

Sicherheitsforschung und Monitoring-Methoden zum Anbau von Bt-Mais

Was passiert mit den Bt-Mais-Genen im Rind?

Christiane Albrecht¹, Oksana Berezina², Ralf Einspanier³, Bodo Lutz¹, Johann Mayer⁴, Heinrich H.D. Meyer¹, Stefanie Rief¹, Wolfgang Schwarz⁵, Ekaterina Shedova¹, Steffi Wiedemann¹, Vladimir Zverlov⁵

¹ Lehrstuhl für Physiologie, TUM, Freising, Deutschland

⁴ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing, Deutschland

² Institut für Molekulargenetik RAS, Moskau, Russland

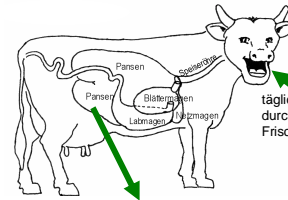
⁵ Lehrstuhl für Mikrobiologie, TUM, Freising, Deutschland

³ Institut für Veterinär-Biochemie, FU Berlin, Deutschland

Förderkennzeichen O312631D

Herstellung und Wirkung von Bt-Mais 176

- Der Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*) zerstört jährlich 7% des weltweiten Maisanbaus
- Das Bakterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) bildet das Cry-Protein, das auf den Maiszünsler tödlich wirkt
- Das cry-Gen wurde aus dem Bakterium isoliert und in das Maisgenom eingebaut
- Die Maispflanze kann sich nun „selbst“ gegen den Maiszünsler schützen



tägliche Fütterung der Rinder mit durchschnittlich 18 kg Mais (Silage, Frischmais) und Zusatzfutter

rund 10^{10} – 10^{11} Bakterien pro ml Pansensaft spalten die für den Menschen unverwertbare Cellulose in für das Rind verdauliche Bestandteile

- 80 % des Mais werden in Europa als Tierfutter verwertet
- 2003: weltweiter Anbau von 15,5 Mio. ha gentechnisch verändertem Mais

Was passiert mit dem Mais im Tier nach der Verfütterung?

Bakterien können fremde DNA in das eigene Genom aufnehmen
 ► **Horizontaler Gentransfer**

Ist es möglich, dass es im Rind zum Horizontalen Gentransfer, z. B. des Ampicillin-Resistenz-Gens kommt?

Fütterungsversuche

Erforschung des Abbaus von Fremd-DNA und Fremd-Protein während der Magen-Darm-Trakt-Passage

Versuchsaufbau

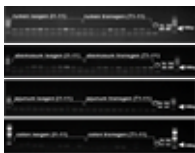
Probengewinnung

- 44 Rinder in zwei Gruppen
 - Fütterungsperiode: 4 Wochen
 - wöchentliche Blut- und Kotproben
- Aufstellung der Rinder getrennt nach isogener (Antares) und transgener (Navares) Maissorte
- sorgfältige Probennahme und sofortiges Tiefgefrieren
- Proben aus Inhalt, Epithellen und Lymphknoten des Magen-Darm-Trakts

qualitative und quantitative Auswertung der Proben mit hochsensitiven Detektionsmethoden

DNA

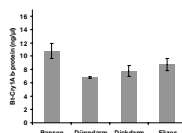
Nachweis von Chloroplasten-DNA (199bp) mittels PCR



► In allen Proben aus dem Pansen (rumen) [A] und Labmagen (abomasum) [B] von iso- und transgen gefütterten Rindern konnte das Chloroplasten-DNA-Fragment gefunden werden. Im Dünndarm (jejunum) [C] und Dickdarm (colon) [D] konnte das DNA-Fragment nicht detektiert werden.

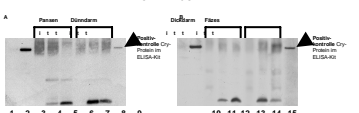
Protein

Messungen des Cry1Ab-Proteins mittels ELISA (enzyme-linked immunoabsorbend assay) im Verdauungstrakt von Rindern



► Der Gehalt an Cry1Ab-Protein nimmt im Verlauf des Verdauungstraktes scheinbar zu.

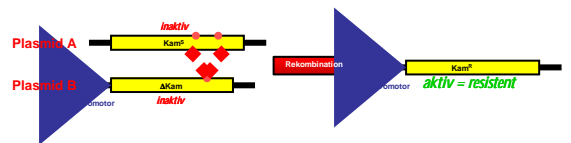
Immunblot mit einem polyklonalen Antikörper gegen das Cry1Ab-Protein von Proben aus dem Verdauungstrakt von Rindern



► Die Ergebnisse des ELISA sind vorsichtig zu interpretieren. Es wird eindeutig gezeigt, dass das Cry1Ab-Protein im Pansen degradiert wird. Mittels ELISA werden nur noch Fragmente des Cry1Ab-Proteins detektiert.

Horizontaler Gentransfer

Ein Modellsystem für den Nachweis der Genübertragung im Rind wurde etabliert. Es beruht auf der Rekombination von zwei inaktiven Antibiotika-Resistenzgenen, die zu einer aktiven Resistenz führt



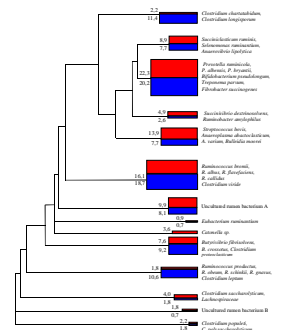
- Der Rinderspeichel stimuliert in diesem Modellsystem die Genübertragung auf 1:1.000.000 (pro eingesetztem Gen).
- Saft aus Silage und Pansen neutralisiert die Stimulation (-> keine Genübertragung)
- Mit Speichel-Zugabe konnte in einigen hundert Bakterienisolaten aus dem Rinderspeichel keine DNA-Übertragung festgestellt werden (Übertragungsrate kleiner als $1 : 10^2$)

Spektrum der Mikroorganismen

Stammbaum und Häufigkeit (in %) einzelner Bakterien in transgen (rot) und isogen (blau) gefütterten Rindern



Die Bakterien aus dem Pansen von transgen und isogen gefütterten Rindern wurden isoliert, die DNA präpariert und die 16S rRNA-Gene mit der PCR amplifiziert.



► Die Sequenzierung und Analyse von 497 individuellen Genen ergab keine deutlichen Verschiebungen der Bakterienflora durch die Fütterung von transgenem Mais

Zusammenfassung:

- Pflanzen-DNA und das Bt-Protein werden im Verdauungstrakt von Rindern zunehmend abgebaut.
- Es ist kein horizontaler Gentransfer von pflanzlicher DNA auf Bakterien des Rindes nachweisbar.
- Die Bakterienflora im Pansen ändert sich durch die Fütterung von gentechnisch verändertem Mais nicht.

Einspanier, R.; Lutz, B.; Rief, St.; Berezina, O.; Zverlov, V.; Schwarz, W.; Mayer, J.: Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize. In: European Food Research and Technology 218 (2004) S. 269-273