

Pflanzenbiotechnologie

von Martin Pfosser, Wien

Vortrag, gehalten am 22. Februar 1996

Nicht nur in Österreich, sondern auch in anderen Ländern Europas ist es dieses Jahr zu Diskussionen über die Sinnhaftigkeit des Einsatzes gentechnischer Methoden bei der Produktion unserer Lebensmittel gekommen. Vor allem die geplanten Freisetzungsversuche von gentechnisch veränderten Pflanzen machten einer breiten Öffentlichkeit bewußt, daß sich zur Zeit ein Wandel in der Pflanzenzüchtung vollzieht: Trotz der oft enormen Produktivitäts- und Qualitätssteigerungen, die bis heute in der Züchtung erzielt werden konnten, suchte die Wissenschaft nach neuen Möglichkeiten, um die Grenzen zu überspringen, die in der traditionellen Züchtung gegeben sind. Solche Grenzen existieren z.B. in der sexuellen Inkompatibilität von Kreuzungspartnern, die ein Einkreuzen von Eigenschaften entfernt stehender Arten verhindern. Durch den Einsatz von gen-

technischen Methoden erhofft man sich eine wesentliche Erweiterung der züchterischen Möglichkeiten. Tatsächlich kommen zur Zeit die ersten Resultate dieser Anstrengungen auf den Tisch. 1994 wurde das erste gentechnisch veränderte Lebensmittel, die "Anti-Matsch-Tomate" (eine Tomatensorte, die nicht grün - also unreif - geerntet werden muß, um sie für den Transport zum Endverbraucher widerstandsfähig zu halten) in den USA für den Verkauf freigegeben. Und seit kurzem gibt es auch in England "Genfood", nämlich Ketchup aus dieser Anti-Matsch-Tomate.

Im folgenden soll dargestellt werden, wie gentechnisch veränderte Pflanzen im Labor erzeugt werden können, bzw. welche biologischen Grundlagen für die Anwendung der Gentechnik bei Pflanzen ausschlaggebend sind.

Pflanzen besitzen eine hohe Regenerationsfähigkeit

Pflanzenbiotechnologie besteht aus zwei sich gegenseitig ergänzenden Gruppen von Techniken: Den Gewebekulturtechniken und den Techniken der rekombinanten DNA. Obwohl viele Methoden der modernen Biotechnologie experimentelles Neuland darstellen, funktionieren sie nur im Zusammenspiel mit dem Wissen um die biologischen Eigenschaften des pflanzlichen Organismus, wie sie in der Natur vorgegeben sind. Eine dieser Eigenschaften ist die enorme Regenerationsfähigkeit des pflanzlichen Organismus.

Bei vielen Pflanzenarten, wie etwa beim Streifenfarn *Asplenium bulbiferum*, entstehen im Lauf der Entwicklung eigene Organe, die zur vegetativen Vermehrung dieser Pflanzen dienen. Dabei können an einem älteren Blatt neue Sprosse entstehen, die später abfallen, sich bewurzeln und wieder eine neue Pflanze aufbauen. Oft entstehen solche Regenerate allerdings nicht während der regulären Pflanzenentwicklung, sondern nur dann, wenn das normale Pflanzenwachstum gestört ist - z.B. als Folge einer Verletzung. So eine Verletzung kann natürlich auch bewußt herbeigeführt werden. Jeder kennt aus eigener Erfahrung, daß verschiedene Zierpflanzen oft erstaunliche Regenerationsleistungen vollbringen können. Abgeschnittene Teile von Pflanzen können wieder austreiben, wenn man sie in Erde steckt - ein Phänomen, das man sich in der gärtnerischen Praxis schon seit langem zu Nutze macht. Etwas ähnliches passiert auch ohne menschliches Zutun bei der Begonie. Dabei entstehen direkt an der Blattspreite, vor allem in der unmittelbaren Umgebung von Verletzungen, neue Tochttersprosse, die später abfallen, sich bewurzeln und neue Pflanzen bilden (Abb. 1). Wenn man sich die Regeneration bei der Begonie genau ansieht, bemerkt man, daß diese Regeneration nicht an einer beliebigen Stelle der Blattspreite beginnt, sondern, daß sie dort auftritt, wo Verletzungen passiert sind. Das heißt aber, daß die Regeneration steuerbar ist und induziert werden kann. Tatsächlich stellt diese Regenerationsfähigkeit ein Charakteristikum der pflanzlichen Le-

bensform dar, wie man es bei Tieren nur auf sehr niedriger Organisationsstufe - wie z.B. beim Süßwasserpolypen (*Hydra*), nicht aber bei höheren Tieren findet. Aber warum haben gerade die höheren Pflanzen diese Fähigkeit entwickelt? Für die Pflanze stellt diese Fähigkeit eine Überlebensstrategie, eine Anpassung an ihre ortsgebundene Lebensweise dar. Pflanzen können nicht einfach vor Gefahren davonlaufen. Sie müssen sich damit abfinden, eventuell von einer Elefantenherde niedergetrampelt zu werden. Und genau diesen Nachteil der ortsgebundenen Lebensweise können sie durch ihre Regenerationsfähigkeit wieder ausgleichen. Aus den zusammengetrampelten Überresten entstehen wieder neue Pflanzen.



Abb.1: Regeneration von Sprossen an Blättern von Begonien: Besonders in der Nähe von Verletzungen kommt es unter geeigneten Bedingungen zur Neubildung von Sprossen, die später abfallen, sich bewurzeln und eine neue Pflanze aufbauen.

Man hat erkannt, daß die Regeneration von einer einzelnen Zelle ausgehen kann. Durch Zellteilungen bildet sich ein embryonales Gewebe (Meristem), aus dem dann ein Adventivsproß entsteht. Auf zellulärer Ebene sind vor allem zwei Faktoren dafür verantwortlich: die räumliche Isolierung von Zellen und als Folge davon lokal veränderte Konzentrationen an Phytohormonen (vor allem Auxin und Cytokinin). Dieses Wissen hat nun dazu geführt, daß für viele Pflanzenarten - darunter befinden sich auch die meisten Kulturpflanzenarten - Systeme etabliert wurden, die über Zellkulturtechniken eine klonale Vermehrung dieser Pflanzen erlauben.

Die Induktion der Regeneration erfolgt in den meisten Fällen hormonell durch ein künstliches Nährmedium. Aus Gewebsexplantaten können mit Hilfe von Phytohormonen neue Sprosse regeneriert werden. Dabei bildet sich zunächst oft ein Kallusgewebe, also undifferenziertes Zellmaterial. Aus diesen Kalluszellen kommt es dann unter dem Einfluß von Pflanzenhormonen (in erster Linie Cytokinin) zur Regeneration von Sprossen.

Durch Veränderung der Hormonkonzentrationen kann man allerdings nicht nur Sproßwachstum, sondern auch Wurzelwachstum bewirken. Es entsteht ebenfalls zunächst Kallus, aus dem durch Zugabe von Auxinen Wurzeln regeneriert werden.

Die Regeneration geht von Einzelzellen aus

Die Regenerationsfähigkeit der Pflanzen wurde an immer kleineren Pflanzenteilen getestet, mit dem

Ziel, die *in-vitro*-Vermehrung zu optimieren. Schließlich konnten sogar einzelne Pflanzenzellen in Flüssigkultur vermehrt werden, sodaß sich aus den einzelnen Zellen solcher Suspensionskulturen wieder ganze Pflanzen entwickelten.

Die Zellbiologen gingen aber noch einen Schritt weiter: Es gelang, die starre Zellwand der Pflanzen durch Enzyme aufzulösen, ohne das Zellinnere, das Cytoplasma, zu zerstören. Es entstanden Protoplasten, die nach einigen Tagen wieder eine neue Zellwand bildeten, sich teilten, und wie normale Zellen regenerierfähig waren.

Aber nicht nur somatische Zellen, sondern auch generative Zellen sind in der Lage, ohne Befruchtung ganze Pflanzen zu regenerieren. Bei vielen Pflanzenarten sind es vor allem die männlichen Keimzellen (Pollen), die besonders leicht regenerieren können. Durch die Reduktionsteilungen enthält allerdings jede dieser Zellen im Unterschied zu den somatischen Zellen nur den einfachen Chromosomensatz, d.h. sie sind haploid. Auch die aus den Pollen regenerierten Pflanzen sind deshalb haploid.

Diese haploiden Pflanzen sind für die Züchtung von enormer Bedeutung, weil bei ihnen rezessive Merkmale sofort im Phänotyp erkennbar sind, da sie nicht von einem dominanten Merkmal überdeckt werden können. Ebenso wichtig ist allerdings auch, daß man den Chromosomensatz dieser Pflanzen durch das Mitosegift Colchicin wieder verdoppeln kann. Solche dihaploide Pflanzen sind in allen Genen homozygot, ein Zustand der bei der konventionellen Züchtung

erst nach vielen Generationen des Selbstens erreicht werden kann. Zusätzlich sind dihaploide Pflanzen im Gegensatz zu haploiden fertil und können deshalb in konventionellen Züchtungsprogrammen verwendet werden.

Eine weitere Zellkulturtechnik stellt die Erzeugung von somatischen Embryonen aus kultivierten Pflanzenzellen dar. Es war eine Sensation, als es Ende der fünfziger Jahre gelang, durch Entzug des Pflanzenhormons Auxin aus Karottenzellen somatische Embryonen zu regenerieren, die, wie normale Embryos aus Samen, zu Pflänzchen heranwuchsen. Es war übrigens ein Österreicher, nämlich der Botaniker Gustav Haberlandt, der bereits 1905 - ein halbes Jahrhundert vor dem experimentellen Beweis - in einer wissenschaftlichen Arbeit die Möglichkeit der somatischen Embryogenese postulierte.

Bei dieser Technik werden zunächst einmal Zellen bei relativ hohen Konzentrationen des Pflanzenhormons Auxin kultiviert. Danach wird die Auxin-Konzentration erniedrigt und in der Folge entstehen somatische Embryonen, wobei die dabei auftretenden Embryonalstadien große Ähnlichkeiten mit den Embryonalstadien bei der zygotischen Embryogenese aufweisen. Genauso wie bei der zygotischen Embryogenese nach der Befruchtung der Eizelle geht die Entwicklung bei der somatischen Embryogenese über ein globuläres und ein torpedoförmiges Embryonalstadium bis zur Entwicklung des fertigen Embryos, der unter geeigneten *in-vitro*-Bedingungen keimt und eine neue Pflanze aufbaut.

Die Zellkultur-Techniken stellen zwar für die praktische Züchtung wichtige Hilfsmittel mit einer oft deutlichen Zeitersparnis dar, sie haben aber zunächst nicht das Ziel, den Genpool einer Pflanzenart zu verändern. Vielmehr sollen durch eine vegetative Vermehrung identische Nachkommen erzeugt werden, die sich von der Ausgangspflanze nicht unterscheiden. Allerdings war es durch das Wissen, das man sich bei der Erforschung der Regenerationsvorgänge bei Pflanzen angeeignet hat, ein naheliegender Schritt, an die genetische Veränderung von Pflanzenzellen zu denken. Wir haben gesehen, daß die Regeneration einer Pflanze von einer einzelnen Zelle ausgehen kann. Die Zelle teilt sich, und gibt dabei ihre genetische Information an jede Zelle der Pflanze weiter, die aus ihr entsteht. Wenn man nun die Möglichkeit hat, diese regenerierende Zelle genetisch zu verändern, dann würden alle Zellen der regenerierten Pflanze die genetischen Veränderungen der Ausgangszelle aufweisen - eine Grundvoraussetzung für die Anwendung von gentechnischen Methoden in der modernen Pflanzenzüchtung.

Die DNA ist die vererbare genetische Substanz

Daß die beschriebenen Regenerationsleistungen bei Pflanzen überhaupt möglich sind, geht zurück auf ein Postulat, das von Schwann und Schleiden in den dreißiger Jahren des 19. Jhdts. formuliert wurde: Jede Zelle ist im Prinzip totipotent. Das heißt, daß jede einzelne Zelle eines Organismus die gesamte Information für den Aufbau dieses Organismus in sich

gespeichert hat. Während bereits im 19. Jhdt. Kernstrukturen im Mikroskop beobachtet wurden, konnten diese Zellkerne allerdings erst am Beginn des 20. Jhdts. als die Träger des vererbbaeren Materials identifiziert werden.

Zu bestimmten Zeiten des Zellzyklus, nämlich während der Teilungsphase, ist dieses genetische Material in der Form von Chromosomen sichtbar. Man dachte allerdings zunächst, daß, wenn hier die genetische Information für einen gesamten Organismus gespeichert ist, diese Strukturen biochemisch gesehen sehr komplex sein müßten. Es war deshalb zunächst enttäuschend, als man erkannte, daß Chromosomen nur aus zwei Stoffgruppen bestehen - aus Proteinen und aus Desoxyribonukleinsäure (DNA). Wenn man Chromosomen ihres Proteinanteiles entledigt, bleibt ein extrem langes, fadenförmiges DNA Molekül über, das z.B. in einer einzigen menschlichen Zelle ca. zwei Meter lang ist.

Aus Röntgenstrukturanalysen erkannte man, daß die DNA als gewundener Doppelstrang im Chromosom vorliegt und sprach deshalb auch von der DNA-Doppelhelix (Abb. 2). Sie besteht aus einem Zucker-Phosphat-Gerüst, dem Rückgrat der DNA, und einer Abfolge von vier Basen (Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin). Diese Basen sind räumlich in der DNA-Helix so gruppiert, daß sie nach innen zeigen und mit ihrer komplementären Base über Wasserstoffbrückenbindungen zu einem Paar verbunden sind. Durch diese Brückenbindungen zwischen den komplementären Basen Adenin/Thymin bzw. Guanin/Cytosin

werden die beiden DNA-Einzelstränge zu einer Doppelhelix verbunden.

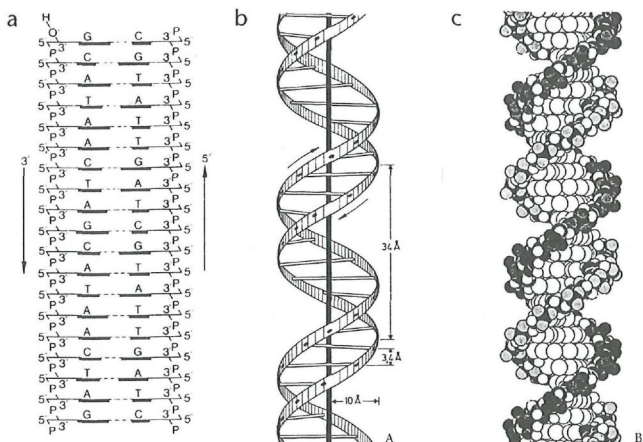


Abb.2: Strukturmodell der DNA: Die beiden Einzelstränge der DNA-Doppelhelix werden durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den nach innen zeigenden komplementären Basen zusammengehalten.

Mit der Entschlüsselung des genetischen Codes wurde klar, daß auch in einem so einfachen Molekül wie der DNA durch die wechselnde Abfolge von vier Basen in Basentriplets die gesamte Information für den Aufbau eines komplexen Organismus vermittelt werden kann.

Die in der DNA gespeicherte Information muß aber zuerst über verschiedene Zwischenschritte aufbereitet werden, bevor die operative Einheit der Gene, nämlich die Proteine, in der Zelle ihre Funktionen erfüllen können (Abb. 3). Es erfolgt dabei zunächst

eine Übersetzung in einsträngige messenger-RNA (mRNA), die dann an den Ribosomen in Polypeptidketten übersetzt wird. Dabei codiert jedes Basentriplett für bestimmte Aminosäuren, die von entsprechenden transfer-RNA-Molekülen (tRNA) für die Proteinsynthese zur Verfügung gestellt werden.

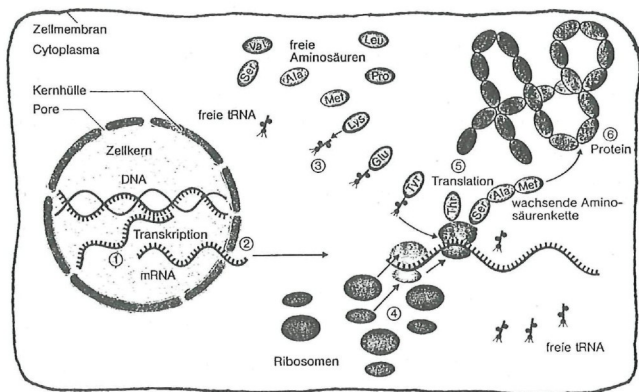


Abb.3: Protein-Biosynthese: Bei der Transkription wird zunächst die Nukleotidsequenz der DNA in die mRNA-Sequenz übersetzt. In einem nächsten Schritt kommt es an den Ribosomen zur Bildung der Proteine. Die mRNA wird dabei als "Lesematrize" verwendet, während tRNA-Moleküle die Aminosäuren für den Aufbau der Proteine zur Verfügung stellen.

DNA kann mit "molekularen Scheren" zerschnitten werden

Nachdem die Struktur der DNA aufgeklärt war, konnte der Aufbau der Gene und die darin gespeicherte Information erforscht werden. Man begann,

die DNA zu "manipulieren". Um dies bewerkstelligen zu können, muß zunächst einmal eine ausreichende Menge DNA vorhanden sein. Eine Möglichkeit, bestimmte DNA-Abschnitte in beliebiger Menge zur Verfügung zu stellen, ist z.B. durch das molekulare Klonieren gegeben. Von entscheidender Bedeutung dafür war die Entdeckung sogenannter Restriktionsendonukleasen. Diese Enzyme kommen in der Natur als Teil eines Abwehrmechanismus in Bakterien vor, um sich gegen die Invasion fremder DNA zu schützen. Diese Proteine binden spezifisch an doppelsträngige DNA und schneiden sie an bestimmten Stellen. Sie sind also nichts anderes als "molekulare Scheren" (Abb. 4). Man kennt heute sehr viele solcher Restriktionsendonukleasen die jeweils spezifische Basensequenzen in der DNA erkennen. Eine derartige Erkennungsstelle ist z.B. die palindromische Sequenz GAATTC, die von der Restriktionsendonuklease EcoRI erkannt wird. Das Enzym lagert sich an die DNA an und führt dann einen spezifischen Schnitt durch, der in diesem Fall überhängende Einzelstrang-Enden produziert.

Man kann sich nun vorstellen, daß man zwei DNA-Stücke mit dem gleichen Restriktionsenzym schneidet. Nach dem erfolgten Schnitt weisen diese DNA-Stücke komplementäre Enden auf, die sich leicht aneinanderlagern können, und mit bestimmten Enzymen verbunden werden können. Durch diese Technik ist es möglich, Hybrid-DNA-Moleküle zu erzeugen - eine Grundvoraussetzung für das molekulare Klonieren.

- 223 -

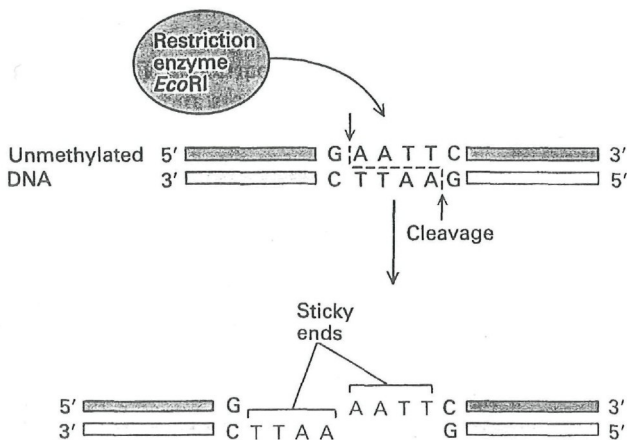


Abb.4: Funktionsweise der Restriktionsenzyme am Beispiel von EcoRI. Das Enzym erkennt die palindromische Sequenz GAATTC in doppelsträngiger DNA und führt einen Schnitt durch, wobei überhängende Einzelstrang-Enden gebildet werden.

Als Vehikel für die Aufnahme und Klonierung fremder DNA-Abschnitte verwendet man z.B. Plasmide. Das sind kleine ringförmige DNA-Moleküle, die in Bakterien vorkommen und dem Bakterium z.B. Resistenz gegen bestimmte Antibiotika verleihen können. Solche Plasmide können außerdem leicht an andere Bakterien weitergegeben werden.

Plasmide aus dem "Haustier der Molekularbiologen", dem Bakterium *Escherichia coli*, wurden genetisch verändert, um besser als Vehikel für die Klonierung fremder DNA geeignet zu sein. Sie bestehen im wesentlichen aus einem Resistenzmarker, der etwa Resistenz gegen das Antibiotikum Ampicillin verleiht,

einem Bereich mit Erkennungsstellen für verschiedene Restriktionsenzyme zum Einsetzen von fremden DNA-Fragmenten, sowie einem Marker, der es erlaubt, festzustellen, ob tatsächlich ein fremdes DNA-Stück in das Plasmid integriert ist oder nicht.

Bakterienzellen können zum Vermehren bestimmter DNA-Stücke verwendet werden

Beim molekularen Klonieren wird fremde DNA und Plasmid-DNA mit dem gleichen Restriktionsenzym geschnitten. Die Fremd-DNA-Fragmente können aufgrund der komplementären DNA-Enden leicht in die aufgeschnittene Plasmid-DNA ligiert werden - und es entsteht wieder eine ringförmige Plasmid-DNA, die nun das fremde DNA-Stück integriert hat. Bakterienzellen (ohne Plasmid, d.h. ohne Resistenz) werden daraufhin mit diesen rekombinanten Plasmiden transformiert - und auf einem Antibiotikum enthaltenden Medium kultiviert. Nur solche Zellen, die während der Transformation ein Plasmid erhalten haben sind nun resistent gegenüber dem Antibiotikum und können daher wachsen und sich teilen. Jede einzelne resistente Zelle wird so auf dem Nährmedium eine Kolonie ausbilden, wobei jede Einzelzelle dieser Kolonie ein Plasmid und damit auch ein und dasselbe Stück Fremd-DNA besitzt. Das molekulare Klonieren stellt also eine Möglichkeit dar, einen bestimmten DNA-Abschnitt, das kann z.B. ein Gen sein, das für ein bestimmtes Speicherprotein codiert, zig-tausendfach zu vermehren und damit einer genaueren Analyse oder Manipulation zuzuführen.

Fremd-DNA kann mit Hilfe eines Bodenbakteriums in Pflanzenzellen eingeschleust werden

Wenn man ein Gen kloniert hat, muß es im nächsten Schritt in eine Pflanzenzelle eingebracht werden. Und auch hier hat uns die Natur wieder gezeigt, wie das funktionieren kann.

Bei manchen Pflanzenarten findet man in der Natur mitunter krankhafte Wucherungen am Wurzelhals, den sogenannten Wurzelhalskrebs. Als Erreger dieser Krankheit wurde ein Bodenbakterium, nämlich *Agrobacterium tumefaciens* identifiziert. In seiner Wildform besitzt es ein Plasmid, wie viele andere Bakterien auch (Abb. 5). Dieses Plasmid wird als Ti-Plasmid (für Tumor-induzierendes-Plasmid) bezeichnet und beherbergt verschiedene Gene, die einerseits für den Transformationsvorgang selbst, aber auch für das Krankheitsbild an der Wirtspflanze verantwortlich sind. Dabei ist ein bestimmter DNA-Abschnitt, der als T-DNA (für Transfer-DNA) bezeichnet wird besonders interessant. Beim Infektionsvorgang wird nämlich diese T-DNA in die Wirtszelle übertragen und dort ins Genom integriert. Die Gene dieser fremden DNA werden dann wie die eigenen pflanzlichen Gene abgelesen und in die entsprechenden Proteine übersetzt. Es kommt also hier zu einem natürlichen Gentransfer von einem Mikroorganismus auf eine Pflanzenzelle.

Der biologische Sinn, der der Evolution dieses Gentransfers zu Grunde liegt, wird klar, wenn man weiß, welche Gene dabei in die Pflanzenzelle eingeschleust werden.

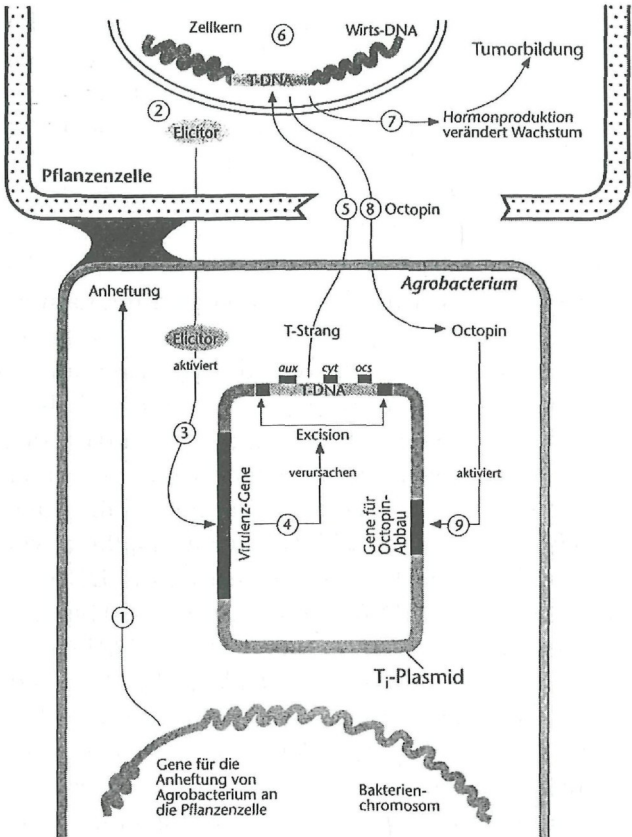


Abb.5: Pflanzentransformation durch *Agrobacterium*: Nach dem Anheften der Bakterienzelle an eine Pflanzenzelle wird die T-DNA des Ti-Plasmides mobilisiert und in die Kern-DNA der Wirtszelle eingebaut.

Auf dieser T-DNA sitzen Gene, die für Aminosäurederivate kodieren, und diese Aminosäurederivate dienen den Agrobakterien als Nahrungsquelle. Zusätzlich sind aber auch Gene auf dieser T-DNA vorhanden, die für Biosyntheseenzyme von Pflanzenhormonen kodieren. Für die transformierte Pflanzenzelle heißt das aber, daß diese Pflanzenhormone in der befallenen Zelle synthetisiert werden. Wie bereits bei den Zellkultur-Techniken erwähnt, bewirken diese Phytohormone, daß sich die transformierte Zelle teilt. Dabei wird auch die fremde DNA an die Tochterzelle weitergegeben. Diese produziert ihrerseits wieder Hormone, teilt sich deshalb wieder, und letztlich ist diese fortgesetzte Teilungsaktivität als Wurzelhalskrebs sichtbar.

Durch die Methoden der rekombinanten DNA ist es nun möglich, jene Gene aus der T-DNA herauszuschneiden, die die Zellwucherungen verursachen. Gleichzeitig bleibt aber die Virulenz dieser Bakterienstämme erhalten - sie können also nach wie vor Pflanzenzellen befallen. Die so modifizierten Bakterien können nun fremde DNA in ihre T-DNA aufnehmen, und diese fremde DNA in einem Transformationsexperiment in eine Pflanzenzelle übertragen. Dabei werden Blattstückchen mit den rekombinanten Agrobakterien kokultiviert. Die rekombinante T-DNA wird dabei auf die Pflanzenzellen übertragen. Wenn nun zusätzlich zum Gen, das wir übertragen wollen, noch ein weiteres Gen, das z.B. Resistenz gegen ein Antibiotikum verleiht, auf der modifizierten T-DNA vorhanden ist, können nur die transformier-

ten Zellen auf einem Medium überleben, das dieses Antibiotikum enthält. Das heißt, alle überlebenden Zellen enthalten das fremde DNA-Stück und können in weiterer Folge wieder Pflanzen regenerieren.

Ein Nachteil der Transformation durch Agrobakterien aus der Sicht der Biotechnologen ist, daß Agrobakterien nicht alle Pflanzenarten befallen können. Vor allem die züchterisch interessanten Gräser (z.B. Getreidearten) sind normalerweise nicht durch Agrobakterien transformierbar. Eine universelle Alternative existiert aber in der Form der biolistischen Transformation von Zellen. Dabei werden winzige Goldpartikel mit der zu transformierenden DNA beschichtet und mit Hilfe einer sogenannten DNA-Kanone in Zellen hineingeschossen. Sobald die fremde DNA einmal in der Zelle ist, kann sie ähnlich wie bei der Agrobakterien-Transformation ins Genom der Wirtszelle eingebaut und exprimiert werden.

Durch cDNA-Klonierung können DNA-Abschnitte vermehrt werden, die einem bestimmten Gen entsprechen

Auch wenn die Methodik des Gentransfers heute in vielen Labors als etablierte Technik bei vielen Pflanzenarten Verwendung findet, bleibt noch die Frage offen, wie man die Gene findet, die man transformieren will. Eine Möglichkeit besteht in der cDNA-Klonierung (cDNA für komplementäre DNA). Dabei arbeitet der Molekularbiologe den genetischen Informationsfluß - von der DNA über die RNA zum Protein - rückwärts. In der Zelle wird die genetische

Information zunächst in ein mRNA-Molekül übersetzt, bevor das Protein gebildet wird. Wenn man weiß, daß ein bestimmter Zelltyp ein Protein produziert, dann werden diese Zellen auch hohe Konzentrationen der entsprechenden mRNA aufweisen. Man kann aus diesen Zellen die mRNA isolieren, und sie mit dem Enzym "reverse Transkriptase" in die DNA zurückübersetzen. Über verschiedene Zwischenschritte wird diese cDNA wieder in einen Vektor kloniert. Durch diese Technik ist es möglich, einen DNA-Abschnitt zu klonieren, der dem Informationsgehalt eines bestimmten Gens entspricht. Auf diese Weise kann man aber auch gesamte molekulare Genbanken eines Organismus - also die Gesamtheit aller exprimierter Sequenzen - in Bakterien herstellen.

Die große Verlockung in der Biotechnologie besteht in der Möglichkeit, nicht nur wie bei der klassischen Züchtung Gene von sexuell kreuzbaren Partnern zusammenzuführen, sondern Gene zu isolieren und zu kombinieren, die auf sexuellem Weg nicht vereinbar sind. Das heißt, daß mit der Gentechnik die Möglichkeit geschaffen wurde, Artgrenzen zu überspringen. Aber mehr noch, auf Grund der Universalität des genetischen Codes steht dem Gentechniker im Prinzip die gesamte Biologie als Material zur Verfügung. Die meisten Gene, die zur Zeit in Transformationsexperimenten verwendet werden, stammen von Mikroorganismen - einfach aus dem Grund, weil sich Mikroorganismen schneller teilen und bestimmte Gene schneller gefunden werden können. Zusätzlich ist es leichter, eine bestimmte

DNA-Sequenz aus einem genetisch einfacheren Organismus zu isolieren.

Mit Hilfe der Gentechnik ist es aber auch möglich, direkt in die Funktionsmechanismen einzelner Gene einzugreifen. Und damit schließt sich der Kreis und wir kommen zurück an den Anfang, zum ersten gentechnisch veränderten Lebensmittel, der Anti-Matsch-Tomate. Hier wurde ein DNA-Stück ins Genom der Tomate eingesetzt, das komplementär zur DNA-Sequenz des Gens ist, das für das Weichwerden des Fruchtfleisches beim Reifungsvorgang verantwortlich ist. Durch die komplementäre DNA wird die Übersetzung dieses Gens in das entsprechende Protein gestört. Der Effekt ist, daß diese Tomaten zwar normal ausreifen, das Fruchtfleisch aber länger fest bleibt.

Unabhängig von ethischen Überlegungen über die Vertretbarkeit der Anwendung der Gentechnik bei der Produktion unserer Nahrungsmittel wird die Zukunft zeigen, welchen praktischen Nutzen uns die Gentechnik tatsächlich bringen kann. Das Verarbeiten der Anti-Matsch-Tomate zu Ketchup wird wohl nicht der Weisheit letzter Schluß sein.

Literaturhinweise:

HEBERLE-BORS E. (1996): Herausforderung Gentechnik. Holzhausen, Wien.

RUSSELL P.J. (1992): Genetics. Harper-Collins Pub. Inc., NY.

STRYER L. (1995): Biochemistry. Freeman and Company, NY.

DARNELL J.: Molecular Cell Biology. Scientific Books, NY, 1995

Anschrift des Verfassers:

Dr. Martin Pfosser

Institut für Mikrobiologie und Genetik

Vienna Biocenter

Dr. Bohr-Gasse 9

A-1030 Wien

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Schriften des Vereins zur Verbreitung naturwissenschaftlicher Kenntnisse Wien](#)

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [135_136](#)

Autor(en)/Author(s): Pfosser Martin

Artikel/Article: [Pflanzenbiotechnologie. 211-231](#)