

Einführung in die Gentechnologie

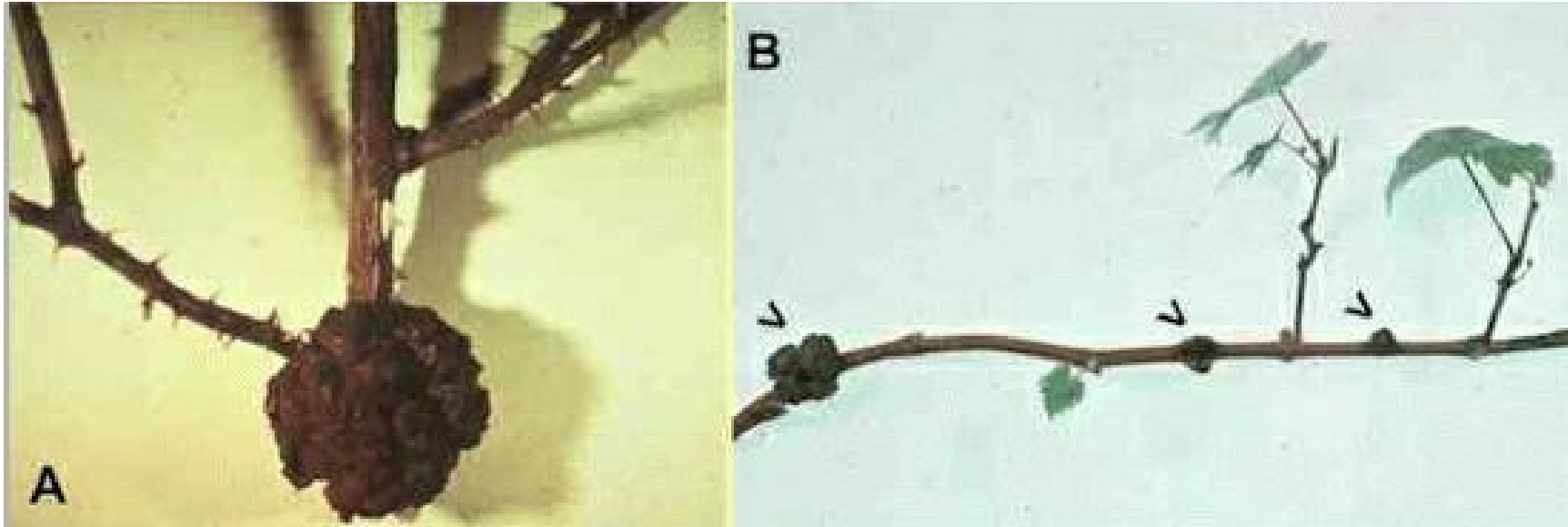
Erwin R. Schmidt

- Vorlesung # 7
- 27. 05. 2008

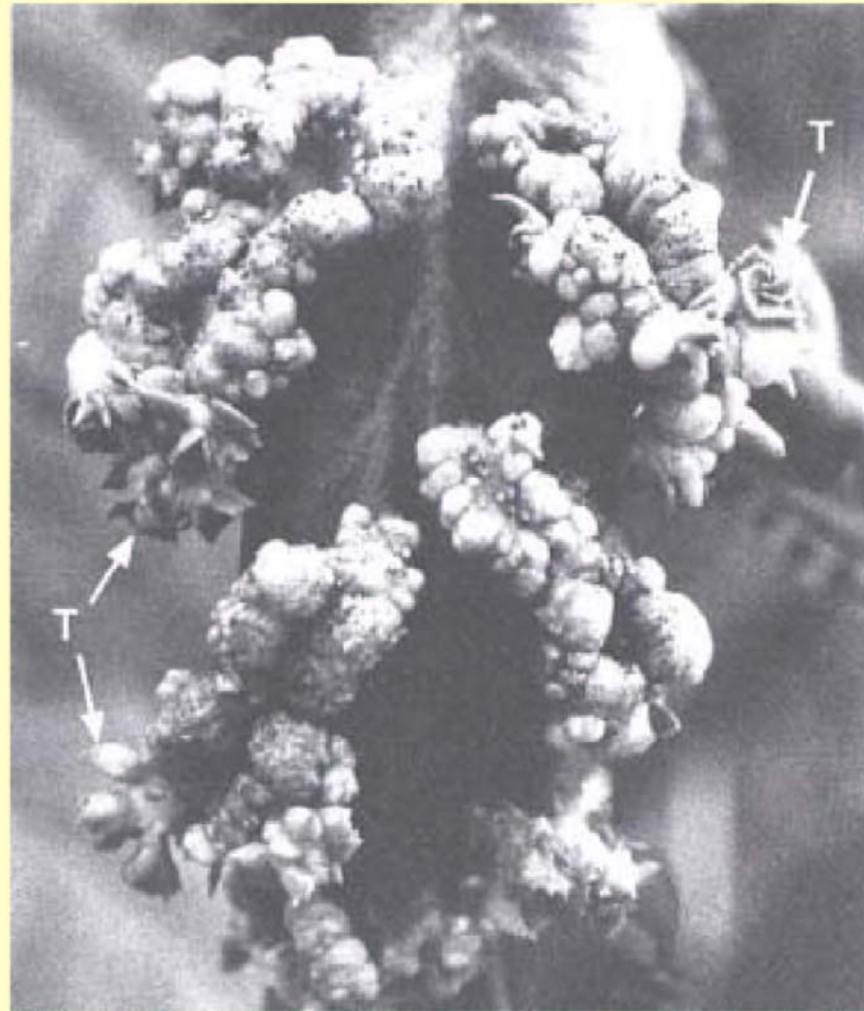
Pflanzengentechnologie

Ein natürlicher Helfer für die
Pflanzengentechnologie ist das Bakterium

Agrobacterium tumefaciens
Tumorgallen durch *A. tumefaciens*

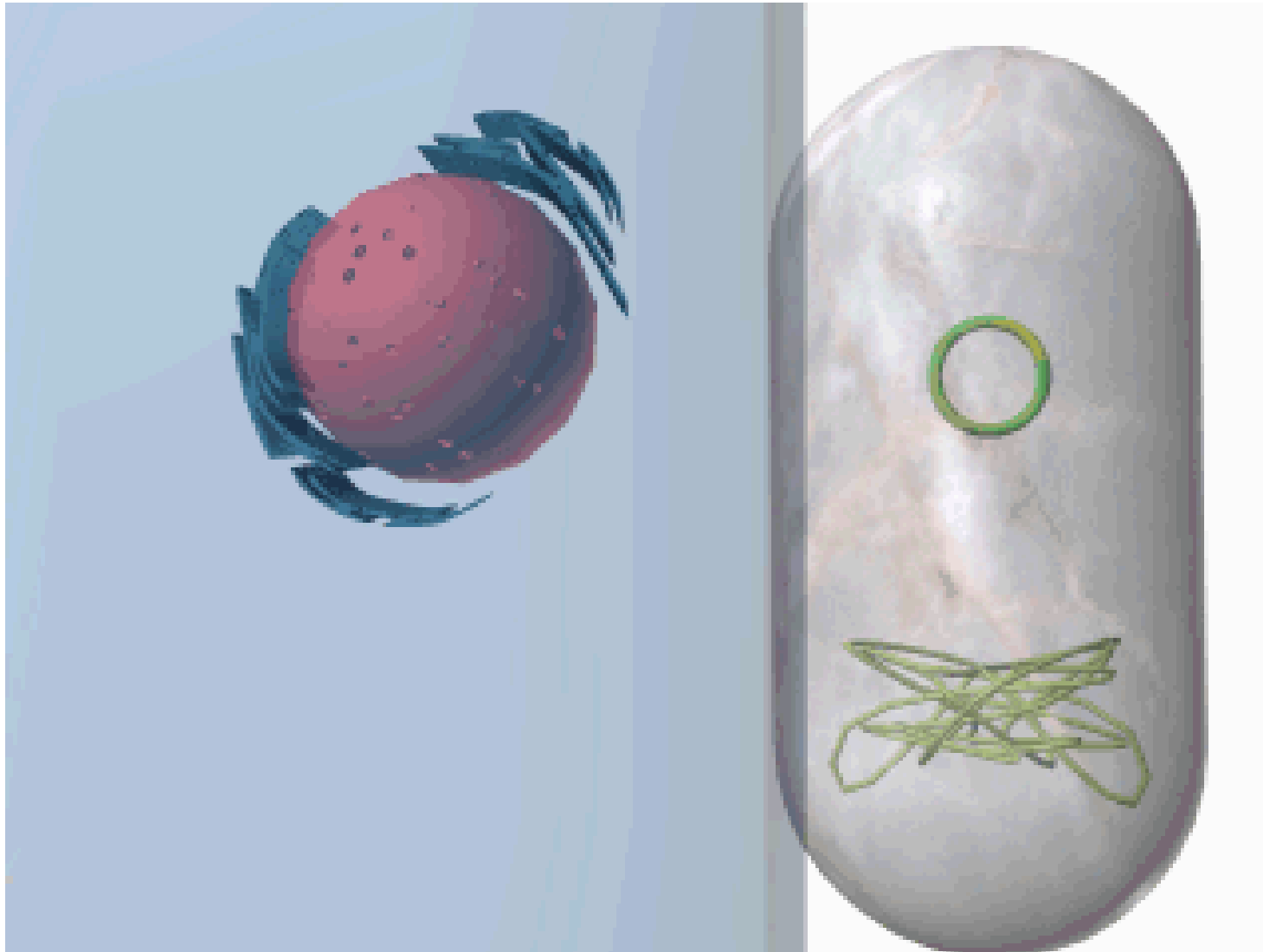


Pflanzentumoren durch *A. tumefaciens*



Pflanzengentechnologie

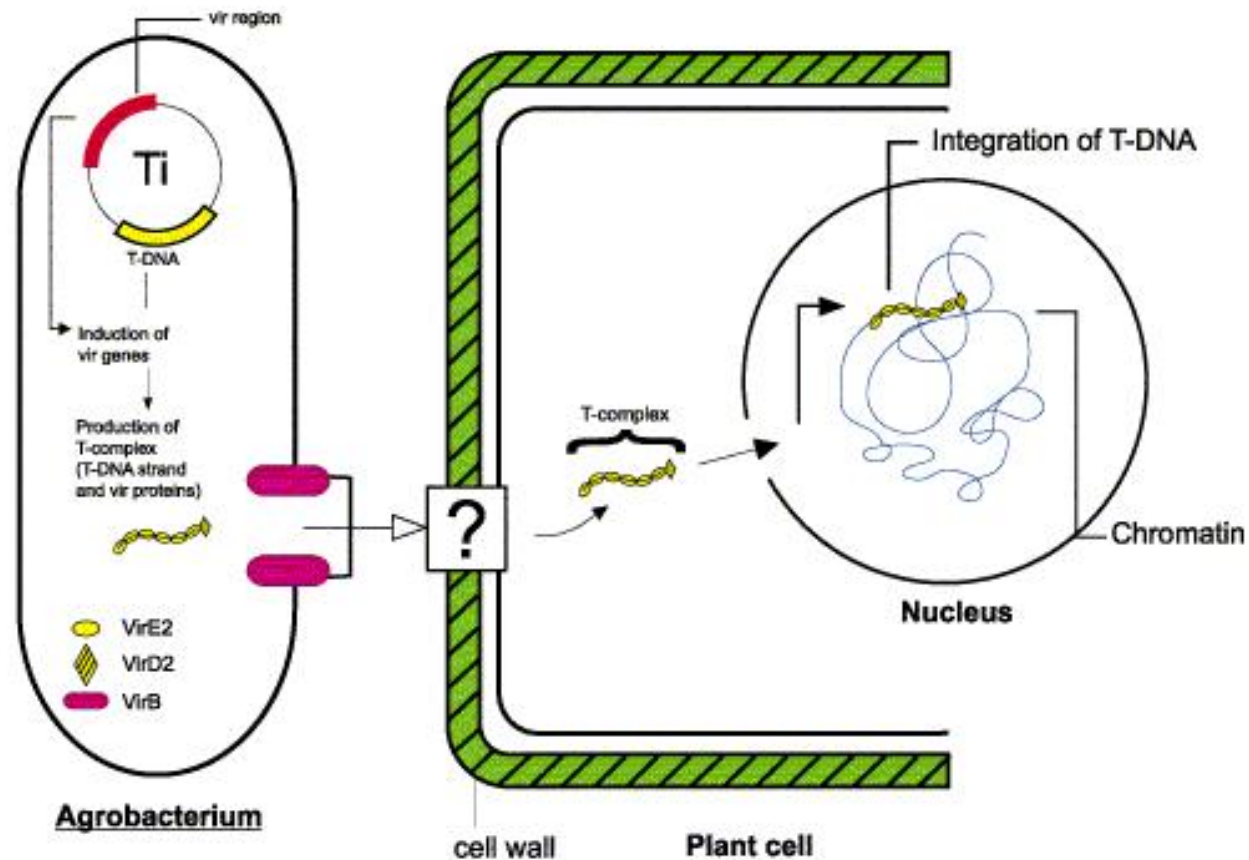
- A. tumefaciens injiziert die T-DNA in die Pflanzenzelle, um sie zu mehr Wachstum anzuregen



Pflanzengentechnologie

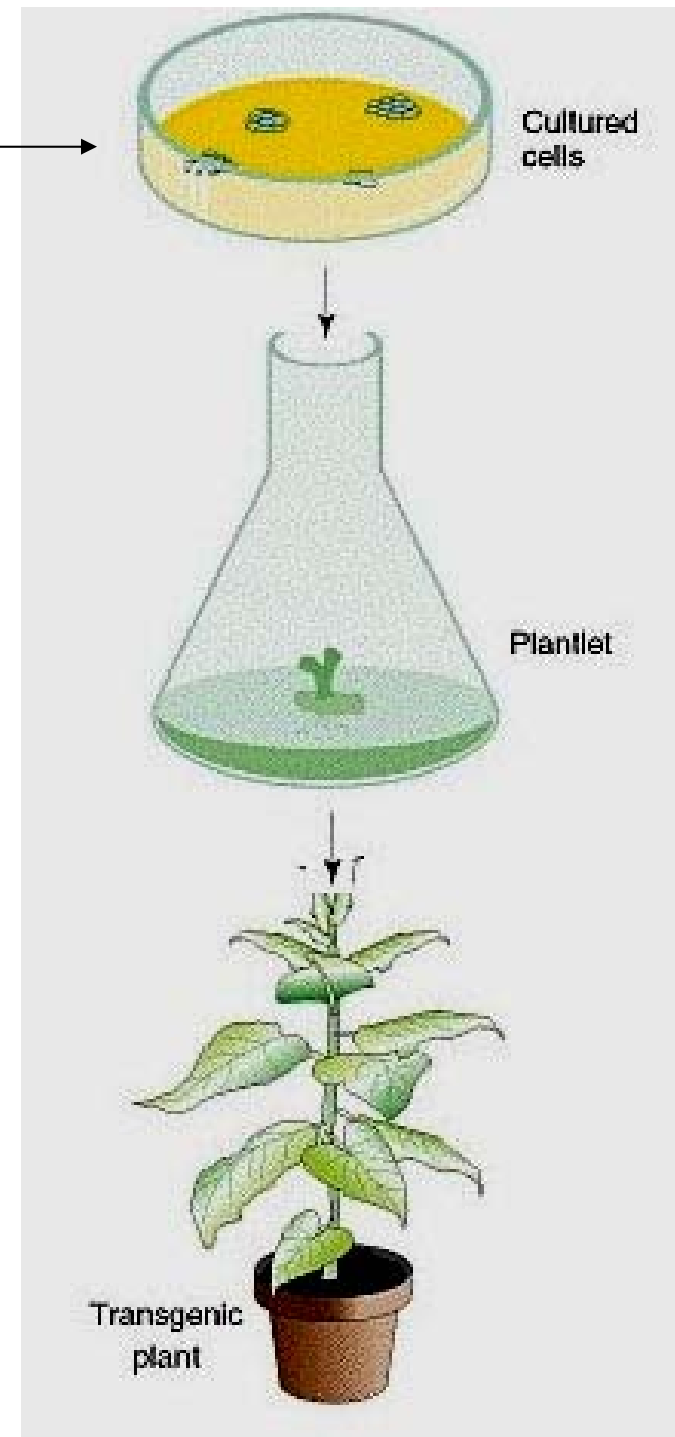
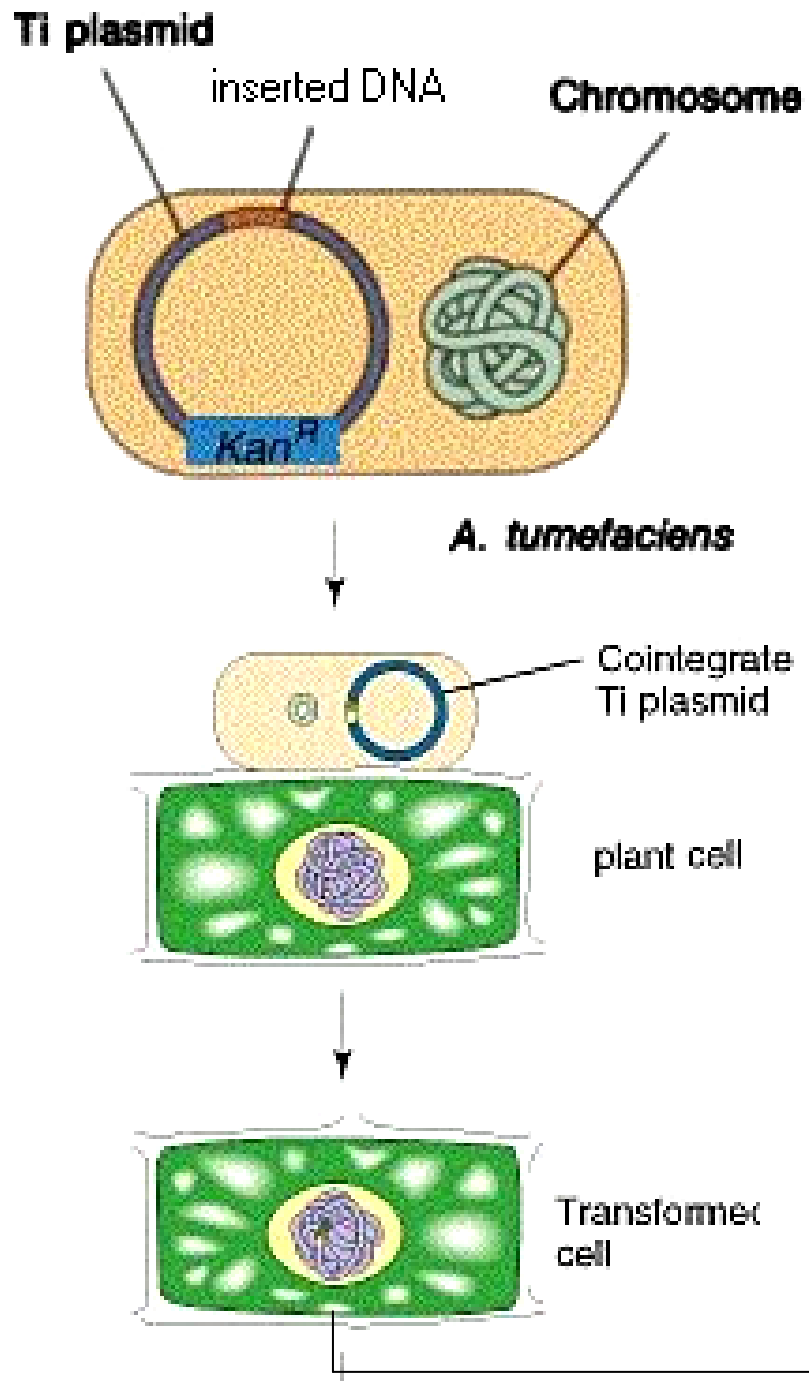
DNA-Transfer mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens*

<http://www.sciencemag.org/cgi/reprint/294/5550/2317.pdf>

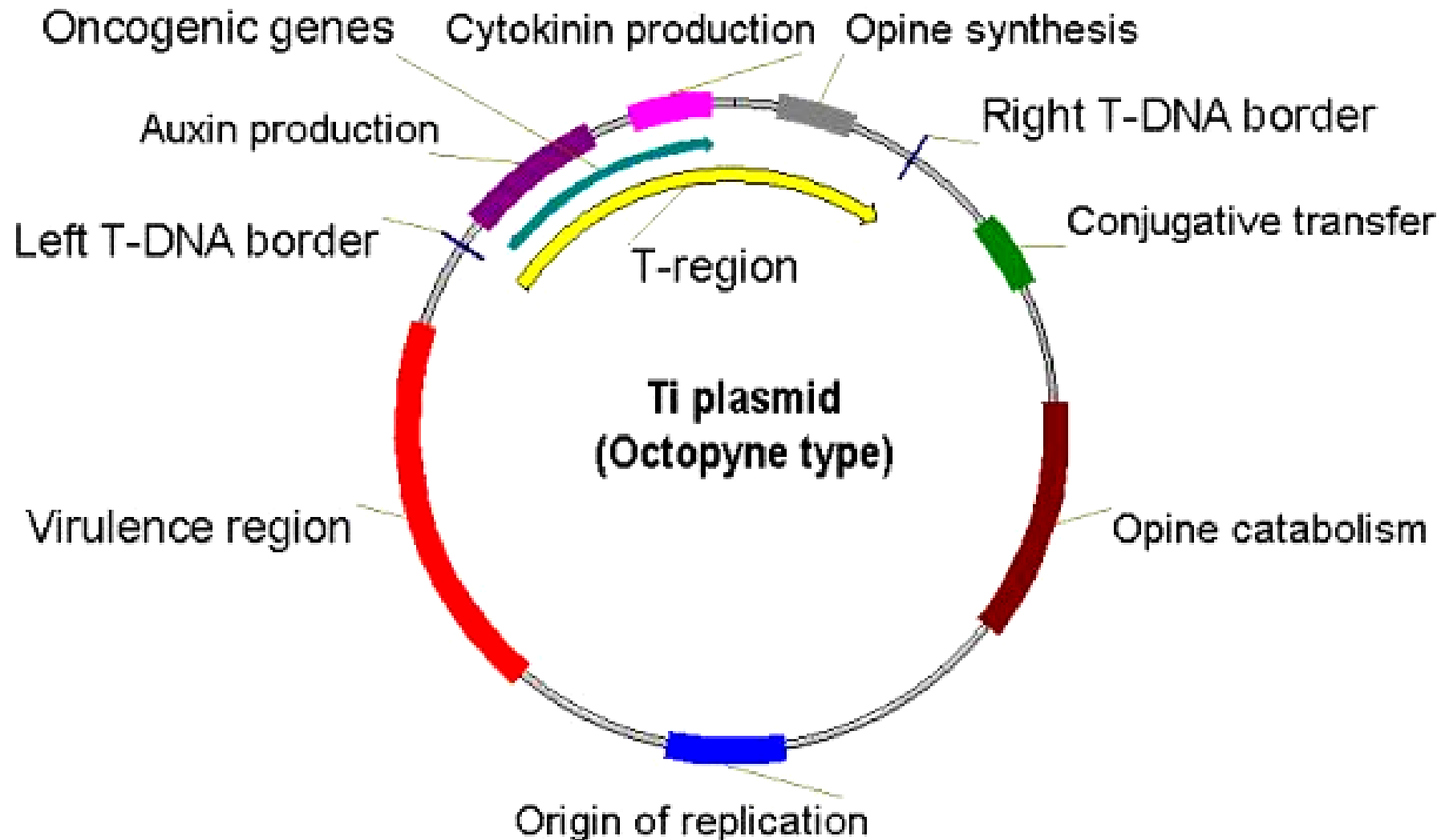


T-DNA transfer into the Plant's Genome

Adapted from Zupan et al 2000

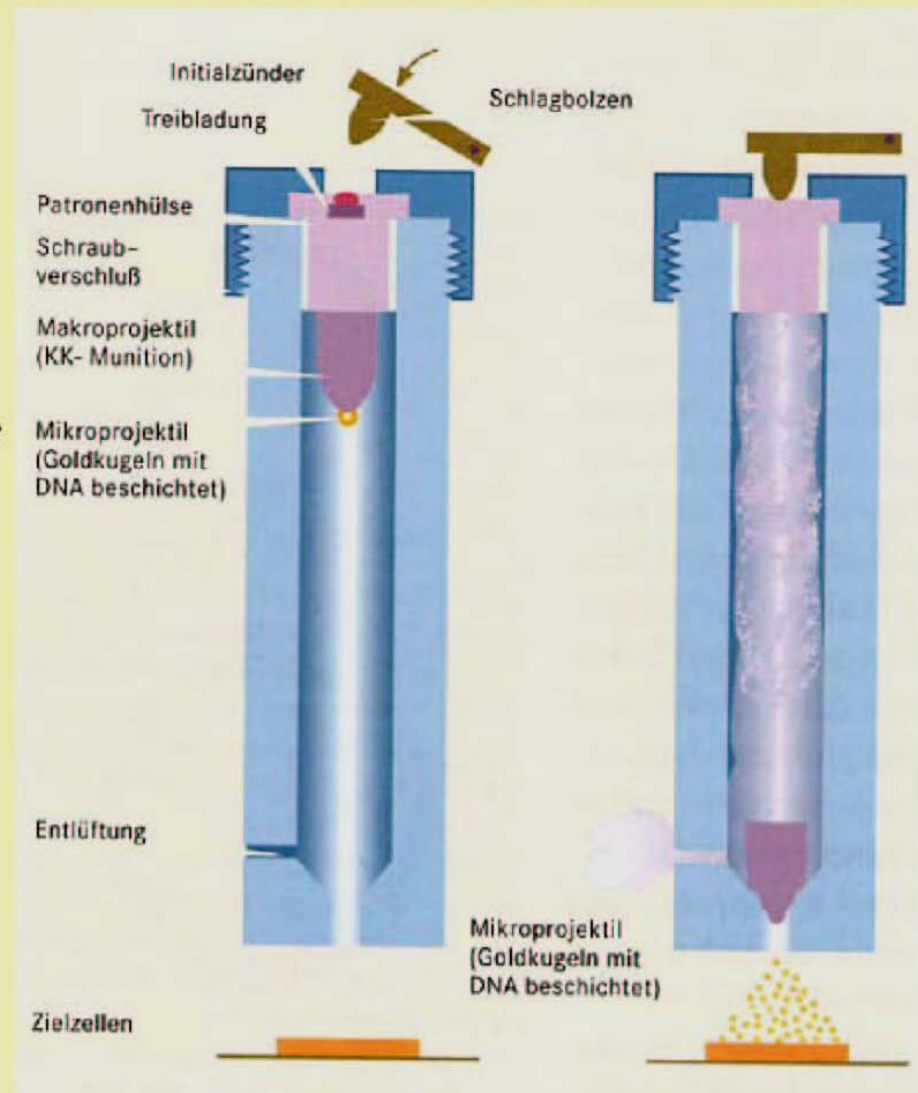


Typischer Pflanzenvektor auf der Basis des Agrobacterium tumefaciens Ti-Plasmids



DNA-Transfer in Pflanzenzellen durch „ballistische“ Transformation

die Genkanone



Produktverbesserung



FIGURE 6. Bruising phenotype of an untransformed control and a transgenic line of the variety Diamant showing the medullary browning in the control and the pale color in the transgenic. Both potato tubers had been treated identically prior to photography.

- Keine häßlichen „braunen“ Kartoffeln mehr durch antisense Polyphenoloxidasegene!

Schädlingsresistenz durch *Bacillus thuringiensis* Toxin



Herbizidresistenz

Perfektes Unkrautmanagement



Abb. 3: Gewächshausversuch zur Bastaresistenz. In Tabak (*Nicotiana tabacum*) wurde das bar Gen eingeführt. Im Gewächshausversuch wurden Pflanzen mit handelsüblichem Produkt behandelt: Links Kontrollpflanze (nicht transgen) ohne Basta, daneben, an zweiter Stelle, die gleiche Sorte, aber mit Basta behandelt. Die Aufwandmenge entspricht 1 l/ha. Die Pflanze wird vollständig abgetötet. An 3. Position eine transgene Pflanze mit bar (Bastaresistenz)gen. Behandelt mit der 10fachen Aufwandmenge (10 l/ha). Die Pflanze wächst bei dieser überhöhten Herbizidmenge noch fast normal. Ganz rechts, selbst bei der 20fachen Aufwandmenge, überlebt die Pflanze noch gut

Veränderte Blütenfarben:
die blaue Nelke „moon dust“



No.9013 2005. 1. 21

**Blue Carnation “Moon dust” released in Japan nationwide
- The one and only Blue Carnation in the world -**



„Leuchtende Pflanzen“



Transgenic tobacco plant expressing the luciferase gene from a firefly.
(Keith Wood, Promega, Madison, Wis.)

- Tabakpflanze, die ein Luciferase-Gen enthält, mit eigenem Licht fotografiert

Produktverbesserung



- Transgene Tomaten
- „Flavr Savr“
- Verzögerte Reifung durch antisense Gen für Polygalacturonase
- Tomate kann am Stock reifen und ist für längere Zeit lagerfähig

Produktverbesserung

Gelber Reis als Lieferant für Eisen und Vitamin A

Transgenen Reis, der beträchtliche Mengen Beta-Karotin und Eisen produziert, haben Schweizer und deutsche Wissenschaftler hergestellt. Die Pflanzen enthalten insgesamt sieben fremde Erbanlagen. Vier Gene, die von der Gruppe um Peter Beyer von der Universität Freiburg aus Narzissen gewonnen und kloniert wurden, bilden die für die Herstellung des Beta-Karotins notwendigen Enzyme. Die drei weiteren Gene stammen aus Pilzen, Bohnenpflanzen und Basmati-Reis. Sie verstärken die Bildung von leicht verwertbarem Eisen in den Körnern. Der transgene Reis enthält etwa doppelt so viel Eisen wie herkömmliche Sorten. Beta-Karotin wird nach Aussage von Ingo Potrykus vom Schweizer Bundesinstitut für Technologie in Zürich so stark angereichert, dass bereits 300 Gramm ausreichen, den Tagesbedarf an Vitamin A zu decken. Der gelbe Reis soll den Forschern zufolge helfen, zwei in vielen Ländern verbreitete Mangelkrankheiten zu lindern. Aus Beta-Karotin kann der menschliche Körper Vitamin A herstellen. Schätzungsweise 400 Millionen Menschen leiden weltweit an einem zu Infektionen und Augenkrankheiten führenden Mangel an diesem Vitamin. An ausreichend Eisen fehlt es häufig schwangeren Frauen. Noch lässt sich der transgene Reis allerdings nicht vermarkten, da man die weniger stark genutzte Japonica-Sorte verändert hat. Das internationale Reisforschungsinstitut „Irri“ auf den Philippinen will nun die nützlichen Gene in den häufigeren Indica-Reis einkreuzen. F.A.Z.

Produkt
verbess

F.A.Z.
8.9.99

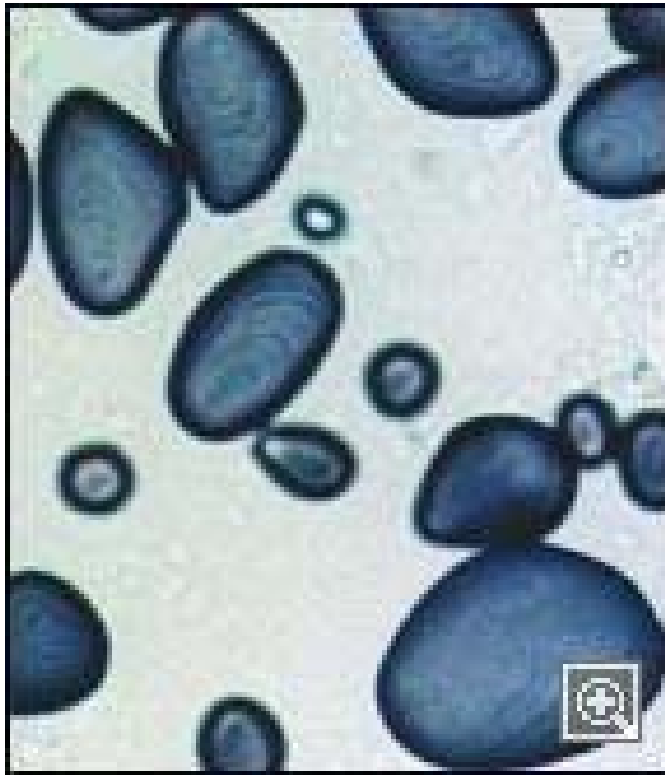


Beta-Carotin verleiht dem „Goldenen Reis“ seine Farbe und macht ihn wertvoller für die Ernährung.

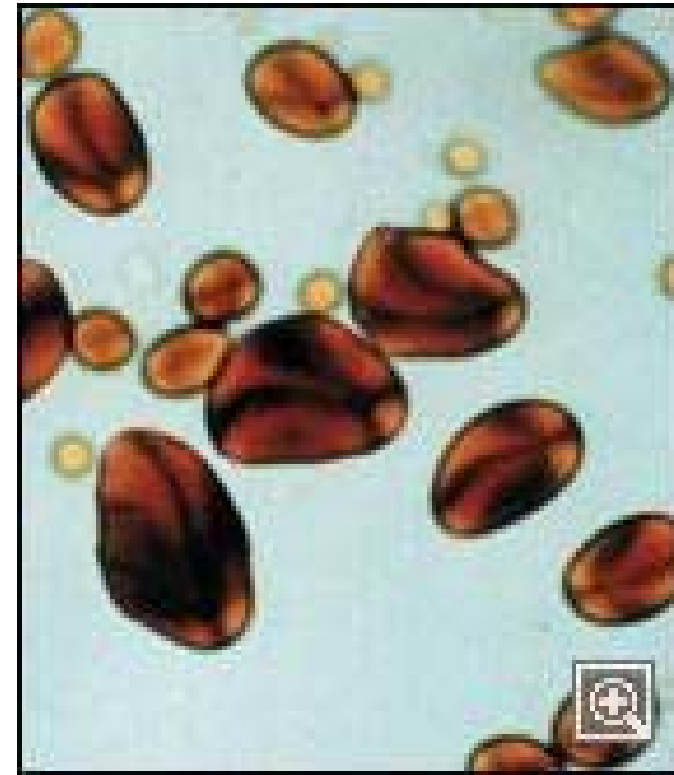
PETER BEYER, UNIVERSITÄT FREIBURG

Amflora: Kartoffel der BASF

Amylosefrei durch Antisense gegen
Granule Bound Starch Synthase (GBSS)



Stärkeköerner aus normaler Kartoffel



Stärkeköerner aus Amflora

Amylose färbt sich mit Jod blau

Zwiebelschneiden ohne Tränen:

knock down des Gens für „lachrymatory-factor synthase“



Kulturpflanzenanbau in Metall- belasteten Böden durch Citratüberproduktion



- Links:
transgene
Papaya
- Rechts:
Kontrolle

Kulturpflanzenanbau in Metall-belasteten Böden

- Aluminum Tolerance in Transgenic Plants by Alteration of Citrate Synthesis
- Juan Manuel de la Fuente, * Verenice Ramírez-Rodríguez, * José Luis Cabrera-Ponce, Luis Herrera-Estrella
- Aluminum when in soluble form, as found in acidic soils that comprise about 40 percent of the world's arable land, is toxic to many crops. Organic acid excretion has been correlated with aluminum tolerance in higher plants. Overproduction of citrate was shown to result in aluminum tolerance in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum*) and papaya (*Carica papaya*) plants.
- Science 276, 1566-1567, 1997

Umweltschutz:
Bodendekontamination durch transgene
Pappeln:
Überexpression des Gens P450
2E1 (aus Kaninchen) zur Entgiftung von
Trichlorethylen, Chloroform und Benzen

**Enhanced phytoremediation of volatile environmental
pollutants with transgenic trees:**

**Sharon L. Doty*†, C. Andrew James‡, Allison L. Moore‡, Azra Vajzovic*,
Glenda L. Singleton*, Caiping Ma§,**

**Zareen Khan*, Gang Xin‡, Jun Won Kang*, Jin Young Park¶, Richard
Meilan, Steven H. Strauss§,**

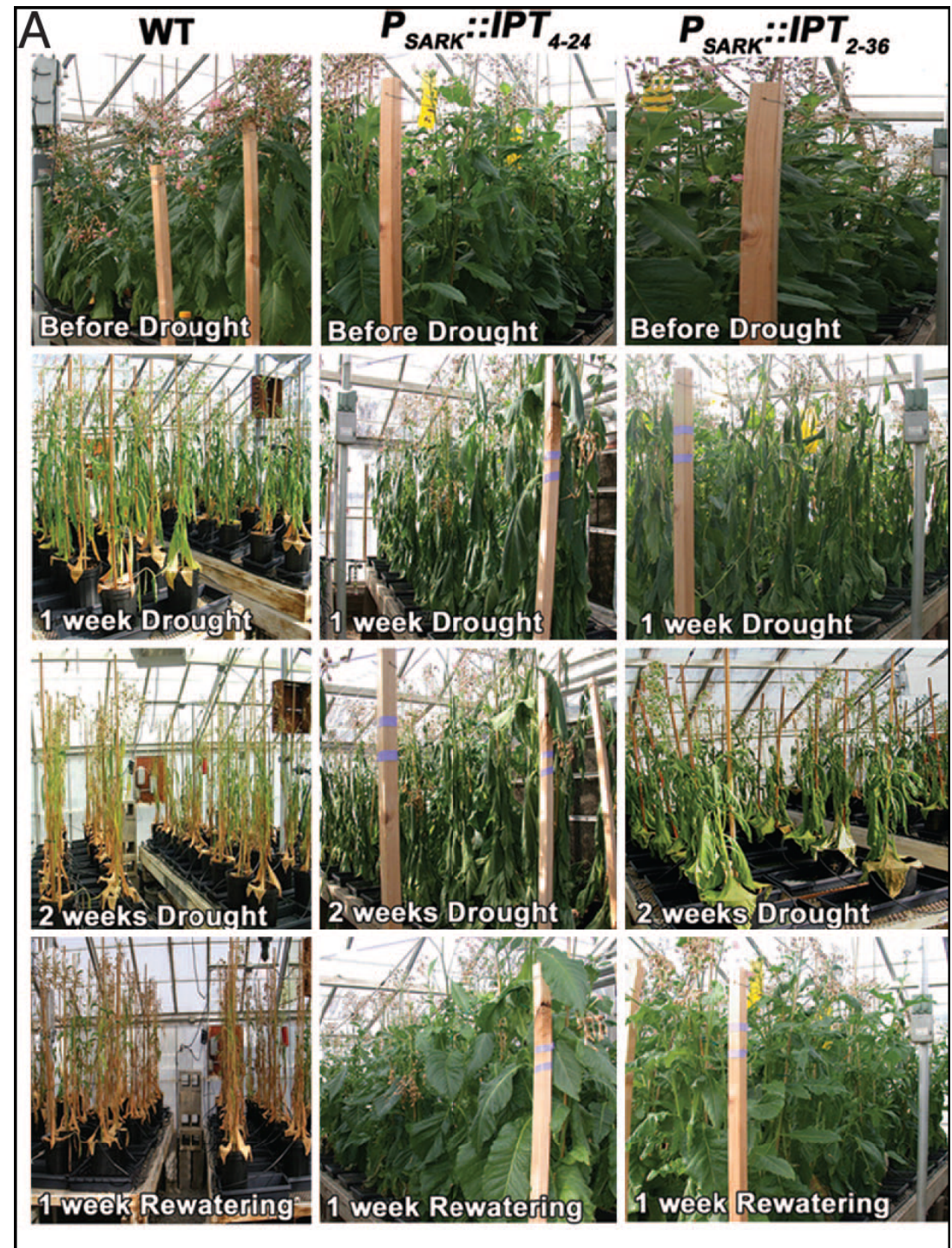
Jasmine Wilkerson, Federico Farin**, and Stuart E. Strand*‡**

PNAS 104, Oct 23. 2007

Trockenheitsresistenz durch Überexpression des Isopentenyltransferase-Gens (IPT-Gen9 unter dem Trockenstress-induzierbaren Promotor des Senescence associated receptor protein kinase –Gens (SARK-Promotor)- --steigert Cytokininproduktion

Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant
Rosa M. Rivero*, **Mikiko Kojima†**, **Amira Gepstein‡**, **Hitoshi Sakakibara†**, **Ron Mittler§¶**, **Shimon Gepstein†**, **and Eduardo Blumwald***

*Department of Plant Sciences, University of California, Davis, CA 95616; †RIKEN Plant Science Center, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan; ‡Department of Biology, Technion, Haifa 32000, Israel; §Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Nevada, Reno, NV 89557-0042; and ¶Department of Plant Science, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91905, Israel
 PNAS, Dec 2007, 104, 19631-19636



Transgene Pflanzen und Medizin



Transgene Pflanzen mit Genen für entsprechende Antigene (z.B. Banane mit Hepatitis B-Antigen Oder Kartoffeln mit Cholera Toxin B wirken beim Essen wie eine Schluckimpfung

Immunisierung durch Essen

Oral Immunization with a Recombinant Bacterial Antigen Produced in Transgenic Plants

Tariq A. Haq, Hugh S. Mason, John D. Clements,
Charles J. Arntzen*

The binding subunit of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin (LT-B) is a highly active oral immunogen. Transgenic tobacco and potato plants were made with the use of genes encoding LT-B or an LT-B fusion protein with a microsomal retention sequence. The plants expressed the foreign peptides, both of which formed oligomers that bound the natural ligand. Mice immunized by gavage produced serum and gut mucosal anti-LT-B immunoglobulins that neutralized the enterotoxin in cell protection assays. Feeding mice fresh transgenic potato tubers also caused oral immunization.

Science 268; pp 714; 1995

Impfen mit Obst

In the US at Cornell University, GM tomatoes are being developed as a vaccine against the Norwalk virus which causes severe diarrhoea. The tomatoes produce a protein identical to one that normally sits on the outside of the virus. Mice who ate them developed an immune response to the virus. Another study showed raw GM potatoes triggered a similar immune response in human volunteers. The team are also working on transgenic bananas. However, bananas are much harder to engineer and have not yet been shown to accumulate antigens in the fruit. http://www.bbc.co.uk/science/genes/gene_safari/pharm/edible.shtml

MEDICAL & MORE
TOMATO VACCINE
Inventor: Charles Arntzen



TIME

Vorteile transgener Pflanzen aus Umweltschutzperspektive

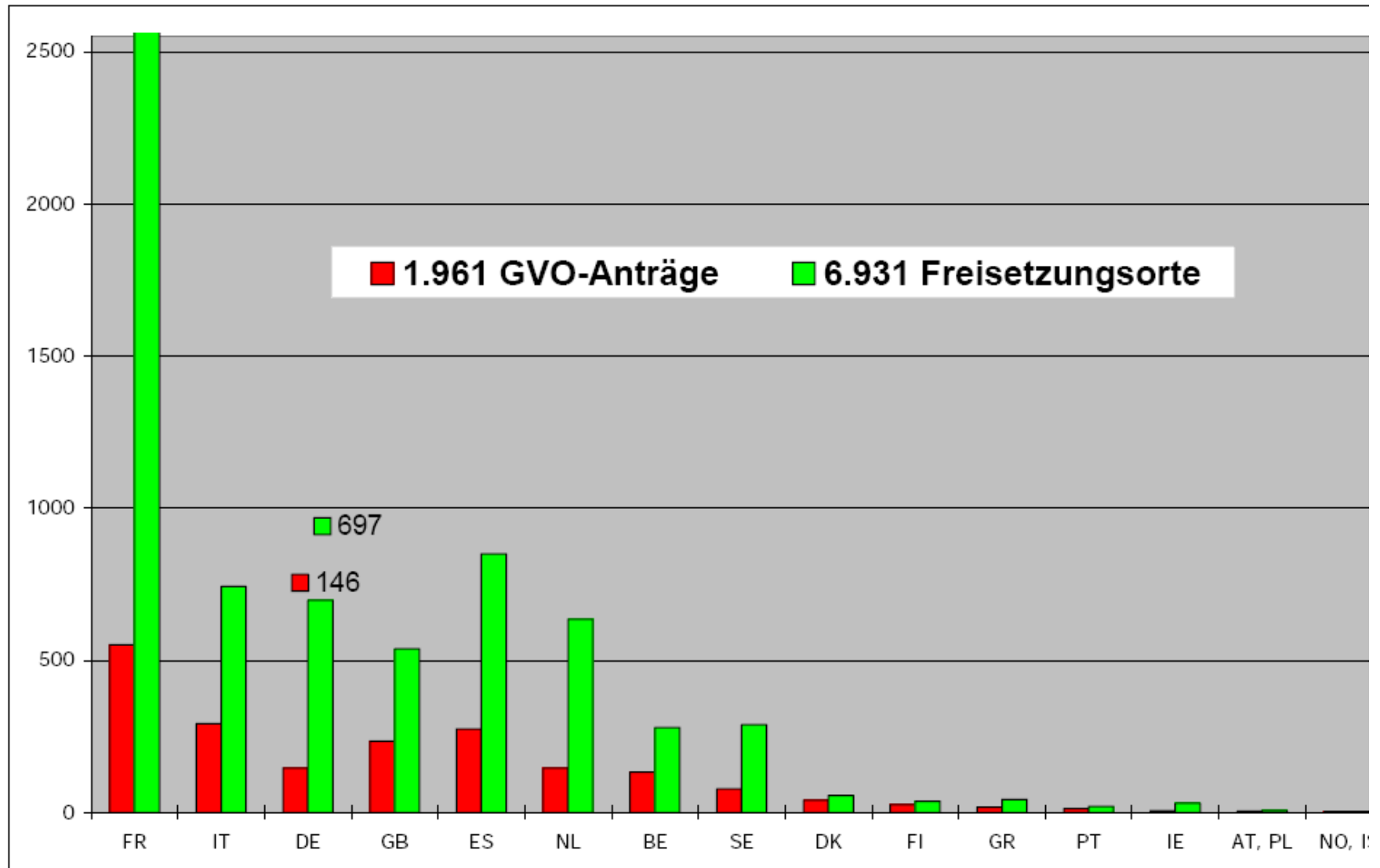
Art der Genveränderung	Gewinn
Herbizidtoleranz	Weniger Herbizid (weniger schädlich)?
Insektenresistenz	Weniger oder keine Insektizide
Pilzresistenz (z.B. Mehltau)	Weniger oder keine Fungizide
Virusresistenz	weniger Insektizide, Fungizide etc
Nematodenresistenz	Weniger Nematizide (z.B. Organophosphate)
Trockenheittoleranz	Weniger Bewässerung, neue Anbauflächen
Salztoleranz	Neue Anbauflächen; mehr freie Flächen für Naturschutz?
Citratüberproduktion u.a.	Entgiftung von verseuchten Böden
Ozontoleranz (Superoxiddismutase)	Verbesserung des Stadtklimas;

Freisetzung und Inverkehrbringen von GVO

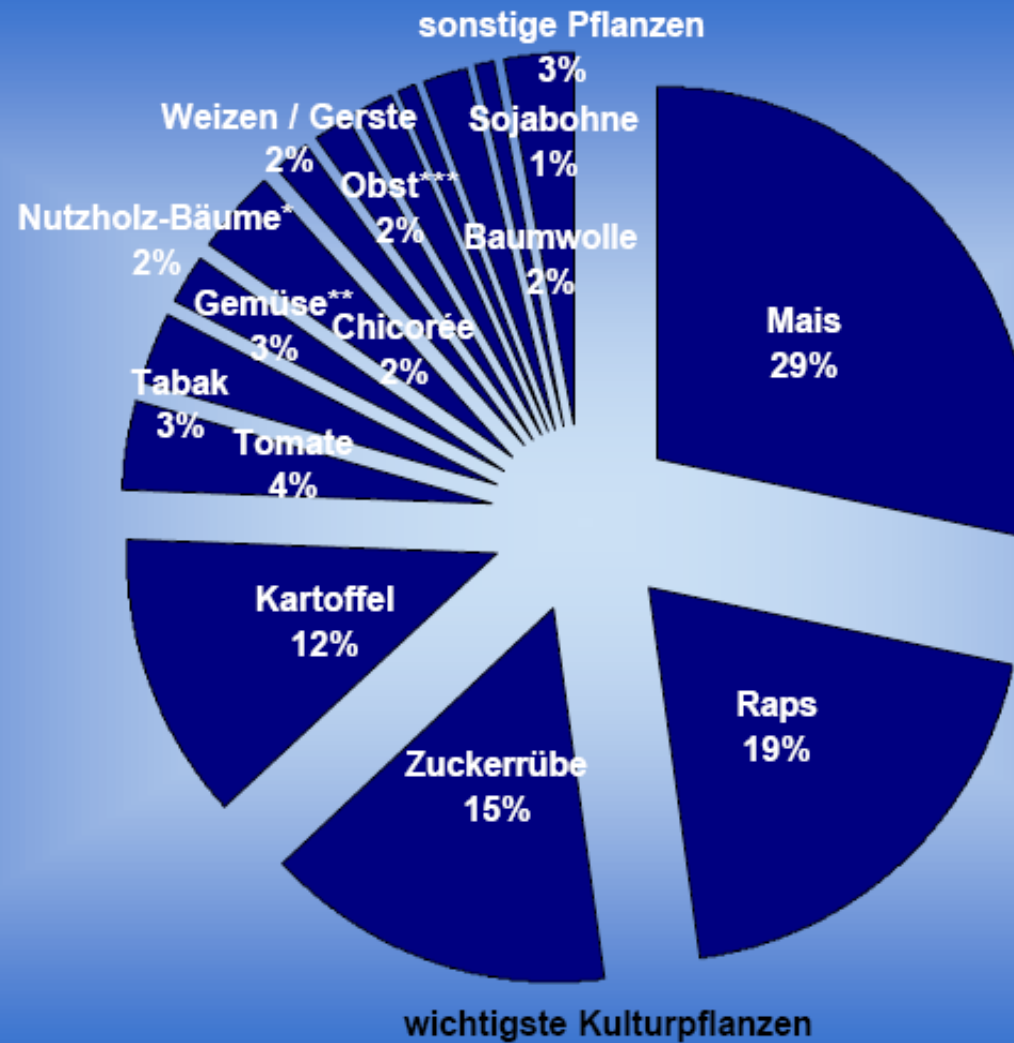


**Stand
der Freisetzungen
transgener Pflanzen und
Kommerzialisierung von
GVOs/Produkten aus GMOs
in USA und Europa**

BioSearch Gentechnik-Datenbank der BBA



Freisetzungsanträge für GVO in der EU



*** siehe Tabelle 2

Tabelle 1: Anträge zur Freisetzung von GVO: Kulturpflanzen und Mikroorganismen in den EU-Ländern



GVO

total	540	290	235	144	132	270	259	40	71	26	12	18	3	5	1	1
-------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	----	----	----	----	---	---	---	---

Umfassende Datenbanken aller GVO-Freisetzungen

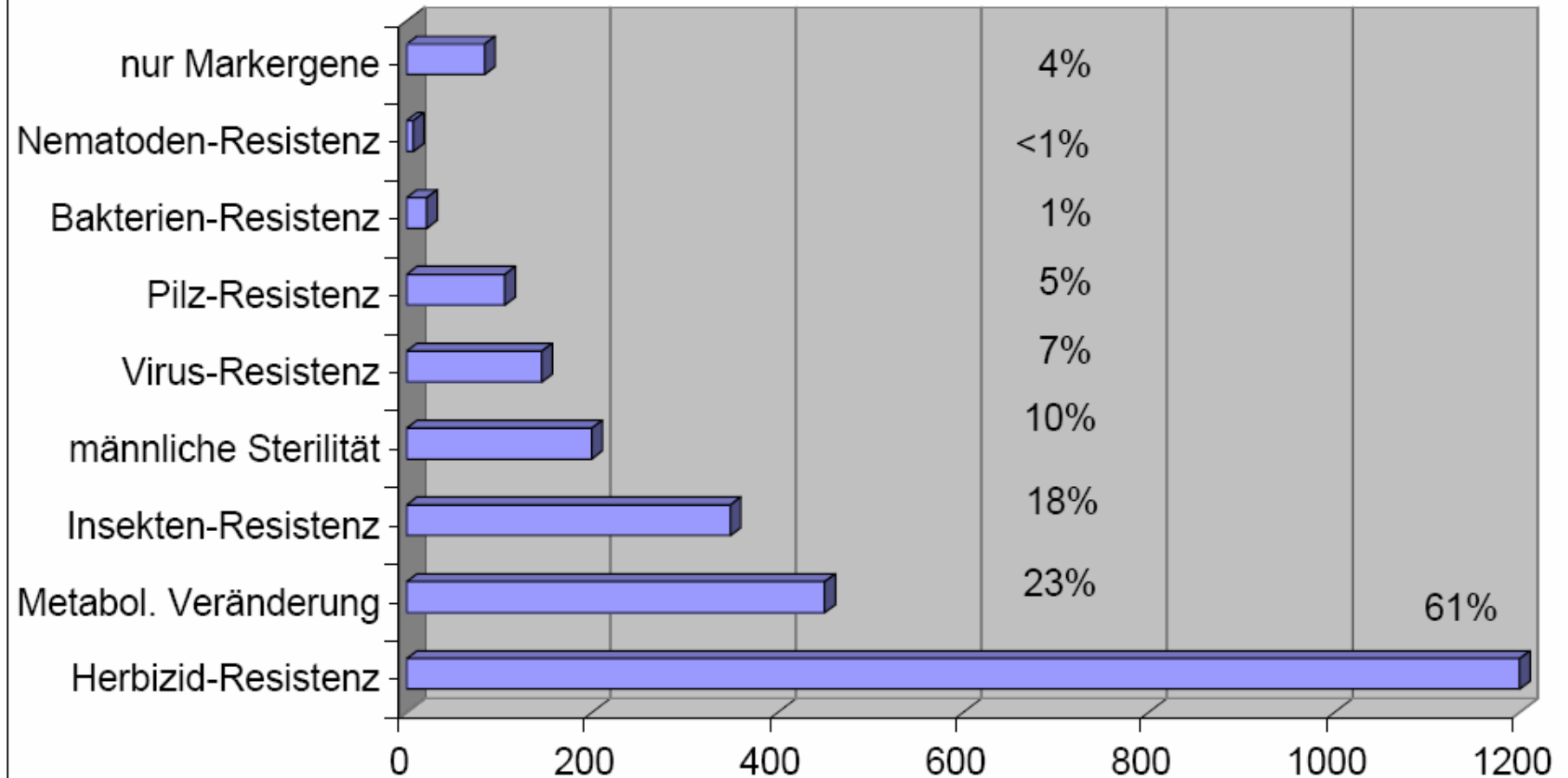
- <http://www.isb.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm>
- <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Synopsis>
- <http://www.bba.de/gentech/gentab.htm>
- http://aphisweb.aphis.usda.gov/brs/application_status.html

Tabelle 2: Anträge zur Freisetzung von GVP: wichtigste Kulturpflanzen

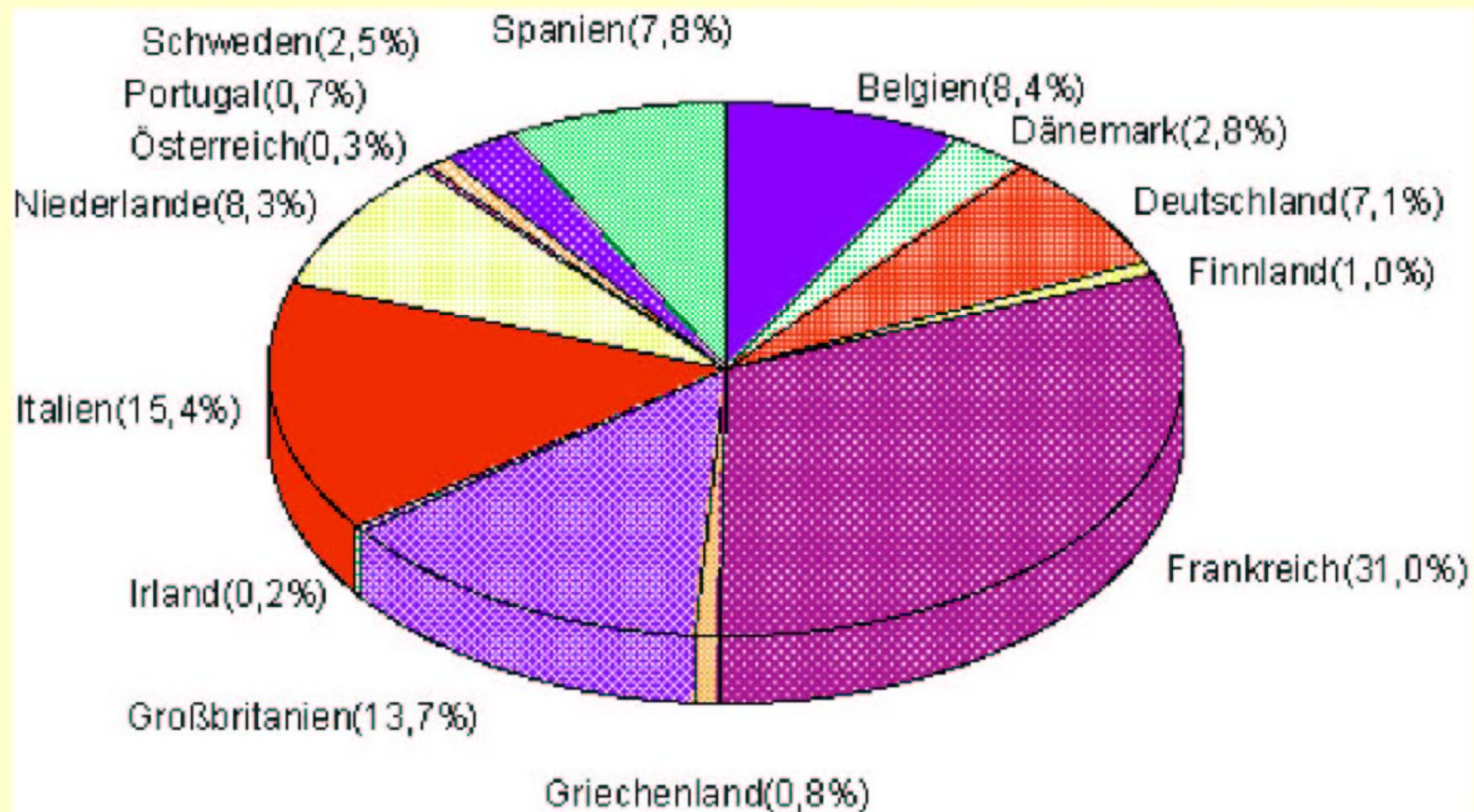
wichtigste Kulturen	total	Herbizid-Resistenz	Metabolismus - Veränderungen	Insekten-Resistenz	männliche Sterilität	Virus-Resistenz	Pilz-Resistenz	Bakterien-Resistenz	Nematoden-Resistenz	nur Markergene
Mais	534	482	33	260	30	4	5	1	0	2
Raps	403	322	70	3	130	0	31	1	0	4
Zuckerrübe	337	310	15	0	2	60	4	1	0	0
Kartoffel	234	21	147	21	1	27	27	15	6	5
Tomate	75	5	35	4	2	29	2	0	0	2
Tabak	56	11	33	0	0	5	4	0	1	3
Chicorée	43	43	2	1	34	0	0	0	0	0
Nutzholz-Bäume*	30	2	16	2	3	0	1	0	0	13
Gemüse**	63	17	31	18	4	2	3	0	0	0
Melone/Kürbiss	16	0	3	0	0	13	0	0	0	0
Weizen/Gerste	34	24	16	0	2	0	7	0	0	5
Sojabohne	16	16	0	0	0	0	0	0	0	0
Baumwolle	31	20	0	19	0	0	0	0	0	0
Obst***	32	0	15	3	0	4	10	2	0	2
Gesamtzahl der Anträge für gentechnisch veränderte Pflanzen	1.962	<p style="text-align: center;">* Pappel/ Espe, Birke, Eucalyptus, Fichte, Kiefer ** Kohl, Salat, Aubergine, Möhre, Reis, Erbse *** Wein, Apfel, Pflaume, Citrus, Erdbeere, Himbeere, Kirsche, Kiwi, Olive</p>								

BioSearch Gentechnik-Datenbank der BBA

neue Eigenschaften: 1.961 Anträge zur Freisetzung von GVO in der EU



Freisetzungen/EU-Staaten



Freisetzungen EU/Jahre

Jahr	Anzahl Anträge
1991	2
1992	54
1993	98
1994	164
1995	227
1996	245
1997	250
1998	242
1999	239
2000	135

2001 **484**

2004	285
2003	305
2002	449

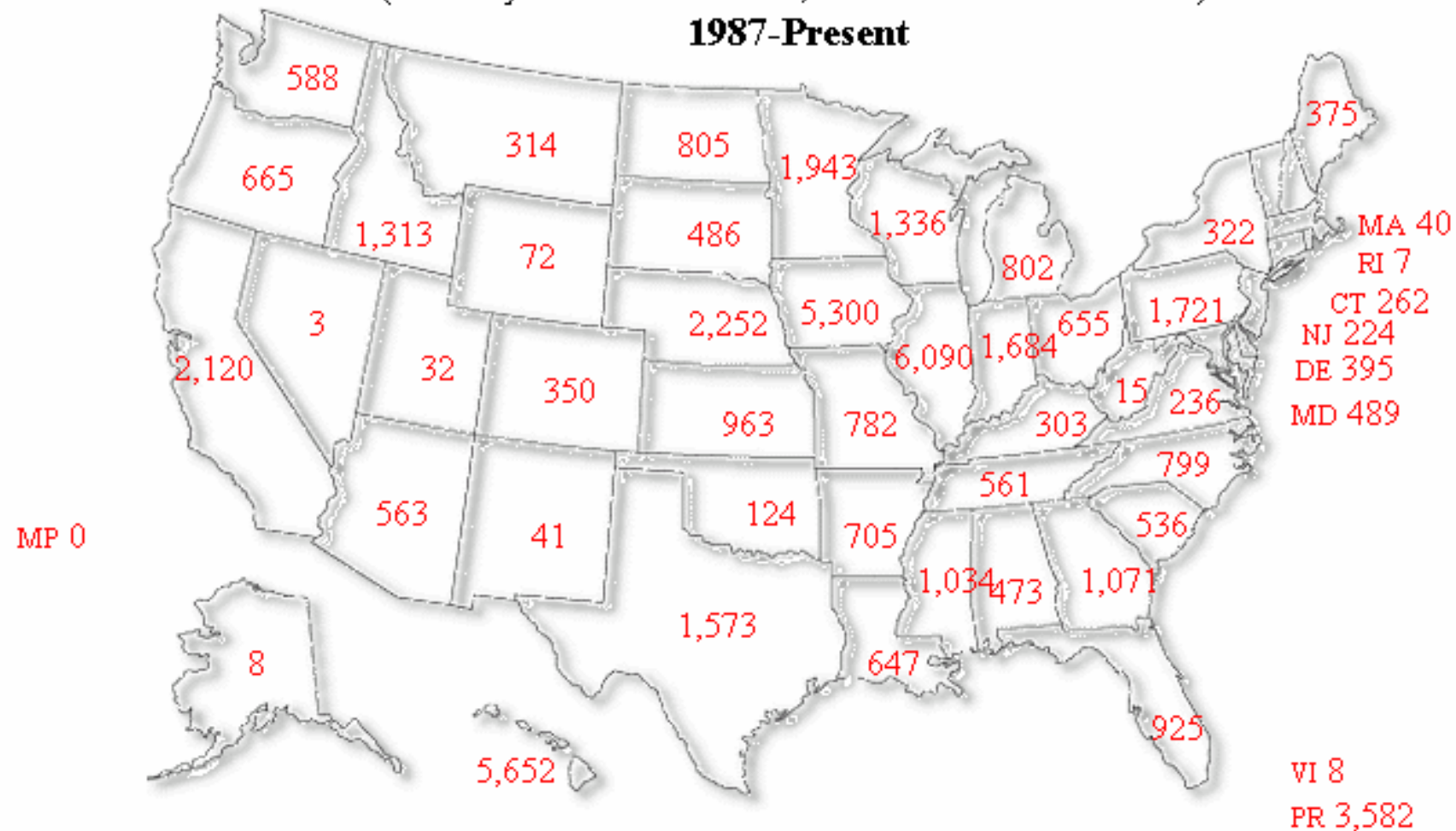
Freisetzungen in den USA

<http://www.isb.vt.edu/>

Total Number of Issued or Acknowledged Field Test Sites by U.S. State

(A test may consist of several sites; no number indicates a value of 0)

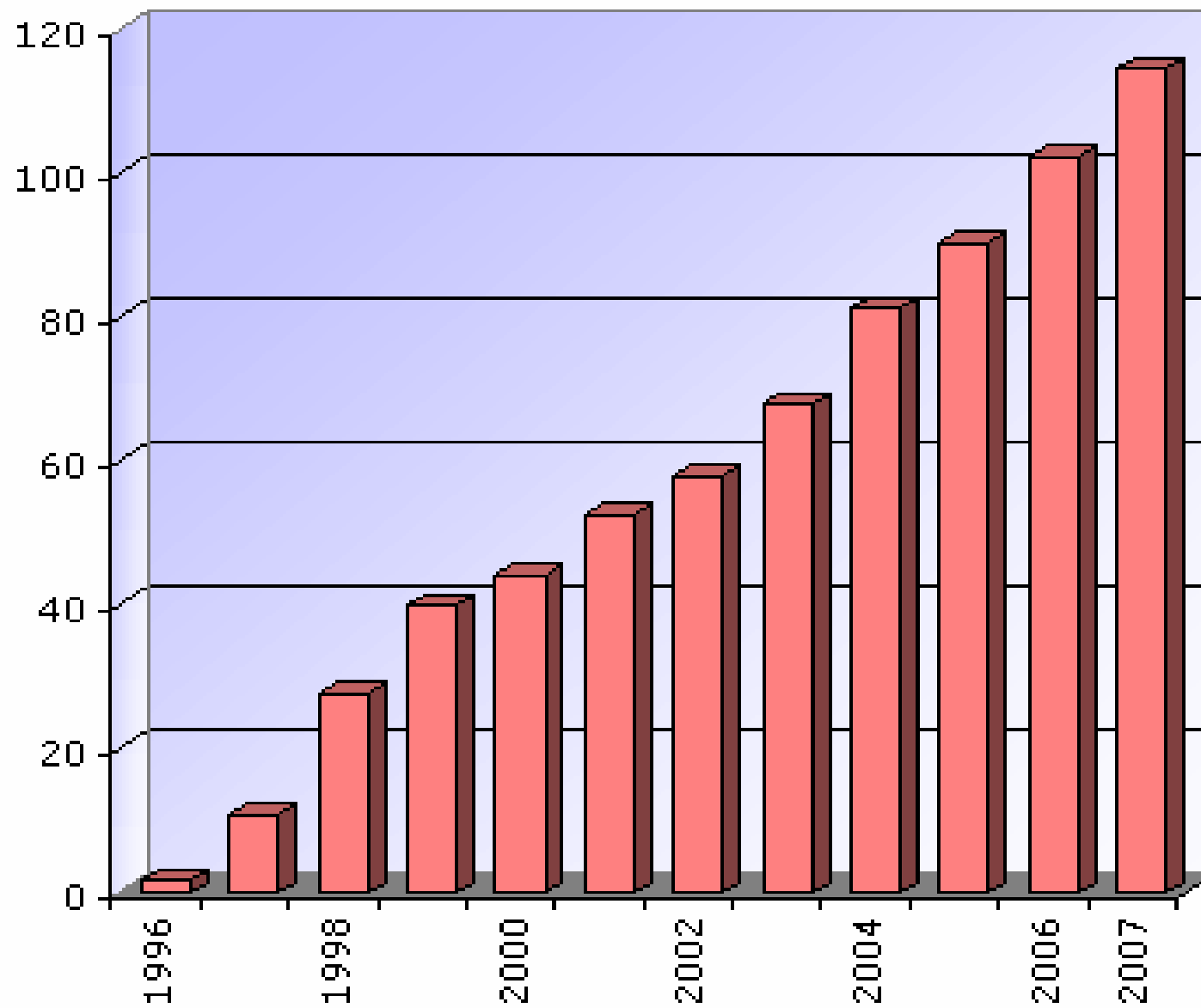
1987-Present



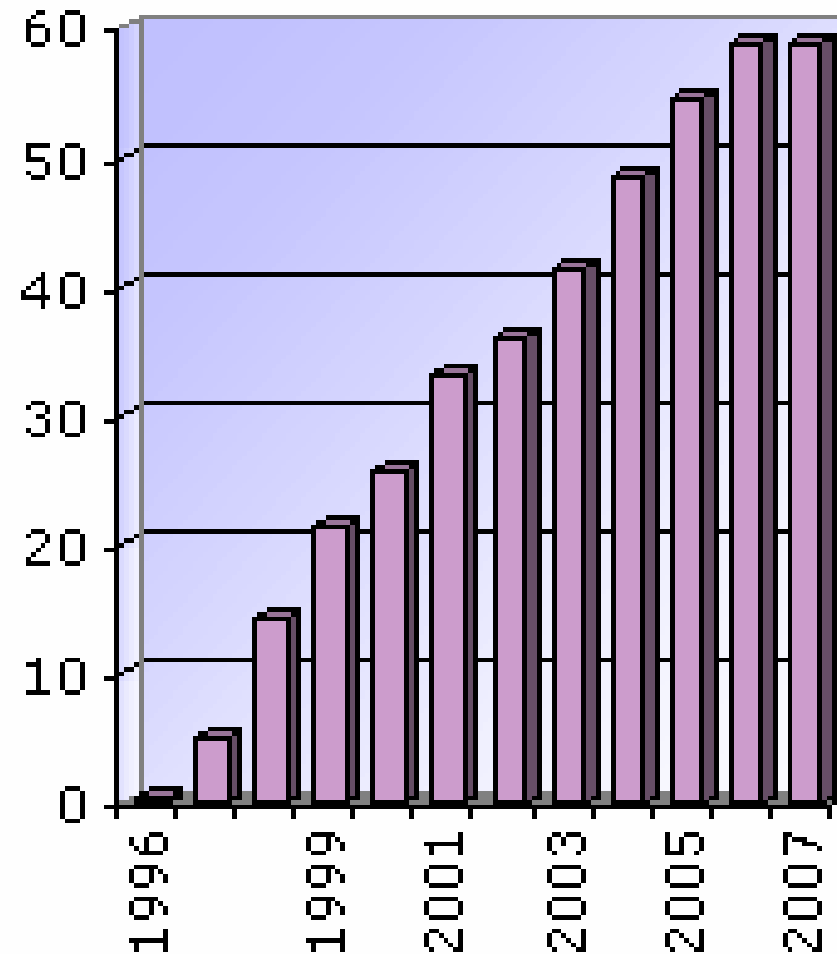
Inverkehrbringen (kommerziell zugelassene Pflanzen) Stand April 2004

Kulturpflanzen		Herbizid-Resistenz	männliche Sterilität	Insekten-Resistenz	Metabolismus-Veränderungen	Antragsländer
GVO	Total	32	6	11	6	EU
Raps	9	9	4	0	0	FR, GB, BE, DE, NL
Mais	15	13	0	11	0	FR, GB, NL, ES, DE
Chicorée	2	2	2	0	0	NL
Zucker-, Futterrübe	2	2	0	0	0	DK, DE
Reis	1	1	0	0	0	GB
Tabak	1	1	0	0	0	FR
Sojabohne	1	1	0	0	0	GB
Kartoffel	2	0	0	0	2	NL, SE
Tomate	1	0	0	0	1	ES
Baumwolle	5	4	0	2	0	ES, NL
Nelke	3	3	0	0	3	NL
GVO gesamt:	42	(teils mehrere Eigenschaften in einem GVO)				EU

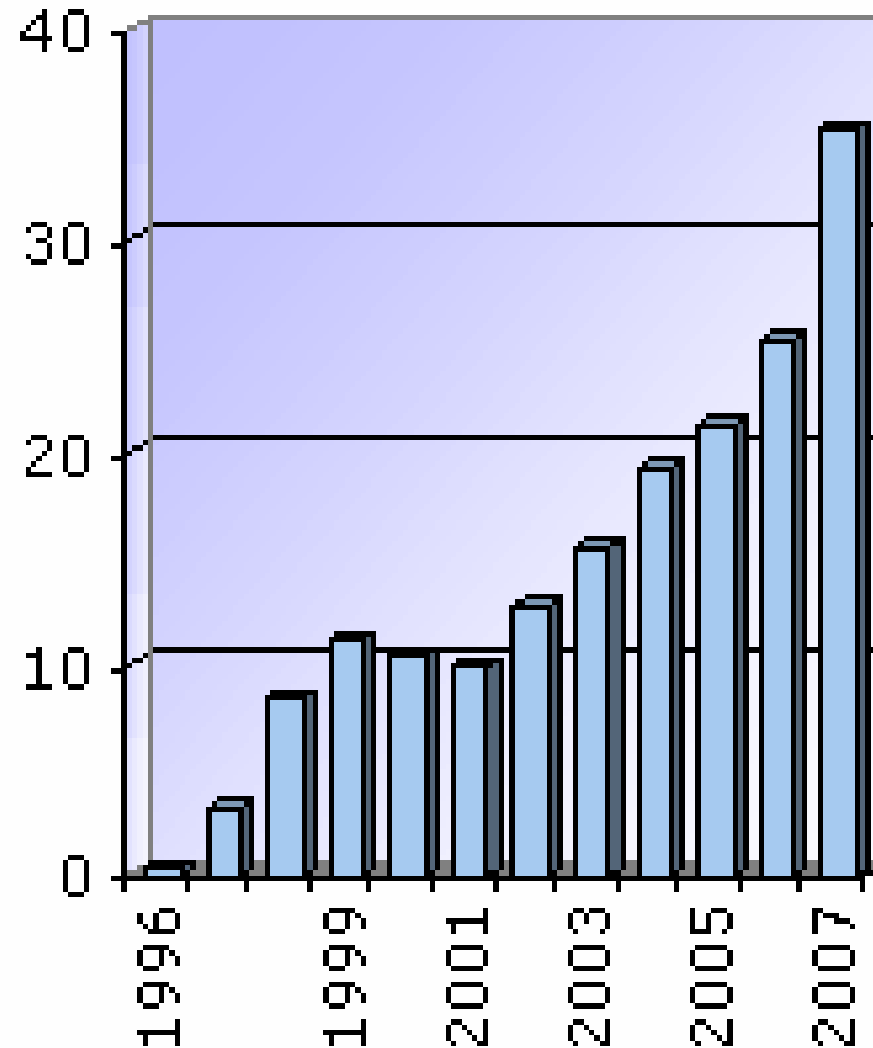
Global Area of Biotech Crops



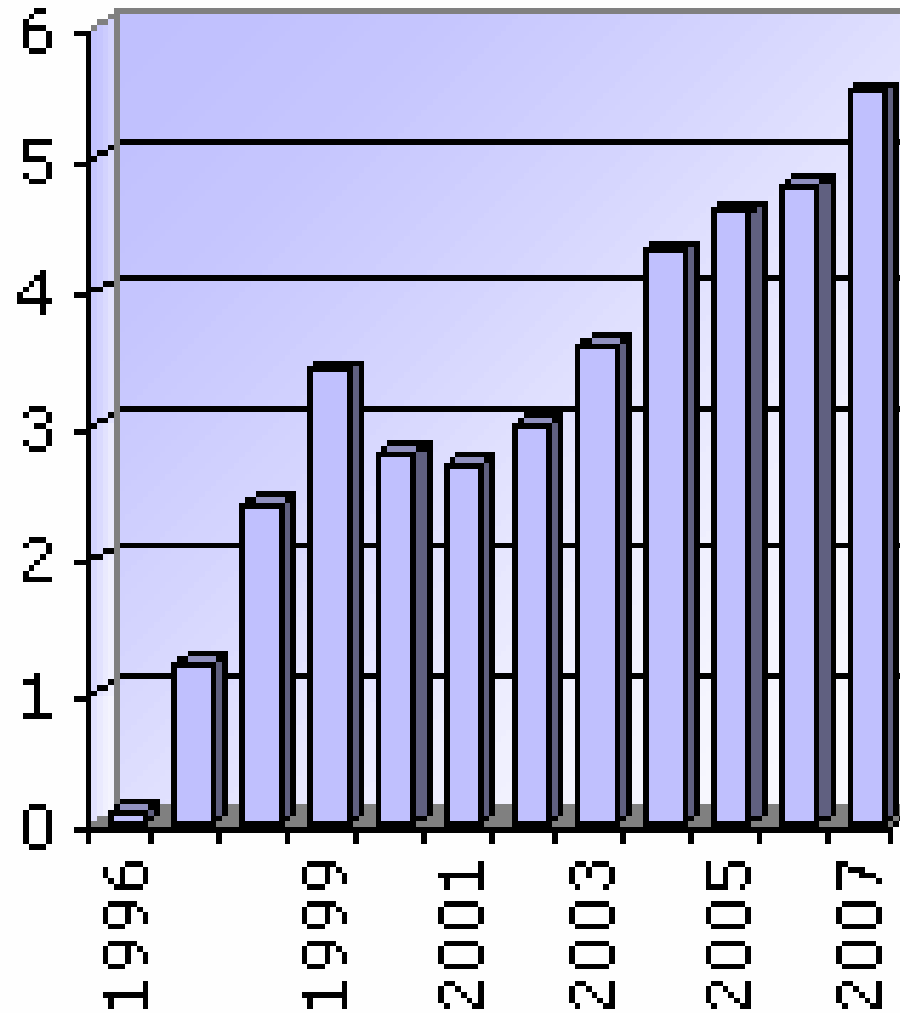
Anbauflächen transgener Pflanzen, Soja
(in Mio. Hektar)
(64% d. Anbaufläche weltweit,
in USA über 91%)



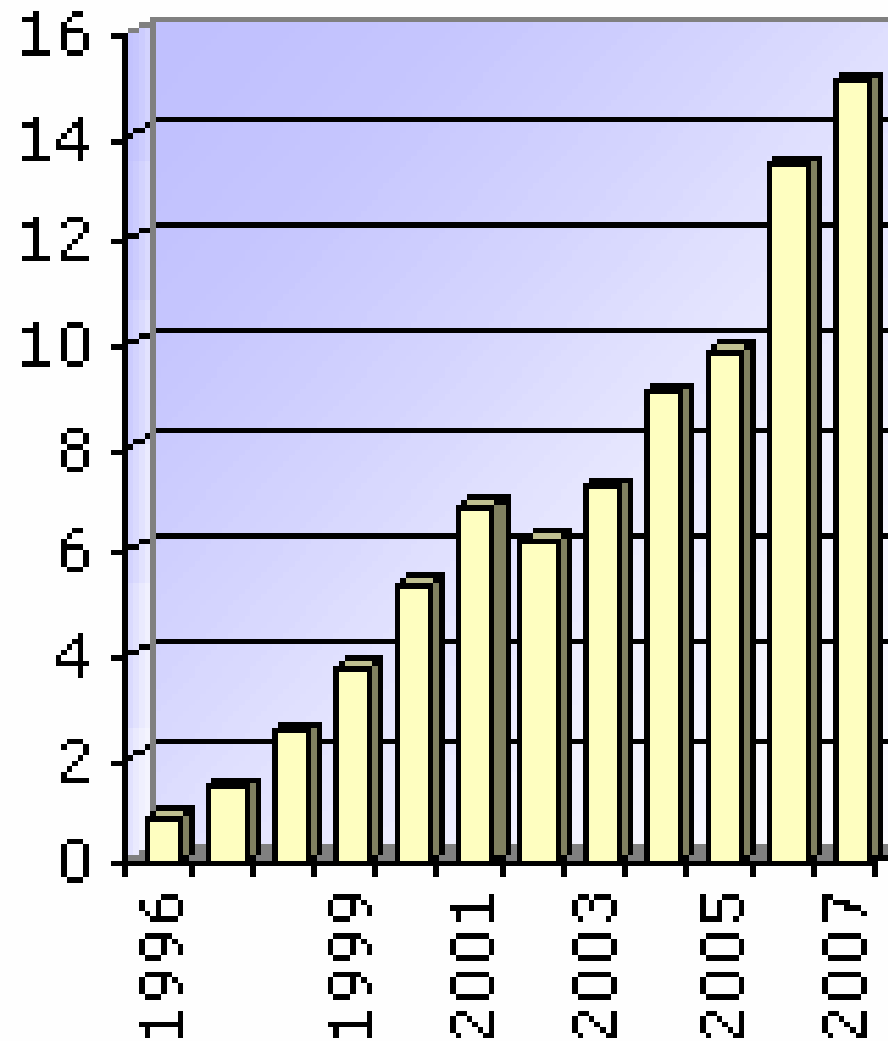
Anbauflächen transgener Pflanzen, Mais In Mio. Hektar (24% der Abaufläche)



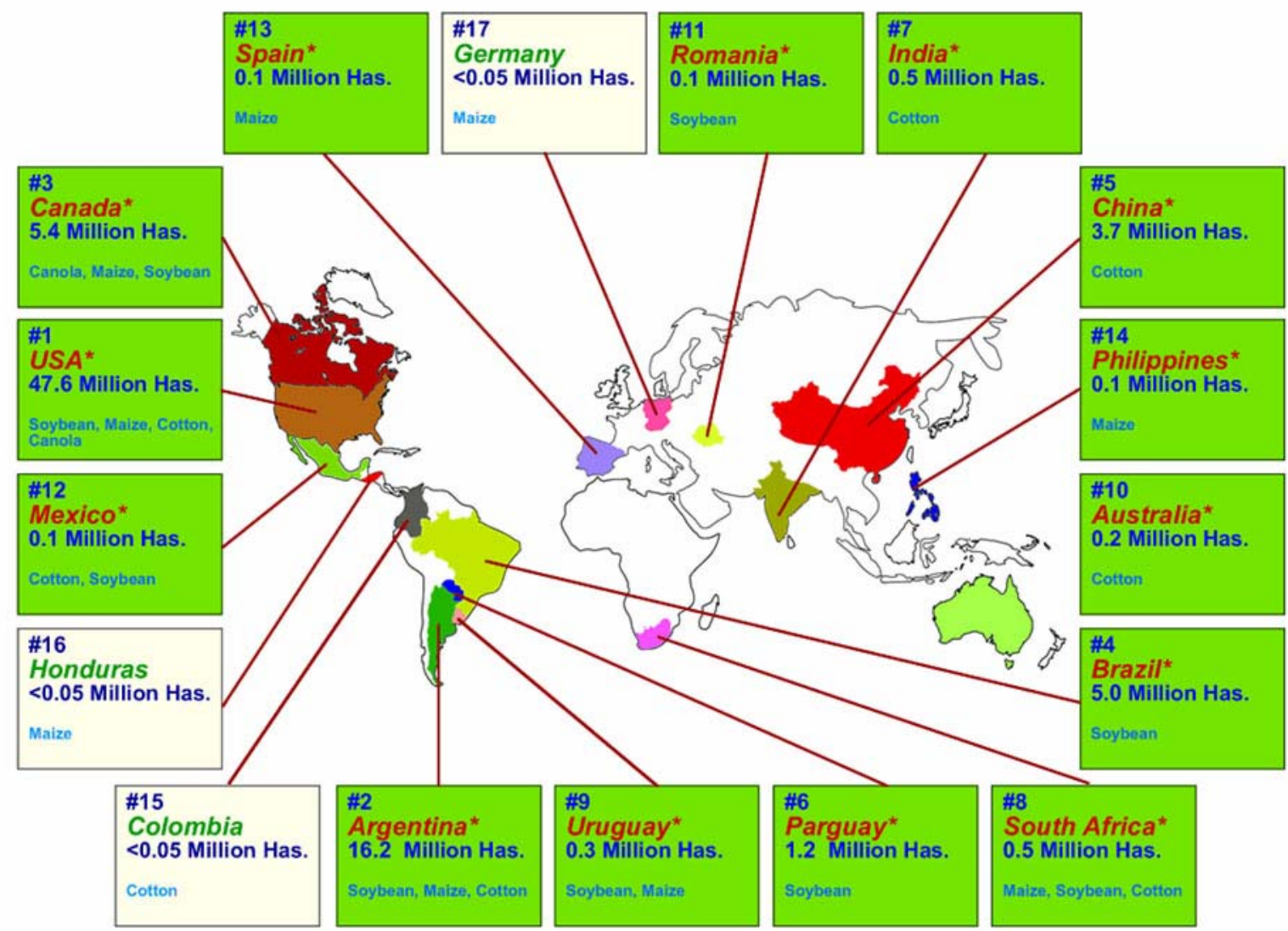
Anbauflächen transgener Pflanzen, Raps In Mio. Hektar (20 % des angegeb. Rapses)



Anbauflächen transgener Pflanzen, Baumwolle In Mio. Hektar (43% aller Baumwolle)



Biotech Crop Countries and Mega-Countries*, 2004



* 14 biotech mega-countries growing 50,000 hectares or more of biotech crops.

Source: Clive James, 2004