



UNTERRICHTSMATERIAL GENTECHNIK

AUFGABE 2

AUSWAHL DER GENE ZUR HERSTELLUNG EINER TRANSGENEN PFLANZE

Hinweise für die Lehrperson, Lösungen

Lernziele

Die Schüler/innen ...

- können die Zusammensetzung eines Genkonstrukts beschreiben: Promotor - Markergen - Promotor - interessierendes Gen (hier: Resistenzgen).
- erläutern, welche speziellen Informationen aus den verschiedenen Untersuchungsschritten mit den transgenen Pflanzen gewonnen werden können.

Vorwissen

- der Ablauf von Transkription und Translation
- bekannte Begriffe: Markergen, Resistenzgen, Promotor, Atmungskette, Enzym

Lösungen zur Aufgabe A

- Das Genkonstrukt B „ $P_{TOTAL} - G_{MANNOSE} - P_{PILZ} - G_{KP}$ “ ist das geeignetste.
Begründung:
Der Promotor des Markergens ist bereits in den undifferenzierten Embryo- bzw. Kalluszellen aktiv. Es wird somit schon zu diesem Zeitpunkt ein Genprodukt gebildet, welches das Wachstum der transformierten Zellen auf einem Mannosehaltigen Medium erlaubt.
Der Promotor vor dem KP-Gen wird durch Pilzbefall aktiviert. Es wird somit spezifisch in den befallenen Zellen das KP-Protein gebildet, welches das Pilzwachstum hemmt.
- Beim Genkonstrukt A „ $P_{BLATT} - G_{HERBIZID} - P_{TOTAL} - G_{CHITINASE}$ “ muss der Promotor des Markergens (P_{BLATT}) ersetzt werden. Dieser Promotor ist nur in Blättern aktiv, aber nicht in undifferenzierten Zellen. Die transformierten Embryozellen könnten somit nicht auf einem Nährboden überleben, der das entsprechende Pflanzenschutzmittel enthält. Zur Optimierung des Genkonstrukts sollte anstelle von P_{BLATT} der Promotor P_{TOTAL} gewählt werden.
- Beim Genkonstrukt C „ $P_{TOTAL} - G_{ANTIBIOTIKA} - P_{TOTAL} - G_{ATMUNG}$ “ besteht das Problem darin, dass das Genprodukt von G_{ATMUNG} ein Enzym der Atmungskette hemmt. Es schädigt somit nicht nur den Pilz, sondern auch die Pflanze. Pflanzenzellen, in denen dieses Genprodukt ständig gebildet wird (was beim Promotor P_{TOTAL} der Fall

ist), sind somit gar nicht überlebensfähig. Das Genkonstrukt kann auf zweierlei Weise optimiert werden: (a) Man ersetzt G_{ATMUNG} durch das Gen G_{KP} oder $G_{\text{CHITINASE}}$. (b) Man ersetzt den Promotor von G_{ATMUNG} (P_{TOTAL}) durch P_{PILZ} . Die Pflanzenzellen würden somit nur dann absterben, wenn sie vom Pilz befallen sind. Dadurch verhindern sie eine Ausbreitung des Pilzes. Dieser Mechanismus wird auch als „hypersensitive Reaktion“ bezeichnet.

Weitergehende Informationen für Lehrpersonen zu einigen Promotoren und Genen

P_{BLATT}	Dieser Promotor in Verbindung mit einem Chitinase-Gen würde sich dazu eignen, bei einer Pflanze einen Rostpilzbefall zu verhindern. Rostpilze infizieren eine Pflanze unter anderem über die Blätter.
P_{TOTAL}	Man kennt heute mehrere Promotoren dieser Art. Der Vorteil ist, dass einige von ihnen gut untersucht sind und zu einer hohen Transkriptionsrate führen. Der Nachteil ist, dass das Protein auch in Zellen produziert wird, in denen es nicht benötigt wird. Dies stellt für die Pflanze möglicherweise eine zusätzliche Belastung dar und wird von den Konsumenten meistens nicht gewünscht.
P_{PILZ}	Ob heute bereits solche Promotoren in transgenen Pflanzen eingesetzt werden, entzieht sich unserer Kenntnis. Wichtig ist jedoch, dass diese Promotoren sehr schnell auf Pilzbefall reagieren und die Transkription des nachfolgenden Gens veranlassen. Auf Mykorrhiza-Befall sollten die Promotoren jedoch nicht reagieren, so dass die Transkription des nachfolgenden Gens ausbleibt.
$G_{\text{ANTIBIOT.}}$	<p>In der Öffentlichkeit bestehen Bedenken, dass Bakterien dieses Resistenzgen aus den gentechnisch veränderten Pflanzen aufnehmen und es hinter einen bakteriellen Promotor einbauen könnten. Die Bakterien könnten dann das dazugehörige Genprodukt produzieren und wären resistent gegenüber dem entsprechenden Antibiotikum. Problematisch wird es dann, wenn es sich bei diesen Bakterien um Krankheitserreger handelt. Dieser Vorgang, der sogenannte „horizontale Gentransfer“, ist sehr selten und konnte bis heute noch nicht unter natürlichen Bedingungen nachgewiesen werden.</p> <p>Sehr viel einfacher als eine Genübertragung von Pflanzen zu Bakterien erfolgt eine Genübertragung von einem Bakterium auf ein anderes. Da Antibiotikums-Resistenzgene ursprünglich aus Bakterien stammen, konnten diese Gene bereits seit Langem zwischen verschiedenen Bakterien ausgetauscht werden. Obwohl Antibiotikums-Resistenzgene den Bakterien im Boden keinen Überlebensvorteil bringen, so sind sie trotzdem in einigen von ihnen vorhanden. In 1 Gramm Erde kommen beispielsweise 10 000 Bakterien vor, die natürlicherweise unempfindlich gegenüber Ampicillin sind.</p>



UNTERRICHTSMATERIAL GENTECHNIK

AUFGABE 2

AUSWAHL DER GENE ZUR HERSTELLUNG EINER TRANSGENEN PFLANZE

G_{HERBIZID}	Eine generelle Befürchtung ist, dass sich die gentechnisch veränderten Pflanzen mit Wildpflanzen auskreuzen und das Herbizid-Resistenzgen an letztere weitergeben könnten. Dann wären die Wildpflanzen mit dem entsprechenden Pflanzenvernichtungsmittel nicht mehr zu bekämpfen. Sie lassen sich aber trotzdem noch mit anderen Herbiziden bekämpfen. Im Fall von Weizen ist die Gefahr einer Auskreuzung mit Wildpflanzen für Mitteleuropa sehr gering. Die nächste wilde Verwandte von Weizen ist Aegilops. Aegilops kommt jedoch nördlich der Alpen nicht vor.
G_{MANNOSE}	Dieses Markergen wird zur Zeit als sehr wenig umweltschädigend eingestuft. Allerdings befinden sich zur Zeit noch keine Pflanzen auf dem Markt, in die dieses Markergen eingebaut wurde. Es ist insofern noch nicht so gut getestet wie z.B. ein Herbizid-Resistenzgen.
$G_{\text{CHITINASE}}$	In Verbindung mit dem P_{TOTAL} -Promotor würde die Chitinase in allen Zellen gebildet werden. Ob sich dies negativ auf symbiotische Pilze, wie z.B. Mykorrhizapilze, auswirkt, ist unseres Wissens noch nicht geklärt.



UNTERRICHTSMATERIAL GENTECHNIK

AUFGABE 2

AUSWAHL DER GENE ZUR HERSTELLUNG EINER TRANSGENEN PFLANZE

Lösungen zu Aufgabe B

- a) Versuch A) ist notwendig, um sicher zu sein, dass das Genkonstrukt vollständig in das Erbgut der Embryozellen eingebaut wurde. Es kann nämlich passieren, dass nur ein Teil des Genkonstrukts, z.B. nur das Markergen, in das Erbgut integriert wird.
- b) Versuch B) ist notwendig, um sicher zu sein, dass das Pilzresistenzgen auch funktioniert und ein entsprechendes Genprodukt in Form eines Proteins gebildet wird. Hinweis für die Lehrperson: Durch Methylierung könnte das Gen z.B. inaktiviert werden.
- c) Eine Pilzinfektion ist notwendig, um sicher zu sein, dass das Genprodukt in den transgenen Pflanzen auch funktionsfähig ist und zu einem reduzierten Pilzbefall führt.
- d) Auf Markergene kann man nicht verzichten, da die Transformationsrate bei Kulturpflanzen zur Zeit noch relativ niedrig ist. Es wäre sehr arbeitsaufwändig, alle Pflanzen, die sich aus den zahlreichen beschossenen Embryonen entwickelt haben, auf das Vorhandensein des Pilzresistenzgens und des entsprechenden Proteins zu untersuchen.
Wenn man ganze Embryonen mit der Gen-Kanone beschiesst, kann man auf den Selektionsschritt mit Markergenen nicht verzichten. Dieser Selektionsschritt bewirkt, dass sich die neuen Pflanzen nur aus solchen Zellen entwickeln, die das Markergen auch wirklich aufgenommen haben. Entfällt dieser Selektionsschritt, bestehen die neuen Pflanzen sowohl aus gentechnisch veränderten als auch aus unveränderten Embryozellen. Es handelt sich somit um Chimären.