

Nachweis gentechnisch veränderter Nahrungsmittel im deutschen Lebensmittelhandel

Facharbeit von Anja Überla im Fach Biologie, Gymnasium Waldstrasse, Hattingen

Experimentelles Vorgehen

Der Nachweis von genetisch veränderten Organismen kann durch die Fremd DNA erfolgen. In meiner Arbeit, wollte ich den Cauliflower Mosaic Virus 35 S Promotor (CaMV P35 S) nachweisen. Dieser wird häufig verwendet um ein eingefügtes Fremdgene erfolgreich abzulesen. Um diese Sequenz aufzuspüren, wurde eine Realtime PCR verwendet, doch zuerst musste die DNA aus den Lebensmitteln extrahiert werden und quantitativ bestimmt werden, denn die eingesetzte Menge der DNA muss bei der PCR bekannt sein, um die Ergebnisse vergleichen zu können.

DNA Extraktion:

Die Proben wurden mithilfe von Mörser und Stößel zu einem feinen Pulver homogenisiert und 200mg auf der Feinwaage abgewogen. Für die Extraktion der DNA aus den Lebensmitteln wurde der Nucleo-Spin food kit von Machery und Nagel genutzt. Die einzelnen Schritte sind in Abb. 1 dargestellt

Quantitative Bestimmung der extrahierten DNA:

Um die Menge der aus den Proben extrahierten DNA zu bestimmen wurde ein interkalierender Farbstoff verwendet. Dieser Farbstoff fluoresziert, wenn er zwischen den DNA-Doppelsträngen bindet. Anhand eines Standards, der eine definierte Menge DNA enthält, kann die Fluoreszenz quantitativ bestimmt und so auf die DNA Menge rückgeschlossen werden.

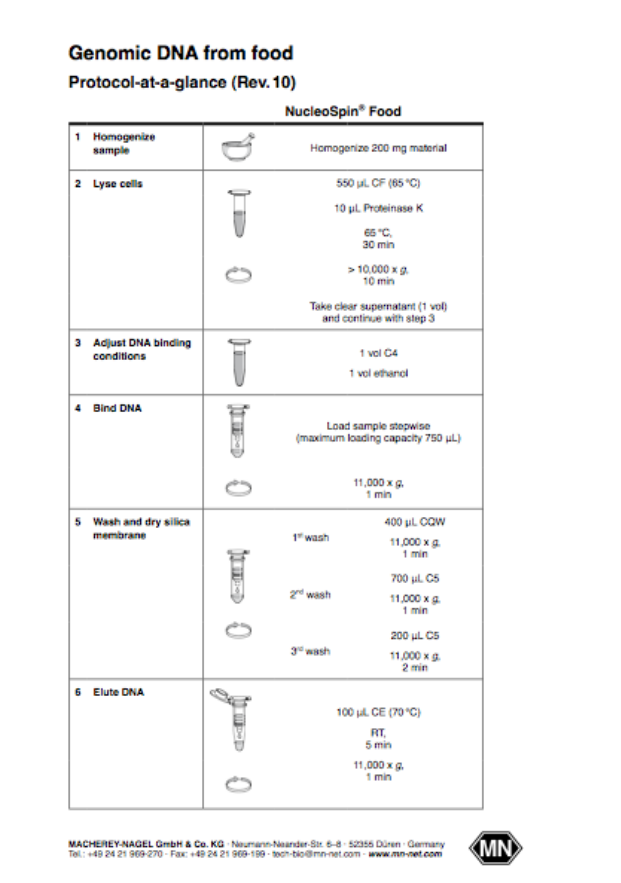


Abb. 1: DNA-Extraktion

Realtime PCR:

Die Realtime PCR funktioniert zunächst ähnlich der normalen PCR. Es werden 2 Primer, die an der nachzuweisenden Sequenz, in meinem Fall an den CaMV 35 S Promotor binden, eine Polymerase, die die neuen DNA-Stränge synthetisiert und Nucleotide, die eingebaut werden, benoetigt. Außerdem, anders als bei der normalen PCR, wird auch eine Sonde benötigt, die an dem nachzuweisenden Strang bindet. Bei der Sonde, die bei dieser Realtime PCR benutzt wurde, befindet sich am 5' Ende ein FAM-Molekül, welches Licht emittiert. Am 3' Ende der Sonde findet man einen Quencher (hier BHQ1) vor. Der Quencher absorbiert das Licht, welches das FAM-Molekül emittiert. Während der Synthese des neuen Stranges verdaut die Polymerase die Sonde. Der Quencher und das FAM-Molekül werden freigesetzt und befinden sich nicht mehr in nächster Umgebung zueinander. Der Quencher kann also das emittierte Licht nicht mehr absorbieren. Die Fluoreszenz wird von einem Photosensor im Thermocycler gemessen und ausgewertet. Es kann also nur zu einer Fluoreszenz kommen, wenn die nachzuweisende Sequenz vorhanden ist, die Sonde daran bindet und die Synthese eines neuen Stranges stattfindet.

Ergebnisse der Untersuchungen

Sensitivität der PCR:

Es wurde eine Verdünnungsreihe einer synthetischen CaMV P 35 S DNA als positiv Kontrolle mit den Konzentrationen 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 und 10^1 Molekülen pro µl hergestellt. Mit diesen Positivproben wurde dann die PCR durchgeführt um das Gelingen und die Sensitivität der PCR nachzuweisen. Dabei zeigte sich, dass sogar schon 10 Moleküle mithilfe der PCR nachgewiesen werden konnten. Die negativ Probe wieß jedoch eine Kontamination von 2 Molekülen pro PCR Ansatz auf, weswegen Proben unter 5 Kopien nicht als positiv eingestuft wurden.

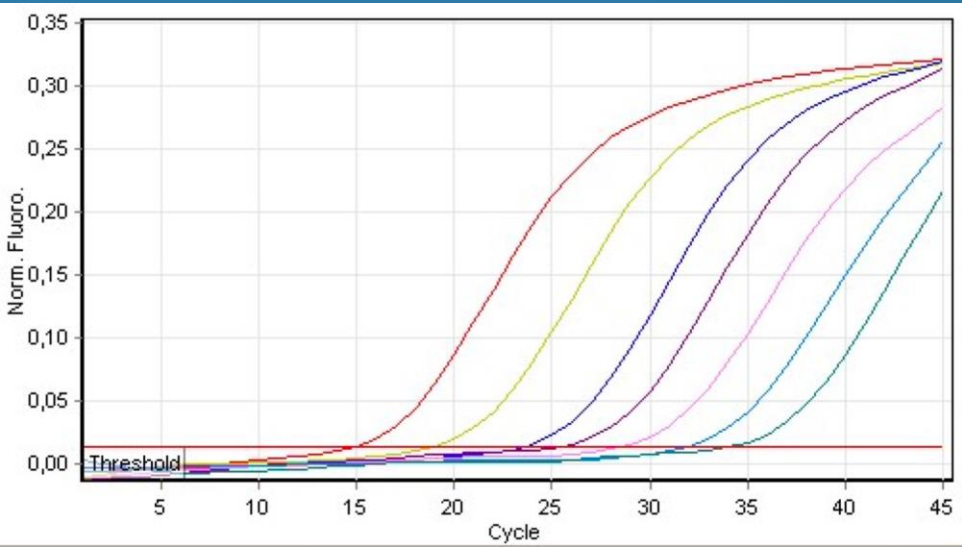


Abb. 2: Standardkurve aus der Sensitivitätsbestimmung der PCR. Bordeauxrot: Verdünnung 10^6 Okker: Verdünnung 10^5 Blau: Verdünnung 10^4 Violett: Verdünnung 10^3 Rosa: Verdünnung 10^2 Türkis: Verdünnung: 10^1 Moreagrün: Wasser

Ergebnisse der PCR:

Bei den Nudeln und dem Weizenmehl konnte der CaMV 35 S Promotor nicht nachgewiesen werden. Auch bei Tofu und den asiatischen Suppennudeln ist die Anzahl der Kopien zu gering, um von einem Nachweis zu sprechen. Das asiatische Suppenpulver enthielt jedoch 10 Kopien des Cauliflower Mosaic Virus 35 S Promotor, ein damit eindeutig positiver Befund. Der negative Befund in den Nudeln, dem Weizenmehl, dem Tofu und den asiatischen Suppennudeln war nicht die Folge einer Inhibition der PCR, da die Zugabe der positiv Kontrolle zu der extrahierten DNA der Lebensmittel ein positivies PCR Ergebnis zeigte.

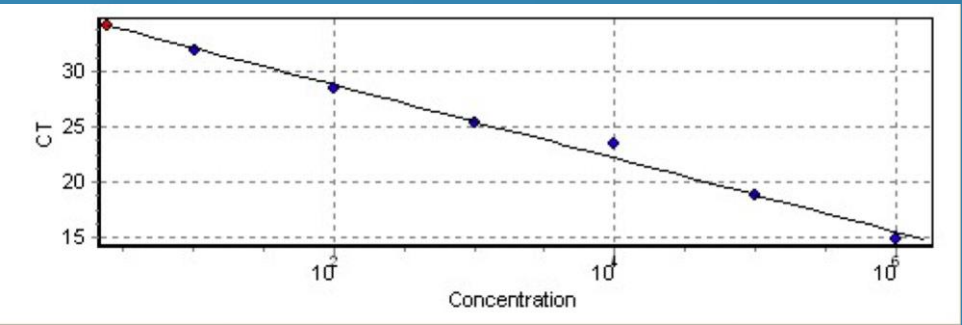


Abb. 3: Standardreihe der Verdünnungsstufen

Name	Anzahl der Kopien
Nudeln	-
Weizenmehl	-
Asiatische Suppennudeln	4
Asiatische Powder Soup	10
Tofu	1

Abb. 4: Anzahl der CaMV 35 S Promotor Moleküle in den untersuchten Lebensmitteln

Fazit:

In der Probe asiatische powder soup konnten 10 Moleküle des CaMV 35S Promotors pro 12ng extrahierter DNA nachgewiesen werden. Um den Anteil der gentechnisch veränderten Bestandteile besser abschätzen zu können, wurde der Prozentsatz der gentechnisch veränderten Zellen berechnet. Dabei wurde angenommen die Probe bestünde nur aus Mais DNA : Das Maisgenom besitzt 2,3 Mrd. Basenpaare (Bp), ein Bp wiegt ca 640g/mol → 6x10^23 Moleküle des Basenpaares wiegen 640g

2,3 Mrd. x 640g= 1472x10^9g
1472x10^9g:1472x10^8g
= 2,453 pg

→ Gewicht von 6x10^23 Molekuelen Maisgenom
→ m von 6x10^23 Molekuelen durch m von 6x10^22 Molekuelen des Maisgenoms
→ Gewicht von 10 Molekuelen des Maisgenoms

Insgesamt wurden 12ng DNA eingesetzt, somit wurden 0,2% der Zellen genetisch modifiziert. Dieser Bereich liegt unter der gesetzlich festgelegten Schwelle von 0,9 %. Man kann jedoch auch nicht davon ausgehen, dass die komplette DNA aus Mais DNA bestand, der genaue Prozentsatz kann also nicht bestimmt werden.

Bei keinen der Proben wurde eine Überschreitung des Schwellenwertes festgestellt, obwohl geringe Mengen an modifizierter DNA ermittelt wurden. Um die Häufigkeit von genetisch veränderten Lebensmitteln festzustellen und zu kontrollieren, müssen mit der Methode die Lebensmittel systematisch und in größerer Anzahl untersucht werden. Insbesondere bei ausländischen Produkten aus Asien oder Amerika sind gentechnisch veränderte Bestandteile wahrscheinlicher als in deutschen und europäischen Produkten. Diese Aufgabe wird bereits schon von Landesbehörden wahrgenommen, denn man sollte wissen, ob die Lebensmittel wirklich keine genveränderten Bestandteile enthalten, damit auch in Zukunft die Wahl zwischen Nahrungsmitteln mit gentechnisch veränderten Bestandteilen und ohne diese besteht.