ZU DEN TESTSTÄBCHEN**

***Bemerkungen zum Anhang***

Der Anhang ist in der Digitalen Version nicht enthalten.

# 1. Das Wesentliche in Kürze

Wir, die Klasse CLAA99 (Chemielaboranten Lehrlinge im 2. Lehrjahr) der Gewerblich-Industriellen Berufsschule Bern (GIBB), führten Nachweisverfahren zur Bestimmung von Roundup Ready® Soja durch. Dabei wurden wir von der Abteilung Lebensmittelwissenschaft des Bundesamtes für Gesundheit (BAG) unterstützt und durften sogar ihre Laborräume benutzen. Ein weiterer Teil unserer Arbeit war die Recherche nach den Problemen, welche die Gentechnologie mit sich bringt.

## 2. Die Vorgeschichte

Als unser Lehrer uns mit dem Vorschlag am Wettbewerb "Gentechnik und Umwelt" teilzunehmen konfrontierte, waren wir begeistert. Es war für uns eine Möglichkeit, die Gentechnologie auf eine andere Art kennenzulernen.

Ideen waren viele vorhanden und unser Ziel war es auch, die Vorteile unseres Berufes auszunutzen. Wir entschieden uns, ein paar einfache Versuche zum Thema Gentechnik auszuarbeiten, die auch andere Klassen nachmachen könnten. Als wir hörten, dass man DNA einfach mit Waschmittel, Kochsalz und gekühltem Alkohol extrahieren kann, waren wir überzeugt davon. Auch eine Gelelektrophorese haben wir schon à la Waschküchenchemie mit Agar-Agar aus der Backwarenabteilung geschafft. Die Schwierigkeit stellte sich aber bei der Suche nach genetisch veränderten Materialien. Wir fragten verschiedene Stellen nach gentechnisch veränderten Lebensmitteln an, unter anderem das Bundesamt für Gesundheit (BAG). Das BAG hat zwar jede Menge solcher Materialien, es ist ihm jedoch aufgrund von Firmengeheimnissen nicht erlaubt, diese an Aussenstehende weiterzugeben.

Es wurde uns nach Absprache mit Fachpersonen aus dem BAG endgültig klar, dass es unmöglich gewesen wäre, solche Versuche durchzuführen, ohne die teuren Geräte und biologischen Substanzen. Netterweise bot uns die Abteilung Lebensmittelwissenschaft des BAG an, in ihren Laborräumen PCR-Analysen durchzuführen. Da wir nur 8 Schülerinnen und Schüler in der Klasse sind, war es für alle möglich bei den Arbeiten mitzuhelfen. Die Aufarbeitung der Proben konnten wir in unserem Schullabor erledigen, die Messung der Proben führten wir im BAG durch.

## 3. Zielsetzung

Es war vor allem unser Ziel, zu sehen, wie in der Praxis festgestellt wird, ob ein Lebensmittel gentechnisch verändert ist. Dabei konzentrierten wir uns schlussendlich auf Sojabohnen, da wir einen Referenzstandard von Roundup Ready® Soja ohne Probleme ausleihen durften.

Auf der anderen Seite wollten wir uns auch über verschiedene Probleme informieren, die zusammen mit der Gentechnologie auftreten. Wir konzentrierten uns hier auf drei Teilgebiete: Nutzen/Risiken, ethische Bedenken und die Situation in der Schweiz und im Ausland.

## 4. Praktische Arbeiten

### 4.1 Vorinformationen

#### 4.1.1 Was ist Roundup Ready®?

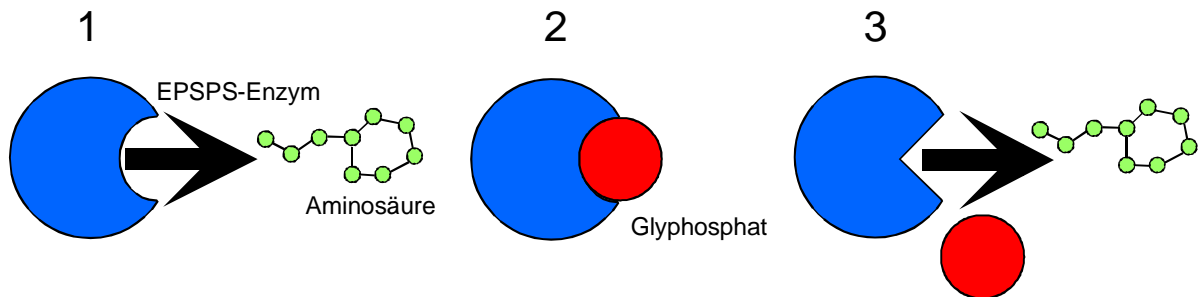
Die von der Firma Monsanto entwickelte Soja-Sorte Roundup Ready® wurde durch eine gentechnische Veränderung gegen das Herbizid Roundup® resistent gemacht. Somit kann auf dem Feld flächendeckend Roundup® versprüht werden, was nur die Roundup Ready® Sojapflanze überlebt.

#### 4.1.2 Wie funktioniert die Roundup Ready® Resistenz?

(1) Um in ihrem Stoffwechsel Proteine herstellen zu können brauchen Pflanzen das Enzym EPSPS (Enolpyruvyl-Shikimat-3-Phosphat-Synthase). Fehlt dieses, gehen sie ein. (2) Glyphosat, der Wirkstoff des Herbizids Roundup®, blockiert dieses Enzym. Roundup® ist ein sogenanntes Breitbandherbizid, es wirkt auf alle Pflanzen.

Monsanto setzte ein Teil des Erbgutes vom Bakterium *Salmonella typhimurium* mit Hilfe des Bodenbakteriums *Agrobacterium* in das Erbgut von Sojabohnen ein. *Agrobacterium* wurde schon bei über 35 gentechnisch veränderten Pflanzensorten als Transporter eingesetzt.

Wegen des neuen CP4 Gens aus dem *Salmonella typhimurium* bildet die Pflanze nun CP4 EPSPS (3). Das CP4 EPSPS übernimmt beim Roundup Ready® Soja die Rolle des EPSPS und wird nicht von Glyphosat blockiert.



#### 4.1.3 Welche Ansätze haben die beiden verwendeten Analysemethoden?

- Bei der PCR- Analyse wird überprüft, ob das Erbgut das CP4 Gen enthält. Da die DNA ja bekanntlich in jeder Zelle eines Organismus vorhanden ist, genügen schon sehr kleine Mengen von Untersuchungsmaterial um einer solchen Analyse durchzuführen.
- Bei der Analyse mit den Teststäbchen wird überprüft, ob das CP4 EPSPS Protein vorhanden ist. Dieser Test funktioniert deshalb nur mit unverarbeiteten Bohnen.

#### 4.1.4 Vergleich der beiden Methoden

PCR-Analyse	Teststäbchen
<p><b>Vorteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- sehr präzise</li> <li>- flexibel, auch andere Primer</li> <li>- quantitative Aussage möglich</li> <li>- sehr kleine Mengen detektierbar</li> <li>- auch auf verarbeitete Produkte anwendbar</li> </ul>	<p><b>Vorteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- sehr preisgünstig</li> <li>- einfach in der Durchführung</li> <li>- sehr schnell</li> <li>- auch Feldanalyse möglich</li> </ul>
<p><b>Nachteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- braucht ausgebildetes Laborpersonal, dadurch sehr teuer</li> <li>- teure Chemikalien und Laborgeräte notwendig</li> </ul>	<p><b>Nachteile</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- relativ ungenau</li> <li>- unflexibel, nur ein einziges Protein gleichzeitig detektierbar</li> <li>- funktioniert nur mit Bohnen oder Samen</li> </ul>

## 4.2 Untersuchungsmuster

### 4.2.1 Beschreibung

#### „Holle“ Sojabohnen Gelb

Beschreibung: Getrocknete Sojabohnen, Bio-Zertifiziert.

Herkunft: USA, Kanada

Haltbar bis: 03.08.2002

Vertrieb: MORGA AG, CH-9642 Ebnat-Kappel

#### Bio Sojaflocken

Beschreibung: Frühstücksflocken hergestellt aus Soja.

Zutaten: Sojaflocken, Malzextrakt

Haltbar bis: 05.10.2001

Abpackcode: 78536

Hersteller: E. Zwicky AG, CH-8554 Müllheim-Wigoltigen

Vertrieb: Migros-Genossenschafts-Bund, CH-8031 Zürich

#### „Alpro“ Soja Drink

Beschreibung: Milchersatz, hergestellt aus Sojamehl.

Zutaten: Wasser, geschälte Sojabohnen(7.2%)

Haltbar bis: 29.01.2002

Abpackcode: G053001 : 33

Hersteller: Alpro N.V. – 8560 Wevelgem, Belgien

Vertrieb: Coop

#### Bio Sojadrink

Beschreibung: Milchersatz, hergestellt aus Sojamehl.

Zutaten: Wasser, Sojamehl(9%)

Herkunft: Argentinien

Haltbar bis: 20.05.2001

Vertrieb: Migros-Genossenschafts-Bund, CH-8031 Zürich

#### „Naturviva“ Sojaragout

Beschreibung: Fleischersatz hergestellt aus Soja.

Zutaten: entfettetes Sojamehl

Das Soja stammt laut Hersteller aus der Ernte 95

Haltbar bis: Trocken nahezu unbegrenzt lagerfähig

Herstellung und Vertrieb: NATURVIVA AG, CH-8057 Zürich

#### Referenzmaterial 5% (1)

Beschreibung: Gemahlene Sojabohnen mit einem Anteil von 5% an Sojabohnen der Sorte Roundup Ready®

Hersteller: Fluka Chemie AG

Artikel Nummer: 17135

Lot Nummer: 393970/1

Sample Nummer: 0019

#### Referenzmaterial 5% (2)

Beschreibung: Gemahlene Sojabohnen mit einem Anteil von 5% an Sojabohnen der Sorte Roundup Ready®

Hersteller: Fluka Chemie AG

Artikel Nummer: 17135

Lot Nummer: 393970/1

Sample Nummer: 0021

## **4.2.2 Anmerkung zu den Lebensmitteln**

Da wir die Produkte alle in der Schweiz gekauft haben, war es nicht sehr wahrscheinlich, dass zu ihrer Herstellung Roundup Ready® Soja verwendet wurde. In der Schweiz müssen Produkte, bei denen eine Zutat mehr als 1% gentechnisch verändertes Material enthält, entsprechend deklariert werden.

## **4.2.3 Homogenisierung**

Die Sojabohnen, die Sojaflocken und das Sojaragout haben wir in einer elektrischen Kaffeemühle gemahlen. Wir haben jeweils eine Mühle gefüllt. Zwischen jedem Mahlvorgang haben wir die Mühle mit einer Desinfizierlösung und 0.01 mol/ L Salzsäure gewaschen. Die Sojamilch haben wir nicht homogenisiert; auch das Referenzmaterial war schon in Pulverform.

## **4.3 Der Gen-Nachweis**

Die Methoden für den Nachweis von einem in Roundup Ready® neu eingefügten Gen haben wir dem Schweizerischen Lebensmittelbuch entnommen. Eine Kopie der Vorschriften ist im Anhang A zu diesem Dokument zu finden.

### **4.3.1 Extraktion**

#### **4.3.1.1 Theorie**

Ziel der Extraktion ist es, die DNA aus den Sojabohnen zu lösen und anschliessend zu reinigen.

- Die Extraktion geschieht in dem ersten 3-stündigen Reaktionsvorgang. Bei allen biologischen Vorgängen muss der pH neutral sein, wie in den meisten Pflanzen- und Körperzellen. Dafür sorgt das Tris und die anschliessende Einstellung des pH auf 8.0. Auch der Salzgehalt sollte dem in unserem Körper entsprechen (8.77 g Natriumchlorid pro Liter). In jeder Zelle befinden sich eine Menge Restriktionsenzyme, welche die DNA an bestimmten Stellen zerschneiden. Diese sind hier unerwünscht. Da die Restriktionsenzyme zweiwertige Metall-Ionen brauchen, werden diese mit dem Komplexbildner EDTA gebunden. Um die Zellwände und Proteine zu zerstören wird Guanidin-Hydrochlorid eingesetzt. Um die Proteine zu entfalten, ist SDS (Sodium dodecyl sulfate) notwendig. Damit diese aber nicht verklumpen braucht es noch Proteinase K, welche die Proteine zerschneidet.
- Beim Zentrifugieren werden die Zellteile, die ausgefällten Proteine und andere ungelöste Stoffe an den Boden des Gefässes gedrückt.
- Die später zugebene RNase zerstört RNA, welche ebenfalls unerwünscht ist.
- Wird die Lösung nun durch eine spezielle Harz-Säule gesogen, bleibt die DNA auf ihr haften. Um sicher zu sein, dass nur noch die DNA auf der Säule ist, wird mit Isopropanol nachgewaschen. Mit einer Pufferlösung wird die DNA nun wieder von der Säule gelöst. Sie ist jetzt gereinigt.

#### **4.3.1.2 Durchführung**

Wir haben von allen Untersuchungsmustern 200 mg in ein Eppendorfgefäss eingewogen. Um keine Kontamination mit DNA aus dem Referenzmaterial zu haben, führte die Arbeiten mit diesem Material eine Gruppe in einer getrennten Kapelle auf der anderen Seite des Labors durch. Weiter benutzten sie die Laborgeräte immer erst nach uns. Wir stellten eine Mischung von 17.2 mL Extraktionspuffer (10 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 2 mmol/L EDTA und 1% SDS), 2 mL Guanidin-Hydrochloridlösung (5 mol/L) und 800 µL Proteinase K (20 mg/L) her. Von dieser Mischung pipetierten wir nun 1'000 µL in die Eppendorfgefässe mit den Proben. Wir schüttelten die Gefässe, bis sich das Sojapulver gut mit der Flüssigkeit vermischt hatte. In einem Thermostatenbad liessen wir nun bei 60°C die Proben 3 Stunden lang reagieren. Danach liessen wir die Proben auf Raumtemperatur abkühlen. Um die Feststoffe und das ausgefällte Protein abzusondern haben wir die Gefässe 10 Minuten bei 20'500 g zentrifugiert.

Vom Überstand haben wir 500 µL in ein neues Eppendorfggefäss pipettiert. Dazu gaben wir 5 µL RNase (10 mg/ml). Wir schüttelten das Eppendorfggefäss 5 Minuten lang im Thermostatenbad bei 60 °C. Danach gaben wir 1 mL Wizard®-Resin in das Eppendorfggefäss; diese Mischung schüttelten wir wiederum gut. Wir steckten nun die im Wizard®-Kit enthaltenen Harz-Säulen auf das „Säuli“ (damit ist das blaue Vakuum-Verteilssystem gemeint, welches aussieht wie ein Schweinchen). Auf die Säulen steckten wir 2 mL Spritzen. In die Spritzen pipettierten wir die Lösung aus dem Eppendorfggefäss. Wir schlossen das „Säuli“ nun an da die Wasserstrahl-Vakuumpumpe an, dadurch wurde die Flüssigkeit durch die Harz-Säulen gesogen. Als die Flüssigkeit vollkommen durchgesogen war, haben wir zum Nachwaschen 2 mL Isopropanol (80%) in die Spritzen gegeben. Die DNA befand sich nun auf dem Harz der Säule. Um die restliche Flüssigkeit von den Säulen zu holen, steckten wir sie auf ein leeres Reaktionsgefäss und zentrifugierten diese zusammen 2 Minuten lang bei 10'000 g. Wir liessen die Säulen noch kurz nachtrocknen

Da zur Extraktion der Elutionspuffer (10 mmol/L Tris-HCl, eingestellt auf pH 9.0 mit Salzsäure) heiss sein muss, stellten wir diesen in ein auf 70 °C eingestelltes Thermostatenbad. Wir steckten nun ein neues Eppendorfggefäss an die Harz-Säulen. Vom heissen Elutionspuffer gaben wir 50 µL auf die Säulen. Danach zentrifugierten wir diese zusammen 1 Minute lang bei 10'000 g. Der Elutionspuffer löste die DNA wieder vom Harz. Im Eppendorfggefäss hatten wir nun die extrahierte und gereinigte DNA vorliegen. Da wir die weiteren praktischen Arbeiten erst 4 Wochen später im BAG durchführen konnten, froren wir die DNA bei -20 °C ein.

### **4.3.2 Photometrische Bestimmung der Konzentration von Desoxyribonukleinsäuren**

#### 4.3.2.1 Zweck

Diese Methode ist ein Routineverfahren, um die Konzentration von Desoxyribonukleinsäure (DNA) in Lösungen zu bestimmen.

#### 4.3.2.2 Theorie

Wässrige DNA- und RNA-Lösungen absorbieren Licht im UV-Wellenbereich von 210 nm bis 300 nm. Nukleinsäuren haben ein Absorptionsmaximum bei 260 nm. Gemäss dem Gesetz von Beer-Lambert besteht eine lineare Beziehung zwischen der gemessenen Absorption und der Konzentration der entsprechenden Lösung. Da sowohl DNA als auch RNA bei 260 nm das Absorptionsmaximum haben, können Verunreinigungen von DNA-Lösungen durch RNA mit einem UV-Photometer nicht ermittelt werden. Doppelsträngige DNA absorbiert weniger Licht als einzelsträngige DNA. Da der jeweilige Anteil unbekannt ist, wird für die photometrische Bestimmung die gesamte vorliegende DNA mit 0.2 mol/L NaOH denaturiert, d.h. in einzelsträngige DNA überführt.

#### 4.3.2.3 Durchführung

Der Nullabgleich des UV-Fotometers haben wir mit 0.2 mol/L NaOH vorgenommen.

Zuvor hatten wir zu 10 µL der zuvor extrahierten DNA-Lösungen in einem Reaktionsgefäss 80 µL H<sub>2</sub>O und 10 µL 2 mol/L NaOH dazugegeben, um eine 0.2 mol/L NaOH-Lösung mit denaturierter DNA zu erhalten. Diese Lösungen haben wir im Fotometer bei 260 nm gemessen. Das Fotometer hatte das Ergebnis gerade in µg DNA/mL angegeben.

#### 4.3.2.4 Resultate

OD-Messung					20µg/mL					
Datum	Nr.	1. Messung	2. Messung	Mittelwert	Endvolumen					
		[µg/mL]	[µg/mL]	[µg/mL]	DNA-Lsg.	H2O	mit 20µg/mL	Ratio 1	Ratio 2	Mittelwert
26.04.01	1	299.3	314.4	<b>306.9</b>	6.5	93.5	100.0	1.401	1.414	<b>1.408</b>
26.04.01	2	368.7	396.3	<b>382.5</b>	5.2	94.8	100.0	1.454	1.447	<b>1.451</b>
26.04.01	3	41.0	67.7	<b>54.4</b>	37.0	63.0	100.0	1.751	1.613	<b>1.682</b>
26.04.01	4	76.3	61.8	<b>69.1</b>	28.6	71.4	100.0	1.527	1.675	<b>1.601</b>
26.04.01	5	563.0	560.3	<b>561.7</b>	3.6	96.4	100.0	1.728	1.723	<b>1.726</b>
26.04.01	6	496.2	485.1	<b>490.7</b>	4.1	95.9	100.0	1.774	1.770	<b>1.772</b>
26.04.01	7	53.2	60.3	<b>56.8</b>	35.7	64.3	100.0	1.905	1.914	<b>1.910</b>
26.04.01	8	69.8	67.3	<b>68.6</b>	29.4	70.6	100.0	1.756	1.774	<b>1.765</b>
26.04.01	9	985.6	982.5	<b>984.1</b>	4.0	196.0	200.0	1.917	1.915	<b>1.916</b>
26.04.01	10	849.3	846.1	<b>847.7</b>	4.1	195.9	200.0	1.890	1.877	<b>1.884</b>
26.04.01	11	843.4	848.9	<b>846.2</b>	4.7	195.3	200.0	1.877	1.869	<b>1.873</b>
26.04.01	12	1056.8	955.9	<b>1006.4</b>	4.0	196.0	200.0	1.604	1.573	<b>1.589</b>
26.04.01	13	727.0	765.4	<b>746.2</b>	5.4	194.6	200.0	1.662	1.659	<b>1.661</b>
26.04.01	14	757.0	773.1	<b>765.1</b>	5.2	194.8	200.0	1.698	1.679	<b>1.689</b>

Aus der OD-Messung resultierte die Konzentration an DNA in µg/mL. Die Umrechnung beruht auf einem empirisch ermittelten Wert: **1 OD entspricht 37 µg Einzelstrang-DNA/mL**

Ratio ist das Verhältnis der Absorptionen von 260 nm (DNA) und 280 nm (Proteine). Reine DNA entspricht 1.80. Dieser Wert dient als Reinheitsangabe.

Für die PCR waren Lösungen mit einer DNA-Konzentration von 20 µg/mL nötig. Diese wurden aufgrund der Daten in obiger Tabelle erstellt.

#### 4.3.3 Polymerase Chain Reaction (PCR)

##### 4.3.3.1 Methode

Wir arbeiteten nach einem Routineverfahren zum Nachweis von bestimmten DNA-Sequenzen gentechnisch veränderter Pflanzen. Bestimmt wurde die Anwesenheit der Regulationssequenz 35S-Promotor. Promotoren sind Sequenzen, die für die Regulation und das Erkennen des Startes der Transkription (Umschreibung der DNA in RNA) benötigt werden. Mit dieser Methode können gentechnisch veränderte Pflanzen nachgewiesen werden, die den 35S-Promotor im Genkonstrukt enthalten.

##### 4.3.3.2 Primer

Wir verwendeten folgende Primer für die Amplifikation mit der PCR:

35S-1 5'-gct cct aca aat gcc ata a-3'  
 35S-2 5'-gat agt ggg att gtg cgt ca-3'

### 4.3.3.3 Theorie

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ist eine in der Gentechnologie angewandte Methode zur gezielten Vervielfältigung eines spezifischen DNA-Fragments. Mit dieser revolutionären Methode kann eine bestimmte DNA-Sequenz erkannt und in vitro in kurzer Zeit exponentiell vervielfältigt und damit der Analyse zugänglich gemacht werden.

#### 4.3.3.3.1 Methode

Die PCR basiert darauf, dass drei Reaktionsschritte mehrfach wiederholt ablaufen: Der Reaktionsansatz mit Doppelstrang-DNA mit der gesuchten Sequenz als Matrize wird bei 94 °C denaturiert und so in die beiden Einzelstränge aufgespalten.

Beim Abkühlen auf ca. 50 °C verbinden sich die im Überschuss zugesetzten Primer mit den komplementären Basensequenzen auf der Matrizen-DNA, so dass sich die doppelsträngige DNA nicht renaturieren kann. Der gesuchte DNA-Abschnitt ist nun durch die beiden Primer genau umgrenzt.

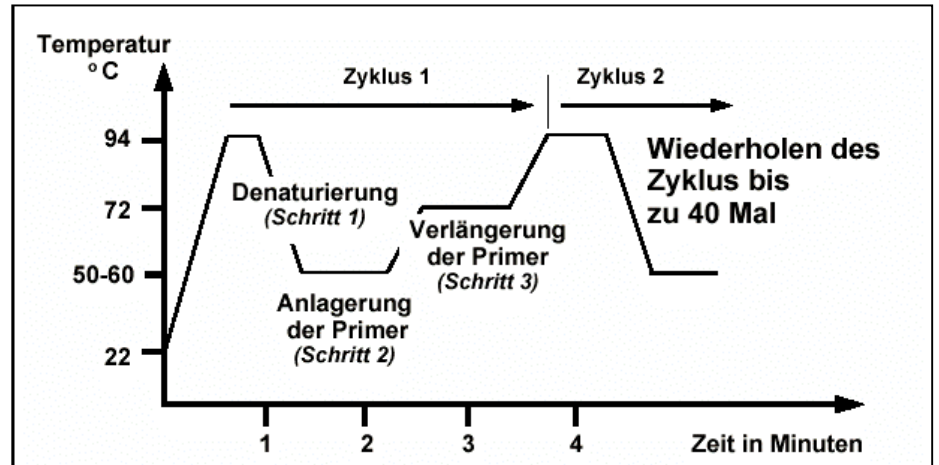


Abb. 1: Darstellung eines PCR-Zyklus im Temperatur/Zeit-Diagramm.

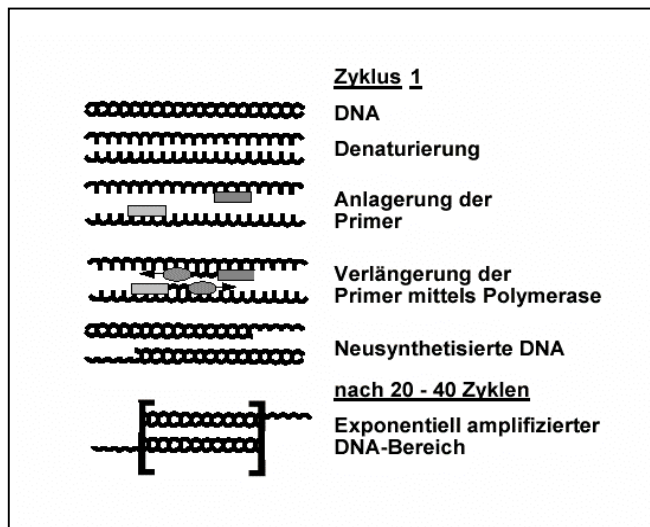


Abb. 2: Amplifikation von DNA mittels PCR

Die Primer sind sogenannte Oligonucleotide. Sie werden speziell hergestellt und umfassen 15–30 Basen, die mit dem Anfang und dem Ende des gesuchten DNA-Abschnitts komplementär sind. Beim dritten Reaktionsschritt wird die Temperatur auf das Optimum von 72–75 °C gebracht. Ausgehend von den Primern baut die Polymerase Kopien der Ausgangs-DNA auf, wobei die Länge der zu duplizierenden DNA durch den Abstand zwischen den Primern bestimmt ist (bis zu 104 Nucleotide).

Anschliessend wird das Gemisch erneut auf 94 °C erhitzt, so denaturiert die neugebildete Doppelstrang-DNA, der Prozess beginnt wieder von vorne.

Insgesamt werden ca. 25 solcher Zyklen (Aufheizen, Abkühlen, Polymerisation) hintereinander durchlaufen; in jedem Zyklus wird die Menge des gesuchten Gens verdoppelt. Innerhalb von ca. 3 h kann eine spezielle DNA-Sequenz etwa 100'000fach vervielfältigt werden.

#### 4.3.3.3.2 Anwendung

Da jedes beliebige Gen spezifisch vervielfältigt werden kann, wobei unter optimalen Bedingungen sogar eine einzige DNA-Kopie in der Probe als Matrize ausreicht, hat die PCR vielfältige Anwendungen in der Biologie, der Genetik u. der Biochemie gefunden. Die PCR wird vor allem verwendet, wenn nur sehr geringe Spuren der zu analysierenden DNA-Abschnitte vorliegen (z. B. Krebs-Forschung, Gerichtsmedizin, Archäologie).

#### 4.3.3.4 Durchführung

Wir haben für die PCR von jeder Probe einen Ansatz von 50  $\mu\text{L}$  (40  $\mu\text{L}$  Mastermix + 10  $\mu\text{L}$  extrahierte und auf 20  $\mu\text{g}/\text{L}$  eingestellte DNA-Lösung) gemacht. Alle Lösungen wurden während der Arbeit möglichst kühl aufbewahrt. Der 35S – Mastermix wurde Folgendermassen hergestellt:

Reagenzien	$\mu\text{L}$ für 17 Ansätze	Endkonzentration
Steriles, deion. Wasser	336.5	
10x PCR-Puffer (ohne $\text{Mg}^{2+}$ )	85	1x
$\text{MgCl}_2$ -Lösung* 25 mmol/L	85	2.5 mM
BSA-Lösung 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$	85	2 $\mu\text{g}/\text{mL}$
DNTP 4 mmol/L	42.5	0.2 mM
Primer 35 S-1 [20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ]	21.3	0.5 $\mu\text{M}$
Primer 35 S-2 [20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ]	21.3	0.5 $\mu\text{M}$
Taq-DNA-Polymerase (5 U/ $\mu\text{L}$ )	3.4	1 U
Probemenge total	170	10 $\mu\text{L}$
<b>Totalvolumen <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>850</b>	

Den Mastermix haben wir kurz gemischt und zentrifugiert. Danach wurden 40  $\mu\text{L}$  Mastermix in 16 sterile 0.5 mL PCR-Reaktionsgefäße pipettiert. Zu den 14 von uns extrahierten Proben wurden noch eine Positiv- und eine Negativ-Kontrolle hinzugefügt. Zum vorgelegten Mastermix haben wir 10  $\mu\text{L}$  der auf 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  eingestellten Probe-Lösungen gegeben. Die Mischung wurde gemischt und kurz zentrifugiert. Danach haben wir die Proben dem PCR-Gerät überlassen. Folgendes Programm wurde programmiert:

	Zeit [s]	Temp [ $^{\circ}\text{C}$ ]
Denaturierung	210	98
Amplifikation	50	95
	95	54
Anzahl Zyklen	115	72
	40	
Final Extension	255	72
Abkühlung	--	6

#### 4.3.4 Agarose-Gelelektrophorese

##### 4.3.4.1 Theorie

Unter der Elektrophorese versteht man die Trennung von geladenen Teilchen in einer Lösung aufgrund ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit in einem elektrischen Feld ohne Abscheidung an den Elektroden. Dabei bewegen sich die Partikel mit positiver Ladung zur Kathode und die negativ geladenen zur Anode. Massgebend für die Trennschärfe der Elektrophorese ist die Wanderungsgeschwindigkeit der Teilchen; diese ist eine Funktion von Form und Größe der Teilchen, ihrer Ladung, pH, Temperatur, Viskosität und Feldstärke. Je nachdem, ob die Elektrophorese in freier Lösung erfolgt oder ob man die Untersuchungslösung auf ein mit Puffer getränktes Trägermaterial (z. B. Papier) aufträgt, unterscheidet man zwischen freier Elektrophorese und Träger-Elektrophorese,

die in verschiedenen Variationen besonders breite Anwendung gefunden hat. Man unterscheidet nach Art des Trägers z. B. zwischen Agarose-Elektrophorese, Stärkegel-Elektrophorese als Verfahren der Gel-Elektrophorese und der Papier-Elektrophorese.

Resultat einer Träger-Elektrophorese ist ein Elektropherogramm auf dem die verschiedenen Komponenten eines Trennungsgemisches in einzelne Zonen getrennt vorliegen. Eine Träger-Elektrophorese lässt sich in wenigen Stunden oder gar Minuten durchführen, gegebenenfalls unter der Verwendung von Hochspannung. Auch anorganische Ionen lassen sich durch Elektrophorese trennen.

Mit der Agarose-Gelelektrophorese lassen sich DNA-Fragmente im Grössenbereich von 30 – 10'000 Basenpaaren auftrennen und dokumentieren. Mit dieser Methode lassen sich auch RNA auftrennen und detektieren.

Im Gel wandert die negativ geladene DNA durch das Anlegen einer Gleichspannung zur Anode. Die DNA-Fragmente werden durch das Molekularsieb des Agarosegels nach ihrer Grösse separiert. Die DNA wird mit dem fluoreszierenden Farbstoff Ethidiumbromid gefärbt und im UV-Licht sichtbar gemacht.

Die Elektrophorese wird zur Trennung geladener, in wässriger Lösung stabiler Teilchen verwendet, z.B. zur Fraktionierung von Nukleinsäuren.

#### 4.3.4.2 Durchführung

Während der PCR haben wir das Agarose-Gel für die Elektrophorese vorbereitet:  
Zuerst haben wir die TBE-PufferstammLösung hergestellt.

TBE-PufferstammLösung (5mal konzentriert)	EW [g]
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS)	27.0
Borsäure	13.8
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	1.86
mit Wasser auf 1 Liter einstellen	

Den Puffer haben wir für die Verwendung 5-mal mit Wasser verdünnen müssen. Für das Gel wurden 2 g Agarose mit 100 mL TBE-Puffer durch Sieden im Mikrowellenofen vollständig gelöst. Zu der auf 60°C abgekühlten Gellösung haben wir Ethidiumbromid-Lösung gegeben, so dass die Endkonzentration 1 µg Ethidiumbromid pro Milliliter Agarose-Gel-Lösung betrug. Danach wurde die Gellösung umgehend in den vorbereiteten Gelträger mit Kamm gegossen und zum Erstarren stehen gelassen. Als das Gel vollständig erstarrt war haben wir den Kamm entfernt und das Gel in die Gelkammer eingesetzt und mit 5 – 10 mm TBE-Puffer überschichtet.

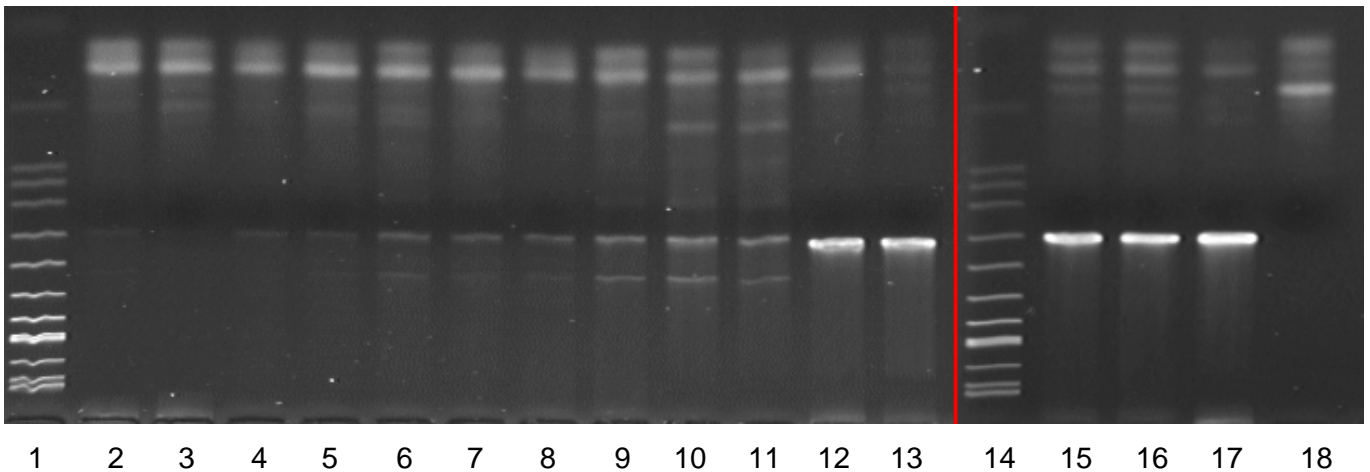
Für die Proben wurde noch ein Gel-Lade-Puffer benötigt: Er bestand aus 1.5 g Ficoll® 400 in 10 mL Wasser gelöst und 25 mg Xylencyanol. Diese Lösung weist eine sehr starke, hellblaue Färbung auf und ermöglicht das Beobachten der Elektrophorese. Von diesem Gel-Lade-Puffer haben wir 5 µL in einem Reaktionsgefäss vorgelegt, dazu wurden 15 µL der zu untersuchenden DNA-Lösung gegeben und gemischt. Die Probelösungen haben wir kurz zentrifugiert.

Die Probelösungen wurden mit einer Kolbenhubpipette aufgenommen und vorsichtig durch den TBE-Puffer hindurch in die Schlitze im Gel gegeben. Die Elektrophorese wurde mit einer Spannung 110 V durchgeführt.

Als die blaue Xylencyanol-Bande etwas mehr als 1/3 der Trennstrecke durchwandert hatte wurde die Elektrophorese beendet. Zur Auswertung und Dokumentation haben wir das Gel mit Ethidiumbromid angefärbt.

Ganz Links wurde ein DNA-Längenstandard zum Vergleich der Fraktionen aufgebracht. So konnte ausgesagt werden, dass die amplifizierte Sequenz genau 195bp lang ist. Mit einem Transilluminator wurde das Gel im UV-Licht bei 254-312 nm fotografiert. Um die Proben auszuwerten, verglichen wir die hellen Zonen auf dem Gel auf der Höhe des 195bp Streifens (auf der gleichen Höhe, wo sich die ausgeprägteste Zone beim Referenzmaterial befindet). Eine sichtbare Zone in diesem Bereich lässt auf ein Vorhandensein von bei der PCR amplifizierten DNA schliessen, das heisst die Probe ist positiv, das Erbgut wurde gentechnisch verändert.

### 4.3.5 Resultate



Sample #	Beschreibung	Befund
1	Längenstandard	-
2	„Holle“ Sojabohnen Gelb	eindeutig negativ
3	„Holle“ Sojabohnen Gelb	eindeutig negativ
4	„Alpro“ Soja Drink	negativ
5	„Alpro“ Soja Drink	negativ
6	Bio Sojaflocken	unschlüssig
7	Bio Sojaflocken	unschlüssig
8	Bio Sojadrink	unschlüssig
9	Bio Sojadrink	positiv
10	Naturviva Sojaragout	positiv
11	Naturviva Sojaragout	positiv
12	Referenzmaterial 5% (1)	eindeutig positiv
13	Referenzmaterial 5% (1)	eindeutig positiv
14	Längenstandard	-
15	Referenzmaterial 5% (2)	eindeutig positiv
16	Referenzmaterial 5% (2)	eindeutig positiv
17	Positiv Test	eindeutig positiv
18	Negativ Test	eindeutig negativ

### 4.3.6 Diskussion der Resultate

Es ist nicht möglich, verlässige Angaben über die Richtigkeit der Resultate zu machen, da wir während der Extraktion keine Positiv- und Negativ-Proben mitlaufen liessen. Wir waren uns zu diesem Zeitpunkt über die Nützlichkeit dieser Kontrollen noch nicht bewusst. Da wir während der Arbeiten im BAG solche Kontrollen einsetzten, können wir wenigstens sagen, dass keine Fehler bei der PCR oder der Gelelektrophorese passiert sind. Laut Angaben von Dr. Urs Pauli genügt ein einziger DNA Strang, der z.B. beim Aufschnappen eines Eppendorfggefässes durch die Luft in eine andere Probe fliegt, um ein Untersuchungsmuster positiv werden zu lassen. Dieses Problem existiert, da die PCR aus einem einzigen DNA-Abschnitt Tausende machen kann. Da die Proben, die wir im April 2001 in der Schweiz

gekauft haben, mit grösster Wahrscheinlichkeit kein Roundup Ready® Soja enthalten, müssen wir annehmen, dass wir eine Kontamination hatten. Der Naturviva Sojaragout könnte auch schon Roundup Ready® Soja enthalten, in der Ernte '95 war die Sorte das erste Mal auf dem Feld. Wir haben uns zwei Szenarien ausgedacht:

- Die Kontamination geschah während dem Mahlen: Wenn das Naturviva Sojaragout Roundup Ready® enthielt, könnte sich, trotz dem Auswaschen der Mühle etwas von dem Erbgut verschleppt haben.
- Die Kontamination geschah durch die Luft: Die Gruppe, die das Referenzmaterial extrahierte, pipettierte ihre Proben gerade dann auf die Harz-Säulen, als wir unsere Proben aus der Zentrifuge nahmen. In diesem Moment könnte sich eine Kontamination durch die Luft ereignet haben.

In der Praxis würde bei einem solchen Resultat auf jeden Fall eine Zweitüberprüfung vorgenommen werden. Uns fehlt leider die Zeit die Versuche zu wiederholen. Wir müssen uns leider mit der Erkenntnis, dass Arbeiten in einem Biolabor recht empfindlich sind, begnügen. Die Abteilung Lebensmittelchemie hatte aber Interesse, den Naturviva Sojaragout nochmals zu überprüfen. Das Resultat werden wir aber leider erst nach der Abgabe dieses Berichtes erfahren.

## **4.4 Teststäbchen**

Die Anleitungen zur Anwendung der Teststäbchen ist im Anhang B zu diesem Dokument zu finden.

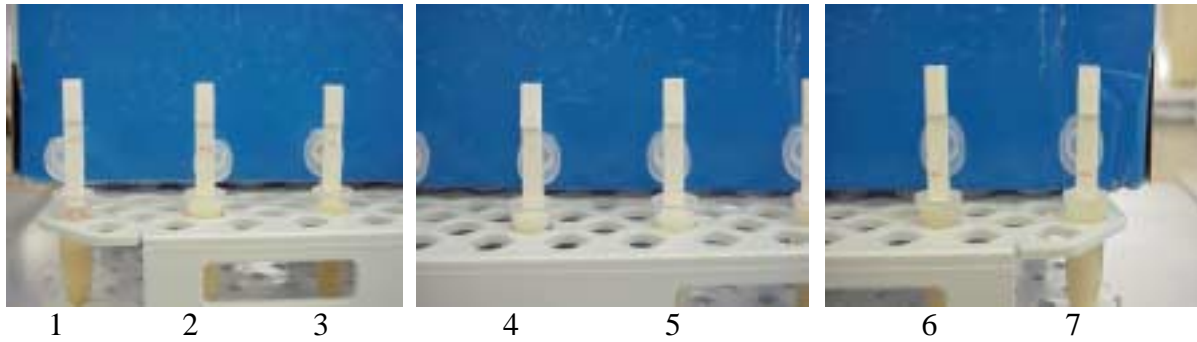
### **4.4.1 Prinzip**

Da beim Transport und im Rohstoffhandel nicht immer eine PCR durchgeführt werden kann, wurden von der Firma „Strategic Diagnostic Inc.“ Teststreifen für einen Schnelltest entwickelt. Die Teststreifen für Sojabohnen überprüfen, ob das Protein CP4 EPSPS im Untersuchungsmuster vorhanden ist. Dieses Protein ist für die Herbizidresistenz der gentechnisch veränderten Roundup Ready® Sorte verantwortlich. Im unteren Teil der Teststreifen sind Antikörper aufgebracht, welche spezifisch mit CP4 EPSPS reagieren. Diesen Antikörpern wurde ein roter Farbstoff angehängt. Der untere Teil des Teststreifens wird in eine wässrige Suspension gemahlener Sojabohnen eingetaucht. Wegen den Kapillarkräften fließt nun das gelöste CP4 EPSPS Protein durch den Teststreifen. Wenn ein solches Protein und Antikörper zusammentreffen, binden sich die Antikörper an das Protein. Auch die ungebundenen Antikörper wandern nach oben. Am oberen Ende der Teststreifen sind zwei Auffangzonen aufgebracht. In der oberen Zone bleiben die nicht umgesetzten Antikörper haften, an der unteren die mit dem CP4 EPSPS Protein verbundenen. Wenn die Analyse korrekt funktioniert, so ist auf jeden Fall im oberen Teil ein roter Streifen zu sehen. Ist in dem untersuchten Material das CP4 EPSPS Protein vorhanden, so ist ein bisschen weiter unten ein weiterer roter Streifen zu sehen.

### **4.4.2 Durchführung**

Von den pulverisierten Untersuchungsmustern haben wir je 37.5 g in ein Becherglas eingewogen. Wir gaben 140 mL destilliertes Wasser dazu und rührten ca. 10 Minuten mit einem Spatel. Von dieser Flüssigkeit pipettierten wir 1.5 mL in ein Eppendorfgefäß. Von der Sojamilch setzen wir unverdünnt 1.5 mL ein. Vom Referenzstandard haben wir 0.1 g direkt in ein Eppendorfgefäß eingewogen und mit destilliertem Wasser auf 1.5 mL aufgefüllt. Wir gaben 3 Tropfen Puffer dazu und schüttelten die Gefäße gut. In diese stellten wir nun die Teststreifen. Man sah, wie die Flüssigkeit langsam nach oben gesogen wurde. Bereits nach etwa 2 Minuten war eine leichte Rotfärbung an den Auffangzonen zu beobachten. Nach etwa 10 Minuten fotografierten wir die Teststreifen. Bei der Sojamilch haben wir den Versuch wiederholt, da die roten Streifen nur sehr schlecht zu sehen waren. Wir nahmen an, dass für die Milch zu wenig Puffer vorhanden war, da diese mehr Wasser beinhaltet als die anderen Proben. Bei der Wiederholung gaben wir 5 statt 3 Tropfen Puffer dazu.

#### 4.4.3 Resultat des Tests



Sample #	Untersuchungs Muster	Befund
1	Naturviva Sojaragout	Kein CP4 EPSPS Protein vorhanden
2	„Holle“ Sojabohnen Gelb	Kein CP4 EPSPS Protein vorhanden
3	Bio Sojaflocken	Kein CP4 EPSPS Protein vorhanden
4	Bio Sojadrink	Kein CP4 EPSPS Protein vorhanden
5	Alpro Soja Drink	Kein CP4 EPSPS Protein vorhanden
6	Referenzmaterial 5% (1)	CP4 EPSPS Protein vorhanden
7	Referenzmaterial 5% (2)	CP4 EPSPS Protein vorhanden

#### 4.4.4 Diskussion der Resultate

Wir können nicht ausschliessen, dass das CP4 EPSPS Protein bei der Weiterverarbeitung zu einem Lebensmittel zerstört wird. Deshalb können wir nur bei den Bohnen und dem Referenzstandard mit Sicherheit sagen, dass das Resultat korrekt ist. Die Resultate haben gleichwohl eine gewisse Aussagekraft, da bei der Herstellung der anderen Soja Produkte, die wir untersucht haben, eine Zerstörung der Proteine nicht erwünscht wäre.

## **5. Auseinandersetzung mit Problemen von gentechnisch veränderten Organismen(GVO)**

### **5.1 Nutzen und Risiko**

#### **5.1.1 Einsatz in der Landwirtschaft**

Die Anwendung von Gentechnik bei Pflanzen – sie macht ca. 98% aller Freisetzungsversuche aus –, dient vor allem der Qualitätsveränderung, der Verbesserung für die Verarbeitung oder landwirtschaftlichen Zielen. Zu diesen zählen besonders:

- Resistenz gegen Schädlings- und Krankheitsbefall
- Resistenz gegen Herbizide (man könnte mit einem chemischen Grossschlag alles Unkraut, alle Schädlinge und Krankheitserreger abtöten und nur die transgene Pflanze überlebt)
- Ertragssteigerung
- Stickstofffixierung durch Pflanzen
- Veränderung von Inhaltsstoffen (Gemüse mit erhöhtem Vitamingehalt oder Früchte mit verzögerter Alterung)
- Resistenz gegen Klimaschwankungen
- Änderung der Standortansprüche (z.B. Toleranz gegen hohe Salzgehalte oder sonstige Bodenverschmutzungen)

Unsere wichtigsten Kulturpflanzen nehmen Stickstoff in Form von Ammoniumverbindungen oder Nitrat aus dem Boden auf, was dazu führt, dass der Boden gedüngt werden muss, da jetzt ein Mangel an Stickstoff vorhanden ist. Wenn diese Pflanzen den Stickstoff direkt aus der Luft beziehen könnten, könnte auf das Düngen verzichtet werden und die Umwelt würde weniger belastet. Dieses Ziel liegt aber noch in weiter Ferne.

#### **5.1.2 Einsatz in der Industrie und Umwelttechnik**

Auch für die Umwelt wird der Einsatz der Gentechnik erforscht. Man sucht Möglichkeiten, mit gentechnisch veränderten Organismen Schadstoffe abzubauen und Ressourcen zu sparen, dazu gehören:

- Schadstoffabbau in Boden, Wasser und Abwasser. Wissenschaftler der Universität Georgia haben Senfpflanzen genetisch so angepasst, dass diese Quecksilber aufnehmen und es in weitaus weniger umweltgefährliche Verbindungen umsetzen können. Wenn es gelänge diesen Versuch in die Praxis einzuführen, könnte quecksilberverseuchtes Land wieder fruchtbar gemacht werden.
- Metallgewinnung (Kupferfällung)
- Nachwachsende Rohstoffe, veränderte Energiegewinnung aus organischen Abfällen, kompostierbarer Plastik (Kunststoff, der auf rein pflanzlicher Basis hergestellt wird, und dann zu fast 100% biologisch abbaubar ist)
- Ressourcenschonung bei der Prozessführung (z.B. Papierproduktion)
- Bioelektronik, Mikroorganismen als Biosensoren, Einsatz in der Leitertechnik oder als Biochips.

Der Nutzen der aus diesen Punkten herausgeschlagen werden kann, ist enorm. Man könnte mit Kulturpflanzen, welche mit extrem wenig Wasser auskommen und resistent sind gegen Hitze, die Landwirtschaft in Afrika oder anderen Wüstenregionen wieder rentabel machen und mit den Produkten, die dort herrschenden Hungersnöte eindämmen, wenn nicht sogar verschwinden lassen. Welchen Nutzen uns der Schutz der Umwelt bietet ist wohl allen klar. Wenn wir jetzt nicht achtgeben, wird früher oder später der Kollaps der Natur eintreten, mit irreparablen Folgen für Mensch, Pflanzen und Tiere.

### 5.1.3 Einsatz in der Medizin

Ein weiterer sehr wichtiger Punkt ist der Einsatz von transgenen Pflanzen in der Medizin. Wissenschaftler aus aller Welt versuchen, Pflanzen so zu verändern, dass sie Medikamente herstellen anstelle von anderen Proteinen oder sonstigen Substanzen. Man hat zum Beispiel Tabakpflanzen so angepasst, dass sie im Inneren laufend ein Medikament gegen Gaucher produziert. Dabei produziert eine einzige Pflanze die Wochendosis für einen Patienten. Zur Zeit wird dieses Medikament sehr aufwendig und kostenreich hergestellt. Die Lösung mit der Pflanze, wäre billiger und effektiver. Ein anderes Projekt das ansteht ist, Bananen so zu verändern, dass sie einen Impfstoff gegen Malaria produzieren. Dies hätte riesige Vorteile:

- Das Medikament wäre schon verpackt
- Durch das Verfaulen wäre ein natürlicher Verfallspunkt gegeben
- Die Einnahme wäre durch das Verspeisen der Banane sehr einfach
- Es könnte dort hergestellt werden, wo es auch gebraucht wird, in der Dritten Welt
- Es wäre 100% biologisch abbaubar

Andere Beispiele:

Medikament	Pflanze	Entwicklungsstand
Hämoglobin	Tabak	Experimentelle Labortests
Malaria-Impfstoff	Tabak	Erste klinische Versuche in ca. einem Jahr
Antibiotikum	Tabak	Erste klinische Versuche in ca. einem Jahr
Monoklonale Antikörper	Sojabohne	Klinische Versuche in ca. einem Jahr, Wirksamkeit an Tieren gezeigt
Bluteiweiße	Mais	Klinische Versuche in ca. einem Jahr, Wirksamkeit an Tieren gezeigt
Eiweiße gegen Autoimmunleiden	Mais	Klinische Versuche in ca. einem Jahr, Wirksamkeit an Tieren gezeigt

### 5.1.4 Risiko und Sicherheit

Arbeiten mit gentechnisch verändertem Material müssen gemeldet werden. Die Arbeiten werden in 4 verschiedene Sicherheitsstufen eingeteilt; es müssen progressiv strengere Vorschriften eingehalten werden. Die Regeln welche eingehalten werden müssen, entsprechen den Regeln, welche für das Arbeiten mit Viren gelten.

Das Ausbringen von gentechnisch verändertem Material in der Umwelt erfolgt schrittweise.

Nach der Phase von Labortest, wird das Material auf Risiken in einem Gewächshaus getestet. Erst jetzt darf das Material in kontrollierter Form ins Freiland ausgebracht werden. Für die rechtlichen Grundlagen und Anforderungen befindet sich die „Freisetzungsverordnung“ in Vorbereitung.

Über die Risiken welche Freisetzungen von GVO's bergen ist aber sonst nur wenig bekannt. Aber die nach Meinung der Fachleute grösste Angst, die Übertragung von veränderten Gensequenzen von der Pflanze auf Bakterien und Pilze, wäre theoretisch zwar möglich ist aber rechnerisch so gering, dass es fast nicht möglich ist, eine solche Übertragung in der Natur festzustellen. Eine andere Befürchtung ist die, dass sich transgene Kulturpflanzen mit anderen Pflanzenarten kreuzen und einheimische Sorten verdrängen. Dieses Risiko ist gleich gross, wie wenn man gebietsfremde Pflanzen ausbringt. Um diese Möglichkeit im Griff zu haben, müssten Langzeituntersuchungen in der Nähe der Ausbringungsorte durchgeführt werden. Der nächste Schritt dürfte die Abklärung von Langzeitschäden bei der Bodenfauna, Insekten und Wildtieren sein. Was man jedoch nicht vorhersagen kann, sind Folgeschäden durch den Genuss von genmanipuliertem Material. Vor allem Langzeitschäden können fast nicht

nachgewiesen werden. Ein Versuch in diese Richtung wurde 1998 am Rowett-Institut in Aberdeen gemacht. Dr. Arpad entdeckte das Ratten nach dem Genuss von genmanipulierten Kartoffeln erkrankten, die Tiere wiesen auffällige Veränderungen an ihren inneren Organen auf. Ihr Gehirn war bereits nach wenigen Tagen messbar geschrumpft. Erschreckend aber ist die Behinderung wissenschaftlicher Kritik an der Genforschung. Nachdem Dr. Pusztai mit seiner Entdeckung über die gesundheitliche Gefährdung durch Gen-Nahrung an die Öffentlichkeit ging, wurde er zwei Tage später gefeuert und seine Arbeit diskreditiert. Erst nach Bestätigung alarmierender Versuchsergebnisse durch 20 Wissenschaftler aus 13 Nationen, wurde begonnen, auch diese Seite gezielter zu erforschen und die Öffentlichkeit informiert. Wir denken aber, dass man zur Zeit die akuten Gefahren, die transgene Pflanzen für den Menschen und die restliche Umwelt darstellen, wie allergische Reaktionen, Resistenz von Bakterien gegenüber Antibiotika und vieles mehr, sehr gut abschätzen kann. Die stetige Forschung auf diesem Gebiet führt dazu, dass Gefahren sofort entdeckt werden und Freisetzungen gar nie ermöglicht werden.

## **5.2 Ethische Bedenken: Darf der Mensch alles tun, was er kann?**

Im Zusammenhang mit einzelnen gentechnischen Anwendungen werden häufig auch Bedenken vorgebracht. Dabei stehen ethische Aspekte rund um die Gentechnik beim Menschen im Vordergrund. Aber auch gesundheitliche und ökologische Fragen bei transgenen Pflanzen oder bei gentechnisch veränderten Nahrungsmitteln werden diskutiert.

### **5.2.1 Ethik ist eine Frage der Gesellschaft**

Die Gentechnologie wird zur Zeit in der Bevölkerung sehr kontrovers eingeschätzt. Über die Akzeptanz gentechnisch resistenter Nutzpflanzen in der Schweizer Bevölkerung existieren nur wenige Daten. Untersuchungen in verschiedenen europäischen Ländern kommen zu folgenden allgemeinen Schlussfolgerungen, die auch in der Schweiz ihre Gültigkeit haben dürften: Anwendungen der Gentechnik für pharmazeutische Zwecke sind in der Bevölkerung kaum umstritten, während Anwendungen im Lebensmittelsektor sehr ablehnend beurteilt werden. Gentechnische Veränderungen an Nutzpflanzen werden eher akzeptiert als solche an Nutztieren. Naturwissenschaftlich gebildete Personen akzeptieren die Gentechnik eher als naturwissenschaftliche Laien, und Männer besser als Frauen.

### **5.2.2 Benachteiligung der 3. Welt**

"Die Bauern in der Dritten Welt können sich das teure Saatgut gar nicht leisten und haben nicht das Kapital, gentechnische Forschung zu betreiben."

Es stimmt, dass die meisten der bisher hergestellten gentechnisch veränderten Kulturpflanzen für die Landwirtschaft der kapitalstarken industrialisierten Länder bestimmt sind. Es trifft auch zu, dass die Landwirte in den Entwicklungsländern sich dieses Saatgut nicht leisten können. Daneben gibt es aber auch verschiedene Projekte von nichtkommerziellen Organisationen, welche auf die für Entwicklungsländer wichtigen Grundnahrungsmittel ausgerichtet sind. An der ETH Zürich laufen in Zusammenarbeit mit dem IRRI (International Rice Research Institute) Reis- und Cassava-Forschungsprojekte zur nachhaltigen Ernährungssicherung in den Entwicklungsländern.

Grosse Genfirmen, wie zum Beispiel Novartis, zwingen die Menschen der 3. Welt mit recht aggressiven Verkaufsstrategien ihre Gensorten zu kaufen. Hier geht es eigentlich mehr ums grosse Geld, als um das Wohlbefinden der 3. Welt.

### **5.2.3 Akzeptanz der Gentechnik**

Die Industrie ist heute noch unsicher über das Ausmass der Akzeptanz für die Gentechnik in der Bevölkerung.

### **5.2.4 Verzicht wegen schlechtem Image**

Das gentechnisch hergestellte Enzym Chymosin kann heute zur Käseherstellung eingesetzt werden, und weist gute produktions-technische Eigenschaften auf. Dennoch wird auf den Einsatz von gentechnischem Chymosin in verschiedenen Ländern (so auch in der Schweiz) verzichtet, da dies dem Image des Käses als Naturprodukt schaden könnte.

### **5.2.5 Genschutzinitiative**

Die Genverbots-Initiative wurde in der Schweiz mit einem klaren NEIN abgelehnt.

Die Auswirkungen der Gentechnologie auf den Lebensmittelbereich haben offensichtlich nur eine Minderheit der Stimmberechtigten von der Initiative überzeugen können. Die Schweiz muss sich an der Forschung aktiv beteiligen und weiterhin führend bleiben. Tatsächlich hätte eine Annahme den Import von Gentech-Food nicht verhindern können, und den Initiativ-Gegnern ist es gelungen, dies der Bevölkerung klarzumachen. Andererseits hätte die Initiative den Anbau von genetisch veränderten Pflanzen wie Getreide oder Kartoffeln verboten.

### **5.2.6 Argumente der Befürworter der Gentechnik**

- Gesundere Ernährung der Weltbevölkerung durch eine höhere Produktequalität (bessere Nährstoffzusammensetzung, längere Haltbarkeit);
- höhere Erträge durch Schädlings-, Krankheits- und Stressresistenz;
- Reduktion der Pestizidbehandlungen durch gentechnische Schädlings- und Krankheitsresistenz.

### **5.2.7 Argumente der Gegner der Gentechnik**

- Ethische und religiöse Bedenken (z.B. "Der Mensch masst sich an, selbst als Schöpfer zu wirken", "Die Gentechnik ist ein widernatürlicher Eingriff", "Leben kann man nicht patentieren");
- soziale Bedenken (einerseits im Zusammenhang mit der Patentierbarkeit, andererseits im Bezug auf Entwicklungsländer; s. OECD 1992);
- gesundheitliche Bedenken;
- Befürchtungen über Auswirkungen auf Ökosysteme.

## 5.3 Rechtliche Situation in der Schweiz

### 5.3.1 Gesetz

Die Schweiz hat bis heute kein eigenes Gentechnikgesetz. Es wurden verschiedene Gesetzgebungsgebiete so erweitert, dass auch die Gentechnik abgedeckt ist. So legt zum Beispiel das revidierte Bundesgesetz über den Umweltschutz fest, dass die Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen einer Bewilligung bedarf. Im Lebensmittelgesetz und in der Lebensmittelverordnung findet man einige Bestimmungen und Vorschriften über gentechnisch veränderte Lebensmittel. Auch in dem Chemikaliengesetz wurden Erneuerungen vorgenommen.

### 5.3.2 Anbau

Der Anbau von gentechnisch veränderten Pflanzen ist in der Schweiz verboten. Bei Ausnahmen wie z.B. zu Forschungszwecken, muss ein Gesuch gestellt werden.

Die Bewilligung für die Freisetzung von transgenen Lebewesen zu Forschungs- und Entwicklungszwecken erteilt das BUWAL.

### 5.3.3 GVO in Lebensmitteln

Jedes gentechnisch veränderte Lebensmittel muss vom Bundesamt für Gesundheit bewilligt werden. Das Gesetz schreibt vor, dass über eine Zulassung oder Ablehnung von Fall zu Fall nach gesundheitlichen, ökologischen und ethischen Kriterien entschieden wird. Somit können die Risiken auf ein Minimum beschränkt werden. Gleichzeitig können die Vorteile dieser vielversprechender Technologie genutzt werden, und die schweizerische Landwirtschaft braucht keine Wettbewerbsnachteile zu befürchten.

Für Produkte mit IP-Label, Bio-Label und KAG-Freiland Label ist die Verwendung von GVO Futtermittel strikt verboten.

### 5.3.4 Im Schweizerischen Gesetz geltende Definitionen

GVO-Erzeugnisse sind Erzeugnisse die:

- gentechnisch veränderte Organismen sind;
- aus gentechnisch veränderten Organismen hergestellt werden oder direkt gewonnen werden, auch wenn sie vom Organismus abgetrennt und vom Erbmaterial gereinigt sind;
- mit gentechnisch veränderten Organismen vermischt sind;
- aus Kreuzungen gentechnisch veränderter Organismen hervorgehen oder gentechnisch veränderter mit unveränderten Organismen hervorgehen.
- transgen: Der Begriff umschreibt Organismen, denen auf künstlichem Wege Erbeigenschaften von Spenderorganismen eingesetzt wurde.

### 5.3.5 Auszug aus der Lebensmittelverordnung; Gesetz bezüglich der Deklaration

„aus gentechnisch/genetisch verändertem X hergestellt“: So zu deklarieren sind Lebensmittel, ihre Zusatzstoffe und Stoffe nach Art.6 (Lebensmittelverordnung), die gentechnisch veränderte Organismen sind, solche enthalten oder daraus gewonnen wurden. Anstelle des Buchstabens X muss jeweils der Name des GVO angebracht sein.

#### 5.3.5.1 Nicht deklarationspflichtig

Keine Deklaration muss erfolgen,

- wenn beispielsweise ein Lebensmittel keine Zutat (einschliesslich Zusatzstoffe) enthält, die zu mehr als 1 Massenprozent aus GVO hergestellt sind. (Ausgenommen sind Mikroorganismen)

- bei Lebensmittel, Zusatzstoffe und Verarbeitungshilfsstoffe, wenn sie vom Organismus abgetrennt, gereinigt und chemisch definierbar sind.

Durch diese Grenze soll verhindert werden, dass herkömmliche oder biologische Produkte wegen Spuren von gentechnisch verändertem Material deklariert werden müssen.

#### 5.3.5.2 „Ohne Gentechnik hergestellt“

Ein Lebensmittel kann mit dem Hinweis „ohne Gentechnik hergestellt“ angeschrieben werden, sofern

- mit einer lückenlosen Dokumentation bewiesen werden kann, dass das betreffende Produkt tatsächlich ohne Gentechnik hergestellt wurde;
- in der Schweiz gleichartige, gentechnisch veränderte Lebensmittel bewilligt worden sind.
- in Futtermitteln, welche für die Produktion von Lebensmitteln verwendet werden, keine GVO zur Anwendung gekommen sind.

Auch Verarbeitungshilfsstoffe müssen gekennzeichnet werden, wenn sie als solche abgegeben werden.

#### 5.3.5.3 Mikroorganismen

Kennzeichnungspflicht besteht auch für gentechnisch veränderte Mikroorganismen, welche bei der Lebensmittelherstellung zu technologischen Zwecken eingesetzt werden.

### 5.3.6 Beispiele

Ein Lebensmittel...	Deklaration	Beispiel für die Deklaration
... ist selber ein gentechnisch veränderter Organismus.	Ja	Sojabohnen (gentechnisch verändert)
... wurde aus gentechnisch veränderten Organismen gewonnen.	Ja	Ruchmehl (aus gentechnisch verändertem Weizen), Maismehl (gentechnisch verändert)
... enthält Zutaten, die gentechnisch verändert sind oder aus gentechnisch veränderten Organismen gewonnen wurden.	Ja	Kräuter-Brottaufstrich Zutaten: Wasser, pflanzliche Fette, Sojamehl, (gentechnisch verändert) Kräuter, Salz
... wurde mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen hergestellt.	Ja	Erdbeerjoghurt Zutaten: Milch, Zucker, Erdbeeren, Randensaft mit gentechnisch veränderten Laktobazillen
... wurde aus gentechnisch veränderten Organismen gewonnen und anschliessend gereinigt (z.B. raffiniert).	Nein	
... wurde konventionell hergestellt. Während Transport oder Verarbeitung kam es zu technisch bedingten Vermischungen mit gentechnisch verändertem Material.	Nein	
... wurde mittels eines Verarbeitungshilfsstoffes hergestellt, der seinerseits aus einem gentechnisch veränderten Organismus gewonnen wurde.	Nein	

### 5.3.7 Schutz von Mensch und Umwelt

Im schweizerischen Bundesgesetz steht, dass der Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen die Erhaltung und nachhaltige Nutzung der biologischen Vielfalt nicht beeinträchtigen darf und die Würde der Kreatur geachtet werden muss. Damit dürfen die artspezifischen Eigenschaften und Lebensweisen wie Fortpflanzung oder Bewegung durch gentechnische Veränderungen nicht beeinträchtigt werden.

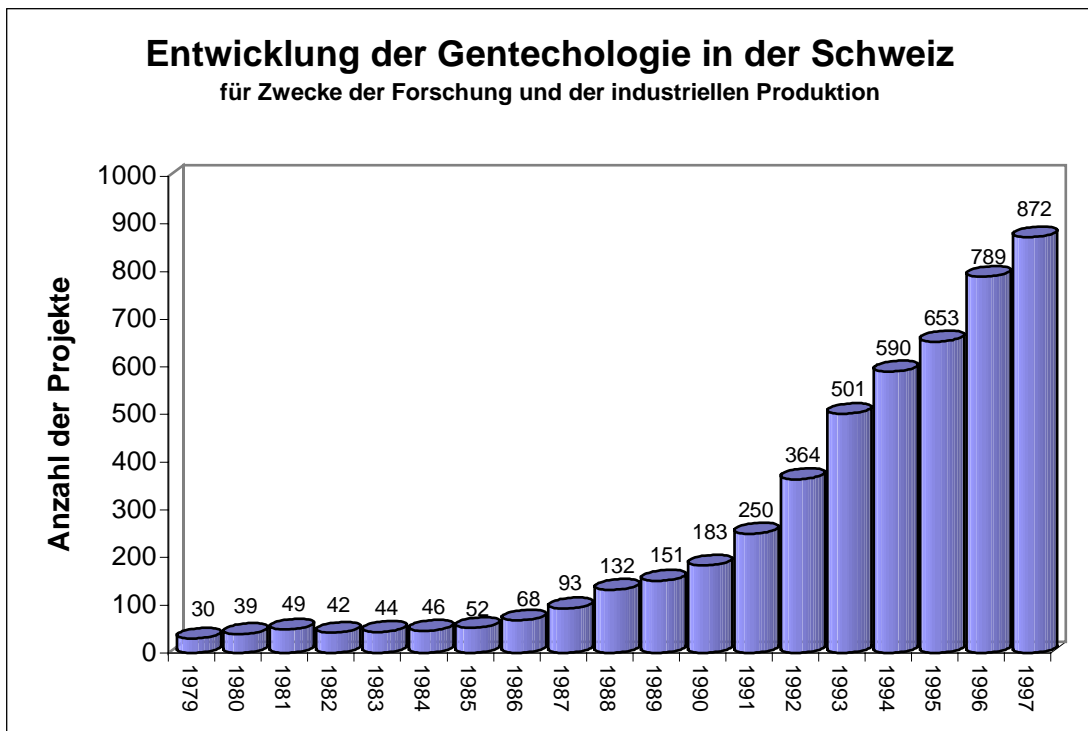
Der Bundesrat kann gentechnologische Verfahren einschränken oder verbieten, wenn eine Gesundheitsgefährdung nicht ausgeschlossen werden kann.

### 5.3.8 Haftpflicht

Die Hersteller von gentechnisch veränderten Organismen haften für Schäden, welche diese verursachen. Die Verjährungsfrist beträgt 30 Jahre ab dem Schadensereignis.

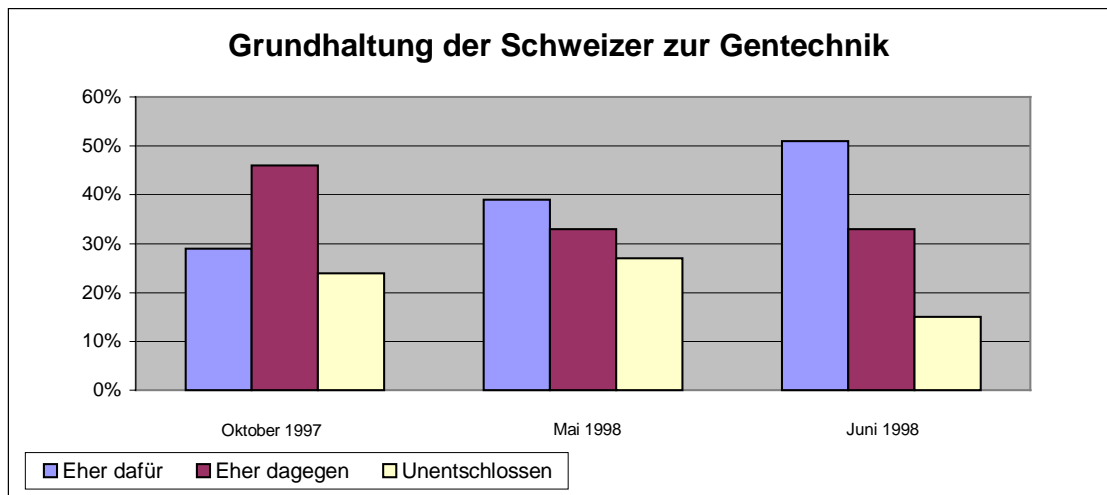
### 5.3.9 Entwicklung der Gentechnologie in der Schweiz

Die Zahl der Gentechnik-Projekte stieg seit den Achtziger-Jahren stark an. Das Interesse an diesem Bereich der Wissenschaft ist stark zunehmend.



Quelle: Schweizerische Kommission für biologische Sicherheit in Forschung und Technik

Grosse Schweizer Chemie- und Lebensmittelkonzerne sind führend in der Forschung der Gentechnologie. Doch der eitle Schweizer will selber keine gentechnisch veränderten Lebensmittel konsumieren. Jedoch gehören heute bereits gentechnisch hergestellte Produkte und gentechnische Verfahren zu unserem Alltag. Sie begegnen uns z.B. in Form von neuen Medikamenten und als Bestandteil von Wasch- und Lebensmitteln und kommen in der Krankheitsdiagnostik zunehmend zum Einsatz. Gleichzeitig sind bestimmte Anwendungen der Gentechnik, beispielsweise in der Pflanzen- und Tierzucht stark umstritten.



Quelle: Longchamp 1997 und 1998 /Hardmeier 1998

Die Amerikaner z.B. ziehen Profit aus der Arbeit der Schweizer Forscher. Sie sind weltweit führend im Anbau von gentechnisch veränderten Lebensmitteln und haben keine Bedenken beim Verzehr, was unter anderem auch mit den Essgewohnheiten der Amerikaner zusammenhängt.

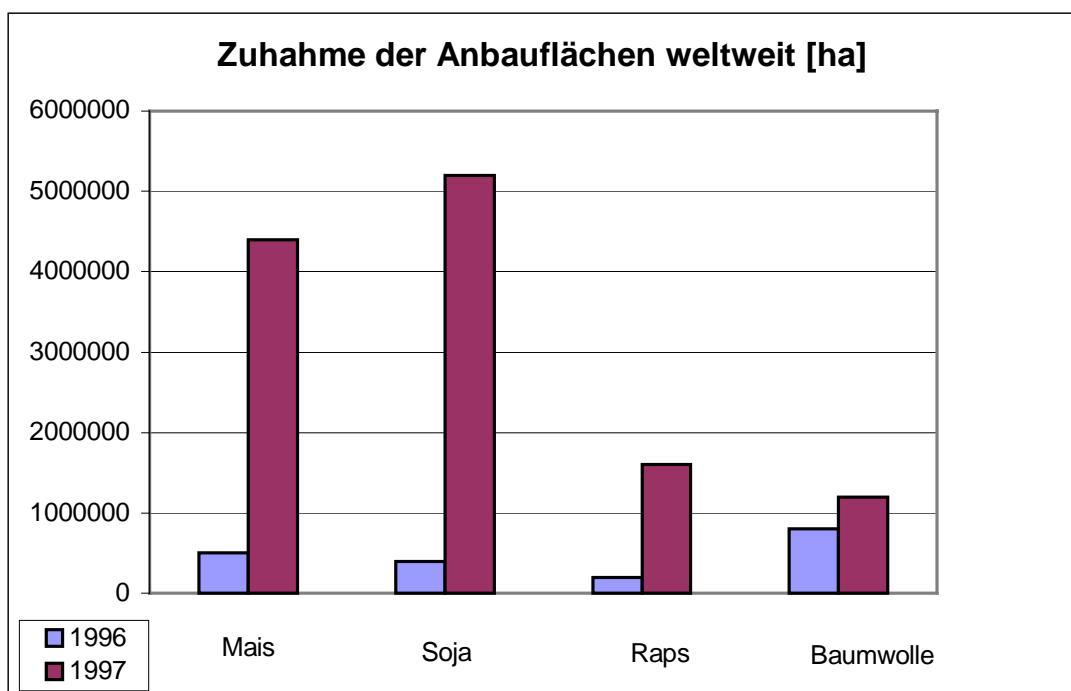
Laut einer Umfrage vom Januar 2001 glauben nur 2% der amerikanischen Konsumenten, dass gentechnisch veränderten Lebensmittel ein besondere Bedrohung für die Gesundheit darstellen. Ebenfalls nur 2% der Befragten wünschen sich eine Kennzeichnung von GVO Lebensmitteln, aber 75% wären an zusätzlichen Hintergrundinformationen zur Herstellung der Lebensmittel interessiert.

Die Europäer vertreten ungefähr die gleiche Meinung wie die Schweizer.

#### 5.3.10 Anbau im Ausland

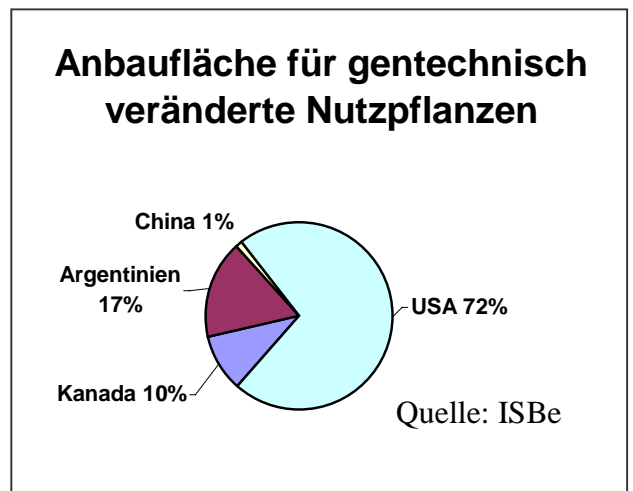
Im Ausland, hauptsächlich in den USA, Mexiko und Kanada, werden einige Produkte (Mais, Soja, Baumwolle...), die eine höhere Herbizidtoleranz, Produktqualität, Insektenresistenz usw. aufweisen, in grösseren Mengen bereits angepflanzt.

Trotz der skeptischen Einstellung der Konsumenten in Europa und Asien, werden 2001 von den Farmern deutlich mehr gentechnisch veränderte Soja und Baumwolle ausgesät als Vorjahr.



Quelle: European Food Information

Im vergangenen Jahr (2000) hat sich die Anbaufläche von Genpflanzen weltweit fast verdreifacht. Auf knapp 28 Millionen Hektaren wurden gentechnisch veränderte Pflanzen angebaut. Damit war die Anbaufläche so groß wie Großbritannien und Belgien zusammen. Vor zwei Jahren (1999) waren es erst elf Millionen Hektaren. Auch in der Europäischen Union sind bereits mehrere transgene Kulturpflanzen zugelassen. Die führenden Länder für den kommerziellen Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen in Europa sind Rumänien und Spanien. Je 15 000 Hektaren werden dort angebaut. In Deutschland haben Landwirte auf knapp 500 Hektaren Genmais gepflanzt.



### 5.3.11 USA

In den USA machte der Anbau transgener Baumwolle 1996 bereits über 200'000 ha aus. Soja und Baumwolle legen weiter zu.

In den USA ist eine starke Zunahme der Anbaufläche Gentechnisch veränderter Kulturpflanzen festzustellen.

Anteil der Anbaufläche von GVO in den USA		
Pflanze	2000	2001
Mais	24%	25%
Soja	63%	54%
Baumwolle	61%	64%

Der Trend ist in allen sojaanbauenden US-Bundesstaaten ähnlich. In einigen Staaten erreichen die GVO-Sorten 70-80%. Erstaunlich ist, dass die Maisanbaufläche im grossen und ganzen gleichgeblieben ist.

### 5.3.12 EU (1997)

Jeder Fall für die Freisetzung und Vermarktung von gentechnisch veränderten Organismen muss Einzel geprüft und bewilligt werden. Die Bewilligung erfolgt nach dem Stufenprinzip, d.h. zuerst muss die Freisetzung von kleinen Versuchspartzen, über mehrortige grossflächige Versuche erfolgen. Die Marktzulassung kann erst nach ausreichender praktischer Erfahrung während der Forschungs- und Entwicklungsphase erfolgen.

Die Deklaration erfolgt analog der Schweiz somit bestehen keine Probleme für den Export und Import.

## 6. Feedback

### 6.1 Was haben wir gelernt?

- Wir bekamen einen guten Überblick über die Möglichkeiten der Gentechnologie.
- Zwei Wege, wie man genetisch veränderte Pflanzen nachweisen kann.
- Empfindlichkeit der Nachweismethoden ist sehr hoch, sauberes und präzises Arbeiten ist sehr wichtig
- Trotz des geringen Einsatzes der Gentechnologie in der Landwirtschaft, spielt die Schweiz in der Forschung eine führende Rolle
- Die Freisetzung und Vermarktung transgener Organismen und Produkten ist sehr schwierig aufgrund grosser Bedenken der Bevölkerung
- Es stellen sich mehr ethische Bedenken, als wir vorher dachten

### 6.2 Wie haben wir die Arbeit empfunden?

Es war eine gute Abwechslung mal ein bisschen Biolabor Luft zu schnuppern. Die Handgriffe sind zwar ähnlich wie in der analytischen Chemie, die Theorie dahinter ist jedoch schon eine Stufe komplexer. Die Reaktionen sind nicht auf dieselbe Art und Weise voraussagbar. Man weiss zwar teilweise, was etwas tut, aber zu verstehen wie etwas geschieht, ist sehr schwierig. Auch auf die Sterilität zu achten, war für uns ungewohnt. Die Arbeit hat uns allen Spass gemacht. Einige von uns würde ein späterer Wechsel auf dieses Gebiet schon reizen.

## 7. Danksagungen

Ohne die grossartige Unterstützung von Marianne Liniger und Dr. Urs Pauli von der Abteilung Lebensmittelwissenschaft des BAG wäre die Durchführung dieses Projekts sicher nicht möglich gewesen. Wir wissen, dass beide sehr viel von ihrer Zeit eingesetzt haben, um uns bei unserem Projekt zu helfen. Marianne Liniger hat uns als Biolaborantin bei der Durchführung der praktischen Arbeiten im BAG gezeigt, wie die einzelnen Arbeitsschritte durchzuführen sind. Wir als Chemielaboranten konnten von ihr noch einiges dazulernen. Insbesondere für die Bereitstellung der Lösungen möchten wir ihr herzlich danken. Dr. Urs Pauli kam uns in der Anfangsphase sehr entgegen, als er uns anbot, einen Teil der praktischen Arbeiten in den Labors des BAG durchführen zu können. Er hat uns als Gen-Laien während der ganzen Vorbereitungszeit gut über den Stand der Technologie und die Möglichkeiten informiert. Während der Arbeit im BAG konnten wir von ihm viel über die Funktion der Methoden und die Aufgabe des BAG lernen. Wir hatten auch die Gelegenheit, ihm Fragen zu stellen. Deshalb möchten wir ihm von Herzen danken.

Und *last, but not least* möchten wir auch unserem Klassenlehrer Thomas Fuhrer dafür danken, dass er uns in der Schule die Zeit zur Verfügung gestellt hat, an unserem Projekt zu arbeiten und uns mit den Grundlagen der Gentechnologie vertraut gemacht hat.

## 8. Mitwirkende



Die Chemielaboranten  
Klasse CLAA99 der GIBB:

André Mürner  
Bundesamt für Gesundheit

David Baptista  
ZLB

Fränzi Vogel  
Nestlé

Oliver Rutschi  
Eidgenössische Zollverwaltung

Nicole Egger  
Uni Freiburg

Nicole Ochsenbein  
Kantonales Labor Bern

Sarah Wiedmer  
Bundesamt für Veterinärwesen

Rico Zoss  
Nitrochemie Wimmis

Leute aus dem BAG:

Dr. Urs Pauli  
Sektion Mikrobiologie und Hygiene

Marianne Liniger  
Sektion Mikrobiologie und Hygiene

Klassenlehrer:

Thomas Fuhrer  
Berufskundelehrer Laboranten der GIBB