



Für interessierte Laien

Stellungnahme der ZKBS zur Bewertung des „Blue Genes“-Experimentierkastens des Fonds der Chemischen Industrie

Der „Blue Genes“-Experimentierkasten enthält Anleitungen und Lehrmaterial, um Schüler mit anschaulichen Versuchen an grundlegende Methoden der Molekularbiologie heranzuführen. Zu dem Lehrmaterial gehören Gerätschaften, Reagenzien, Enzyme, der Vektor¹ pBR322 und transformationskompetente² Zellen des sicheren Bakterienstammes *Escherichia coli* K12. Die Experimente sind in der beiliegenden Anleitung genau und gut nachvollziehbar beschrieben.

Ein Nukleinsäureabschnitt aus *E. coli*, der die Information zur Bildung des Enzyms β -Galaktosidase (*lacZ*-Gen) trägt, wird im Reagenzglas mit Hilfe von Enzymen in das Tetrazyklin-Resistenzgen³ des Vektors pBR322 eingesetzt, wodurch das Resistenzgen inaktiviert wird. Das Konstrukt wird dann in den Empfängerorganismus⁴ *E. coli* K12 übertragen, der kein funktionsfähiges *lacZ*-Gen enthält, und die Bakterien werden auf Agarplatten ausgestrichen. Zur Selektion der Bakterien, die das Konstrukt aufgenommen haben, werden das Ampicillin-Resistenzgen des Vektors und die enzymatische Aktivität des *lacZ*-Gens genutzt. Diese Bakterien sind gegenüber dem Antibiotikum Ampicillin resistent und färben sich auf einem bestimmten Nährboden blau.

Die ZKBS hat die Experimente mit dem „Blue Genes“-Experimentierkasten fachlich bewertet und ist zu der Auffassung gelangt, dass sie kein Gefährdungspotenzial enthalten. Dies begründet sich folgendermaßen:

Das Vektor-Empfängersystem (pBR322 / *E. coli* K12) gilt als besonders sicher. Es ist nach dem Gentechnikrecht als biologische Sicherheitsmaßnahme anerkannt und als solche im Anhang II der Gentechnikrichtlinienverordnung aufgeführt. Es erfüllt die dafür notwendigen Anforderungen.

1. Der Empfängerorganismus *E. coli* K12

- ruft keine Krankheiten hervor;
- ist ein wissenschaftlich ausführlich beschriebener und taxonomisch eingeordneter Laborbakterienstamm;
- ist nur im Labor dauerhaft vermehrbar und überlebensfähig, nicht aber unter Umweltbedingungen;
- kann sich nicht mehr im Darm etablieren, dem für *E. coli* natürlichen Lebensraum;
- kann nur mit nahe verwandten Bakterien in geringem Umfang genetisches Material austauschen.

2. Der Vektor pBR322



- ist umfassend charakterisiert. Er wurde aus Nukleinsäureabschnitten dreier natürlich vorkommender Plasmide zusammengesetzt. Diese kodieren für das Tetrazyklin-Resistenzgen, das Ampicillin-Resistenzgen und die für die Replikation⁵ notwendige Region. Er ist seit den Anfängen der Anwendung gentechnischer Methoden in Gebrauch und bildet das Grundgerüst für die meisten pro- und eukaryoten Vektoren. (pBR322 ist auch in der Liste schulgeeigneter Vektor-Empfänger-Systeme des Entwurfs „Richtlinien zur Sicherheit im naturwissenschaftlichen Unterricht“ Teil Biologie, Versuche mit Mikroorganismen, der Kultusministerkonferenz (KMK-Richtlinien) aufgeführt.)
- Die Mobilisierbarkeit⁶ des Vektors von *E. coli* K12 auf andere verwandte Bakterien (z.B. solche des Darms) ist stark eingeschränkt, weil pBR322 die dafür notwendigen genetischen Informationen (Transferegene und Mobilisierungsgene) fehlen.
- pBR322 repliziert nur in *E. coli* und sehr nahe verwandten Bakterien und besitzt dadurch einen begrenzten Wirtsbereich⁷.

Das Vektor-Empfängersystem ist nach langjähriger Erfahrung sicher und ohne Gefährdungspotenzial. Der jahrzehntelange therapeutische Einsatz von Antibiotika, von denen gegenwärtig der größere Teil in der Humanmedizin, der geringere in der Veterinärmedizin und als Futtermittelzusatz verwendet wird, hat zu einer starken Verbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien geführt⁸. Diese sind in hohem Maße in den Fäkalien nachweisbar und gelangen von dort ins Abwasser⁹. In einer Studie über das Vorkommen von antibiotikaresistenten coliformen Bakterien in der Fäkalflora gesunder Menschen konnten in 75,3% der Stuhlproben Tetracyclin-resistente coliforme Bakterien nachgewiesen werden¹⁰. Das auf dem Vektor pBR322 liegende Ampicillin-Resistenzgen kodiert für die weit verbreitete TEM-1 β -Laktamase, die von 15 bis 30% der *E. coli*-Stämme der Dickdarmflora jedes gesunden Menschen gebildet wird. Nach Untersuchungen von Kresken et al.¹¹ besitzen etwa 35% der klinischen *E. coli*-Isolate heute eine Ampicillin-Resistenz und diese ist überwiegend durch den β -Laktamasetyp TEM-1 bedingt. Auch konnte gezeigt werden, dass Ampicillin-Resistenzen bei *E. coli*-Isolaten von Rindern und Schweinen in etwa 74 % aller Proben auftreten.

Selbst wenn unbeabsichtigt Plasmid-haltige Bakterien aus Versuchen direkt ins Abwasser gelangen sollten oder erst nach versehentlicher oraler Aufnahme und einem nicht zu erwartenden Überleben der Darmpassage, dann würden diese Bakterien keine erkennbare Erhöhung der resistenten Keime im Abwasser darstellen.

Die Versuche mit dem „Blue Genes“-Experimentierkasten sind nach den Begriffsbestimmungen des § 3 Nr. 3 des Gentechnikgesetzes nicht als Verfahren der Veränderung genetischen Materials anzusehen, weil Nukleinsäureabschnitte aus einem nichtpathogenen, natürlich vorkommenden Organismus entfernt und anschließend in denselben Organismus wieder eingeführt werden und ein Vektor benutzt wird, der bereits seit langer Zeit sicher angewendet wird. Da die Versuche in einem sog. geschlossenen System, d.h. einem geeigneten Experimentierraum, durchgeführt werden und die Freisetzung oder das Inverkehrbringen der erzeugten Bakterien nicht vorgesehen sind, führen die Versuche mit dem „Blue Genes“ Experimentierkasten nicht zu gentechnisch veränderten Organismen im Sinne des Gentechnikgesetzes.

Im Rahmen der guten Laborpraxis und aus didaktischen Gründen sollten die beim Einsatz des „Blue Genes“ Experimentierkastens in der Schule erzeugten Bakterien, die sich in flüssigem oder festem Medium befinden können, wie in der Anleitung (S. 10) vorgesehen, durch Kochen (oder Autoklavieren) vor der Entsorgung inaktiviert werden.



-
- ¹ Biologischer Träger, z.B. ein Plasmid (ringförmiges DNA-Molekül, das in Bakterien als extrachromosomales Element vorkommt) mit dessen Hilfe Nukleinsäurefragmente in eine Zelle eingeführt werden.
 - ² Die Bakterien sind vorbehandelt, damit sie nackte DNA aufnehmen können.
 - ³ Genetische Information, die einem Bakterium Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Tetrazyklin verleiht.
 - ⁴ Organismus, in den die fremde Nukleinsäure eingeführt wird.
 - ⁵ Durch zelleigene Enzyme gesteuerte Synthese einer Kopie eines DNA-Moleküls.
 - ⁶ Für die eigenständige Beweglichkeit eines Plasmids von einer Zelle zur anderen (sog. Konjugation) sind auf der Plasmid-DNA kodierte sog. Transfergene und Mobilisierungsgene verantwortlich (konjugatives Plasmid). Fehlen die Transfergene kann das Plasmid von sich aus nicht mehr in eine andere Zelle gelangen (nicht-konjugatives Plasmid). Werden die fehlenden Transferfunktionen jedoch über ein zweites in der Zelle vorhandenes konjugatives Plasmid gestellt, kann das nicht-konjugative Plasmid wieder in andere Zellen gelangen, sofern es über die Mobilisierungsgene verfügt. Dieses Phänomen wird als Mobilisierbarkeit bezeichnet.
 - ⁷ Bakterienspezies, in denen Plasmide replizierbar sind.
 - ⁸ Teuber, M. (2001): Antibiotikaresistente Bakterien in Lebensmitteln. Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittelhygiene 92:10-27
 - ⁹ Feuerpfeil, I. et al. (1999): Antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotika in der Umwelt. Bundesgesundheitsblatt 42:37-50
 - ¹⁰ Feuerpfeil, I. und Stelzer, W. (1992): Das Vorkommen von antibiotikaresistenten coliformen Bakterien in der Darmflora des Menschen. Bundesgesundheitsblatt 35:61-65
 - ¹¹ Kresken, M. et al. (1999): Zeitliche Entwicklung der Antibiotikaresistenz bei klinisch wichtigen Bakterienspezies in Mitteleuropa. Bundesgesundheitsblatt, 42:17-25