

ZUKUNFTS-OFFENSIVE

Junge Generation

Eine Initiative der Landesregierung



Dokumentation der Lehrerfortbildung "Gentechnik bei Pflanzen (Grüne Gentechnik)"

**am 14./15. März 2000
in Stuttgart**

Dieses Projekt wurde im Auftrag des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg im Rahmen des Vorhabens "Gesellschaftlicher Diskurs zur Bio- und Gentechnik in Baden Württemberg" durchgeführt und finanziert aus der Zukunftsoffensive "Junge Generation".

Impressum

Dr. Sibylle Gaisser, Dr. Bärbel Hüsing, Dr. René Zimmer
Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung (ISI)
Breslauer Str. 48
76139 Karlsruhe
Tel: 0721/6809205
Fax: 0721/6809176
e-mail: sga@isi.fhg.de

unter Mitarbeit von
Thomas Dietrich, Oberschulamt Stuttgart
Roland Frank, Gottlieb-Daimler-Gymnasium, Stuttgart-Bad Cannstatt
Prof. Dr. Gerd Weber, Institut für Pflanzenzüchtung, Universität Hohenheim
Dr. Axel Schwekendiek, Institut für Pflanzenzüchtung, Universität Hohenheim

Printed in Germany, © 2000 by ISI

Alle Rechte vorbehalten, insbesondere die des öffentlichen Vortrags, der Rundfunktssendung, der Fernsehausstrahlung, der fotomechanischen Wiedergabe.
Vervielfältigung zu Unterrichtszwecken gestattet.

Dieses Projekt wurde im Auftrag des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg im Rahmen des Vorhabens "Gesellschaftlicher Diskurs zur Bio- und Gentechnik in Baden Württemberg" durchgeführt und finanziert aus der Zukunftsoffensive "Junge Generation".

Inhaltsverzeichnis	Seite
Impressum.....	1
Tabellenverzeichnis.....	iii
Abbildungsverzeichnis.....	iv
Vorwort.....	I
1. Hintergrund und Konzeption der Fortbildungsveranstaltung.....	1
2. Mindmapping.....	3
2.1 Zur Methode.....	3
2.2 Mindmapping zum Thema Grüne Gentechnik.....	3
3. Stand und Perspektiven der Gentechnik bei Pflanzen.....	9
3.1 Biotechnologie und Gentechnik in der Pflanzenzüchtung.....	9
3.2 Methoden des Gentransfers.....	10
3.3 Zuchtziele der klassischen und modernen Pflanzenzüchtung.....	15
3.4 Aktueller Stand beim Anbau transgener Pflanzen.....	17
3.5 Risikoanalyse.....	20
4. Exkursion.....	22
4.1 Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik.....	22
4.2 Führung durch das Institut.....	24

5. Informationsbewertung	25
5.1 Aufgabenstellung	25
5.2 Übersicht über die Arbeitsmaterialien.....	25
5.3 Leitfragen	25
5.4 Ergebnisse	26
6. Informationsbeschaffung zum Thema "Transgene Pflanzen	31
6.1 Zeitschriften und Bücher.....	32
6.2 Informationsangebote im Internet	37
6.2.1 Fortbildungsseiten für Lehrer und Schüler.....	37
6.2.2 Informationsangebote von Gentechnik befürwortenden Organisationen	38
6.2.3 Informationsangebote gentechnik-kritischer Organisationen	39
6.2.4 Informationsangebote von Firmen	40
7. Implikationen für den Unterricht - Erarbeitung von Unterrichtskonzepten	41
8. Bewertung der Veranstaltung durch die Teilnehmer.....	45
9. Anhang	47
9.1 Materialien zur Informationsbewertung.....	47
9.2 Materialien zur Fortbildung Mikrobiologie und Gentechnik (I und II) des Oberschulamtes Stuttgart.....	47

Tabellenverzeichnis

Seite

Tabelle 1:	Gentechnik bei Pflanzen ("Grüne Gentechnik") Lehrerfortbildung Freiburg/ Stuttgart am 14./15. März 2000	2
------------	---	---

Abbildungsverzeichnis	Seite
Abbildung 1: Mindmap Gruppe 1	5
Abbildung 2: Mindmap Gruppe 2	6
Abbildung 3: Mindmap Gruppe 3	7
Abbildung 4: Mindmap Gruppe 4	8
Abbildung 5: Methoden klassischer und moderner Pflanzenzüchtung im Vergleich.....	9
Abbildung 6: Protoplastierung (= Entfernen der Zellwand)	11
Abbildung 7a: Natürlicher DNA-Transfer durch <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	12
Abbildung 7b: Fremd-DNA-Transfer durch <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i>	13
Abbildung 8a: DNA-Transfer mit Hilfe einer Particle Gun.....	14
Abbildung 8b: Particle Gun zum Transfer von DNA in Zellen	15
Abbildung 9: Freisetzungsversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen (Stand 1999).....	16
Abbildung 10: Zeithorizonte der Entwicklung transgener Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften	17
Abbildung 11a: Freisetzungsversuche weltweit	18
Abbildung 11b: Freisetzungsversuche in Europa.....	18
Abbildung 11c: Freigesetzte Pflanzen in Europa.....	18
Abbildung 12: Kommerzielle Anbauflächen gentechnisch veränderter Pflanzen weltweit (nach International Service for Acquisition of Agri-biotech Applications, 1999)	19
Abbildung 13: Genehmigungsverfahren einer Freisetzung transgener Pflanzen.....	21
Abbildung 14: Bewertung der Texte von Greenpeace und dem Gen- ethischen Netzwerk (Gruppe 1)	27
Abbildung 15: Bewertung der Texte von Greenpeace und dem Gen- ethischen Netzwerk (Gruppe 2)	28

Abbildung 16:	Bewertung der Texte von Monsanto und Novartis (Gruppe 3).....	29
Abbildung 17:	Bewertung der Texte von Monsanto und Novartis (Gruppe 4).....	30
Abbildung 18:	Einschätzung der Weiterbildung durch die Teilnehmer anhand verschiedener Kriterien.....	45

Vorwort

Bereits heute gehören gentechnisch hergestellte Produkte zu unserem Alltag. Sie begegnen uns z. B. in Form von neuen Medikamenten und Lebensmitteln. Doch auch die Methoden der Gentechnik bekommen zunehmende Bedeutung im täglichen Leben beispielsweise in Form humandiagnostischer Verfahren für den Einzelnen. Gleichzeitig sind bestimmte Anwendungen der Gentechnik, beispielsweise in der Pflanzenzucht und der pränatalen Diagnostik aber gesellschaftlich stark umstritten. Welche Potentiale hat die Gentechnik und wo sind Grenzen zu setzen? Kritiker und Befürworter vertreten dabei sehr unterschiedliche Auffassungen.

Um einen breiten öffentlichen Diskurs zu führen und den Einzelnen zu einer eigenen Meinungsbildung zu befähigen, kommt der Vermittlung biotechnologischen Wissens im Schulunterricht zunehmend Bedeutung zu. Als Lehrmaterial hat das Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg (MWK) im Auftrag der Landesregierung drei Filme zu Anwendungen der Gentechnik von der Filmakademie Baden-Württemberg produzieren lassen. Sie befassen sich mit Anwendungen der Gentechnik in der Humanbiologie, in der Pflanzenbiologie und der Tierbiologie und sind seit Herbst 1999 bzw. Frühjahr 2000 über die Landes- und Kreisbildstellen verfügbar. Diese Filme können im Schulunterricht der gymnasialen Oberstufe, bei der Lehrerfortbildung und in der Erwachsenenbildung eingesetzt werden. Das Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung in Karlsruhe hat das Filmteam wissenschaftlich beraten und wurde vom MWK beauftragt, vier Veranstaltungen zu den Filmthemen durchzuführen, um die Thematik den Zielgruppen nahe zu bringen.

Die vierte Fortbildungsveranstaltung im Oberschulamtsbezirk Stuttgart hatte die "Gentechnik bei Pflanzen" zum Thema. Sie fand am 14. und 15. Mai 2000 statt und an ihr beteiligten sich Lehrer aus Freiburg und Stuttgart. Ziel der Veranstaltung war es, in einem interdisziplinären Teilnehmerkreis einen Überblick über Stand und Perspektiven in Wissenschaft und Technik, über Möglichkeiten zur ethischen Beurteilung und zur Vermittlung des Themas im Unterricht zu erarbeiten. Dabei sollten die Inhalte der Veranstaltung nicht nur "passiv konsumiert", sondern aktiv erarbeitet und kritisch diskutiert werden. Dies hatte zur Folge, dass neben Referaten Arbeitsformen wie Mindmapping, Informationsrecherche und -auswertung in Gruppen sowie Gruppen- und Plenumsdiskussionen großen Raum einnahmen. Die vorliegende Dokumentation fasst die Referate und Ergebnisse der Gruppenarbeiten zusammen. Die Gentechnik ist allerdings eine Disziplin, in der der Wissenszuwachs einer starken Dynamik unterworfen ist. Aus diesem Grund gibt die Dokumentation ausführliche Hinweise, zur vertiefenden Beschäftigung mit dem Thema Gentechnik bei Pflanzen.



1. Hintergrund und Konzeption der Fortbildungsveranstaltung

Die zweitägige Veranstaltung "Gentechnik bei Pflanzen" richtete sich ausschließlich an Lehrerinnen und Lehrer der Fachrichtung Biologie. Dies hatte zur Konsequenz, dass die Diskussion stärker methodenorientiert war und gesellschaftspolitische Positionen nicht automatisch im Kreis der Teilnehmer präsent waren, wie dies in anderen Veranstaltungen der Fall war, an denen sowohl Lehrkräfte für Biologie als auch Ethik/Religion/Gemeinschaftskunde teilnahmen. Da jedoch auch einige Teilnehmer als zweites Fach ein nicht-naturwissenschaftliches Fach unterrichteten und die Risikodiskussion gerade in der Grünen Gentechnik ein Thema der öffentlichen Debatte ist, gelang neben der fachlich-methodischen Auseinandersetzung mit der Grünen Gentechnik auch die gesellschaftspolitische Diskussion. Voraussetzung für die Teilnahme war das Interesse an der Gentechnikthematik und ihrer Vermittlung im Unterricht. Darüber hinaus sollten sich die Teilnehmer bereits (aus den Medien) auf dem Niveau eines mündigen Bürgers informiert haben.

Der erste Tag begann mit einer Annäherung an die Thematik Grüne Gentechnik. Als Methode wurde das Mindmapping genutzt, um den Kenntnisstand der Teilnehmer zu ergründen und das komplexe Thema zu strukturieren. Darauf folgte ein Einführungsreferat, das den derzeitigen Stand und die Perspektiven auf dem Gebiet transgener Pflanzen vermittelte. Das Einführungsreferat schärfte das Bewusstsein für offene Fragen, wie z. B. die Bewertung der Risiken, die durch die Freisetzung von Pflanzen mit Antibiotikaresistenz-Markergenen ausgehen. Die verbleibende Zeit wurde zur Vorbereitung der Exkursion an das Institut für Pflanzenzüchtung, Spezielle Pflanzenzüchtung und Biotechnologie an der Universität Hohenheim genutzt. In Hohenheim hinterließ die kompetente Führung durch die Institutsräume und die Demonstration grundlegender Labortechniken zur Verdeutlichung molekularbiologischer Arbeitsweisen einen nachhaltigen Eindruck bei den Teilnehmerinnen und Teilnehmern.

Der zweite Tag der Lehrerfortbildung zur Grünen Gentechnik diente der Bewertung von Informationen. In Gruppen wurden anhand von Leitfragen verschiedene Informationsquellen inhaltlich bewertet und ein Anforderungsprofil an eine gute Informationsquelle herausgearbeitet. Danach hatten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer die Möglichkeit, sich selbst weitere Informationen zu beschaffen, um offene Punkte der Gruppenarbeit nach zu recherchieren. Anschließend wurden unter Anleitung von R. Frank, Fachberater des Oberschulamts Stuttgart, Unterrichtskonzepte zum Thema Grüne Gentechnik erarbeitet.

Tabelle 1: Gentechnik bei Pflanzen ("Grüne Gentechnik")
Lehrerfortbildung Freiburg/ Stuttgart am 14./15. März 2000

1. Tag	Dienstag, 14. März 2000
9: 00 – 9:30 Uhr	Begrüßung, Vorstellungsrunde
9: 30 – 10:15 Uhr	Chancen und Risiken der Pflanzen-Gentechnik (Mindmapping)
10:15 – 10:30 Uhr	Kaffee-Pause
10:30 – 11:30 Uhr	Referat: Überblick zu Stand und Perspektiven transgener Pflanzen (Dr. Sibylle Gaisser, ISI)
11:30 – 12:30 Uhr	Gruppenarbeit: Vorbereitung der Exkursion (z. B. Fragenkatalog)
12:30 – 13:00 Uhr	Anreise zur Universität Hohenheim
13:00 – 14:00 Uhr	Mittagessen an der Universität Hohenheim
14:00 – 16:30 Uhr	Besichtigung des Instituts für Pflanzenzüchtung, Spezielle Pflanzenzüchtung und Biotechnologie, Universität Hohenheim (Prof. Weber)
16:30 – 17:00 Uhr	Feedback
2. Tag	Mittwoch, 15. März 2000
8:30 – 10:00 Uhr	Gruppenarbeit: Bewertung von Information anhand verschiedener Kriterien/ Leitfragen
10:00 – 10:30 Uhr	Präsentation der Ergebnisse
10:30 – 11:00 Uhr	Kaffee-Pause
11:00 – 12:30 Uhr	Gruppenarbeit Informationsbeschaffung (z. B. Gentechniklehrfilm, Internet-Angebote und Print-Informationen)
12:30 – 14:00 Uhr	Mittagessen
14:00 – 16:00 Uhr	Moderierte Gruppenarbeit: Implikationen für den Unterricht, Erarbeitung von Unterrichtskonzepten (R. Frank, Fachberater Biologie des Oberschulamt Stuttgart)
16:00 – 16:15 Uhr	Kaffee-Pause
16:15 – 16:45 Uhr	Präsentation der Ergebnisse
16:45 – 17:00 Uhr	Feedback
17:00 Uhr	Ende der Veranstaltung

2. Mindmapping

2.1 Zur Methode

Beim Mindmapping handelt es sich um eine Kreativitätstechnik, die Ordnung in die Gedanken bringt und Ideen sichtbar macht, indem Ideen zu übersichtlichen Bildern und Grafiken umgesetzt werden. Die Zentral- oder Hauptidee eines Mindmaps wird deutlich im Zentrum der Grafik herausgestellt. An dieses Zentrum knüpfen weitere Ideen an, die nach ihrer relativen Bedeutung in der Nähe des Zentrum (wichtig) oder in den Randzonen (weniger wichtig) stehen. Nach und nach entstehen auf dem Blatt von der Hauptidee ausgehend nach allen Seiten vielfältige Verzweigungen. Weiterhin ermöglicht die nach allen Seiten hin offene Struktur des Mindmap-Schemas neue Ideenverknüpfungen herzustellen (siehe Abb. 1 bis 4).

Die Methode basiert auf Erkenntnissen zur Funktionsweise des menschlichen Gehirns. Indem Ideen zu übersichtlichen Bildern und Grafiken umgesetzt werden, werden die linke (zuständig für rationales, logisches Denken) und die rechte Gehirnhälfte (visuelles, kreatives Denken) gleichermaßen angeregt. Auf diese Weise wird die eigene Kreativität gefördert und die Gedächtnisleistung erheblich verbessert. Einzelne Punkte der entwickelten Mindmaps lassen sich leichter merken und später schneller abrufen. Die Methode des Mindmapping lässt sich sowohl zur Strukturierung komplexer Probleme, zur Unterrichtsplanung als auch bei der täglichen Aufgabenliste anwenden.

2.2 Mindmapping zum Thema Grüne Gentechnik

Die teilnehmenden Biologielehrer wurden von den Veranstaltern gebeten, um die Zentralidee "Gendiagnostik" die Stichworte zu notieren, die ihrer Meinung nach zu diesem Thema gehörten. So entstanden erste Strukturierungen dieser komplexen Thematik. Gleichzeitig bekamen die Veranstalter und die Teilnehmenden einen Einblick in das bei den Teilnehmern bereits vorhandene Wissen.

Die von den drei Teilnehmergruppen erstellten Mindmaps finden sich auf den folgenden Seiten. Diese Übung offenbart, dass zum Thema Gendiagnostik in jedem ein zumeist unstrukturiertes Bild vorgeformt ist. Der Einstieg über die Mindmapping-Technik verdeutlicht einige dieser Bilder, die im weiteren Verlauf analysiert und inhaltlich vertiefend behandelt und ggf. auch korrigiert werden können. Es er-

laubt dem/der Lehrenden darüber hinaus Wünsche und Vorkenntnisse der Schüler zu Beginn abzuklären, auf die der weitere Unterrichtsverlauf abgestimmt thematisiert werden kann.

Alternativ bieten sich für den Einstieg in das Thema auch andere assoziative Methoden wie z. B. die Metaplan-Technik an. Beim Einsatz der Metaplan-Technik im Unterricht ist allerdings zu beachten, dass sich bei Schulklassengröße in sehr kurzer Zeit eine sehr große Zahl an Karten anhäufen kann, deren Auswertung durch die Gruppe u.U. ermüdend ist. Eine Begrenzung auf wenige Karten pro Person ist dann ratsam.

Abbildung 1: Mindmap Gruppe 1

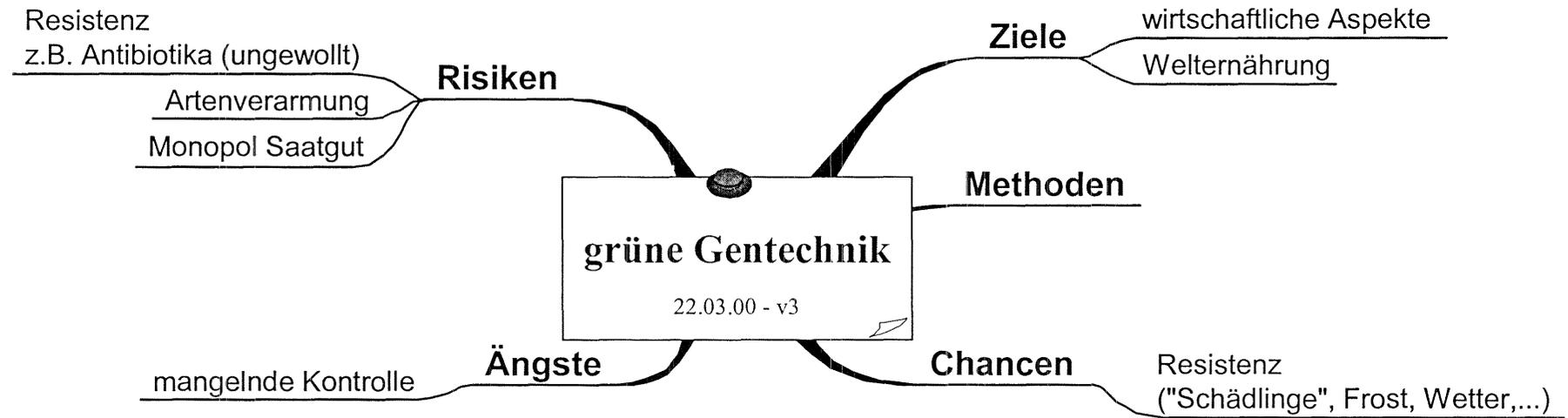


Abbildung 2: Mindmap Gruppe 2

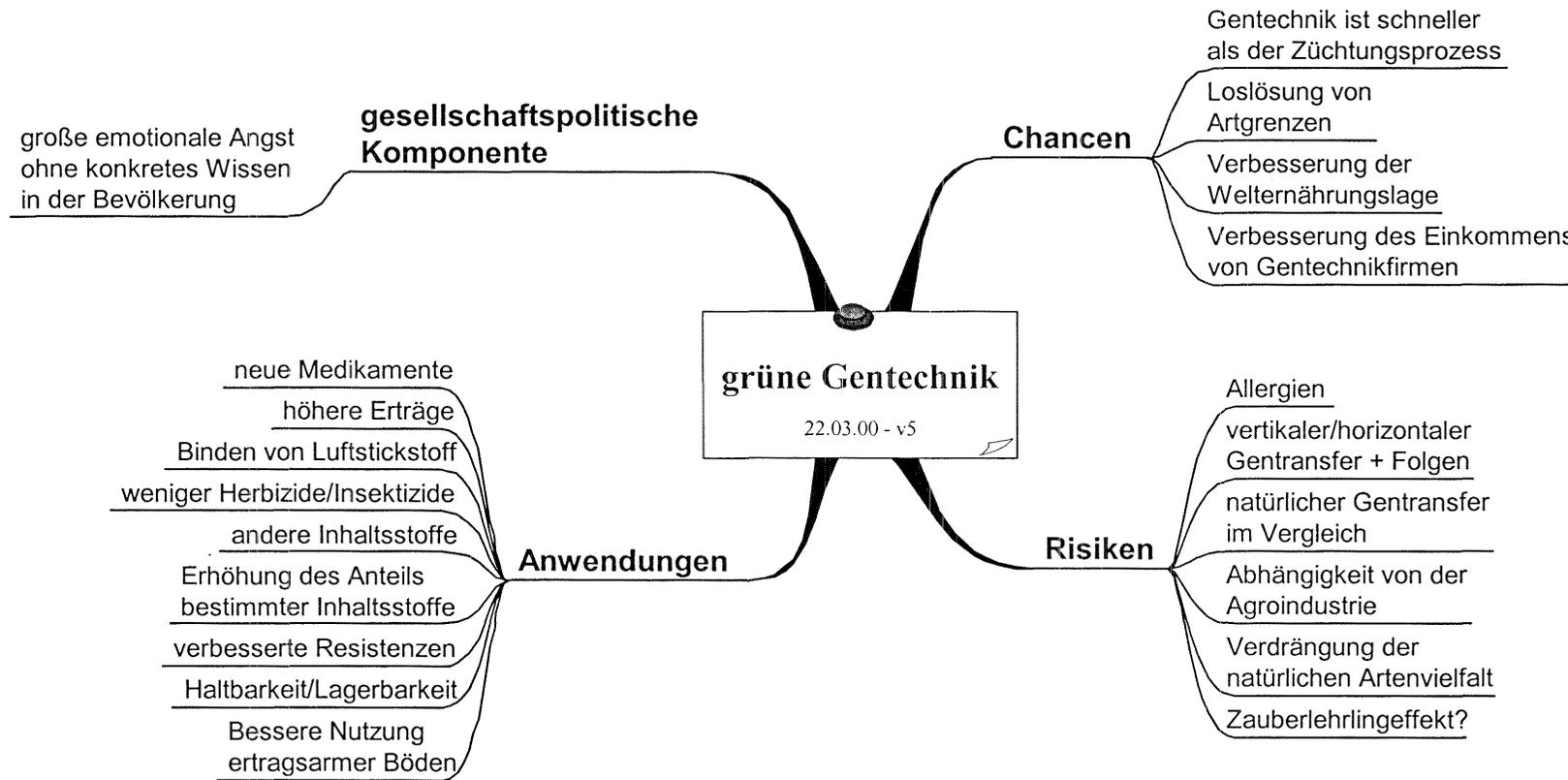


Abbildung 3: Mindmap Gruppe 3

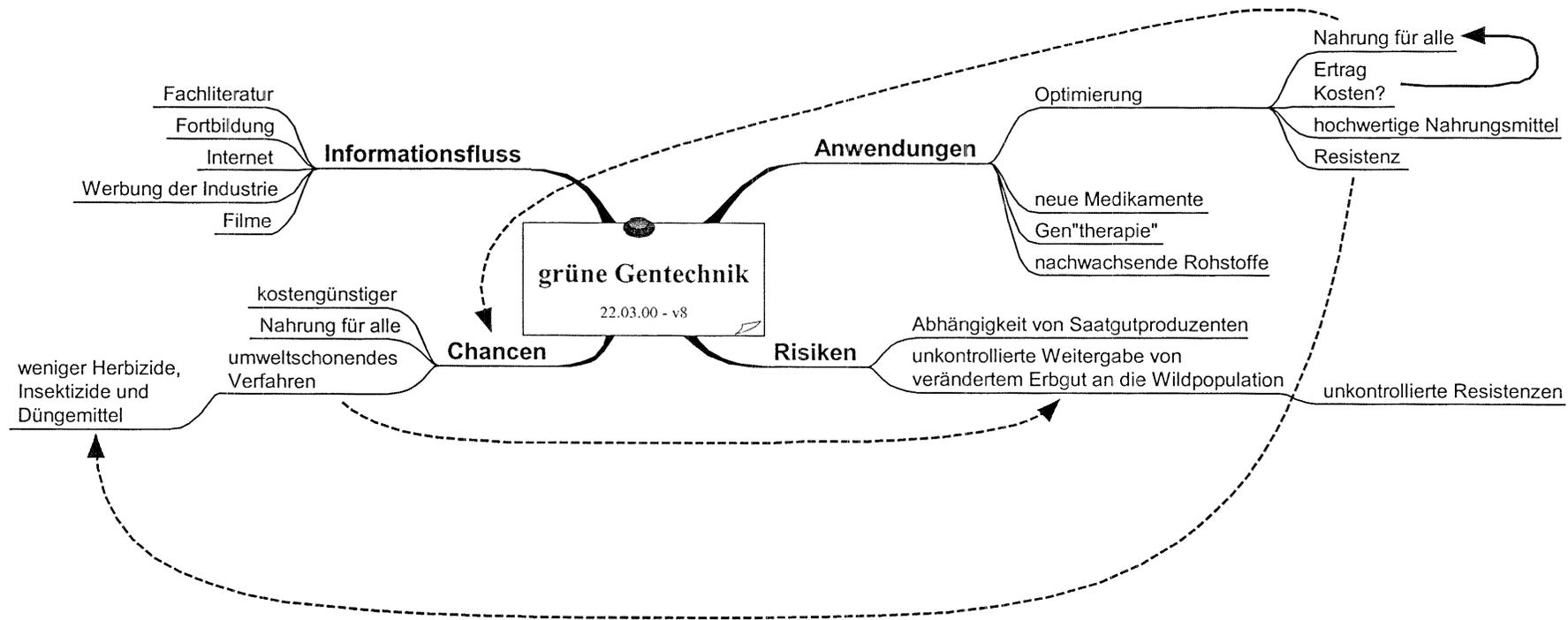
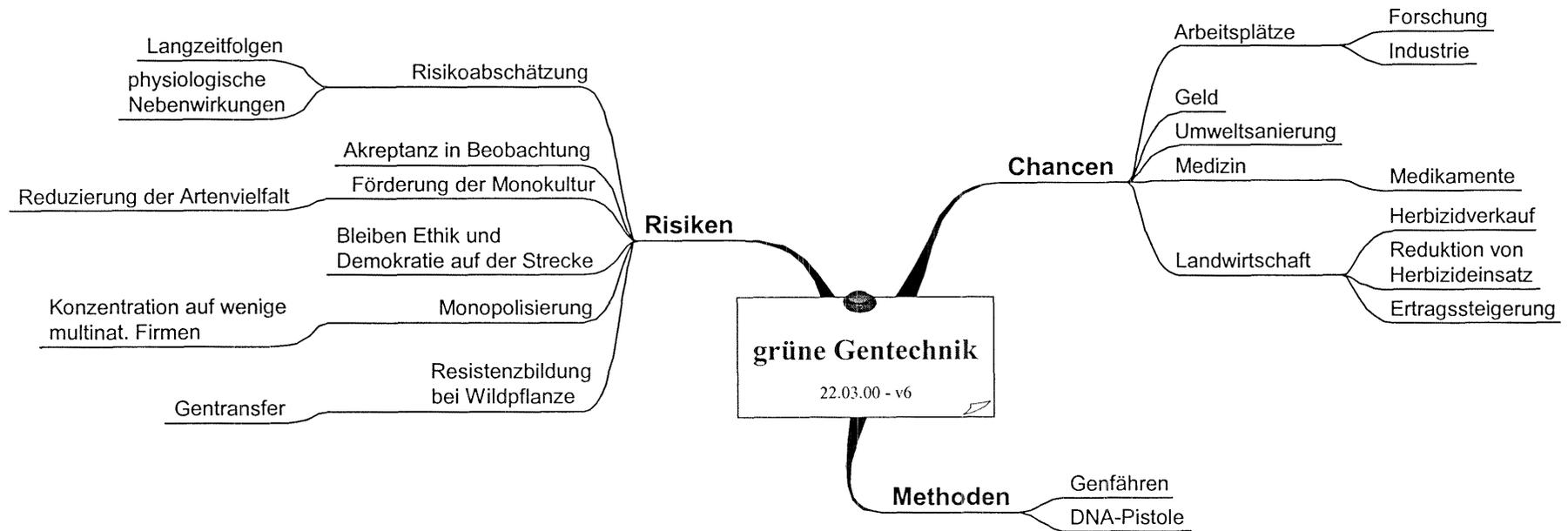


Abbildung 4: Mindmap Gruppe 4



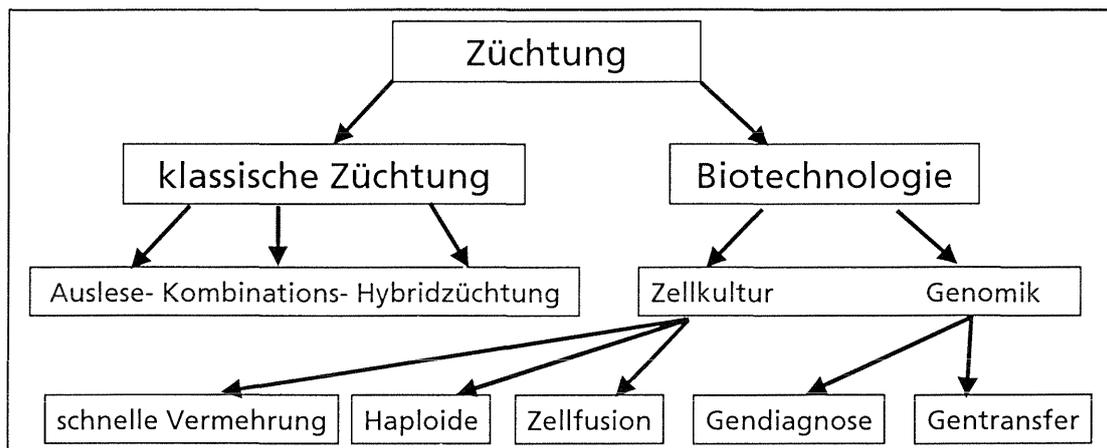
3. Stand und Perspektiven der Gentechnik bei Pflanzen

Dr. Sibylle Gaisser, Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung, Breslauer Str. 48, 76139 Karlsruhe

3.1 Biotechnologie und Gentechnik in der Pflanzenzüchtung

Seit Jahrtausenden nutzt der Mensch Pflanzen für seine Zwecke und passt sie durch Züchtung auf seine Bedürfnisse an. Nach den wissenschaftlichen Erkenntnissen durch Gregor Mendel im Jahr 1865 war einer gezielten Auslesezüchtung der Weg gebahnt. Auch heute noch kommt den Verfahren der klassischen Züchtung (Auslese-, Hybrid- und Kombinationszüchtung) der wichtigste Stellenwert zu. Verfahren der Biotechnologie wie Zellkultur und Genomik beschleunigen lediglich die klassische Züchtung (Abb. 5). So rechnet man zur Herstellung einer neuen Sorte mittels herkömmlicher Züchtung mit 10 bis 15 Jahren. Unter Hinzuziehen der modernen Methoden kann dieser Zeitraum auf 4 bis 7 Jahre reduziert werden. Prinzipiell kommt gentechnischen Verfahren jedoch nur die Rolle des "Fine-Tunings" zu. Dies bedeutet, dass gentechnische Verfahren nur bei züchterisch bereits gut charakterisierten Sorten sinnvoll sind. Vom Gesamtanteil machen gentechnische Verfahren deshalb nur ca. 10 % des züchterischen Aufwands aus.

Abbildung 5: Methoden klassischer und moderner Pflanzenzüchtung im Vergleich



Die herkömmliche Sortenentwicklung wird auf Gesamtkosten von 4 Mio. DM kalkuliert. Bei Einsatz biotechnologischer Verfahren wie der Zellkultur rechnet man mit Kosten von 3 bis 4 Mio. DM. Wird darüber hinaus ein markergestützter Ansatz

angewandt, so kann mit Gesamtkosten in Höhe von 3 Mio. DM gerechnet werden. Soll ein neues Gen mittels gentechnischer Verfahren eingeschleust werden, so ergeben sich für die Isolierung des Gens einmalige Kosten in Höhe von 1 bis 10 Mio. DM. Darüber hinaus werden unter Umständen laufende Lizenzzahlungen fällig.

3.2 Methoden des Gentransfers

Bahnbrechend auf dem Weg zur gezielten gentechnischen Veränderung von Pflanzen waren die Entwicklungen zur Protoplastierung, d. h. Entfernen der Zellwand und späteren Regeneration der Zellen zu ganzen Pflanzen.

Die Methoden der Protoplastierung erlauben durch Protoplastenfusion die Kreuzung von zwei Pflanzen über die Artschranke hinweg. Transfer von freier DNA beispielsweise in Form von Lipid-Vesikeln oder durch Anlegen einer starken Spannung (Elektroporation) (Abb. 6).

Ein weiterer Mechanismus bedient sich der DNA-Transfermechanismen wie sie das Bodenbakterium *Agrobacterium tumefaciens* natürlicherweise besitzt. Dieses Bakterium befällt Wurzeln unter Ausbildung von Tumoren, der sogenannten Wurzelhalsgallen, und schleust einen Teil seiner DNA in Form des Ti-Plasmids in die pflanzliche Zelle ein. (Abb. 7a). Da jedoch nur wenige Bereiche des Ti-Plasmids für die Transferfunktion benötigt werden, kann dieses Plasmid als Vektor für Fremd-DNA genutzt werden. Dazu werden für den Transfer nicht benötigte Gene aus dem Plasmid entfernt, d. h. das Plasmid wird entschärft (*disarmed*). In diese Lücke können nun die zum Transfer bestimmten Fremdgene eingebaut werden. Das neu konstruierte Plasmid wird in *Agrobacterium* transformiert, welches daraufhin den Transfer des Plasmids in die Pflanzenzelle durchführt (Abb. 7b). Nachteil bei der Verwendung der *Agrobacterium*-Methode zum DNA-Transfer ist ein enges Wirtsspektrum des Bakteriums. So waren zumeist nur Dikotyledonen (= Zweikeimblättrige Pflanzen) mit dieser Methode transformierbar, Monokotyledonen (= Einkeimblättrige Pflanzen), zu denen die viele landwirtschaftlich genutzte Arten wie z. B. Getreide und Mais gehört, konnten über diese Methode nicht transformiert werden.

Eine Alternative stellt die Particle Gun dar. Wie in Abbildung 8a dargestellt, wird bei dieser Methode DNA auf feine Gold oder Wolframpartikel aufgebracht. Diese DNA-beladenen Partikel werden dann mit Hilfe eines hohen Druckes auf die Pflanzenzellen geschossen. Einzelne Partikel dringen in die Zellen ein und es kann zur Rekombination der Fremd-DNA mit der DNA der Empfängerzelle kommen. Abbildung 8b zeigt den Aufbau einer solchen Particle Gun.

Abbildung 6: Protoplastierung (= Entfernen der Zellwand)

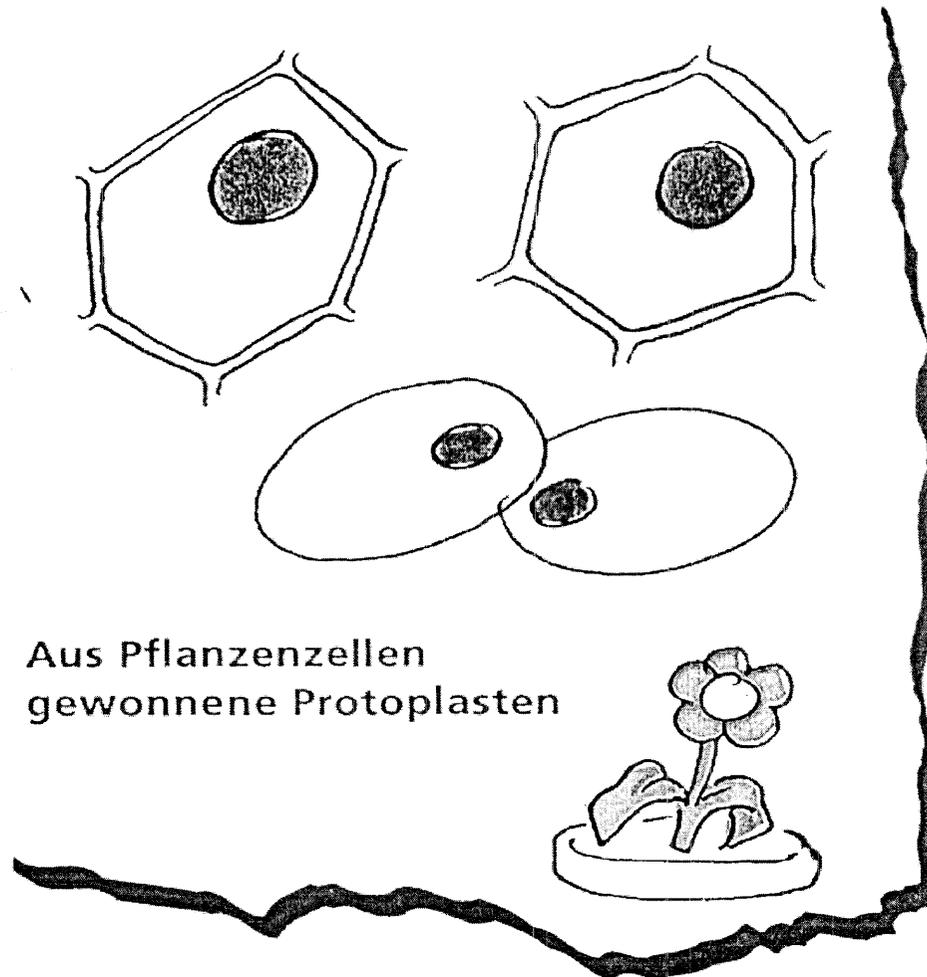
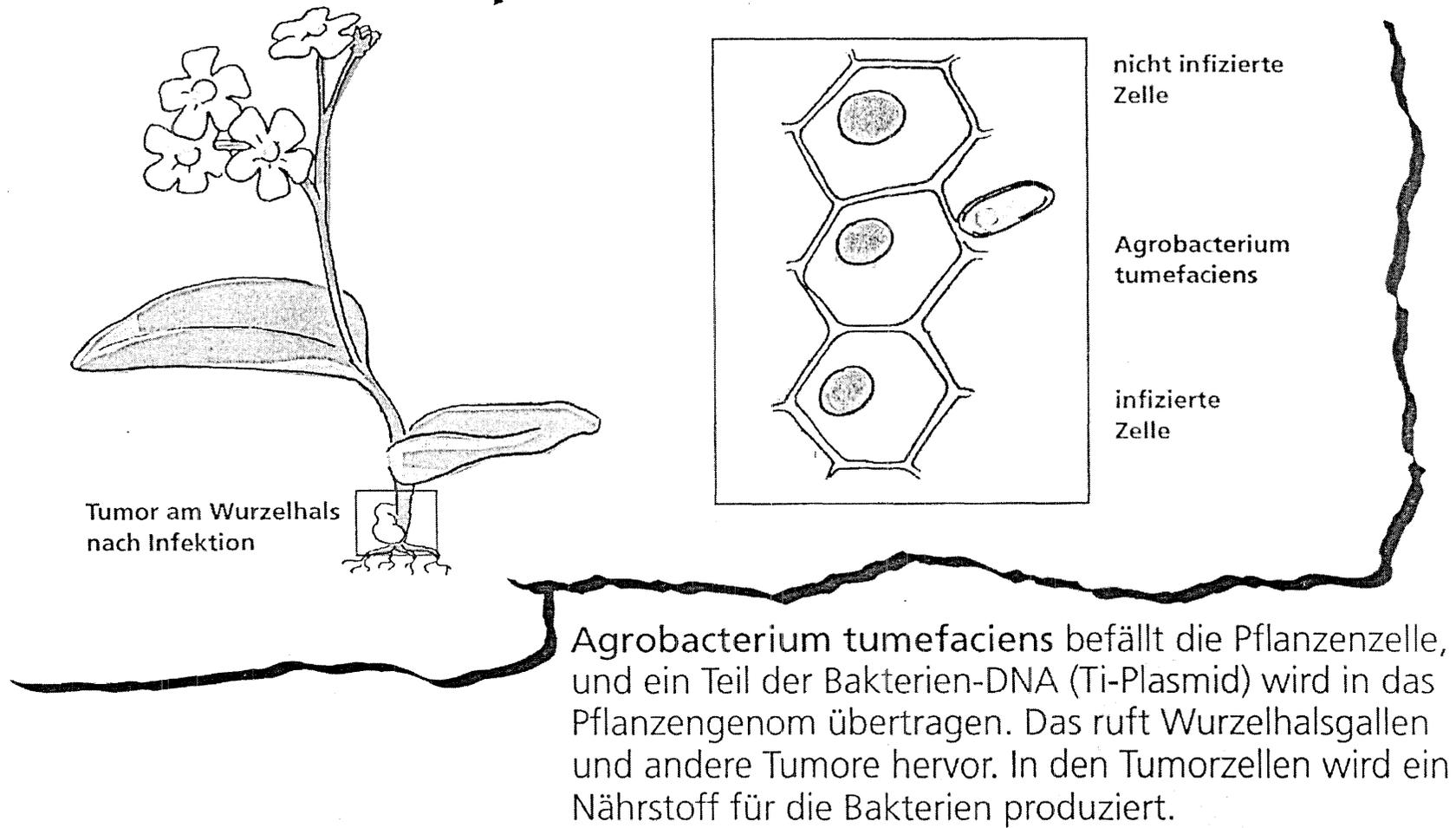
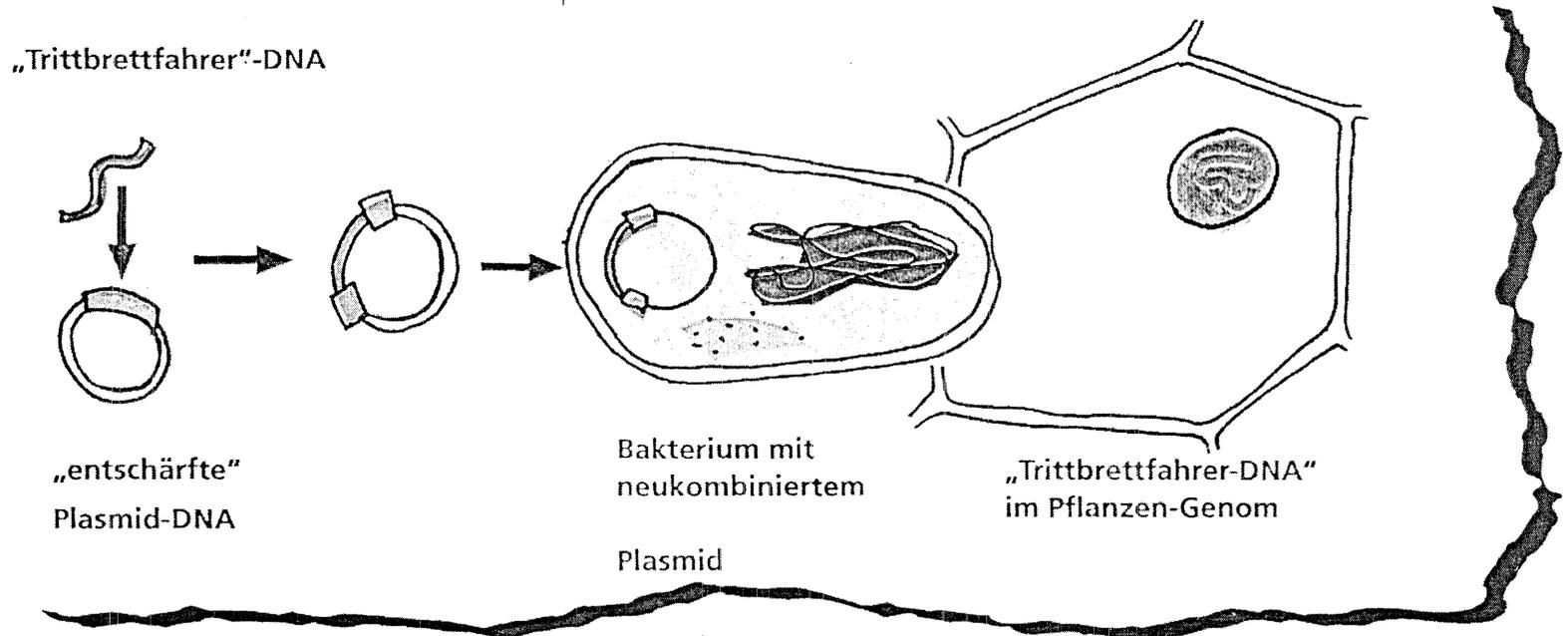


Abbildung 7a: Natürlicher DNA-Transfer durch *Agrobacterium tumefaciens*





Zum Einbringen eines neuen Gens in eine Pflanzenzelle wird ein „entschärftes“ Ti-Plasmid verwendet, das keine Tumore mehr auslösen kann. Das Gen wird als „Trittbrettfahrer“ in das entschärfte Plasmid eingebaut.

Die infizierte Pflanzenzelle bildet keine Tumore mehr, trägt dafür aber in ihrem Genom das neue Gen.

Abbildung 7b: Fremd-DNA-Transfer mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens*

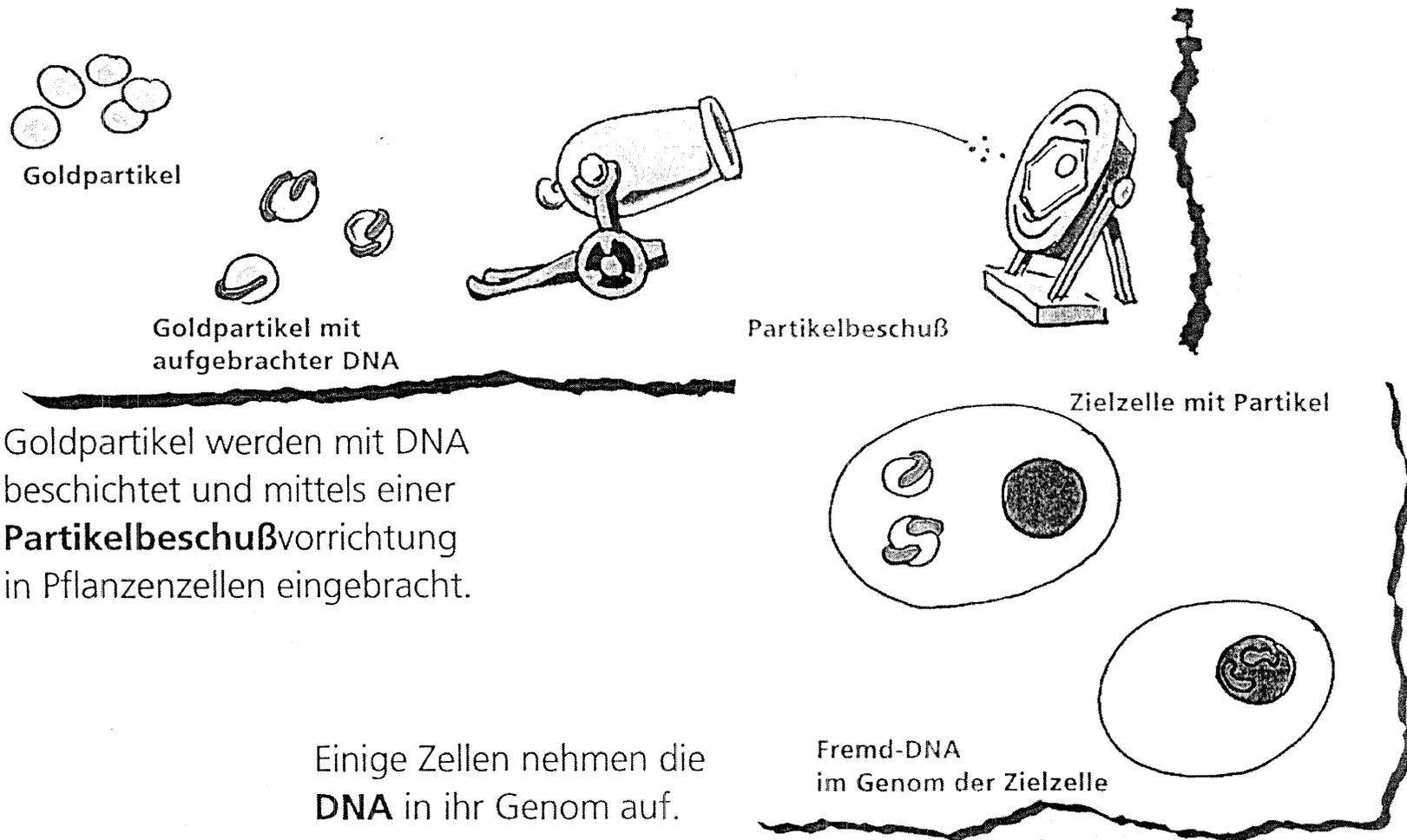
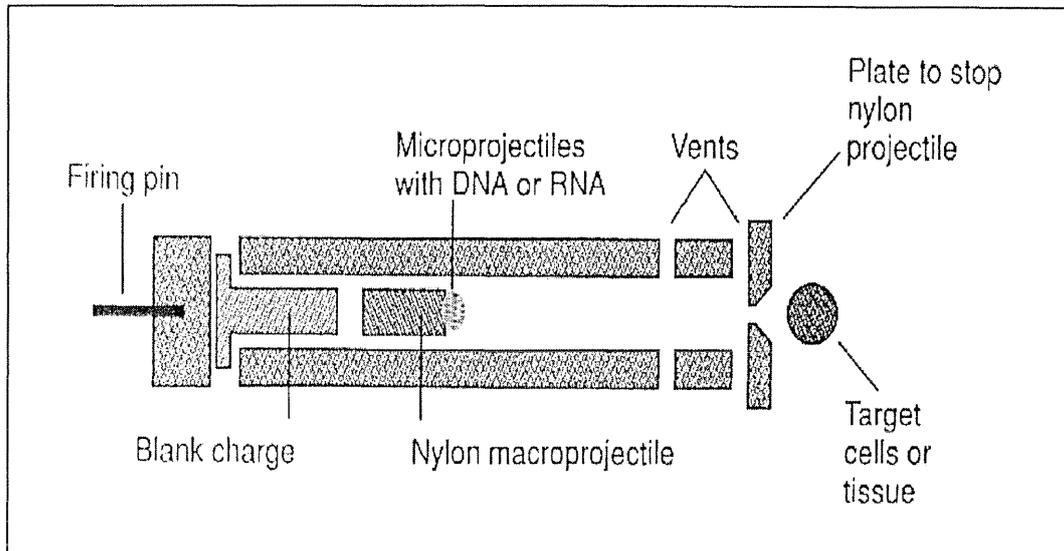


Abbildung 8a: DNA-Transfer mit Hilfe einer Particle Gun

Abbildung 8b: Particle Gun zum Transfer von DNA in Zellen



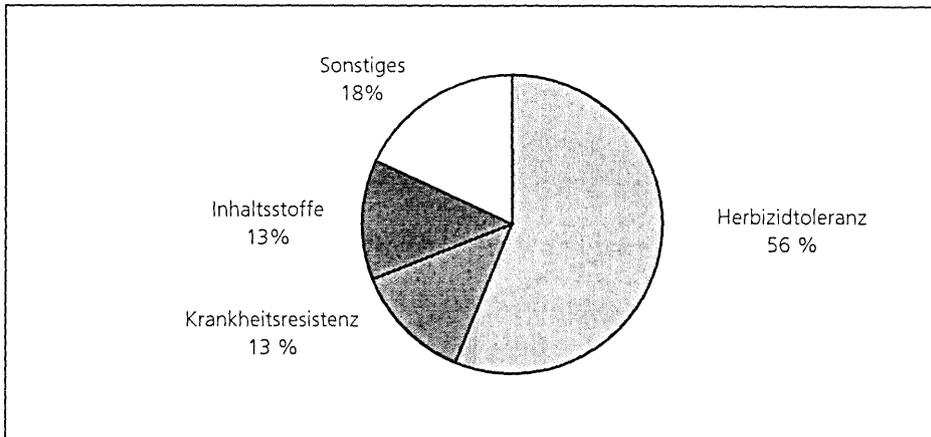
3.3 Zuchtziele der klassischen und modernen Pflanzenzüchtung

Die Ziele der klassischen und modernen Pflanzenzüchtung lassen sich in drei Kategorien einteilen. Sie zielen auf

1. Verbesserung der Wirtschaftlichkeit. Dazu gehören die Erhöhung des Ertrags sowie die Verringerung des zu leistenden Inputs bei der Kultivierung entsprechender Pflanzen, beispielsweise durch Herbizidtoleranz und Krankheitsresistenz.
2. Verbesserung der Qualität. Hier spielen vor allem die Veränderung des Inhaltsstoffmusters und die Produktion neuer Inhaltsstoffe durch Pflanzen eine Rolle.
3. Verbesserung der Resistenz der Pflanzen. Von besonderer Bedeutung sind hierbei multifaktorielle Resistenzmechanismen sowie die Resistenz gegen Umwelteinflüsse, wie Toleranz von hohen Salzkonzentrationen und Trockenheit.

Wie Abbildung 9 zeigt, befinden sich derzeit mit 69 % vor allem transgene Pflanzen mit Herbizidtoleranz und Krankheitsresistenz in Freisetzungsversuchen. Diese Merkmale dienen wie obige Kategorisierung zeigte allein der Verbesserung der Wirtschaftlichkeit. Beim Anbau dieser Pflanzen wird primär der Erzeuger einen konkreten Nutzen haben.

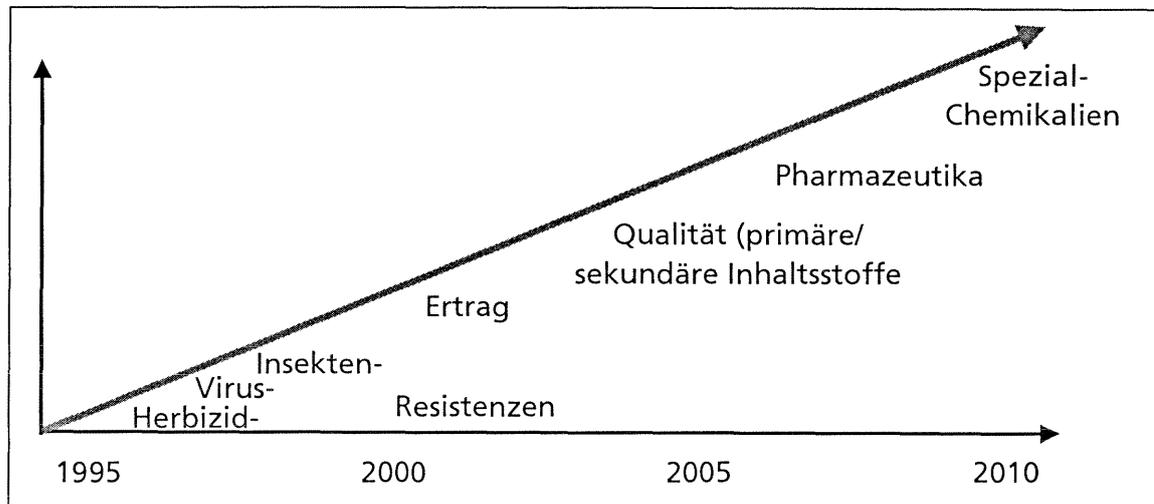
Abbildung 9: Freisetzungsversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen (Stand 1999)



Bereits für die nahe Zukunft, so prognostizierten Experten im Rahmen einer Delphi-Untersuchung des Fraunhofer-Instituts für Systemtechnik und Innovationsforschung werden auch Pflanzen auf den Markt kommen, welche dem Verbraucher einen Vorteil bringen. Dazu gehören Pflanzen, welche ein geändertes Inhaltsstoffmuster besitzen oder auch Pflanzen zur Produktion von Biopharmazeutika¹. Abbildung 10 gibt einen Eindruck über die zeitlichen Perspektiven.

¹ Die "Studie zu globalen Entwicklung von Wissenschaft und Technik" wurde 1998 für das Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) erstellt.

Abbildung 10: Zeithorizonte der Entwicklung transgener Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften



3.4 Aktueller Stand beim Anbau transgener Pflanzen

Die Entwicklung transgener Pflanzen durchläuft normalerweise drei, gesetzlich vorgeschriebene Phasen. Zunächst werden in Laborversuchen im geschlossenen System (Phytokammer, Gewächshaus) die Pflanzen erzeugt. Im Anschluss daran erfolgt eine zeitlich und räumlich begrenzte Freisetzung. Bis Ende 1998 wurden weltweit ca. 8.950 Freisetzungsversuche unternommen. Führend waren dabei die USA mit 79 % aller Freisetzungsversuche, gefolgt von Kanada mit 9 % der Freisetzungsversuche. Europa spielt mit weniger als 10 % der Freisetzungsversuche keine große Rolle (Zahlen nach OECD-Datenbank BioTrack, Abb. 11a). In Europa wurden beim Robert-Koch-Institut bis Oktober 1999 1.358 Freisetzungsversuche registriert. Frankreich steht mit einem knappen Drittel an erster Stelle, gefolgt von Italien (17 %), Großbritannien (13 %) und Spanien (10 %) (Abb. 11b). Die meisten Freisetzungsversuche wurden mit transgenem Mais durchgeführt (37 % weltweit, 25 % in Europa). Weltweit spielte außerdem die Kartoffel (12 %), Raps (11 %) und Soja (9 %) eine bedeutende Rolle. In Europa liegt die Zuckerrübe mit 16 % auf Platz drei (Abb. 11c).

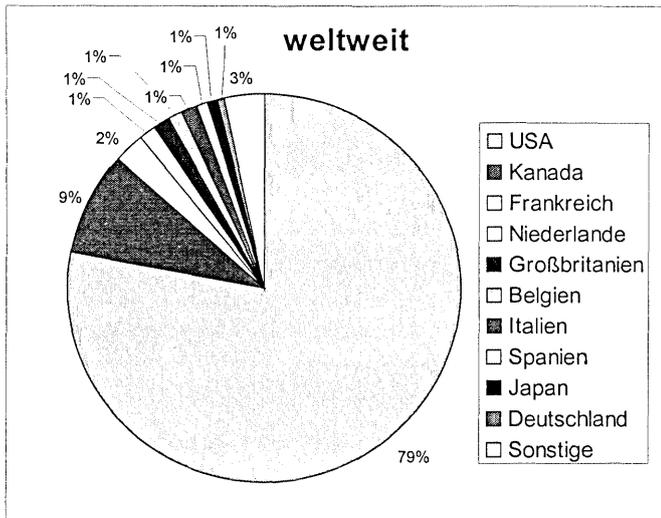


Abbildung 11a:
Freisetzungsversuche weltweit

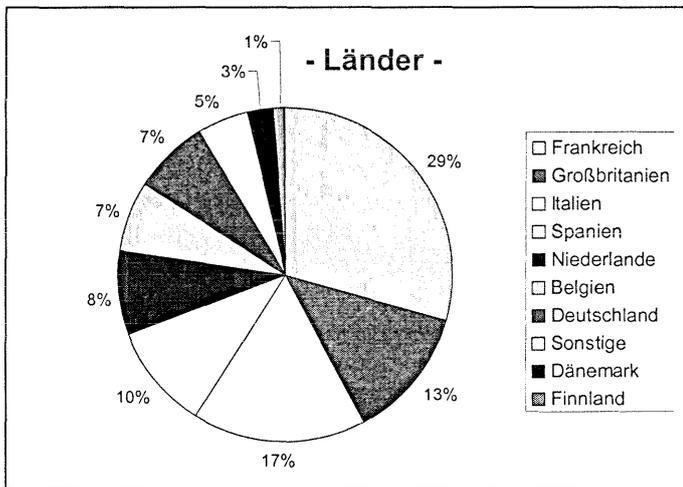


Abbildung 11b:
Freisetzungsversuche in Europa

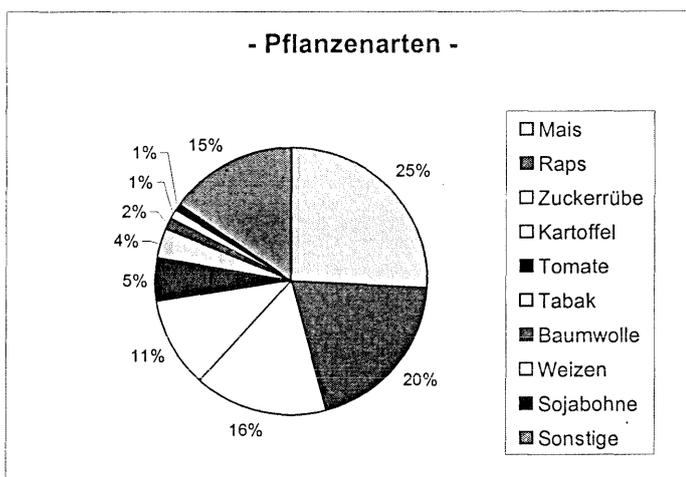
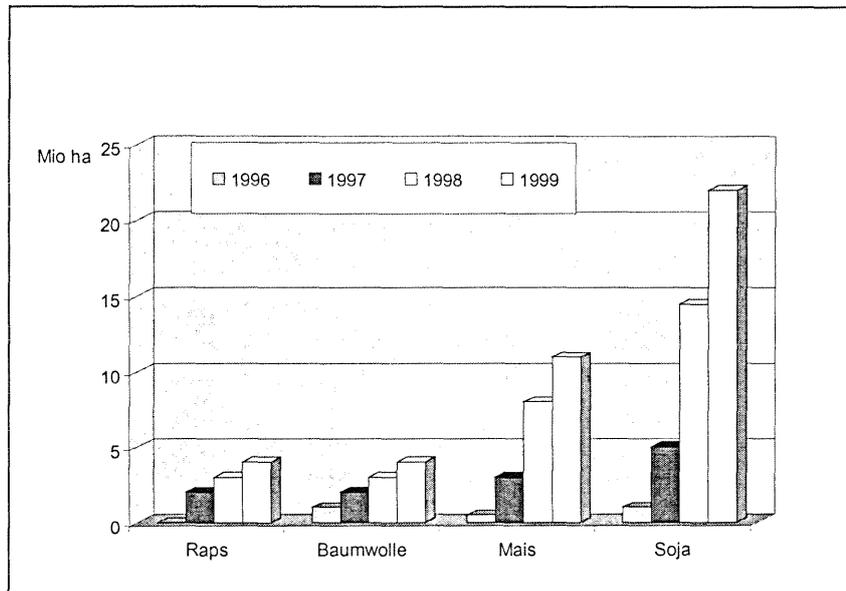


Abbildung 11c:
Freigesetzte Pflanzen in Europa

Haben Freisetzungsexperimente u.a. die ökologische Unbedenklichkeit der entsprechenden transgenen Pflanzen bestätigt, so kann die Zulassung für den kommerziellen Anbau beantragt werden. International sind es die vier Pflanzen Raps, Baumwolle, Mais und Soja, welche von Bedeutung sind. Beim Vergleich der Anbauflächen sind wie Abbildung 12 zeigt in den letzten 4 Jahren starke Zuwächse zu verzeichnen.

Abbildung 12: Kommerzielle Anbauflächen gentechnisch veränderter Pflanzen weltweit (nach International Service for Acquisition of Agri-biotech Applications, 1999)



Bei Baumwolle wurde mit 3,13 Mio. ha in den USA bereits auf 60 % der Gesamtanbaufläche gentechnisch veränderte Baumwolle angebaut. Auch Soja wird auf 16,2 Mio. ha (entspricht 54 % der Gesamtanbaufläche) in Form gentechnisch veränderter Pflanzen angebaut.

Nach einer Untersuchung aus Science aus dem Jahr 1998 waren die wichtigsten Länder mit kommerziellem Anbau transgener Pflanzen die USA (20,5 Mio. ha), Argentinien (4,3 Mio. ha), Kanada (2,8 Mio. ha), China (1,8 Mio. ha), sowie Mexiko und Australien (je 0,1 Mio. ha).

Zusammenfassend kann man feststellen, dass inzwischen nahezu alle wirtschaftlich wichtigen Nutzpflanzen gentechnisch veränderbar sind. Kommerzialisiert sind u. a. Mais, Raps, Soja, Baumwolle, Kartoffeln. Diesen Pflanzen wurde durch Gentechnik Resistenz gegen Herbizide und/oder Insekten verliehen. Dies bedeutet aber auch,

dass primär nur für den Produzenten und Verarbeiter, nicht aber für den Verbraucher Vorteile durch die gentechnische Veränderung entstehen.

3.5 Risikoanalyse

Gentechnische Pflanzen können ökologische und gesundheitliche Risiken in sich bergen. Im Rahmen einer Sicherheitsanalyse, wie sie bei der Beantragung eines Freisetzungsvorgangs durchzuführen ist, sind diese Risiken zu untersuchen und zu gewichten. Prinzipiell gibt es keine generell gültige Vorgehensweise für eine Sicherheitsbeurteilung gentechnischer Anwendungen. Bei der Einzelfalluntersuchung gilt es das Risiko als Produkt aus Schadensausmaß und Eintrittswahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung des betroffenen Personenkreises (Verbraucher, Produzenten) abzuschätzen.

Potenzielle ökologische Risiken sind:

- horizontaler und vertikaler Gentransfer
- Auswilderung von gentechnisch veränderten Pflanzen mit Selektionsvorteil
- Verringerung der genetischen Vielfalt durch transgene Nutzpflanzen
- Bildung neuer pflanzenpathogener Viren durch Rekombinationsvorgänge bei virusresistenten Nutzpflanzen
- Schädigung nützlicher Insekten

Potenzielle gesundheitliche Risiken sind:

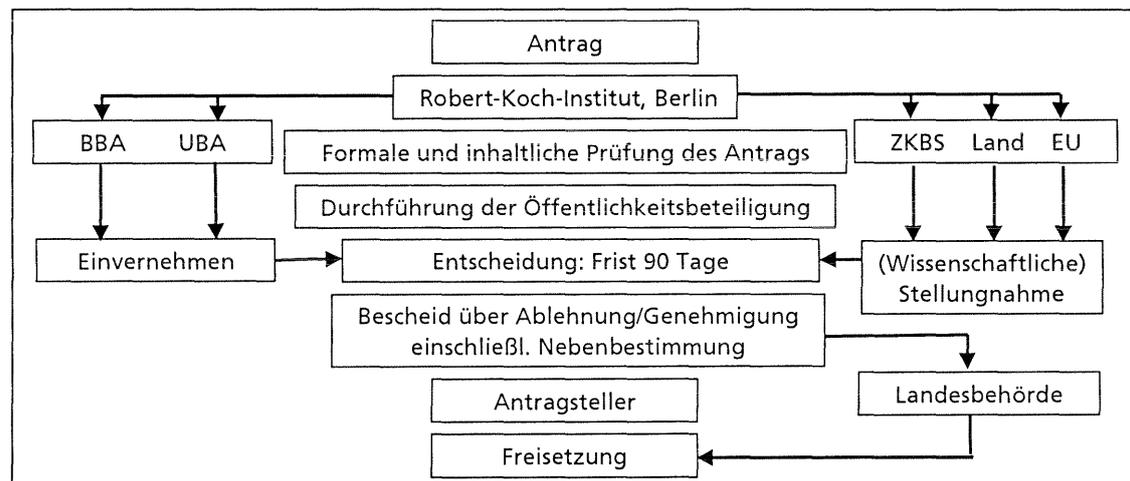
- Synthese toxischer Substanzen
- unerwartete, unerwünschte Eigenschaften durch den nicht vorher bestimmbar Einbau des Genkonstrukts in das Genom ("pleiotrope Effekte")
- Änderung von typischen oder wichtigen Inhaltsstoffen
- Veränderung des ernährungsphysiologischen Wertes des Lebensmittels
- Gentransfer (insbesondere Antibiotikumsresistenz-Gene) auf die Darmflora
- Allergien

Für alle diese Risiken muss nach der Freisetzungsrichtlinie von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) der EU (90/220/EWG) eine fall- und produktspezifische Analyse erfolgen.

In der Bundesrepublik Deutschland entscheidet das Robert-Koch-Institut über Freisetzungsexperimente. Dazu müssen Anträge gestellt werden, welche neben Angaben über die gentechnische Modifizierung (Genkonstrukt, Gentransfer, Markergen) und die Auswirkung auf den Empfängerorganismus auch Angaben zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit beim Verzehr, zur biologische Sicherheit in der Umwelt, sowie zu Schutzmaßnahmen zur Verhinderung der Auskreuzung (Mantelsaat etc.) enthalten müssen. Wie in Abbildung 13 dargestellt, werden diese Anträge vom

Bundesumweltamt (UBA) und der Biologischen Forschungsanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) geprüft, die Zentralkommission für biologische Sicherheit (ZKBS) gibt eine wissenschaftliche Stellungnahme ab. Auch das Bundesland, in dem die Freisetzung erfolgen soll und die EU werden in den Entscheidungsprozess mit einbezogen. Eine Öffentlichkeitsbeteiligung in Form von Anhörungen ist nach der Novelle des Gentechnikgesetzes aus dem Jahr 1993 in der Regel nicht mehr erforderlich. Vorgeschrieben ist lediglich die Information der Öffentlichkeit, welche Einwendungen gegen das geplante Freisetzungsexperiment in schriftlicher Form machen kann. Erst ab gewerblichen Arbeiten der Sicherheitsstufe 3 sowie bei Freisetzungsexperimenten, bei denen eine Ausbreitung des Organismus nicht begrenztbar ist, ist eine öffentliche Anhörung vorgeschrieben. Die Entscheidung des Robert-Koch-Instituts muss innerhalb von 90 Tagen gefällt werden. Die entsprechende Landesbehörde wird die Überwachung des Experiments übernehmen.

Abbildung 13: Genehmigungsverfahren einer Freisetzung transgener Pflanzen



Risikoanalysen und Experimente in jüngster Vergangenheit haben gezeigt, dass transgene Pflanzen Risiken in sich bergen. Aufgrund der derzeitigen Wissenslage ist eine vollständige Klärung nicht möglich. So entsteht eine Kontroverse darüber, wie mit diesen Risiken umgegangen werden soll. Im Einzelnen muss diskutiert werden, ob genügend und sorgfältig genug Risikoforschung betrieben wird. Dissens besteht häufig auch darüber, wie einzelne Ergebnisse zu interpretieren sind und welche Wichtung die Ergebnisse erfahren. Nicht zuletzt muss immer wieder überprüft werden, ob alle Aspekte, d. h. naturwissenschaftlich-technische wie auch ethisch-moralische Aspekte in die Risikoanalyse mit einbezogen werden. Nur so wird eine umfassende Beurteilung transgener Pflanzen möglich, die auch verschiedenen Gruppierungen der Gesellschaft gerecht werden könnte.

4. Exkursion

Die Exkursion führte an das Institut für Pflanzenzüchtung, Spezielle Pflanzenzüchtung und Biotechnologie an der Universität Hohenheim.

4.1 Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik

Die Pflanzenzüchtung nimmt in der modernen Landwirtschaft eine Schlüsselrolle ein, denn leistungsfähige, standortangepasste Pflanzensorten sowie Saatgut hoher Qualität sind die Grundlagen einer umweltgerechten und rentablen Pflanzenproduktion. In Hohenheim hat die Pflanzenzüchtung schon eine lange Tradition: Bereits 1905 gründete Carl Fruwirth die heutige Landessaatzuchtanstalt Hohenheim.

Heute beinhaltet das Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik vier Fachgebiete:

- (1) Angewandte Genetik und Pflanzenzüchtung (Leitung: Prof. Dr. Albrecht E. Melchinger)
- (2) Spezielle Pflanzenzüchtung und Biotechnologie (Leitung: Prof. Dr. Gerd Weber)
- (3) Populationsgenetik (Leitung: Prof. Dr. Hartwig H. Geiger)
- (4) Saatgutkunde und Keimungsphysiologie (Leitung: Prof. Adolf M. Steiner)

Bei vielen Projekten kooperiert das Institut mit dem Forschungsschwerpunkt "Biotechnologie und Pflanzenzüchtung" sowie mit der Landessaatzuchtanstalt. Außerdem gibt es drei Versuchsstationen für Pflanzenzüchtung: Heidfeldhof (Hohenheim), Eckartsweier (Obere Rheinebene) und Oberer Lindenhof (Schwäbische Alb).

In der Züchtungsforschung arbeitet das Institut schwerpunktmäßig an der Optimierung konventioneller Zuchtmethoden und der Entwicklung und Erprobung neuer Strategien, vor allem unter Verwendung biotechnologischer Verfahren. So liefert das Institut das Know-how, das private Züchter in ihren Zuchtprogrammen umsetzen können. Es werden nahezu alle wichtigen landwirtschaftlichen Kulturpflanzen bearbeitet: Mais, Roggen, Sonnenblume, Ackerbohne, Lupine, Weizen, Dinkel, Triticale und Futterpflanzen. Vorrangig widmen sich die Forschungsarbeiten der Resistenzzüchtung gegen Krankheiten, Schädlinge, Trockenheit und Nährstoffmangel. Weitere wichtige Arbeitsgebiete sind die Qualitäts- und Inhaltsstoffzüchtung sowie die Anpassung von Nutzpflanzen an neue Verwertungsrichtungen ("Nachwachsende Rohstoffe").

Im Fachgebiet Saatgutkunde und Keimungsphysiologie werden Methoden zur Saatgutprüfung und zur Verbesserung der Saatgutqualität entwickelt, denn die Leistung einer Pflanzensorte hängt nicht nur von ihren Erbanlagen ab, sondern auch entscheidend von der Beschaffenheit des Saatguts.

Das Institut arbeitet mit zahlreichen Organisationen und Firmen im In- und Ausland zusammen. Wichtige Kooperationspartner sind u. a.:

- die privaten deutschen Pflanzenzüchtungsunternehmen,
- die internationalen Agrarforschungsinstitute CIMMYT (Mexiko), ICARDA (Syrien) und ICRISAT (Indien) sowie
- die Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA).

Die Forschungsprojekte werden finanziell unterstützt vor allem durch

- die Eiselen-Stiftung, Ulm;
- das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), Bonn;
- das Ministerium für Ländlichen Raum, Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (MLR) Baden-Württemberg;
- die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG);
- die Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e. V. (GFP), Bonn; und
- das Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg.

In der Lehre vertritt das Institut die Prüfungsfächer Pflanzenzüchtung, Populationsgenetik sowie Saatgutkunde und Keimungsphysiologie in den Diplom-Studiengängen Allgemeine Agrarwissenschaften, Agrarbiologie und Biologie.

Für die Exkursion war vor allem das Fachgebiet "Pflanzenzüchtung und Biotechnologie" des Instituts für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim von Interesse. Es wird von Prof. Dr. Gerd Weber geleitet. In diesem Fachgebiet wird unter Einsatz biotechnologischer Methoden an der Verbesserung von Krankheitsresistenz gearbeitet. Resistenzgene werden identifiziert und ihre Funktion erforscht. Solche Resistenzgene sollen dann mit der Technik des Gentransfers auf krankheitsanfällige Genotypen übertragen werden. Weiterhin wird an Projekten gearbeitet, die der Entwicklung von Pflanzen zum Einsatz als nachwachsende Rohstoffe dienen. Das Tätigkeitsprofil umfasst somit:

- Molekulargenetische Grundlagen pflanzlicher Krankheitsresistenzen
- Feinkartierung von Genen für Krankheits- und Schädlingsresistenz
- Entwicklung von DNA-Sonden zur genetischen Analyse komplexer Merkmale

In diesem Fachgebiet werden folgende Forschungsprojekte bearbeitet:

1. Resistenzen gegen Pflanzenviren und Insekten

- Isolierung und Übertragung des Resistenzgens gegen Maisverzweigungs mosaikvirus (MDMV)
- Selektion von Pilz- und Insektenresistenz im Hopfen; genetische Variabilität im Hopfen
- Entwicklung neuer molekularer Marker für die Züchtung von Resistenz gegen tropische Maisschädlinge (Insekten)

2. Nachwachsende Rohstoffe

- Impfstoffe aus Pflanzen
- Pflanzen als Lieferanten von Carotinoiden und Ballaststoffen

4.2 Führung durch das Institut

Herr Prof. Dr. Weber, Inhaber des Lehrstuhls Spez. Pflanzenzüchtung und Biotechnologie, begrüßte die Teilnehmer persönlich und gab einen Überblick über die Aufgaben und Projekte des Instituts für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik an der Universität Hohenheim. Danach führte Herr Dr. Schwedenk durch die Laborräume und Gewächshäuser. Das an sich recht kleine Institut beeindruckte die Teilnehmerinnen und Teilnehmer, da die Fragen der Besucher ernst genommen wurden und anhand der Demonstration einfacher Labortechniken die molekularbiologische Arbeitsweise verdeutlicht wurde.

5. Informationsbewertung

5.1 Aufgabenstellung

Es wurden vier Gruppen gebildet. Jede Gruppe erhielt Arbeitsmaterialien zum Thema "Auswirkung des BT-Mais auf den Monarch-Schmetterling". Insgesamt wurden vier Arbeitsmaterialien untersucht. In diesen Artikeln positionierten sich die Autoren unterschiedlich für oder gegen den Einsatz von Gentechnik bei Pflanzen.

5.2 Übersicht über die Arbeitsmaterialien

Es standen folgende Arbeitsmaterialien zur Verfügung:

Gruppe 1 und 2:

1. Monsanto-Presseerklärung vom Mai 1999: Bt Mais – Ökologische Unbedenklichkeit im Zusammenhang mit einem aktuellen Bericht über den Monarch-Schmetterling.
2. Novartis-Medieninformation vom 26. Mai 1999: Monarch-Falter wird nicht durch Gen-Mais beeinträchtigt.

Gruppe 3 und 4:

1. Greenpeace-Mitteilung: Schmetterlinge leiden unter dem Bt-Mais
2. Artikel aus dem Genethischen Informationsdienst GID vom Juni/Juli 1999: Mais schädigt Schmetterlinge.

5.3 Leitfragen

Anhand folgender Leitfragen wurden die Arbeitsmaterialien durchgearbeitet:

1. Um welches Thema, welches Problem, welchen Sachverhalt geht es in dem Arbeitsmaterial?

2. Wer hat das Arbeitsmaterial verfasst? Welchen Bezug hat der Autor zum Thema? Welche Intention wird mit der Veröffentlichung verfolgt?
3. Werden die Problemstellung, die Technik bzw. das Verfahren, Vorteile und Zielsetzungen, Nachteile und Risiken, offene Fragen, mögliche Folgewirkungen und alternative Lösungsansätze des Problems dargestellt?
4. Wie verständlich ist das Arbeitsmaterial für Sie? Warum?
5. Wie glaubwürdig ist das Arbeitsmaterial für Sie? Warum?
6. Wird durch das Arbeitsmaterial Ihr Informationsbedürfnis zum Thema "Ökologische Schäden durch BT-Mais" befriedigt? Warum (nicht)?

5.4 Ergebnisse

Die Antworten auf die Leitfragen wurden von jeder Gruppe visualisiert (siehe Abbildungen 14 bis 17) und anschließend vor dem Plenum vorgetragen. Es wurde deutlich, wie unterschiedlich Greenpeace und der Gen-ethische Informationsdienst bzw. Monsanto und Novartis mit derselben Information umgingen. Gentechnik-kritische Organisationen wie Greenpeace oder der Gen-ethische Informationsdienst stellten in ihren Artikeln die Risiken von bt-Mais in den Vordergrund. Während Firmen wie Novartis und Monsanto, die im Bereich Grüne Gentechnik wirtschaftlich aktiv sind, die Vorteile von gentechnisch verändertem Mais betonten. Diese einseitige Auslegung von Informationen war einer der Hauptkritikpunkte der Teilnehmer. Die Artikel waren zwar logisch aufgebaut und wirkten so weitgehend glaubwürdig, die Behandlung der Thematik erfolgte aber zu plakativ und tendentiös. Gerade die Artikel von Monsanto und Novartis wurden auch in ihrem Informationsgehalt als sehr unbefriedigend empfunden.

Durch die Textanalyse gelang es den Teilnehmern, ein Anforderungsprofil an eine gute Informationsquelle zu erarbeiten. Aus ihr sollte die Herkunft der Autoren deutlich werden, sie sollte in einer klaren Sprache (nur wenige Fremdwörter) die wesentlichen Fakten präsentieren, die Darstellung von Position und Gegenposition sollte ausgewogen sein und offene Fragen sollten genannt werden.

Abbildung 14: Bewertung der Texte von Greenpeace und dem Gen-ethischen Netzwerk (Gruppe 1)

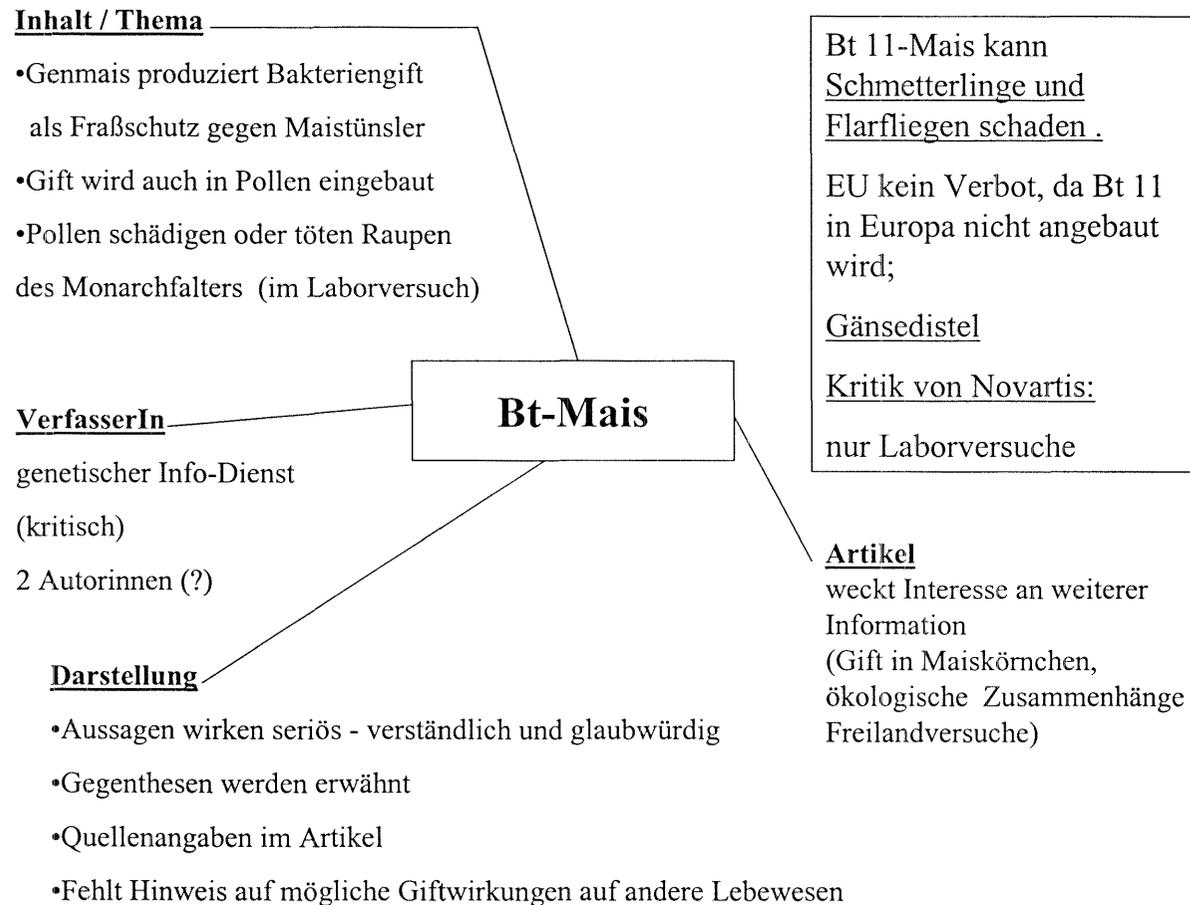


Abbildung 15: Bewertung der Texte von Greenpeace und dem Gen-ethischen Netzwerk (Gruppe 2)

Contra Gentechnik

Negative Auswirkungen vom gentechnisch verändertem Mais auf die Umwelt

Greenpeace:

- gentechnisch veränderter Mais in Deutschland
- Ausführliche Information über die Wirkung vom Bt-Mais
- Antibiotikaresistenz
 - unnötig und schädlich
- Herbizidresistenz
 - Schädigung von weiteren Insekten
 - Resistenzproblem
- Ökologisch sinnvolle Schädlingsbekämpfung wird wirkungslos.
- Auswirkung auf Mensch?

Greenpeace:

- Schmetterlinge leiden unter Bt-Mais
- Kurzinformation, oberflächlich mit ungenannten Angaben

Genetischer Info-Dienst

- Mais schädigt Schmetterlinge (Susanne Bilby)
- Mais mit falschen Genen (Wolfgang Löhr)
- Fundierte fachliche Information über Schädigung von Schmetterlingsraupen durch Bt-Mais-Pollen

Verständlich, wenn fachlich vorgebildet

glaubwürdig, aber einseitig ausgelegt

zu plakativ + tendenziös

glaubwürdig, aber einseitig ausgelegt

Keine vollständige Information, Gegenposition fehlt

Abbildung 16: Bewertung der Texte von Monsanto und Novartis (Gruppe 3)

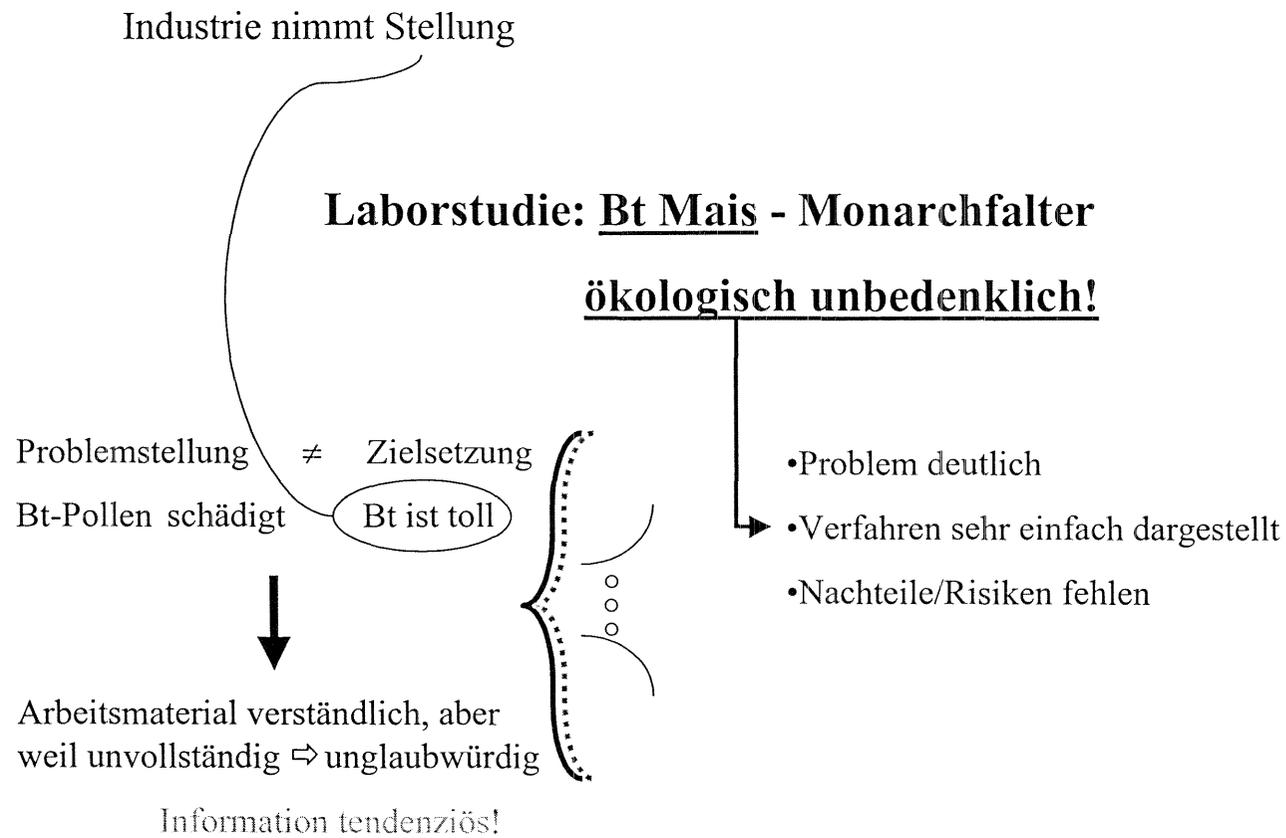
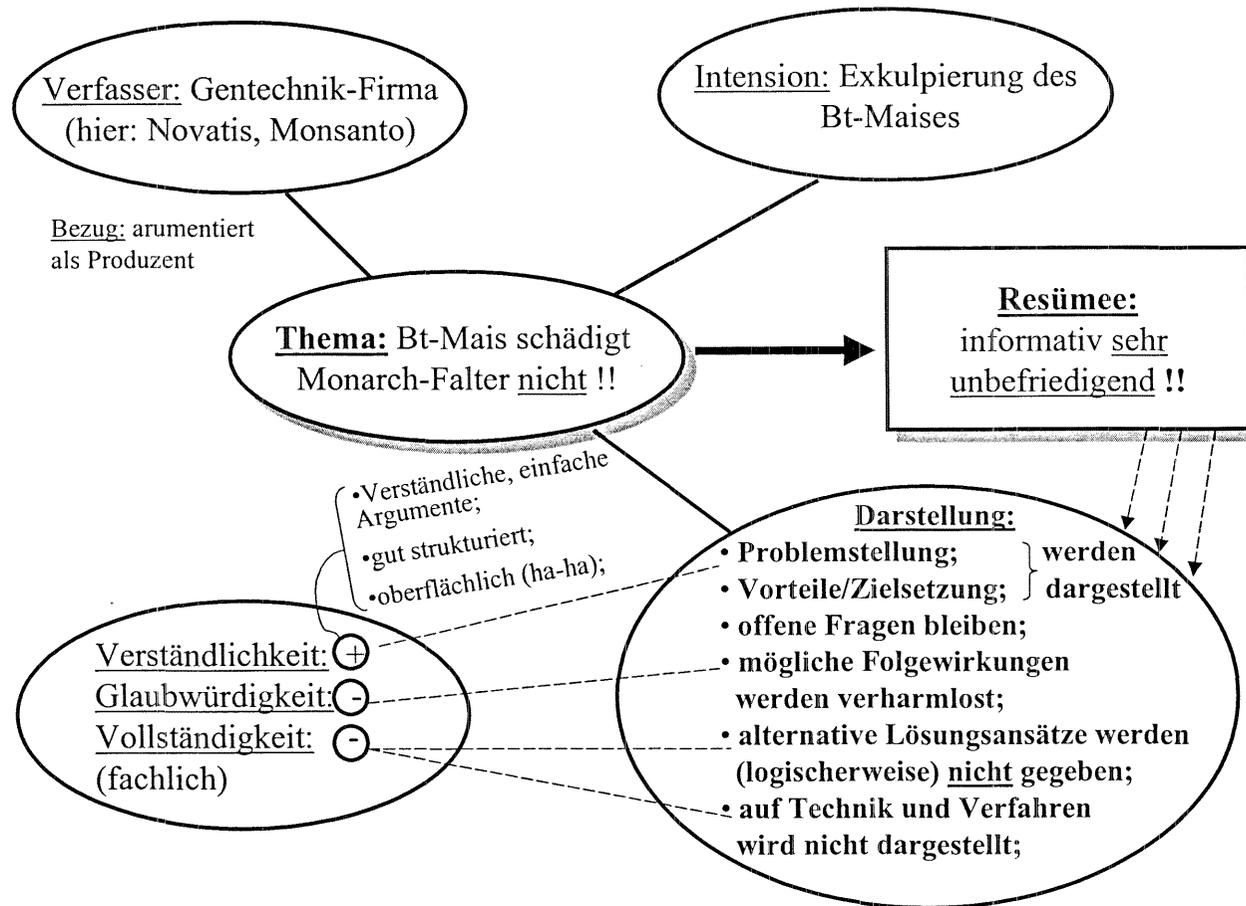


Abbildung 17: Bewertung der Texte von Monsanto und Novartis (Gruppe 4)



6. Informationsbeschaffung zum Thema "Transgene Pflanzen"

Im Anschluss an die Gruppenarbeit "Bewertung von Informationen" hatten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer die Möglichkeit, verschiedene Informationsquellen zu nutzen, um offen gebliebene Fragen nachzurecherchieren bzw. andere Informationsquellen auf ihre Glaubwürdigkeit zu prüfen. Wie die nachfolgende Liste an Print- und Internet-Publikationen zeigt, beschäftigen sich sehr viele Veröffentlichungen mit der Grünen Gentechnik. Aus der Fülle der Informationsquellen erscheinen nach unserer Einschätzung insbesondere die nachfolgenden Quellen für einen Einstieg in das Thema und für fundierte Informationen geeignet. Darüber hinaus ermöglichen die hier angegebenen Datenbanken eine rasche Suche nach aktuellem Zahlenmaterial und Hintergrundinformationen.

- Von der Bundesforschungsanstalt für Ernährung wurde 1998 im Rahmen der hauseigenen Schriftenreihe "Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung" von Kl.-D. Jany und R. Greiner eine Informationsschrift zum Thema "Gentechnik und Lebensmittel" veröffentlicht. Die gedruckte Version dieses Berichts ist leider vergriffen (soll aber neu aufgelegt werden). Unter der Adresse www.dainet.de/bfe/deutsch/janybericht/janyberi.htm kann der Bericht aus dem Internet jedoch abgerufen und ausgedruckt werden. Der Bericht gibt einen Überblick über den derzeitigen Methodenstand, über Produkte sowie über die rechtlichen Rahmenbedingungen und Möglichkeiten zur Analytik von Lebensmitteln, die mit Hilfe der Gentechnik hergestellt wurden.
- Auch der Bund für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e. V. (BLL e. V.) hat im Rahmen seiner Veröffentlichungsreihe zwei lohnenswerte Publikationen zum Thema "Grüne Gentechnik". Unter den Titeln "Gentechnik und Lebensmittel" und "Gentechnik und Lebensmittel – die Risikodiskussion" können diese Broschüren beim **BLL e. V. Godesberger Allee 157, 53175 Bonn** angefordert werden oder aus dem Internet unter www.bll.de abgerufen werden.
- Das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten hat im September 1997 ebenfalls eine umfassende Informationsschrift zum Thema "Grüne Gentechnik" veröffentlicht. In den Kapiteln Zukunftstechnologie, Welt-ernährung, Verbraucherschutz werden die zentralen Fragestellungen zu Methodik und Auswirkung der grünen Gentechnik behandelt.
- Der Genethische Informationsdienst ist das Publikationsorgan des Genethischen Netzwerks, welches aus kritischer Sicht über aktuelle Entwicklungen in der Bio- und Gentechnik berichtet. Diese Zeitschrift ist zu beziehen bei **Genethisches Netzwerk, GeN e. V., Brunnenstraße 4, 10119 Berlin** zum Preis von 80.- DM/Jahr.
- Der Bundesverband Verbraucherinitiative e. V. hat mit dem Internetangebot www.transgen.de eine Informationsplattform geschaffen, die sich Transparenz

für Gentechnik bei Lebensmitteln als Motto auf die Fahnen geschrieben hat. Hintergrundinformationen und vor allem eine sehr gute Datenbank, in der nach Lebensmitteln, Zusatzstoffen, Pflanzen, Enzymen und Unternehmen gesucht werden kann, ermöglichen raschen Zugriff auf aktuelle Daten.

- Die im Internet recherchierbare Datenbank biotrack (www.olis.oecd.org/biotrack.nsf) ermöglicht Recherche aller weltweit durchgeführten Freisetzungsversuche. Datensätze können nach Land oder Pflanzen abgefragt werden. Für Deutschland und die EU gibt es auch eine vergleichbare Datenbank am Robert-Koch-Institut (www.rki.de/GENTEC/GENTEC.HTM).

Zur weitergehende Beschäftigung mit dem Thema Grüne Gentechnik können beispielsweise die nachfolgenden Publikationen herangezogen werden.

6.1 Zeitschriften und Bücher

Eine Vielzahl von Büchern mit unterschiedlicher Zielsetzung behandelt das Thema Gentechnik. Die vorliegende Liste stellt eine Auswahl zum Thema "Gentechnik und Pflanzen" dar und erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

American Soybean Association: Die Sojabohne genmodifiziert. Der Weg in die Zukunft. American Soybean Association, Hamburg

American Soybean Association: Fragen und Antworten zum Thema genmodifizierte Sojabohnen. American Soybean Association, Hamburg

American Soybean Association (Hrsg.) (1996): Soja-Journal special. Hamburg

Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten e. V. (Hrsg.) (1998): Gentechnik in der Lebensmittelherstellung – Grundlagen, Anwendungsgebiete, aktuelle Rechtslage. ISBN 3 89661 517 3

Behrens, M.; Meyer-Stumborg, S.; Simonis, G. (1997): Gen Food. Einführung und Verbreitung, Konflikte und Gestaltungsmöglichkeiten. edition sigma[®] rainer bohn verlag, Berlin. ISBN 3 89404 863 8

Behrens, M.; Meyer-Stumborg, S.; Simonis, G. (Hrsg.) (1995). Gentechnik und die Nahrungsmittelindustrie. Sozialverträgliche Technikgestaltung Band 33. Westdeutscher Verlag, Opladen. ISBN 3 531 12852 3.

Biologie in unserer Zeit (1999): Transgene Pflanzen. Spezial 1999, 29. ISSN 0045 205X

BLL, BRAIN (Hrsg.) (1995): Gentechnik und Lebensmittel.

- Brehmer, K.; Goedeke, K.; Richter, R.; Warmbold, T., von Falkenhausen, E., Langlet, J., Rottländer, E. (1994): Ethische Fragen im Biologieunterricht. Grundprobleme und Fallbeispiele. Niedersächsisches Landesinstitut für Lehrerfortbildung, Lehrerweiterbildung und Unterrichtsforschung.
- British Medical Association (1999): The impact of genetic modification on agriculture, food and health. An interim statement
- Büchel, D. (1996): Neue Biotechnologie bei Lebensmitteln – Bedürfnisse der Konsumentinnen und Konsumenten bei der Zulassung und Kontrolle. Biotechnologie und Lebensmittel, Teilbericht e. Schweizerischer Wissenschaftsrat, Bern; TA 13/1996.
- Bundesgesundheitsblatt (1996): Sonderheft Dez. 1996; ISSN 0007 5914
- Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (Hrsg.) (1995): Was bringt uns die Biotechnologie?
- Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1998): Biotechnologie für den Agrar- und Ernährungsbereich – Stand und Perspektiven. Schriftenreihe A: Angewandte Wissenschaft Heft 471, Köllen Druck+Verlag GmbH, ISBN 3-88579-323-7
- Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (Hrsg.) (1997): Die Grüne Gentechnik.
- Bund für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde (BLL e.V.) (Hrsg.) (1997): "Ist da Gentechnik drin?". Informationen zum Thema Gentechnik und Lebensmittel., Bonn
- Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland (1998): Gentechnik im Alltag. Eine zukunftsfähige Entwicklung? Hannover
- Chancen für die Zukunft. Monsanto (Deutschland) GmbH, Düsseldorf
- Damen, V.; Adley, C.; Brinkman, F.; Hammelev, D.; Johansson, M.; van Strydonk, M. (1997): Transgenic plants. European Initiative for Biotechnology Education (EIBE). Unit 9
- Damen, V.; Brinkman, F.; Hammelev, D.; Johansson, M.; Kroß, A.; van Strydonk, M. (1998): Transgenic plants: Economy, environment and ethics. European Initiative for Biotechnology Education (EIBE). Unit 10
- Das Gen im Mais. Ein Bakterium auf Erfolgskurs. Faltblatt zur Gentechnik Nr. 3. Novartis Deutschland GmbH, Wehr

- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE) – Sektion Baden-Württemberg (Hrsg.) (1998): 4. Ernährungsfachtagung "Was wir alles essen – gentechnisch veränderte Lebensmittel". 7.10.1997 in Stuttgart-Hohenheim. ISBN 3 88749 140 8
- Engel, K.-H.; Schreiber, G.A.; Bögl, K.W. (1995): Entwicklung von Methoden zum Nachweis mit Hilfe gentechnischer Verfahren hergestellter Lebensmittel. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. ISBN 3 9804231 0 7
- Frey, O. (1998): Kompendium Unterrichtsmaterial und Informationsstellen. Schule und Biotechnologie. Schweizerischer Wissenschaftsrat; TA –DT 23/1998
- Gefährden gentechnisch veränderte Pflanzen die Wirksamkeit unserer Antibiotika? Faltblatt zur Gentechnik Nr. 2. . Novartis Deutschland GmbH, Wehr
- Gentechnik. Fragen und Antworten. Bund für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde (BLL e. V.), Bonn
- Hampel, J.; Renn, O. (Hrsg.) (1999): Gentechnik in der Öffentlichkeit. Wahrnehmung und Bewertung einer umstrittenen Technologie. Campus Verlag, Frankfurt. ISBN 3 593 36348 8
- Hauber, F.: "Gentechnische" Nahrungsmittel? Eine fächerübergreifende Handreichung für den Unterricht. Arbeitskreis Gymnasium und Wirtschaft e. V.
- Hettinger, G. (1995): Grünes Gold der Zukunft?! Biotechnologie in der Pflanzenproduktion. Eine Handreichung für Lehrer 7.-10. Klasse (HS, RS, Gym). Akademie für Technikfolgenabschätzung, Stuttgart
- Koschatzky K.; Maßfeller, S. (1994): Gentechnik für Lebensmittel? Möglichkeiten, Risiken und Akzeptanz gentechnischer Entwicklungen. Verlag TÜV Rheinland, Köln. ISBN 3 88585 754 5
- Menrad, K.; Koschatzky, K.; Maßfeller, S.; Strauß, E. (1998): Communicating genetic engineering in the agro-food sector to the public. European Communities, Italy. ISBN 92 828 4284 3
- Menrad, K.; Koschatzky, K.; Maßfeller, S.; Strauß, E. (1998): A guide for companies in the agro-food sector to communicate on genetic engineering to the public. European Communities, Belgium. ISBN 92 828 4285 1
- Müller, A.; Dietrich, J.; Hellwig, F.-T. (Hrsg.) (1998): Gentechnologie bei Pflanzen. Herausforderungen für den Schulunterricht. Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg, Stuttgart. ISBN 3 932013 66 2

- Nellen, U.; Habsch, F.; Lüdemann, H.; Radetzky, S., Prella, H. (1987): Biotechnik im Sekundarbereich 1. Band 4: Herbizidresistente Pflanzen: Ein Züchtungsziel durch Gentechnik in der Landwirtschaft. Niedersächsisches Landesinstitut für Fortbildung und Weiterbildung im Schulwesen und Medienpädagogik
- Nellen, U.; Lüdemann, H.; Habsch, F.; Prella, H., Laspe, D., Radetzky, S. (1993): Biotechnik im Sekundarbereich 1. Band 3: In-vitro-Vermehrung in der Zierpflanzenproduktion. Niedersächsisches Landesinstitut für Lehrerfortbildung, Lehrerweiterbildung und Unterrichtsforschung
- Niedersächsische Landeszentrale für politische Bildung (1998): EU-Gen. Ein Europäisches Entscheidungsspiel, Hannover
- Norten, E., Lindner, A. (1997): Gentechnik im Alltag – wo sie uns begegnet und wie wir mit ihr leben. vgs Verlagsgesellschaft Köln, ISBN 3-8025-1350-9
- Nuffield Council on Bioethics (1999): Genetically modified crops: the ethical and social issues, London
- OECD (1992): Biotechnology, agriculture and food. ISBN 92 64 13725 4
- Parliamentary Office of Science and Technology (1998): Genetically modified foods. Benefits and risks, regulation and public acceptance., London. ISBN 1 897941 76 5
- Schallies, M.; Wachlin, K. D. (Hrsg.) (1999): Biotechnologie und Gentechnik. Neue Technologien verstehen und beurteilen. . Springer-Verlag, Berlin. ISBN 3 540 65140 3
- Schallies, M.; Wellensiek, A. (1995): Biotechnologie/Gentechnik. Implikationen für das Bildungswesen. Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg, Arbeitsbericht Nr. 46, Stuttgart
- Schauzu, M.; Pötting, A.; Sachse, K. (1998): Lebensmittel und Gentechnik. Eine Verbraucherinformation. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. ISBN 3 931675 35 1
- Schlüter, K. (1998): Gentechnisch veränderte schädlingsresistente Pflanzen auf unseren Äckern? Eine Fallstudie als Kopiervorlage. Aulis Verlag Deubner & Co KG; Köln. ISBN 3 7614 2063 3
- Schreiber, G. A.; Bögl, K. W. (Hrsg.) (1997): Foods produced by means of genetic engineering. 2nd Status Report. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin. Heft 01/1997. ISBN 3 931675 07 6

- Schreiber, G. A.; Bögl, K. W. (Hrsg.) (1997): Mit Hilfe gentechnischer Verfahren hergestellte Lebensmittel. 2. Statusbericht. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin. Heft 05/1997. ISBN 3 931675 12 2
- Schreiber, G.A.; Bögl, K.W. (1997): Neue Wege der Lebensmittelanalytik: DNA-analytische Verfahren zur Artendifferenzierung. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. ISBN 3 931675 17 3
- Schulte, E.; Käppeli, O. (Hrsg.) (1996): Gentechnisch veränderte krankheits- und schädlingsresistente Nutzpflanzen. Eine Option für die Landwirtschaft? Band 1, Materialien. Schwerpunktprogramm Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds, Bern. ISBN 3 9521113 0 9
- Schulte, E.; Käppeli, O. (1997): Gentechnisch veränderte krankheits- und schädlingsresistente Nutzpflanzen. Eine Option für die Landwirtschaft? Band 2, Abschlussbericht. Schwerpunktprogramm Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds, Bern. ISBN 3 9521113 1 7
- Schweizerischer Wissenschaftsrat (1999): Gentechnik und Ernährung. 4.-7. Juni 1999 in Bern. Bericht des Bürgerpanels, TA-P 1/1999, Bern
- Sinemus, K. (1995): Biologische Risikoanalyse gentechnisch hergestellter herbizid-resistenter Nutzpflanzen. Erarbeitung eines Modells zur Risikominimierung bei der Freisetzung transgener Nutzpflanzen. Verlag, Mainz. ISBN 3 930911 95 7
- Skorupinski, B. (1996): Gentechnik für die Schädlingsbekämpfung. Eine ethische Bewertung der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in der Landwirtschaft. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. ISBN 3 432 27141 7
- Thierbach, D. (1995): Was bringt uns die Biotechnologie? Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie; Bonn
- Torgersen, H.; Palmeshofer, A.; Gaugitsch, H. (1993): Beurteilungskriterien für Freisetzungen gentechnisch veränderter Organismen. Vorschläge für eine Vorgangsweise zur Bewertung von Freisetzungsanträgen in Österreich. Monographien Band 39. Umweltbundesamt (Hrsg.), Wien. ISBN 3 85457 127 5
- Unsere Lebensmittel heute und morgen. Warum brauchen wir die moderne Biotechnologie? Information Biotechnologie, Frankfurt/Main
- van den Daele, W.; Pühler, A.; Sukopp, H. (1997): Transgenic herbicide-resistant crops a participatory technology assessment. Summary report. Wissenschaftszentrum Berlin für Sozialforschung; Berlin

- Videofilm: Bt-Mais - Pflanze mit Zukunft. Behörden, Forscher und Landwirte berichten von ihren Erfahrungen. Novartis Seeds gmbH, Bad Salzflen
- von Schell, T.; Mohr, H. (Hrsg.) (1995): Biotechnologie – Gentechnik. Eine Chance für neue Industrien. Springer-Verlag, Berlin. ISBN 3 540 58651 2
- Wessels, H.-P.; Hieber, P.; Brauchbar, M.; (1996): Wertewandel und der Begriff der Naturbelassenheit. Biotechnologie und Lebensmittel, Teilbericht d. Schweizerischer Wissenschaftsrat; TA 19/1996
- Zagon, J.; Schulze, M.; Broll, H.; Schauzu, M. (Hrsg.) (1998): Methoden zum Nachweis der gentechnischen Veränderung in glyphosatresistenten Sojabohnen und zur Identifizierung anderer gentechnisch veränderter Pflanzen. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin. Heft 03/1998. ISBN 3 931675 26 2

6.2 Informationsangebote im Internet

Das Internet bietet eine Fülle von Informationen. Von den meisten gibt es Verknüpfungen zu weiteren relevanten Adressen. Die angegebenen Adressen sollen einen Einstieg erleichtern. Die Relevanz der einzelnen Adressen muss je nach Fragestellung geprüft werden.

6.2.1 Fortbildungsseiten für Lehrer und Schüler

- EIBE ist die European Initiative for Biotechnology Education. Sie wird von der Europäischen Kommission finanziert. Auf der Startseite www.rdg.ac.uk/EIBE/ stehen dem Nutzer Unterrichtsmaterialien als Download zu Übersichtsthemen wie Mikroben und Moleküle, DNA-Struktur und Immunologie sowie zwei Einheiten zu transgenen Pflanzen zur Verfügung. Die Materialien setzen sich aus Hintergrundinformationen und Vorschlägen für Gruppenarbeiten zusammen. Sie sind in englischer Sprache und für Schüler von 16 – 19 Jahren konzipiert.
- In Berlin existiert seit einiger Zeit ein gläsernes Labor, das unter www.glaesernes-labor.de Informationen zur Gentechnik sowie zu Schüler- und Lehrerfortbildungen zugänglich macht.

6.2.2 Informationsangebote von Gentechnik befürwortenden Organisationen

- Ein journalistisches Internet-Magazin stellt das Internet-Angebot **www.lifescience.de** dar. Tagesaktuelle Neuigkeiten, Hintergrundberichte aus Forschung und Wirtschaft, Diskussionsforen, spezielle Lehrer- und Schülermaterialien sowie Verknüpfungen zu anderen Informationsdiensten und Akteuren der Biotechnologie-Szene sollen ein umfassendes Informationsangebot bereitstellen. In "Bioschool" finden sich spezielle Informationsmaterialien für Lehrer und Schüler.
- Unter **www.dechema.de** kommt man auf die Startseite der deutschen Gesellschaft für Chemische Apparatewesen, Chemische Technik und Biotechnologie e. V. Auf verschiedenen Unterseiten wie dem Dechema-Schülerclub (**www.dechemax.de**), den Seiten des Informationssekretariats Biotechnologie (**www.dechema.de/deutsch/isb/isb0.htm**) oder den Seiten der Vereinigung der Biotechnologie-Unternehmen (VBU: **www.dechema.de/biotech/vbu.htm**) finden sich aktuelle Neuigkeiten, Hintergrundinformationen, Weblinks und Kurzprofile von Unternehmen in Deutschland, welche im Bereich der Biotechnologie aktiv sind. Alle Initiativen der Dechema e. V. sind auf der Internet-Seite **www.dechema.de/biotech/bioall.htm** zusammengefasst. Unter **dechema.de/efb.htm** informiert außerdem die European Federation of Biotechnology über ihre Veranstaltungen und Informationsmaterialien.
- Von der Bundesforschungsanstalt für Ernährung werden eine Vielzahl von Publikationen zum Thema Grüne Gentechnik veröffentlicht. Eine Liste der Publikationen ist übers Internet einzusehen (**www.dainet.de/bfe/publik.htm**), die Publikationen sind, sofern nicht anders vermerkt, kostenfrei über die Bundesanstalt für Ernährung (bfe) zu beziehen. Unter der Adresse **www.dainet.de/bfe/deutsch/gentech.htm** werden Stellungnahmen und Hintergrundberichte zu aktuellen Themen aus dem gebiet transgene Lebensmittel publiziert.
- Der Verband der Chemischen Industrie VCI (**www.VCI.de**) mit seiner Unterabteilung der Deutschen Industrievereinigung Biotechnologie DIB (**www.vci.de/dib**) fasst hauptsächlich ökonomische Daten zum Thema Biotechnologie zusammen.
- Das Robert-Koch-Institut (**www.rki.de**) ist Ansprechpartner für sicherheitsrelevante Fragen der Bio- und Gentechnik. Hier ist die zentrale Kommission für biologische Sicherheit (ZKBS) angesiedelt, die sicherheitsrelevante Aspekte der Gentechnik begutachtet und ihre Stellungnahmen im Netz veröffentlicht. Außerdem finden sich auf den Seiten des Robert-Koch-Instituts Informationen zu medizinisch-biotechnologischen Fragen wie Impfungen und pathogene Mikroorganismen. Das Robert-Koch-Institut ist in Deutschland genehmigende Behörde für Freisetzungsversuche.

- Das Biotech-Mobil, eine Gemeinschaftsaktion der Bayerischen Staatsregierung und des Bundesministeriums für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie im Rahmen der BioRegio-Projektförderung, ist unter **www.biotechmobil.de** im Internet vertreten. Unter der Rubrik Anwendungsgebiete finden sich Informationen u. a. zu den Themen Bio- und Gentechnik bei Lebensmitteln, Bio- und Gentechnik in der Pflanzenzüchtung und Bio- und Gentechnik bei nachwachsenden Rohstoffen.
- Die Zentralstelle für Agrardokumentation und -information bietet unter der Adresse **www.dainet.de/dain/foren/landwirtschaft/pflanzenproduktion/index.htm** im Forum Landwirtschaft Informationen zum Thema Gentechnik und Pflanzen.

6.2.3 Informationsangebote gentechnik-kritischer Organisationen

- **www.transgen.de** ist ein Projekt der Verbraucher Initiative e. V., das sich eine ausgewogene Information zur grünen Biotechnologie zum Ziel gesetzt hat. Mittels einer Datenbank lassen sich Informationen zu einem bestimmten Thema leicht auffinden.
- **www.gen-info.de** ist ein Internet-Informationssdienst, der einen täglichen Pressespiegel (national und international) veröffentlicht. Die entsprechenden Artikel sind von der Schlagzeile aus aufrufbar. Der Pressespiegel kann kostenfrei per e-mail abonniert werden.
- Unter **www.gen-ethisches-netzwerk.de/gen.html** stellt das Genethische Netzwerk kritische Hintergrundinformation zu den Bereichen Gen- und Reproduktionsbiologie ins Netz. Über diese Adresse sind das Inhaltsverzeichnis und Artikel der Zeitschrift Genethischer Informationsdienst (GID) in Auszügen herunterzuladen. Links führen zu deutschen Biotechnologie- und Pharmaunternehmen und zu Forschungseinrichtungen.
- **www.uni-tuebingen.de/zew/index_info.html** gibt Links zu wissenschaftsethischen tätigen Institutionen, zu Datenbanken, zu online-Literatur, Mailinglisten und Tagungen.
- Friends of the Earth informiert unter **www.foeeurope.org/biotechnology/about.htm** über sein Biotechnologie-Programm, mit dem die Öffentlichkeit zu Umweltaspekten, Verbraucherschutz und sozioökonomischen Fragen der Biotechnologie unterrichtet wird. Alle sechs Wochen erscheint ein neuer Newsletter, der vom Netz als *.pdf-Datei heruntergeladen werden kann.
- Unter **www.greenpeace.de/SYSTEM/HOME_30.HTM** erhält man Zugang auf die Internetseiten von Greenpeace. Mittels fünf verschiedener Suchmaschinen können Pressemitteilungen und Stellungnahmen zur Biotechnologie herausgefiltert werden.

6.2.4 Informationsangebote von Firmen

Die großen Unternehmen aus dem Bereich der grünen Gentechnik Monsanto (www.monsanto.de), Agrevo (www.agrevo.de) und Novartis (www.lifesciences.novartis.com) haben ebenfalls Hintergrundinformationen sowie Downloads von Broschüren zur Grünen Gentechnik ins Netz gestellt.

7. Implikationen für den Unterricht - Erarbeitung von Unterrichtskonzepten

Nachdem die Teilnehmerinnen und Teilnehmer in den zwei Tagen ein vielfältiges Methoden- und Informationsspektrum angeboten bekommen hatten, stand für sie die Frage im Mittelpunkt, wie sie dies in ihren Unterricht integrieren könnten. Die teilnehmenden Lehrkräfte teilten sich in vier Gruppen und erarbeiteten unter Anleitung von Herrn Frank, Fachberater für Biologie im OSA Stuttgart, Unterrichtskonzepte. Die Ergebnisse dieser moderierten Gruppenarbeit werden im Folgenden wiedergegeben:

Gruppe 1

I Einführung

- 1 Möglichkeit: "Was ist Gentechnik nicht?"
- 2 Möglichkeit: Plakativer Artikel mit Leitfragen
- 3 Möglichkeit: Mindmapping
- 4 Möglichkeit: "Chancen der Gentechnik"
Sammeln und ordnen

II Sachliche Information durch den Lehrer

- Begriffserklärung / Abgrenzung z. B. zur Züchtung , zur Biotechnologie
- Methoden
 - Werkzeuge: Vektoren, Restriktionsenzyme
 - Einsatz der Werkzeuge
 - Prinzip der Genübertragung: Gensonden
genetischer Fingerabdruck

III Anwendungsbeispiel:

Pflanze - Tier - Mensch

IV Info-Beschaffung durch die Schüler

IV Chancen, Risiken :

- 1 Möglichkeit: Pro-Contra-Texte mit Leitfragen
in Gruppenarbeit + Präsentation und Diskussion
- 2 Möglichkeit: Aktueller Zeitungsartikel, Film, TV, als Diskussionsanlass

Gruppe 2

GENTECHNIK

I. Prinzip und Methode

1. Brainstorming
 - Umfrage
 - Sortieren (Folie)
 - Definition Gentechnik; Ziele
2. Methoden des Gentransfers
 - Gewinnung von Genen, Vervielfältigung
 - Einbindung ins Genom
 - Selektion

II. Anwendung

- Gewinnung von Humaninsulin
- Bt-Mais, Selektionsmechanismen
- Genefarming
- Gentherapie

III. Chancen und Risiken

- Gruppenarbeit / Gruppenpuzzle
- Besuch Molekulargenetik-Institut o.ä.
- Pro und Contra Diskussion

Gruppe 3

GENTECHNIK

1) Einstieg

- a) Sammeln von diffusem Wissen / Schlagzeilen über Gentechnik
- b) Gentechnik - Biotechnik -> Wissen / Gefühle
- c) "Grenzenlos schöne neue Esswelt"
(blauer Salat, Möhren mit Schokoladengeschmack ...)

2) Prinzipien der Gentechnik

An einem Beispiel (Bt-Mais, Butterfinger)

- Isolierung (Gewinnung)
 - Transfer
 - Selektion
- ==> Was ist bisher möglich?

3) Chancen / Vorteile für:

Landwirtschaft, Verbraucher, Saatguthersteller

4) Risiken / Probleme

- a) biologisch / ökologische Aspekte
- b) Wirtschaftlich / agrarökonomische Aspekte

5) Ausblick: Quo vadis Gentechnik?

Gruppe 4**GENTECHNIK****Einstieg:** Szenario: Fallbeispiel aus der Region

- Schädlingsbefall
- Grundwasserbelastung
- Bodenbelastung

F Reaktionsmöglichkeit

- a) traditionelle Züchtung (Zeitfaktor) *
- b) biologische Schädlingsbekämpfung * Wdh
- c) biolog. oder integrierter Landbau -> EK *
- d) Gentechnologie

Ziel : ?

- Wie macht es die Natur?
 - Bakteriengenetik: Resistenzbildung, Konjugation etc.
 - Praktikum: Isolation DNA, Phagenplaquebildung, Konjugation
- Übertragbarkeit der Methoden auf Eukaryonten
- Wdh Universalität des Codes

transgene Pflanzen

- Technik
- Überprüfung Labor / Freiland
- Fallbsp. Pflanzenarten und welche Gene

Diskussion und Risiko + Chancen

Mindmapping + Metaplan

Pro + Kontratexte mit Leitfragen

- Texte aus Internet * Mischung HA
- Bibliothek * und Unterricht

Diskussion

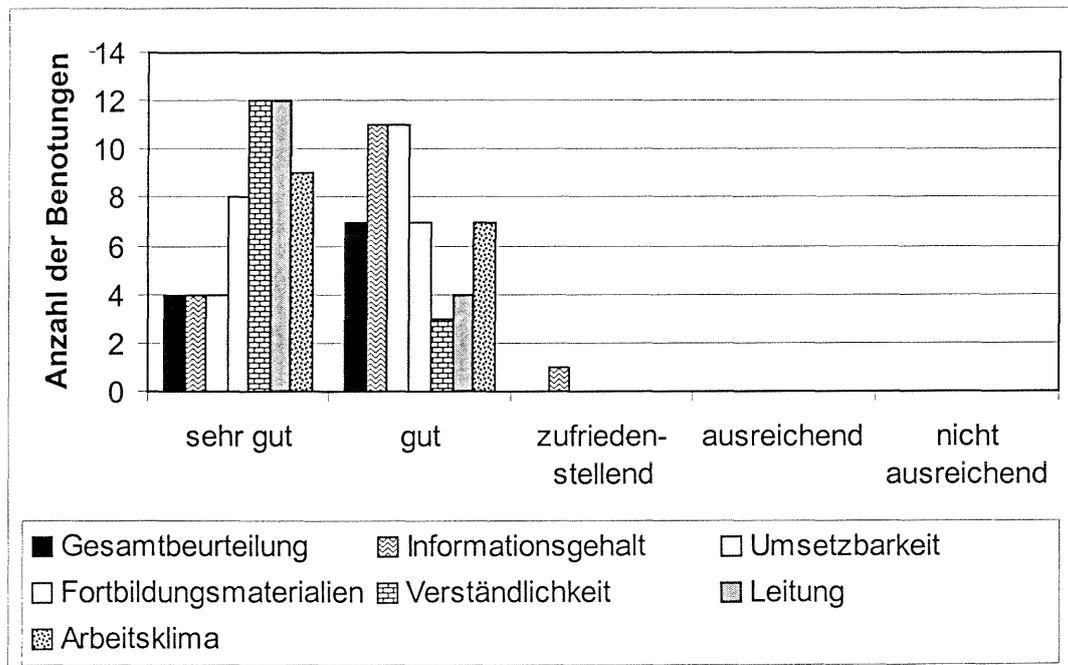
schriftliche tabellarische Zusammenfassung!

8. Bewertung der Veranstaltung durch die Teilnehmer

Die zweitägige Weiterbildungsveranstaltung in Stuttgart wurde von den Teilnehmern als sehr gelungen und abwechslungsreich eingeschätzt. Fortbildungen dieser Art, so die Teilnehmer, sollten öfter angeboten werden. Viermal wurde die Note "sehr gut" und siebenmal die Note "gut" vergeben (Abb. 18). Als besonders hervorhebenswert empfanden die Teilnehmer die perfekte Organisation der Veranstaltung (7x) und die Internetadressen zum Thema "Grüne Gentechnik" (7x). Ebenfalls gefiel ihnen die Möglichkeit zur Gruppenarbeit (5x) und die Fachkompetenz der Dozenten (5x). Weitere Punkte, die positiv hervorgehoben wurden, waren: der Besuch des Instituts für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim (3x), das Ansprechen unterrichtlicher Relevanz (2x), der Erfahrungsaustausch und die Diskussion mit Kollegen sowie die Anwendung moderner Kommunikationstechnik (je 1x).

Überwiegend mit "sehr gut" wurden die Leitung durch den Veranstalter (12x), die Verständlichkeit der Darstellung (12x) die Arbeitsatmosphäre (9x), und die Qualität der Weiterbildungsmaterialien (8x) benotet. Die Umsetzbarkeit der angebotenen Methoden und der Informationsgehalt der Veranstaltung wurden mehrheitlich mit "gut" eingeschätzt (Abb. 18).

Abbildung 18: Einschätzung der Weiterbildung durch die Teilnehmer anhand verschiedener Kriterien



Neben dieser positiven Einschätzung machten die teilnehmenden Biologielehrerinnen und -lehrer auch Änderungsvorschläge. So sollte mehr Zeit für die Gruppenarbeit und die Diskussion im Plenum eingeplant werden. Z. B. wären Pro-Contra-Diskussionen sinnvoll, in denen die Contra-Position von einem Dozenten vertreten wird. Auch wären Informationen über konkrete Versuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen wichtig für den Unterricht, um die Vor- und Nachteile zu erläutern. Weiterhin hätte der Laborbesuch an der Universität Hohenheim effektiver gestaltet werden können und hätte einer Nachbesprechung bedurft. Außerdem wurde der Wunsch nach mehr Anschauungsmaterial (Pflanzen, Lebensmittel) geäußert.

Alle teilnehmenden Lehrer würden diese Veranstaltung an interessierte Fachkollegen weiterempfehlen.

9. Anhang

9.1 Materialien zur Informationsbewertung

9.2 Materialien zur Fortbildung Mikrobiologie und Gentechnik (I und II) des Oberschulamtes Stuttgart

Arbeitsmaterialien

Gruppen 1 und 2



[zurück](#)

Bt Mais - Ökologische Unbedenklichkeit im Zusammenhang mit einem aktuellen Bericht über den Monarch-Schmetterling

Als "Bt Mais" werden Maissorten bezeichnet, die über ein mit Hilfe der Gentechnik eingefügtes Merkmal verfügen, das sie vor bestimmten Schadinsekten schützt. Aufgrund der neuen Erbinformation entsteht in der Pflanze ein schützendes Protein, das Insekten wie den gefräßigen Maiszünsler davon abhält, den Mais zu schädigen.

Vor der Einführung von Bt Mais haben Landwirte in der Regel herkömmliche Insektizide ausgebracht, um Schadinsekten zu bekämpfen - allerdings wurden dabei die Nutzinsekten auf demselben Acker gleichermaßen in Mitleidenschaft gezogen (beispielsweise Prädatoren, die dazu beitragen, die Population pflanzenfressender oder Pflanzenkrankheiten verbreitender Schädlinge gering zu halten). Der entscheidende Vorteil von Bt Mais besteht darin, die erforderliche Menge an Insektiziden deutlich zu verringern oder ganz entbehrlich zu machen. Dementsprechend werden auch die negativen Auswirkungen auf die Nutzinsekten minimiert. **Bt Mais reduziert die ausgebrachte Menge an Insektiziden und dämmt auf diese Weise die Schädigung nützlicher Insekten ein. Gleichzeitig werden dabei die Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf die Umwelt vermindert.** Überdies vermindert Bt Mais den Pilz-Sekundärbefall der Pflanzen, der zu giftigen Mycotoxinen führen kann.

Berichterstattung in "Nature"

In der Ausgabe vom 20. Mai der Fachzeitschrift "Nature" wird über eine Laborstudie der Cornell Universität berichtet, wonach Blätter von *Asclepias curassavica* (Wolfsmilchgewächs), die mit Pollen von Bt Mais bedeckt wurden, einen negativen Einfluß auf Wachstum und Überlebensfähigkeit von Monarch-Schmetterlingen, einem Nutzinsekt, hätten.

Forschungsstudien über den Monarch-Schmetterling und Nutzinsekten, die dazu beitragen, den Schädlingsdruck auf dem Acker niedrig zu halten, sind wichtig. Betrachtet man die Forschungsergebnisse insgesamt, zeigt sich, daß die Unbedenklichkeit von Bt Pflanzen für nützliche Insekten in Feldversuchen bestätigt wurde. Die Laborstudie, über die "Nature" berichtet, enthält relevante Informationen, geht aber von Bedingungen aus, die von denen in der freien Natur beträchtlich abweichen.

Die Raupen des Monarch-Schmetterlings ernähren sich nahezu ausschließlich vom Wolfsmilchgewächs. Dessen natürlicher Lebensraum sind allerdings Wiesen, Felder sowie Straßenränder - und nicht dichtbepflanzte Maisfelder. Unter realen Bedingungen ist die

Wahrscheinlichkeit, daß Wolfsmilchgewächse von Pollen des Bt Mais bedeckt werden, äußerst gering, denn nur wenige Exemplare dieser Pflanze wachsen nahe genug an Maisäckern. Daher ist die Wahrscheinlichkeit, daß nützliche Insekten wie der Monarch-Schmetterling in ihrem natürlichen Lebensraum mit Bt Pollen in Berührung kommen, niedrig.

In einem weiteren entscheidenden Punkt berücksichtigt die Laborstudie nicht die in der Natur herrschenden Bedingungen: Während sich die Raupen des Monarch-Schmetterlings in den meisten Regionen der USA hauptsächlich im Monat Juni von den Blättern des Wolfsmilchgewächses ernähren, setzt der Pollenflug bei Mais in der Regel erst zwischen Mitte Juli und Anfang August - für einen Zeitraum von fünf bis zehn Tagen - ein.

Professor John E. Losey, der Hauptautor der betreffenden Laborstudie, hat vor voreiligen Schlußfolgerungen gewarnt, die Notwendigkeit weiterer Forschung, Datenerhebung und -auswertung betont und ausdrücklich auf die erwiesenen ökologischen und agronomischen Vorteile gentechnisch veränderter Pflanzen hingewiesen: "... we can't forget that Bt-corn and other transgenic crops have a huge potential for reducing pesticide use and increasing yields." ("Wir dürfen das enorme Potential von Bt Mais und anderen gentechnisch veränderten Nutzpflanzen zur Verminderung des Pestizid-Einsatzes und zur Erhöhung von Erträgen nicht vergessen."). Monsanto unterstützt nachdrücklich alle Aktivitäten, die zu mehr Wissen über Pflanzen mit eingebautem Schädlingsschutz beitragen. Daher beteiligt sich Monsanto an einem Projekt zur Unterstützung zusätzlicher Feldversuche, um die Unbedenklichkeit von Bt Pflanzen auf Nutzinsekten in ihrem natürlichen Lebensraum erneut zu bestätigen. Monsanto wird weiterhin mit Wissenschaftlern und anderen Unternehmen zusammenarbeiten und Forschungsstudien unterstützen, die mehr Aufschluß über Pflanzen mit eingebautem Insektenschutz bieten.

Monsanto, Mai 1999

 [zurück](#)

▶ Medieninformation

Monarch-Falter wird nicht durch Gen-Mais beeinträchtigt

26.05.1999

Forscher der Cornell-Universität beobachteten in Laborversuchen eine Schädigung von Larven des Monarch-Falters, einer amerikanischen Schmetterlingsart, wenn deren Futter mit Pollen von gentechnisch verändertem Bt-Mais bestäubt wurde. Die Autoren veröffentlichten diese Ergebnisse im britischen Wissenschaftsmagazin Nature vom 20. Mai 1999.

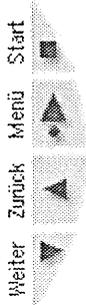
Bt-(*Bacillus thuringiensis*)-Mais ist eine gentechnisch veränderte Pflanze, die ein natürliches Insektenabwehrmittel produziert. Es soll den Bt-Mais vor dem Maiszünsler, einem wichtigen Maisschädling, schützen. Dieses Bt-Eiweiß wird auch im biologischen Landbau gegen die Larven des Kohlweißlings und andere schädliche Schmetterlinge eingesetzt.

Bisher gibt es keine Hinweise für eine Gefährdung des Monarch-Falters durch den Bt-Mais. Im Freiland kommen die Larven des Monarch-Falters nicht mit Bt-Maispollen in Berührung:

- Die Larven des Monarch-Falters entwickeln sich zeitlich vor der Blütezeit des Mais.
- Schwalbenwurz, die Nahrungspflanze der Monarch-Larven, wird in Maiskulturen als Unkraut bekämpft. Der Monarch-Falter findet also in Maiskulturen keine Nahrungspflanzen zur Eiablage.
- Natürlicher Lebensraum der Monarch-Raupen sind Viehweiden, Wiesen, Brachflächen oder Ödland, aber nicht intensiv landwirtschaftlich genutzte Flächen.
- Maispollen fliegt nicht sehr weit und kann daher keine Monarch-Falter in der Umgebung von Maisfeldern gefährden. Schon wenige Meter neben einem Maisfeld nimmt die Konzentration von Maispollen sehr stark ab.

Folgende Gründe sprechen außerdem für den Anbau von Bt-Mais:

- Wird kein Bt-Mais angebaut, muß der Maiszünsler mit einem Insektizid bekämpft werden. Dieses Insektizid tötet fast alle Insekten ab, die sich zum Zeitpunkt der Bekämpfung auf den Maispflanzen, auf dem Boden oder in unmittelbarer Nähe des Maisfeldes befinden. Der Maiszünsler kann Ertragsausfälle bis zu 30 Prozent verursachen.
- Bt-Mais hingegen wirkt in Maisfeldern nachweislich nur gegen den Maiszünsler, stellt also eine deutlich umweltschonendere Bekämpfungsalternative dar. Schäden an anderen Insekten, die in einem Maisfeld leben, konnten unter Freilandbedingungen bisher **nicht** beobachtet werden.



Der Monarch-Falter wird in seinem Bestand in den USA durch Bt-Mais **keinesfalls** geschädigt. Weitere Infos zum Monarchfalter und seinen natürlichen Lebensräumen im Internet: <http://www.monarchwatch.org/milkweed/index.htm>

Kontakt:

Dr. Christian Schmid-Egger
Novartis Deutschland GmbH
79664 Wehr
Tel: 07762-82-2876



[Startseite](#) | [Menü](#) | [Zurück](#) | [Weiter](#)

[Disclaimer](#) | [Feedback](#)

© 1999 Novartis Deutschl

Arbeitsmaterialien

Gruppen 3 und 4

Schmetterlinge leiden unter Bt-Mais

Studie: Schmetterlinge leiden unter transgenem Novartis-Mais

EU-Kommission sieht keine sofortige Bedrohung

Brüssel (sda) Der gentechnisch veränderte Mais BT-11 von Novartis kann Schmetterlingen schaden. Dies ist das Resultat einer amerikanischen Studie, die am Donnerstag in der Zeitschrift "Nature" veröffentlicht worden ist.

Die Europäische Kommission werde so schnell wie möglich ihre wissenschaftlichen Ausschüsse konsultieren, sagte ein Sprecher. Sie sieht hingegen nicht vor, den Anbau von bereits genehmigtem transgenem Mais zu verbieten.

Beim genehmigten Mais handelt es sich um den BT-176 von Novartis und ein Produkt der amerikanischen Firma Monsanto. Der BT-11-Mais ist nur für den Import zugelassen, nicht aber für den Anbau.

Keine Massnahmen in der Schweiz

Brüssel glaube nicht an eine sofortige Bedrohung, erklärte der Sprecher weiter. Als Vorsichtsmassnahme unterbricht sie aber das Genehmigungsverfahren für einen neuen transgenen Mais der US-Firma Pioneer. Das Dossier müsse erst dem Wissenschaftsausschuss vorgelegt werden.

Das Bundesamt für Gesundheit (BAG) in Bern hatte am Donnerstag noch nicht die ganze "Nature"-Studie vorliegen. Gemäss dem Informationsdienst des BAG werden im Moment aber keine besonderen Massnahmen ergriffen. Auch in der Schweiz kann der BT-176-Mais angepflanzt werden, nicht aber der BT-11, den man nur importieren darf.

Hohe Sterblichkeit

Die Wissenschaftler der Universität Cornell in New York hatten Laborversuche mit speziellen Schmetterlings-Raupen durchgeführt. Deren Larven ernähren sich ausschliesslich von der Gänsedistel, einer Pflanze, die in der Nähe von Maisfeldern wächst. Nach vier Tagen waren 44 Prozent der Raupen, die mit

BT-11-Pollen bestrichene Blätter frassen, tot. Von den Raupen auf Gänsedistelblättern, die mit normalen Mais-Pollen bestrichen oder unbestrichen waren, starb keine einzige. Grundsätzlich frassen die Raupen, die es mit BT-11 zu tun hatten, weniger und entwickelten sich langsamer.

Novartis nimmt Stellung

Novartis sagte auf Anfrage der Nachrichtenagentur SDA, dass die Studie Fragen aufwerfe. Aber der Basler Chemiekonzern betont, dass die Untersuchung im Labor durchgeführt wurde und nicht im Feld. In einer natürlichen Umgebung würden verschiedene Faktoren wie der Wind oder die Feuchtigkeit den Maispollenkonsum der Raupen beeinflussen. Die verschiedenen Maissorten, denen man die Bakterie *Bacillus thuringiensis* (Bt) zufügt, sind resistent gegen den Hauptparasiten des Mais, den Maiszünsler. Novartis schätzt, dass durch den Gebrauch von BT-Mais die Erträge um 30 Prozent zunehmen.



Mais schädigt Schmetterlinge

Raupen des Monarchfalters leben gefährlich, wenn sie Pollen von Bt-Mais verzehren. Mit solchem Pollen bestäubte Blätter verursachen bei den Raupen Kummerwuchs oder töten sie sogar ab. Das haben Laborversuche in den USA ergeben. Ökologen sind alarmiert. Die Gentechnik-Industrie wiegelt ab.

Susanne Billig

Pollen von Bt-Mais töteten im Laborversuch Schmetterlings-Raupen. Das berichtete eine Forschungsgruppe um John Losey von der Cornell University in Ithaca im US-Staat New York (Nature, 20. 5. 99, Bd. 399, S. 214). In den USA wird Bt-Mais in diesem Jahr auf rund acht Millionen Hektar angebaut, das ist etwa ein Viertel der Gesamtmaisanbaufläche. Das Geschäft mit Bt-Mais ist ein lukrativer, viele Millionen Dollar umsatzstarker Markt. Der gentechnisch hergestellte Bt-Mais produziert in seinem Blatt- und Stengelgewebe das Gift des Bakteriums *Bacillus thuringiensis* und soll sich damit vor Insektenfraß schützen, insbesondere vor dem Maiszünsler. Doch das Gift wird auch in die Pollenkörner eingelagert. Da Mais eine windbestäubte Pflanze ist, gelangt reichlich verdrieffeter Pollen auf die Blätter weit entfernter Pflanzen, die einer Vielzahl von Insekten als Nahrung dienen.

In Laborversuchen mit den Raupen des Monarchfalters (*Danaus plexippus*) zeigten Losey und Mitarbeiter, daß mit Pollen von Bt-Mais bestäubte Blätter bei den Raupen Kummerwuchs verursachen oder sie sogar abtöten. Dazu fütterten sie die Raupen mit Blättern eines Schwalbenwurzgewächses (*Asclepias syriaca*). Diese Pflanze dient den Raupen als einzige Nahrung und schützt sie wegen einer nach Fäulnis riechenden Substanz vor Vogelfraß. Die Blätter des Schwalbenwurzgewächses waren entweder mit Bt-Maispol-

len, mit normalem oder mit keiner Art von Maispollen bestäubt worden. Die Hälfte der Schmetterlingsraupen, die mit Bt-Maispollen bestäubte Blätter gefressen hatten, starben innerhalb von vier Tagen. Die anderen Raupen überlebten zu hundert Prozent.

"Studie ist solide"

Unabhängige WissenschaftlerInnen sind alarmiert. So sagte Fred Gould, Insektenökologe an der staatlichen Universität von North Carolina, gegenüber dem New York Times Magazine (20.5.99): "Niemand hatte dieses Risiko vorher bedacht. Sollten wir besorgt sein? Ja." John Obrycki, Entomologe an der staatlichen Universität von Iowa, bezeichnete ebenfalls im New York Times Magazine die Studie als "solide" und kritisierte, daß im Vorfeld nicht alle möglichen Konsequenzen der Technologie erwogen worden seien.

Ähnlich äußerte sich auch Margaret Mellon, verantwortlich für den Bereich "Landwirtschaft und Biotechnologie" bei der Organisation "Union of Concerned Scientists": "Warum wurde diese Studie nicht vor der Zulassung des Bt-Mais gemacht? Jetzt kommt sie 20 Millionen Acres Bt-Mais zu spät. Dies sollte uns als Warnung dienen, daß noch weitere Überraschungen auf uns warten."

In der Gentechnikindustrie wird die Bedeutung der Laboruntersuchung für Freilandbedingungen jedoch bestritten. Monsanto wisse schon lange, daß Monarchraupen durch das Bt-Gift geschädigt werden könnten, sagte zum

Die Hälfte der Schmetterlingsraupen, die mit Bt-Maispollen bestäubte Blätter gefressen hatten, starben innerhalb von vier Tagen.

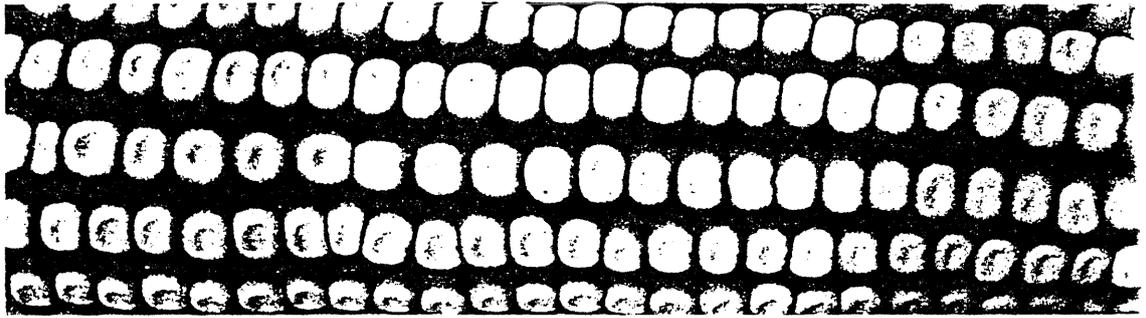
Kurz notiert

Schweiz verbietet Freisetzung

Nach Ansicht des Schweizer Bundesamtes für Umwelt in Bern ist die Unbedenklichkeit für Mensch und Umwelt bei der Freisetzung von gentechnisch veränderten Pflanzen nicht gewährleistet. Aus diesem Grund lehnte das Amt im April zwei Freisetzung-Anträge für Mais und Kartoffeln ab. Bei dem geplanten Mais-Versuch sollte die Wirksamkeit eines Pflanzenschutzmittels ge-

testet werden. Wenn Pollen der T25-Maispflanzen auf ein anderes Feld mit herkömmlichem Mais gelangten, könnten dort bei einer Befruchtung wiederum gentechnisch veränderte Maiskörner entstehen. Dies träfe auch Landwirte, die ausdrücklich ohne gentechnisch veränderte Organismen produzieren wollten, erklärte das Umweltamt. Außer den generellen Bedenken gegen Freisetzungen wies das Amt darauf hin,

daß die Kartoffeln Resistenz-Gene gegen Antibiotika enthalten sollten, die zum Teil in der Humanmedizin verwendet werden. Jede Maßnahme, die zur Resistenz-Entwicklung gegen Antibiotika beitragen könne, werde strikt abgelehnt, so das Amt. Die Schweizer Landwirtschaft lebe davon, daß ihre Produkte als rein und naturnah gelten. Durch solche Gentechnik-Versuche werde dieser Ruf belastet. (sb)



Beispiel Graham Head, Entomologe bei Monsanto in St. Louis, das die meistverkaufte Bt-Maissorte verkauft. Head weiter: "Das überrascht uns nicht. Die nächste Frage ist, wieviel Freilandrelevanz hat das?" (New Scientist, 22.5.99) Monsanto wolle jetzt Feldstudien zur genauen Ausbreitung von Maispollen beginnen. Der Agrar-Konzern Novartis sieht ebenfalls keinen Grund zur Sorge: Da sich die Larven des Monarchfalters nicht zur Blütezeit des Maises entwickelten, kämen die Tiere im Freiland mit dem gentechnisch veränderten Mais nicht in Berührung, kommentierte die deutsche Tochtergesellschaft des Schweizer Konzerns, Novartis Deutschland GmbH im baden-württembergischen Wehr, die Forschungsergebnisse. Der natürliche Lebensraum der Monarchraupen seien Viehweiden, Wiesen, Brachflächen oder Ödland, aber nicht intensiv landwirtschaftlich genutzte Flächen. Außerdem flögen Maispollen nicht sehr weit und könnten daher keine Monarchfalter in der Umgebung von Maisfeldern gefährden.

Umweltverträglichkeit nicht ausreichend geprüft

Für die Landwirtschaft gilt der Monarch weder als Schädling noch als Nützling. Ohne eine im eigentlichen Sinne gefährdete Art zu sein, lebt der Schmetterling vor allem in Mexiko unter zunehmend schwierigen Lebensbedingungen. Verantwortlich dafür ist der Gebrauch von Herbiziden, die der Tierart die Nahrungsgrundlage entziehen, sowie Eingriffe in die Natur durch den Bau von Straßen.

UmweltschützerInnen und Biobauern haben nun gerichtliche Schritte gegen das EPA (Environmental Protection Agency) eingeleitet, die höchste Umweltbehörde in den USA. Der Vorwurf: Das EPA habe die Zulassung für Bt-Mais erteilt, bevor ausreichende Untersuchungen der Umweltverträglichkeit vorlagen. Das EPA selbst schweigt zur Zeit und verweist darauf, daß die Untersuchung erst von den eigenen Fachleuten genau studiert werden müsse.

Kurznotiert

Blaue Nelken

Nach der Zulassung für eine gentechnisch veränderte Nelke, die länger blühen soll, will das Unternehmen Florigene noch in diesem Jahr in den USA und Europa blau blühende Nelken auf den Markt bringen. Die gentechnisch veränderte Nelke soll den Namen Moonshadow erhalten. Florigene will sie im November auf einem internationalen „Blumen-Kongreß“ im niederländi-

schen Aalsmeer der Öffentlichkeit präsentiert. Moonshadow soll in Gewächshäusern in Spanien wachsen, so daß ihr Anbau keine Freisetzung im klassischen Sinne bedeuten würde. Deshalb glaubt das Unternehmen auch, daß es mit der Zulassung der blauen Nelke keine Probleme geben wird. Florigene ließ sich bereits 1991 das Petunien-Gen für blaue Blütenfarbe patentieren. Im nächsten Jahr sollen der blauen Nelke unter an-

derem schwarze Nelken und blaue Rosen folgen. (New Scientist, 22.5.99)(sr)

Rapsfeld von Farmer zerstört

Fred Barker, Farmer in Großbritannien, zerstörte mit Pflanzenschutzmitteln gentechnisch veränderten Raps, den er selbst auf seinen Felder einige Monate zuvor ausgesät hatte. Der Freisetzungsvorversuch mit Gentech-Raps des Unternehmens AgrEvo gehörte zu einer Ver-

Bt-Mais und resistenter Maiszünsler

Ein Forschungsteam von der Kansas State University in Manhattan und dem US-Landwirtschaftsministerium veröffentlichte Anfang Mai Untersuchungsergebnisse, nach denen sich der Europäische Maiszünsler selbst dann gegen einen gentechnisch veränderten Bt-Mais resistent zeigte, wenn er nur ein Resistenz-Gen hatte. (Science, Vol. 284, 7.5.99, S. 965-967) Dieses Ergebnis einer Laboruntersuchung widerspricht bisherigen Annahmen, wonach die Resistenzbildung gegen *Bacillus thuringiensis* (Bt) ein rezessives Merkmal ist und nur dann auftritt, wenn die Tiere sowohl von väterlicher als auch von mütterlicher Seite je eine Kopie des Gens erhalten haben.

Sollte sich die dominante Resistenzbildung beim Maiszünsler auch im Freiland bestätigen, so hätte dies große Auswirkungen auf die bisherigen „Bt-Resistenzmanagement-Pläne“ der US-Regierung, in denen davon ausgegangen wird, daß eine Bt-Resistenz nur rezessiv vorliegen kann. Nach der sogenannten „hohen Dosis/Zuflucht-Strategie“ ist vorgesehen, daß in Gemeinden, in denen gentechnisch veränderte Bt-Pflanzen angebaut werden, 4% der Flächen nicht mit Insektiziden oder wahlweise 20% mit Insektiziden, aber ohne Bt behandelt werden. Schon vor dem jetzt bekannt gewordenen Untersuchungsergebnis bezweifelten Kritiker, daß die Resistenzmanagement-Pläne Resistenzen verhindern oder zumindest längerfristig verzögern können und legten gegen die Resistenz-Managementpläne des Umweltamtes Klage ein. Eine Möglichkeit, die Kritiker in Europa nicht haben - hier gibt es gar keine gesetzliche Handhabung zur Entwicklung von Resistenzmanagement-Plänen, die Zulassungsbehörden vertrauen scheinbar allein auf einen verantwortungsvollen Umgang der Gentechnikfirmen und der Landwirte mit dem Bt-Mais.

Sabine Riewenherm

Mais mit falschen Genen

Der Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland (BUND) wirft dem Saatgutunternehmen Pioneer Hi-Bred vor, in Europa nicht zugelassenes Gentech-Saatgut zu vertreiben. Die Chemische Landesuntersuchungsanstalt Freiburg bestätigte inzwischen den Verdacht.

Wolfgang Löhrl

Nach einer Anzeige des BUND wurde die Staatsanwaltschaft Freiburg aktiv. Ein von ihr in Auftrag gegebenes Gutachten stellt fest, daß in zwei von drei untersuchten Säcken mit Benicia-Saatgut DNA-Sequenzen gefunden wurden, die für genmanipulierten Mais charakteristisch sind. Eine der beiden Verunreinigungen geht auf eine Sorte zurück, die von dem Biotech-Konzern Monsanto entwickelt wurde und in Europa bereits eine Marktzulassung hat. In diesem Fall hätte nach dem Gesetz der Pioneer-Mais mit „kann gentechnisch verändertes Saatgut enthalten“ gekennzeichnet sein müssen. Weit schwerwiegender sind die Spuren der Maissorte „BT 11“ des Schweizer Chemiekonzerns Novartis. Für diese Gentech-Sorte liegt bisher noch keine Anbaugenehmigung für die EU vor. Möglicherweise ist der Pioneer-Mais noch mit einer dritten Sorte, ebenfalls von Monsanto und ohne EU-Anbaugenehmigung, kontaminiert. Nun fordert der BUND von den Behörden eine sofortige Rückholaktion.

Ebenfalls betroffene französische Bauern hatten den BUND in Freiburg auf den Fall aufmerksam gemacht. Während in Frankreich das beanstandete Saatgut ohne große Umstände von Pioneer zurückgenommen und gegen konventionelle Maiskörner ausgetauscht wurde, will der Saatguthersteller in Deutschland vorerst nichts davon wissen. „Wir gehen davon aus, daß das Saatgut den Vorschriften entsprechend produziert worden ist“, so Ulrich Schmidt, Geschäftsführer der deutschen Pioneer-Niederlassung in Buxtehude. An eine Rückholaktion wird nicht gedacht. Es könne sich allenfalls um eine „nicht beabsichtigte, geringfügige Verunreinigung“ handeln. Schmidt verweist darauf, daß derzeit diskutiert werde, derartige Verunreinigungen bei neuartigen Lebensmitteln zuzulassen.

„Die Inverkehrbringung von nicht zugelassenen genmanipulierten Organismen ist nach dem Gentechnikgesetz

generell nicht zulässig“, widerspricht Dan Leskien, Gentech-Experte des BUND. „Das Gentechnikgesetz läßt keine Toleranzgrenze zu“, heißt es auch bei der Pressestelle der Freiburger Staatsanwaltschaft.

Zögerliche Behörden

Leskien kritisiert die Untätigkeit der zuständigen Behörden. Der Fall sei bereits seit zwei Wochen bekannt, aber nichts sei bisher geschehen. Die Behörden würden „durch feiges und zögerliches Handeln“ Bauern gefährden, die derzeit schon den beanstandeten Mais in die Erde bringen. „Am Ende“, so Leskien, „steht wieder das Gentechnikrecht, das ihnen den Verkauf der Ernte verbietet, wenn sie in unerlaubter Form gentechnisch belastet ist“.

„Die Überwachung nach dem Gentechnikgesetz ist Aufgabe der Bundesländer“, heißt es bei der für Gentechnik zuständigen Bundesbehörde, dem Robert-Koch-Institut in Berlin. „Wir müssen noch weitere Untersuchungen abwarten“, rechtfertigt sich Jürgen Fluhme, Leiter der Umweltabteilung beim Regierungspräsidium Tübingen, das in Baden-Württemberg die gentechnischen Arbeiten kontrolliert und bei Verstößen aktiv werden muß. „Wir wissen aber, wo das Saatgut hingegangen ist“, so Fluhme. „Wenn wirklich die Notwendigkeit bestehen sollte, könnten wir die betroffenen Felder ausfindig machen und die Vernichtung der gentechnisch veränderten Pflanzen sicherstellen“.

Weitaus konsequenter reagierten die Schweizer Behörden. Sofort nach dem Vorfall in Deutschland untersuchten sie ihrerseits von Pioneer vertriebenes Saatgut. Bei zehn Stichproben der Sorten Benicia und Ulla fanden sie gentechnisch verändertes Saatgut. Umgehend ordnete das Schweizer Bundesamt für Landwirtschaft (BLW) ein Anbauverbot an.

Der Autor ist freier Journalist und Wissenschaftsredakteur sowie ehemaliger Mitarbeiter des Gen-ethischen Netzwerks.

Kurz notiert

suchsreihe, die gemeinsam von der britischen Regierung und der sogenannten „Supply Chain Initiative on Modified Agricultural Crops (ein Zusammenschluß von Farmern, Pflanzenzüchtern und Biotechnologie-Unternehmen) auf insgesamt sieben verschiedenen Feldern in Großbritannien durchgeführt wird. Barker selbst erklärte gegenüber der Zeitschrift New Scientist (12.6.99): „Ich selbst glaube fest an die Biotechnolo-

gie-Industrie.“ Aber die Eigentümer seiner Farm hätten die zuvor erteilte Genehmigung für den Freisetzungsvorversuch wieder zurückgezogen. (sr)

Handelsketten ohne Gentech-Food

Das Unternehmen Frosta, einer der größten deutschen Tiefkühlwaren-Hersteller, bietet ab Mitte Mai kein gentechnisch verändertes Soja-Eiweiß mehr in den Fertiggerichten ihrer „Vital“-Rei-

he an. Frosta hatte bislang mindestens neun Produkte mit dem Zusatz „aus gentechnisch veränderten Sojabohnen“ gekennzeichnet. Bereits im März erklärten sieben europäische Supermarktketten - angeführt von dem britischen Unternehmen J. Sainsbury - daß sie in Zukunft auf Gentech-Produkte verzichten wollen. Dazu gehören neben Marks & Spencer (London) die Firmen Carrefour (Paris), Effelunga (Rom), Migros (Basel),

Pflanzen „wissen“ mehr

Die Forschung der letzten Jahre zeigt, daß Pflanzen viel mehr über ihre Umwelt wissen, als bisher angenommen wurde. Muß der Status von Pflanzen als manipulierbare und patentierbare „Sache“ neu überdacht werden?

Florianne Koechlin

Wenn Raupen der Gattung *Spodoptera exigua* Hübner Maispflanzen befallen und an den Blättern zu fressen beginnen, kommen bald auch natürliche Feinde dieser Raupen angefliegen: In diesem Falle Wespen der Gattung *Cotesia marginiventris*. Diese Wespen parasitieren auf den Raupen, legen ihre Eier in sie hinein und führen so mit der Zeit zu deren Tod.

Warum aber finden die Wespen ihre Opfer so schnell und zuverlässig? Dieser Frage hat Ted Turlings, Professor an der Universität Neuchâtel und gebürtiger Holländer, die letzten zehn Jahre seiner Forschungsarbeit gewidmet. Denn die Raupen sind recht unscheinbar und auch geruchlos und ziehen selber die Wespen kaum an - das läge auch nicht in ihrem evolutionären „Interesse“. Doch wenn es nicht an den Raupen liegt, dann müssen die Pflanzen die Wespen anlocken können. Aber wie?

Duftstoffe rufen SOS

Um dies herauszufinden, untersuchte Ted Turlings mit seiner Gruppe die Wirkung von verletzten Maisblättern. Mit einem Messer verletzte Blätter haben keine Wirkung auf Wespen, von Raupen angefressene Blätter hingegen üben eine hohe Anziehungskraft auf Wespenweibchen aus. Die Forscher analysierten daraufhin die Geruchstoffe, die die Pflanze aussendet. Sie wurden fündig. „Sie können es selber riechen: Eine von Raupen verletzte Pflanze produziert nach einigen Stunden ein stark duftendes Gemisch an Geruchstoffen. Anfangs riechen Sie den Duft von geschnittenem Gras - den Geruch von verletzten Pflanzen also, wir kennen dieses Duftstoffgemisch seit längerem. Nachher kommt ein

anderer Duft dazu, ein starker Duft, und dieser Duft zieht die Wespenweibchen an, und zwar unabhängig davon, ob die Raupen noch am Blatt sind oder nicht“, sagt Ted Turlings. Chemische Analysen der Duftstoffe ergaben, daß die flüchtigen S.O.S.-Signale der Maisblätter aus einem Gemisch von Indol und Terpenoiden bestehen.

Wie aber „weiß“ die Maispflanze, daß sie von diesen Raupen befallen ist und nun die Wespen zur Hilfe rufen muß? Die ForscherInnen haben Maisblätter mit dem Messer verletzt: Es gab keine Reaktion.

Wenn bestimmte Raupen Maispflanzen befallen und an den Blättern zu fressen beginnen, kommen bald auch ihre natürliche Feinde - in diesem Fall Wespen - angefliegen: Warum?

Sobald aber die verletzten Blätter mit Raupenspeichel beschmiert wurden, begannen sie mit der Produktion der S.O.S.-Duftstoffe. Also müssen die Pflanzen die Raupen an ihrem Speichel „schmecken“, sobald diese sie angreifen. Nun begann eine vier Jahre dauernde, sehr aufwendige Suche nach dem Signalstoff im Raupenspeichel. Raupen wurden aufgezogen, gefüttert, dann zum Erbrechen gebracht und ihr Speichel mit modernster Analysemethodik untersucht. Erst letztes Jahr fanden die Forscher den Stoff und nannten ihn Volicitin. Die Pflanze „schmeckt“ im Raupenspeichel das Volicitin und beginnt dann sofort mit der Produktion ihrer Duftstoffe, um damit die Wespenweibchen anzuziehen, die ihrerseits die Fraßraupen langsam abtöten - das Puzzle zu diesem faszinierenden Zusammenspiel kam langsam zusammen.

Doch die ForscherInnen kamen noch mehr ins Staunen: So berichtete eine US-Forschergruppe letztes Jahr in der renommierten Wissenschaftszeitung *Nature*, daß Pflanzen nicht einfach bloß einen Notsignal-Duftstoff herstellen, sondern ein Repertoire verschiedener Duftstoffe haben und je nach Raupenart ganz spezifische Duft-Not-Signale aussenden. Die Wespen „wissen“ dann genau und zuverlässig, welche Raupenart gerade an diesen Maispflanzen frißt, und zwar - und auch dies ist erstaunlich - lernen die Wespen as-

Kurz notiert

Delhaize (Brüssel) und Superquinn (Dublin). Auch die Firmen Mora, McCain, Kikkomann und Töpfer zogen bereits zuvor gekennzeichnete Gentechnik-Produkte vom Markt zurück. Auch Nestlé England und Unilever England gaben an, in Zukunft auf den Einsatz der Gentechnik bei der Herstellung ihrer Produkte zu verzichten. „Der Protest der Verbraucher zeigt Wirkung“, so Christoph Then, Gentechnik-Fachmann bei

Greenpeace. „Die Chancen steigen, daß wir Gen-Soja, Genraps und Genmais aus dem Lebensmittelsektor verbannen können. Der Markt für Gen-Food wächst nicht, er schwindet.“ In Deutschland habe Frosta einen Schritt in die richtige Richtung getan. „Wir erwarten jetzt von Nestlé Deutschland, sich dem umgehend anzuschließen.“ Nestlé Deutschland hatte zwar bereits erklärt, wegen der großen Verbraucher-

kritik und zunehmender Sicherheitsbedenken auf Genfood verzichten zu wollen. Man habe bereits Rohstoffquellen ohne Genveränderungen. Allerdings will Nestlé Deutschland noch nicht ganz auf Gentechnik verzichten. Den „Butterfinger“, hergestellt laut kleingedrucktem Hinweis unter der Zutatenliste aus „genetisch verändertem Mais“, will Nestlé in Deutschland so lange anbieten, wie es eine Nachfrage danach

soziativ die Duftgemische zu unterscheiden und finden auf diese Weise ihre bevorzugte Raupenart. Es ist also nicht so, wie bislang angenommen, daß Wespen mit diesem „Wissen“ auf die Welt kommen und starr und instinktiv nur immer dem gleichen Geruch folgen.

Turlings Team hat auch herausgefunden, daß unterschiedliche Maissorten sehr unterschiedliche Duftstoffgemische herstellen. Zudem produzieren junge Maispflanzen viel mehr Notruf-Gerüche als alte Pflanzen, und Trockenheit begünstigt die Duftstoffproduktion in der Regel. Sein Team

untersucht nun, wie sich dies für die biologische Schädlingsbekämpfung verwenden läßt. Kann ein ausgeklügeltes Anbausystem im Maisbau dazu beitragen, daß die Pflanzen mehr Duftstoffe produzieren und somit mehr Wespen anziehen, um sich besser gegen Raupenfraß zu schützen? Oder gelingt es, durch Kreuzungen Maispflanzen zu züchten, die viele Duftstoffe produzieren und gleichzeitig einen hohen Ertrag haben? Eine faszinierende Perspektive für den Biolandbau. Turlings Forschung wird jedoch auf die Schweiz kaum große Auswirkungen haben.

Er untersucht Raupen, die vor allem in wärmeren Gegenden - in Lateinamerika, in Israel und Ägypten, aber auch in Südeuropa - zu wahren Plagen werden können.



Petunie

Umfassende Wahrnehmung

Pflanzen können auch riechen, sehen, spüren und hören, wie Andy Coughlin in der Wissenschaftszeitung *New Scientist* (26.10.98) berichtet. Und viele dieser erstaunlichen Eigenschaften helfen ihnen, ihre Umgebung ziemlich gut wahrzunehmen und sich vor Feinden zu schützen. Einige Beispiele:

- Pflanzen können riechen: Untersuchungen an Tomaten haben ergeben, daß verletzte Tomaten den Duftstoff Methyl-Jasmonat als Notsignal aussenden. Benachbarte Pflanzen können dann „riechen“, daß Gefahr in Anzug ist, und mit der Schädlingsabwehr beginnen. Methyl-Jasmonat ist ein häufig verwendeter Stoff in Parfums. Inzwischen haben Forscher auch noch andere Warn-Duftstoffe gefunden. Sie wollen prüfen, ob diese Duftstoffe vor einer Raupeninvasion zur Warnung der Pflanzen eingesetzt werden können.

- Pflanzen können sehen: Sie enthalten in vielen Pflanzenorganen photosensitive Komponenten, die jeweils sehr spezifisch auf bestimmte Wellenlängen des Lichtes reagieren können. Diese Lichtsensoren teilen der Pflanze zum Beispiel mit, ob es Tag oder Nacht ist, wie lang der Tag ist, wieviel Licht da ist und von wo das Licht kommt. Erst kürzlich

haben Forscher um Gareth Jenkins von der University of Glasgow zudem herausgefunden, daß Pflanzen auch die schädlichen UV-B-Strahlen registrieren können. Dann lösen sie die Herstellung bestimmter Pigmente aus, die die UV-B-Strahlen herausfiltern können. „Pflanzen stellen in der Gegenwart von UV-B-Strahlen ihre eigene Sonnenschutzcreme her“, bemerkt Gareth Jenkins. Daß dies nötig ist, wissen die Fachleute: Wenn Pflanzen aus dem (sonnenlosen) Gewächshaus direkt in die Sonne gestellt werden, laufen sie Gefahr, einen „Sonnenbrand“ zu bekommen.

- Pflanzen können tasten: Alle kennen wir die Mimose, deren Blätter sich bei geringster Berührung nach unten biegen. Auch gewöhnliche Pflanzen können Bewegung, zum Beispiel den Wind, „spüren“ und sich vorsehen, denn starker Wind kann bei Blättern große Schäden anrichten. Wie Andy Coughlin im *New Scientist* erwähnt, haben Untersuchungen ergeben, daß Maispflanzen, die jeden Tag 30 Sekunden lang geschüttelt wurden, 30 bis 40 Prozent weniger Ertrag ergaben. Dafür waren die Zellwände ihrer Blätter und ihres Stengels massiv verstärkt worden; eine Schutzmaßnahme gegen das Schütteln.

- Pflanzen können hören: Mordecai Jaffe von der Universität Waker Forest (USA) hat Pflanzen permanent mit Tönen in der Lautstärke von menschlichen Stimmen beschallt und stellte fest, daß Zwergerbsen doppelt so groß wurden wie normal.

Pflanzen, so zeigt die Forschung der letzten Jahre, „wissen“ sehr viel mehr über ihre Umwelt als bisher angenommen wurde. Könnte dies nicht auch bedeuten, daß der Status von Pflanzen neu überdacht werden muß? Der in der Schweizer Verfassung verankerte Grundsatz, daß die „Würde der Kreatur“ zu achten sei, wird bisher nur in Bezug auf Tiere diskutiert. Doch warum sollten Pflanzen, die schmecken, riechen, sehen oder hören, bloß als Sachen gelten, an denen beliebig manipuliert werden kann und die patentierbar sind wie eine Chemikalie?

Die Autorin ist Biologin, kritische Expertin zur Gentechnik in der Schweiz und Europa und verantwortlich für die europäische Koordination der Initiative „Keine Patente auf Leben“.

Literatur:

- A. Coughlin 'Sensitive flower', *New Scientist*, 26.9.98
- T. Turlings and B. Benrey 'Effects of plant metabolites on the behaviour and development of parasitic wasps', 1998, *Ecoscience*, 5(3), 321
- C.M. De Moraes et al. 'Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids', 1998, *Nature*, 393, 570
- H.T. Alborn et al. 'An elicitor of plant volatiles from Beat Armyworm Oral Secretion', 1997, *Science*, 276, 945
- W.J. Lewis and K. Takasu, 'Use of learned odours by a parasitic wasp in accordance with host and food needs', 1990, *Nature*, 348, 635

Kurz notiert

gebe, (*Nature Biotechnology*, 17.5.99, *PM Greenpeace*, 5.5.99) (sb/sr)

Umweltbundesamt tadelt

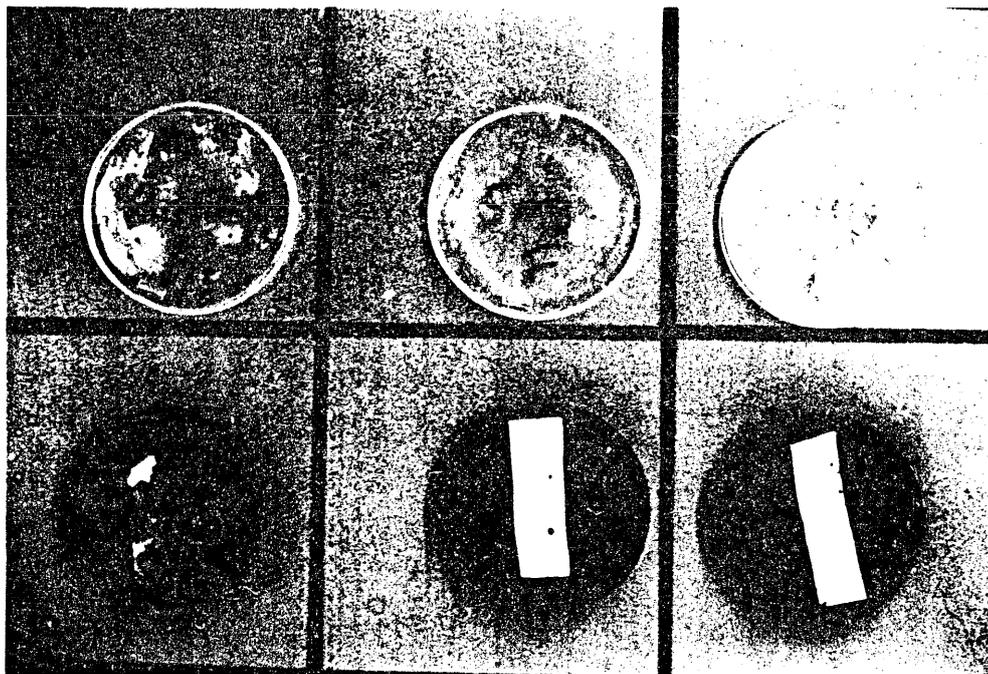
In einer vor kurzem veröffentlichten Dokumentation zweifelt das Umweltbundesamt (UBA) den Nutzen der Biotechnologie in der Landwirtschaft stark an. „Die derzeitige Anwendung der Gentechnik in der Landwirtschaft kann nicht als nachhaltig angesehen wer-

den“, stellt das UBA fest. Laut Autorin des UBA-Berichts, Jutta Dürkop, könne die Biotechnologie am ehesten im Bereich der industriellen Produktion von Nutzen für die Umwelt sein. Biotechnologische Verfahren verbrauchen oft weniger Energie erzeugen, weniger Schadstoffe als chemische Verfahren. Für 11 der 23 am häufigsten hergestellten Chemikalien gibt es bereits biotechnologische Syntheseverfahren. Diese werden

jedoch aus Kostengründen nicht in der Großindustrie eingesetzt. In allen anderen Bereichen sieht das UBA keine Vorteile: Schädlingsresistente Gentechnische Pflanzen könnten zwar möglicherweise mit weniger Pestiziden auskommen. Das sei jedoch nicht sicher, denn wissenschaftliche Untersuchungen aus unabhängiger Quelle fehlten, so die Fachleute des Amtes. Zudem stehen den eventuellen Vorteilen eine Reihe von negati-



Materialien zur Fortbildung Mikrobiologie und Gentechnik Grundlagen (I)



Herausgeber: Oberschulamt Stuttgart

Impressum

Herausgeber **Oberschulamt Stuttgart**
Breitscheidstraße 42
70176 Stuttgart
☎ (0711) 6670 - 241

Autorenteam

- StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall
- OStR Dr. Rudolf Endreß, Wagenburg-Gymnasium Stuttgart
- OStR Rudolf Heinze, Württemberg-Gymnasium Stuttgart
- GP Gero Holl, Max-Planck-Gymnasium Nürtingen
- StD Markus Müller, Württemberg-Gymnasium Stuttgart
- OStR Günter Ost, Georg-Büchner-Gymnasium Winnenden

Redaktion

- RSD Thomas Dietrich Oberschulamt Stuttgart

Das Oberschulamt Stuttgart bedankt sich beim Autorenteam für die mit sehr großem Engagement vorgenommene Zusammenstellung, Erprobung und Ausarbeitung der Fortbildungsmaterialien.

Druck

Hausdruckerei des Oberschulamts Stuttgart

Auflage: 400 Exemplare

	Mikrobiologie und Gentechnik	
Vorwort		

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Der erste Kurs zum Thema Mikrobiologie und Biotechnologie beinhaltet einige grundlegende Arbeiten mit Mikroorganismen. Sie sollen bei dieser Fortbildungsveranstaltung Freude bekommen, mit Bakterien zu experimentieren und einige interessante und einfache Versuche selbst durchführen. Darüber hinaus sollen Sie die wichtigsten Arbeitstechniken für den Umgang mit Mikroorganismen kennenlernen.

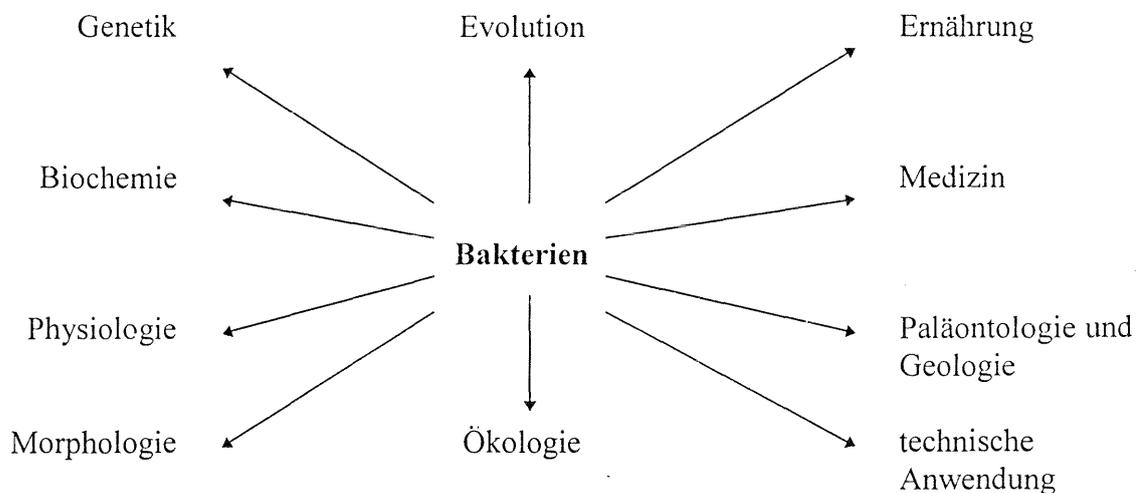
Bakterien dienen dem Lehrer als Versuchsmaterial, mit dem er von der Jahreszeit unabhängig ist. Die verschiedensten Bakterienkulturen lassen sich leicht beschaffen und können bei richtiger Handhabung auf geeigneten Nährböden ideal lange aufbewahrt werden. Auch eignen sie sich für Unterrichtszwecke besonders gut, weil man mit ihnen wesentliche Vorgänge der Biologie exemplarisch aufzeigen kann.

Das Manuskript für diese Fortbildungstagung ist so aufgebaut, dass im ersten Teil die Sicherheitsbestimmungen und die wichtigsten Materialien und Arbeitsanweisungen für den richtigen Umgang mit Bakterien stehen. Hier finden Sie auch eine Auflistung der zugelassenen Bakterien (I: Sicherheitsbestimmungen, II: Mikroorganismen im Unterricht, III: Geräteausstattung). Zwei weitere Kapitel beschreiben für den Unterricht geeignete Versuche (IV: Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken, V: Versuche). In der Anlage finden Sie eine Liste mit Bezugsquellen für Bakterien, Viren, Schimmelpilze und andere mikrobiologische Materialien sowie eine umfangreiche Literaturliste.

Den Stellenwert der Bakterien im Rahmen der Biologie zeigt Schema 1. Aus diesem ergibt sich, dass die Bakterien in enger Beziehung zu vielen Disziplinen der Naturwissenschaften stehen.

Die Autoren

Schema 1:



Inhaltsverzeichnis

I: Sicherheitsbestimmungen

Grundausstattung im Biologiesaal	5
Arbeitsregeln mit Kopiervorlage	6
Arbeiten mit Reinkulturen	8
Entsorgung	9

II: Mikroorganismen im Unterricht

Stämme nicht pathogener Organismen	10
Bakterien aus der Umwelt	11
Hefestämme	12
Fadenpilze	13
Viren	14
Größenvergleiche	15

III: Ausstattung

Geräte und Chemikalien	16
------------------------	----

IV: Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken

Steriles Arbeiten	18
Herstellen von Agarplatten	19
Herstellung von Schrägagar und Beimpfung	20
Fixierungsmethode	21

V: Mikrobiologische Versuche

Versuch 1: Plaque-Bildung durch Bakteriophagen	22
Versuch 2: Gramfärbung	23
Versuch 2a: Schnelltest auf Gram-positive und Gram-negative Mikroorganismen	25
Versuch 3: Genübertragung durch bakterielle Konjugation	26
Versuch 4: Keimzahlbestimmung in Milch oder Milchprodukten	28
Versuch 5: Tumorinduzierung bei Pflanzen	30

VI: Anhang

Literaturliste	32
Hinweise auf Versuche mit Mikroorganismen und ihre Einbettung im Lehrplan (KI. 7-11)	34
Adressenverzeichnis	41

I	Sicherheitsbestimmungen	
Biologiesaal		

Die Grundausstattung im Biologiesaal

- Für das Arbeiten mit Bakterien eignen sich Tische mit einer glatten und abwaschbaren Oberfläche. Sie sollte möglichst feuerfest sein. Gut geeignet sind kunststoffbeschichtete Tische.
- Holztische sind ungeeignet für mikrobiologisches Arbeiten, da sie nur unzureichend desinfiziert werden können. Falls der Biologiesaal nur Holztische aufweist, so wird als Arbeitsunterlage eine größere Glasplatte aufgelegt. Sie kann mit einem Desinfektionsmittel gereinigt werden.
- Gasanschlüsse an jedem Tisch wären wünschenswert. Fehlen sie, so können Alkoholbrenner verwendet werden.
- Waschbecken mit Wasseranschlüssen sollten vorhanden sein. Am günstigsten wäre, wenn jeder Schüler- und der Lehrertisch einen Wasseranschluss hätte.
- Der Fußboden sollte gut abwaschbar sein (z. B. ein glatter PVC-Boden).

I	Sicherheitsbestimmungen	
Arbeitsregeln		

Die wichtigsten Arbeitsregeln für den Umgang mit Bakterien.

Mit Bakterien umzugehen ist eigentlich gefahrlos, wenn einige einfache Arbeits- und Verhaltensmaßregeln beachtet werden.

Nach dem Bundesseuchen Gesetz vom Dezember 1979 und allen folgenden Ergänzungen sowie den entsprechenden Ausführungsbestimmungen und Länderverordnungen und nach dem Gentechnik-Gesetz vom 20. Juni 1990 und dem ersten Gesetz zur Änderung des Gentechnik Gesetzes vom 16.12.1993 ist es verboten, in der Schule pathogene Keime zu züchten. Da es jedoch nie ganz auszuschließen ist, dass sich bei Untersuchungen nicht pathogener Keime ausnahmsweise auch pathogene entwickeln, sollte stets so verfahren werden, als ob mit pathogenem Material gearbeitet wird.

Allgemeine Regeln.

- Auf hygienisches Verhalten und peinliche Sauberkeit am Arbeitsplatz achten.
- Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken, schminken, rauchen und schnupfen.
- Nahrungsmittel, auch verpackt, nicht auf den Arbeitsplatz legen.
- Fenster und Türen sollen während der mikrobiologischen Arbeiten geschlossen sein.
- Schleimhäute von Mund, Augen und Nase nicht mit Gegenständen oder Händen berühren, die durch die Arbeit mit Mikroorganismen kontaminiert sein können.
- Bakterienkulturen stets gut verschließen. Petrischalen mit einem Tesaband oder Parafilm versehen.
- Petrischalen mit Bakterienkulturen beschriften: Bakterienstamm und Datum der angesetzten Kultur angeben. Dazu einen wasserunlöslichen Filzstift verwenden.
- Bakterienmaterial nicht mit den Händen berühren.
- Petrischalen mit bekannten und unbekanntem Bakterienkulturen nicht offen stehen lassen.
- Eintrocknete Präparate bergen die Gefahr staubförmiger Verbreitung.
- Keine Substanzen untersuchen, bei denen eine erhebliche fäkale Verunreinigung anzunehmen ist (z. B. Wasserproben aus dem Vorfluter einer Kläranlage).
- Bakteriensuspensionen nur mit einer Pipettierhilfe pipettieren. Keinen Peleus-Ball verwenden. Niemals mit dem Mund pipettieren.
- Aerosolbildung vermeiden.
Aerosole entstehen bei abrupten Druckveränderungen an Grenzflächen verschiedener Aggregatzustände wie Gas (z. B. Luft) und Flüssigkeit (z.B. Nährbouillon). Dabei werden Tröpfchen als Aerosole mitgerissen und gelangen über die Luft in die Atemwege.
- Impfföfen vor und nach Gebrauch im Bunsenbrenner ausglühen.
- Sämtliche Laborgeräte, die mit Bakterien in Berührung gekommen sind, sterilisieren.
- Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich benötigten Geräte und Materialien stehen.
- Im Arbeitsbereich Laborkittel oder andere Schutzkleidung tragen.
- In der Mikrobiologie, Virologie oder Zellbiologie unerfahrene Mitarbeiter müssen besonders umfassend unterrichtet, sorgfältig angeleitet und überwacht werden.
- Ausgediente Kulturen unschädlich machen und gefahrlos beseitigen.
- Unbekannte Bakterienkulturen (Abklatschversuche) sollten nach Möglichkeit nicht bei 37°C bebrütet werden. Hier reichen maximal 30°C.
- Schimmelpilzkulturen und Pilzsporen nicht auf einem Objektträger im Mikroskop betrachten. Hierzu nur Petrislides verwenden.
- Entsorgung der Bakterien in einem Dampfdrucktopf oder einem Autoklaven.
- Nach dem Arbeiten den Arbeitsplatz reinigen und desinfizieren
- Anschließend unbedingt die Hände waschen und desinfizieren.

I	Sicherheitsbestimmungen	
Grundregeln für mikrobiologische Arbeiten (Kopiervorlage)		

- Fenster und Türen sollen während der Arbeiten geschlossen sein.
- In den Arbeitsräumen darf nicht getrunken, gegessen oder geraucht werden.
Nahrungsmittel dürfen im Arbeitsbereich nicht aufbewahrt werden.
- Im Arbeitsbereich müssen Laborkittel oder andere Schutzkleidung getragen werden.
- Bei allen Arbeiten muss darauf geachtet werden, dass Aerosolbildung soweit wie möglich vermieden wird.

Aerosole entstehen bei abrupten Druckveränderungen an Grenzflächen verschiedener Aggregatzustände wie Gas (z.B. Luft) und Flüssigkeit (z.B. Nährbouillon). Dabei werden Tröpfchen als Aerosole mitgerissen und gelangen über die Luft in die Atemwege.

- Nach Beendigung der Arbeit und vor Verlassen des Arbeitsbereiches müssen die Hände sorgfältig gewaschen, gegebenenfalls desinfiziert werden.
- Arbeitsbereiche sollen aufgeräumt und sauber gehalten werden.
Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich benötigten Geräte und Materialien stehen.
- In der Mikrobiologie, Virologie oder Zellbiologie unerfahrene Mitarbeiter müssen besonders umfassend unterrichtet, sorgfältig angeleitet und überwacht werden.

Steriles Arbeiten

- Gefäße mit Medium nur in unmittelbarer Nähe der Brennerflamme öffnen.
- Gefäße vor dem Wiederverschließen kurz abflammen.
- Nur sterile Pipetten verwenden.
Eine Pipette, mit der Sie bereits die Arbeitsfläche berührt haben, ist nicht mehr steril.
- Die Eppendorfgefäße dürfen nur am Rand angefaßt werden, nicht an der Deckelinnenseite.
- Drigalskispatel, mit denen sie Bakterien ausplattieren, können Sie keimfrei machen, indem sie in Ethanol eingetaucht und anschließend abgeflammt werden.

I	Sicherheitsbestimmungen	
Arbeiten mit Reinkulturen		

Für das offene Arbeiten mit Bakterien- und Pilzkulturen nur definierte, nicht humanpathogene und für den Schulgebrauch zulässige Reinkulturen verwenden. Kein eigenes Isolat zur Weiterzucht verwenden.

Schulgeeignete Reinkulturen von Mikroorganismen von der DSMZ, dem Lehrmittelhandel oder von Hygieneinstituten oder mikrobiologischen Universitätsinstituten beziehen. (siehe Anhang)

Keine Bakterienstämme verwenden, die plasmidcodierte oder doppelte Antibiotika-Resistenzen aufweisen. Höchstens Stämme mit chromosomal lokalisierter Streptomycinresistenz verwenden.

Arbeiten mit unbekanntem Kulturen

Keine Mikroorganismen menschlicher oder tierischer Herkunft offen handhaben, da eventuell pathogene Arten angereichert werden können. Entsprechende Nährbodenplatten mit Tesafilm oder Parafilm versiegeln. Eintrocknete offene Präparate bergen Gefahr staubförmiger Verbreitung.

Die Zucht von Schimmelpilzen auf Kohlenhydrat-Nährsubstrate beschränken. Möglichst keine unbekanntem Aspergillus-Arten anreichern. Ihre Sporen können schwere Lungenmykosen verursachen. Aspergillus Arten produzieren Aflatoxine. Aflatoxine werden vor allem auch von solchen Schimmelpilzen gebildet, die auf eiweißhaltigen Ölsamen wie z. B. auf Nüssen wachsen. Auf Substrat, das im Wesentlichen aus Kohlenhydraten besteht, wie Weißbrot oder Obst, ist die Gefahr der Aflatoxinbildung gering.

Undefinierte Bakterien- und Pilzkulturen möglichst nicht bei 35-38° C (Körpertemperatur des Menschen) bebrüten, weil sonst für den Menschen eventuell pathogene Organismen selektiert und angereichert werden können.

Unbekannte Bakterien- und Pilzkulturen auf Lebensmitteln oder anderen Substraten nicht offen herumliegen lassen.

Petrischalen mit unbekanntem Kulturen vor dem Autoklavieren nicht öffnen.

I	Sicherheitsbestimmungen	
Entsorgung		

Die Entsorgung von Kulturen

Alle Bakterien- und Pilzkulturen nach Gebrauch durch Autoklavieren wie folgt vernichten:

- Petrischalen oder Behälter mit Altkulturen in einem Dampfdrucktopf oder Autoklaven 20 Minuten lang bei über 120⁰ C und 1 bar Überdruck oder im Schnellkochtopf 30 Minuten lang sterilisieren.
- Einwegpetrischalen zum Sterilisieren vorher in einen autoklavierbaren Vernichtungsbeutel legen und gut verschließen.
- Das sterilisierte Material nach dem Abkühlen sofort in den Ausguß (Flüssigkeiten) oder in den Müll (Einwegpetrischalen) geben.
- Falls nichtsterilisierte Kulturen von Mikroorganismen nicht selbst entsorgt werden können, so sollte eine Abgabe an Krankenhäuser oder Hygieneinstituten vereinbart werden.

II	Mikroorganismen im Unterricht	
Stämme nicht pathogener Organismen		

Bakterienstämme	DSM-Nr.	Besondere Eigenschaften
Aquaspirillum serpens ¹		spiralige Zellform
Acetobacter aceti	3508	Essigsäureproduktion
Agrobacterium tumefaciens	30205	Erreger des Pflanzenkrebs
Bacillus megaterium	32	Endosporen, bes. Zellgröße
Bacillus mycoides	2048	fädige Kolonien
Bacillus subtilis	402	Stärke- und Proteinabbau
Cellulomonas uda	20107	Celluloseabbau
Erwiniacarotovora	30168	Fett- und Stärkeabbau
Escherichia coli K12 und Abkömmlinge	498, 423, 426, 1562, 1563	bakteriengenetische Versuche
Gluconobacter oxydans ¹		Essigsäureproduktion
Halobacterium salinarum	3754	hohe Salztoleranz, rotgefärbte Kolonien
Lactobacillus, z.B. L. Delbrueckii	20081	Milchsäuregärung
Lactococcus z. B. L. lactis	20281	Milchsäuregärung, Indikator für Milchsäurephagen
Leuconostoc mesenteroides	20343	Sauerkrautbereitung, Nikotinsäureverwertung, Dextrange-winnung
Micrococcus luteus	20030	gelbe Koloniefarbe, Antibiotika Indikatororganismus
Micrococcus roseus ¹		rosa Koloniefarbe
Micrococcus varians ¹		gelbe Koloniefarbe
Photobacterium phosphoreum	2167	Biolumineszenz
Pseudomonas fluorescens	50090	schillernde Kolonien, Antibiotika Indikatororganismus
Rhizobium leguminosarum	30132	Stickstofffixierung
Staphylococcus carnosus ¹		Aromabildung
Sporosarcina urea	2281	Harnstoffabbau
Streptococcus salivarius sub.spec. thermophilus		Milchsäuregärung
Streptomyces griseus	40236	Antibiotikaproduktion, Koloniemorphologie
Vibrio fischeri	507	Biolumineszenz
Vibrio natrigens		rapides Wachstum
Xanthomonas campestris	1706	Biopolymerproduktion
Yarrowia lipolytica ²	3286	Produktion von Biomasse, Antibiotika-Testorganismus

Diese Liste ist in die Sicherheitsrichtlinien der KMK 1995 aufgenommen worden.
 Die mit ¹ gekennzeichneten Organismen sind in Baden-Württemberg zusätzlich zugelassen.
 Der mit ² gekennzeichnete Organismus ist ein Hefestamm

II	Mikroorganismen im Unterricht	
Bakterien aus der Umwelt (unbekannte Kulturen)		

Bakteriengruppen	Vorkommen
Eisenbakterien	in stehendem und fließendem eisenhaltigen Wasser
Halobakterien	in Salzseen
Leuchtbakterien	im Meerwasser oder in oder auf marinen Tieren
Manganbakterien	in manganhaltigem Wasser
Organische Lösungsmittel abbauende Bakterien	in Gewässern mit organischen Lösungsmitteln
Schwefelbakterien	in stehendem schwefelwasserstoffhaltigen Wasser
Toluol abbauende Bakterien	in toluolhaltigem Wasser

II	Mikroorganismen im Unterricht	
Hefestämme		

Hefestämme	DSM Nr.	besondere Eigenschaften
Candida utilis	02361	Biomasseproduktion
Rhodotorula glutinis	70403	rötliche Kolonien, strikt aerobes Wachstum
Saccharomyces cerevisiae und Abkömmlinge	70449	Bier- und Backwarenherstellung, Weinbereitung, Antibiotika- Testorganismus
Yarrowia lipolytica	3286	Citronensäureproduktion

II	Mikroorganismen im Unterricht	
Fadenpilze		

Fadenpilzstämme	DSM Nr.	besondere Eigenschaften
Agarius bisporus (Kulturchampignon) ¹		Sporen
Armillaria mellea (Hallimasch) ¹		Cellulose- und Ligninabbau
Botrytis cinerea ¹		Pektinabbau
Penicillium camemberti	1995	Käseweißschimmel, Sporenträger
Penicillium nalgiovensis		weißer Schimmel für Rohwürste
Penicillium roqueforti	1079	Käseblauschimmel, Sporenträger
Phycomyces blacesleanus	1359	Gametangiogamie, Isotangiogamie, Phototropismus

Diese Liste ist in die Sicherheitsrichtlinien der KMK 1995 aufgenommen.

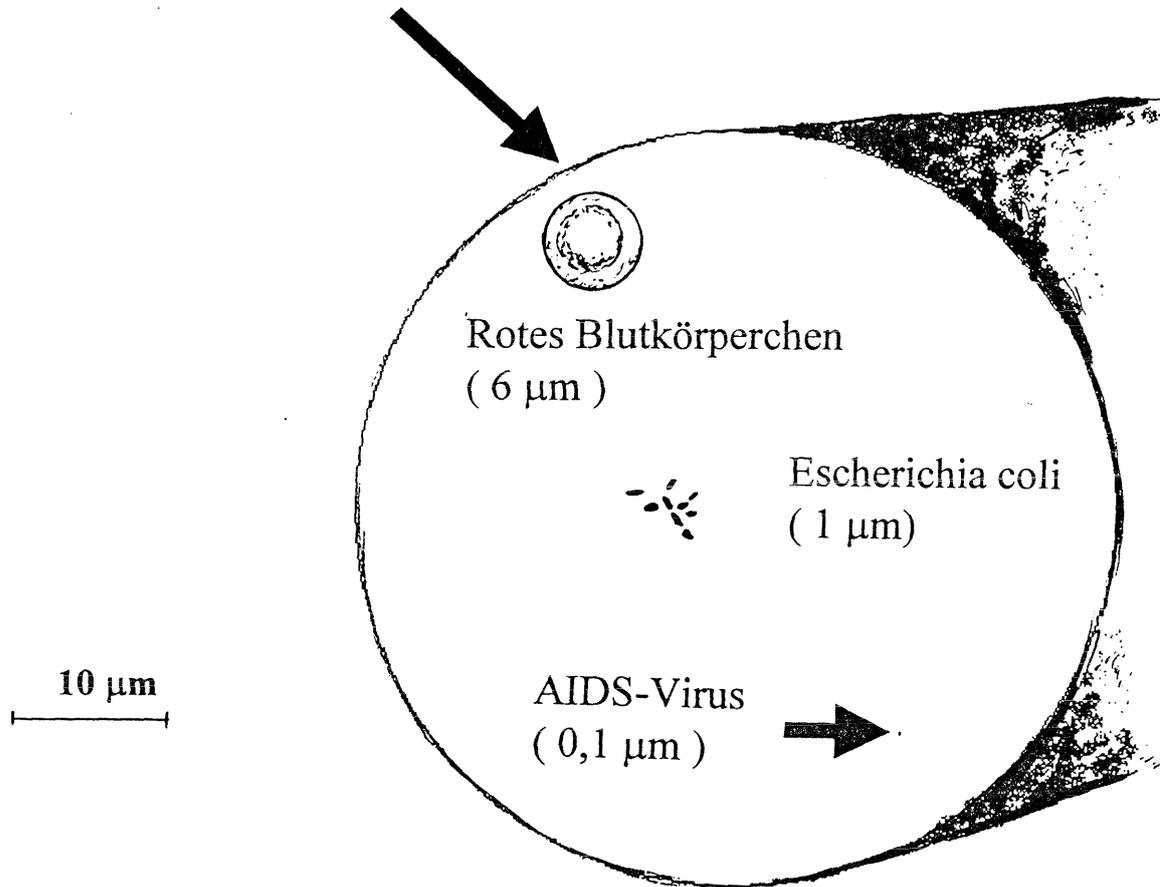
Die mit ¹ gekennzeichneten Organismen sind in Baden-Württemberg zusätzlich zugelassen.

II	Mikroorganismen im Unterricht	
Viren		

Virenstämme	DSM-Nr.	Eigenschaften
Bakteriophagen z. B. von Escherichia coli		Bakteriolyse
T ₄ -Phagen	4505	Bakteriolyse
T ₃ -Phagen		Bakteriolyse

Größenvergleiche

Menschenhaar ($d = 0,05 \text{ mm} = 50 \mu\text{m}$)



Brächte man das Bakterium Escherichia coli ($1 \mu\text{m}$) auf die Größe eines Menschen ($1,8 \text{ m}$), so müsste der Mensch vergleichsweise eine Größe von 3240 km annehmen.

III	Ausstattung	
Geräte und Chemikalien		

Geräte und Chemikalien für das Arbeiten mit Mikroorganismen

1. Geräte:

Pertrischalen aus Glas oder Kunststoff (Einmalpetrischalen)
 bakteriologische Reagenzgläser (mit Deckel aus Metall oder Schraubverschluss)
 Erlenmeyerkolben, 250 ml, 500 ml, 1000 ml
 Bechergläser, 250 ml
 Standzylinder mit Schliff, 500 ml (event. 1000 ml)
 Brenner (oder Alkoholbrenner)
 Dampftopf
 Brutschrank
 Objektträger
 Deckgläser
 Objektträger mit Hohlschliff
 Impfösen
 Impfnadeln
 Spatel
 Drigalskispatel (auch selbst herstellbar aus einem Glasstab)
 Pinzette
 Pipette
 Pipettierhilfe (kein **Peleusball**, sondern Kolbenpipettierhilfe aus Plastik)
 Watte

Weitere Geräte, die aber für eine Grundausrüstung nicht unbedingt notwendig sind.

Wasserbad
 Laborwaage
 Kühlschrank
 Rührer
 Schüttler
 Tischzentrifuge (mind. 5000 Umdr. pro Min.)
 UV-Lampe
 pH-Meter
 Photometer
 Steriltunnel

2. Chemikalien:

Ethanol (70 Vol %) oder Isopropanol (70 Vol %)
 Desinfektionsmittel z. B. Sakrotanlösung
 Agar-Agar-Pulver
 Fleischextrakt (als Paste oder Pulver)
 Pepton
 Verschiedene Agarsorten (siehe Versuchsbeschreibungen)

III	Ausstattung	
Geräte und Chemikalien (Fortsetzung)		

Anmerkung zum Agar: Die verschiedenen Agarsorten können zum Teil als Fertig-Nähragar, der direkt einsetzbar ist (siehe Standard I Nähragar von Merck), gekauft werden oder als Pulver, das dann angerührt und aufgekocht werden muss. Einige Agarsorten können über den Lehrmittelhandel bezogen werden. Die meisten anderen Agarsorten sind z.B. bei der Firma Merck (siehe Anhang) direkt oder über den Chemikaliengroßhandel zu beziehen.

Natriumchlorid (Kochsalz)
verd. Natronlauge
konz. und verd. Salzsäure
Indikatorpapier (pH 5-9)
Aqua dest.
Methylenblau-Lösung
Karbofuchsin (N. Ziehl-Neelsen)
Gentianaviolett
verschiedene Zucker
„Bunte Reihe“ nach La Roche.

Aufgeführt sind hier nur die wichtigsten Chemikalien. Weitere Chemikalien sind bei den einzelnen Versuchsbeschreibungen aufgeführt.

IV	Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken	
Steriles Arbeiten		

- Gefäße mit Medium nur in unmittelbarer Nähe der Brennerflamme öffnen.
- Gefäße mit Medium nach dem Öffnen kurz abflammen, ebenso vor dem Verschließen.
- Nur sterile Pipetten verwenden.
- Pipetten, welche die Arbeitsfläche berührt haben, sind nicht mehr steril.
- Pipettenspitze nach Gebrauch kurz abflammen und in ein Gefäß mit Desinfektionslösung stellen.
- Eppendorfgefäße dürfen nur am Rand angefaßt werden, nicht an der Deckelinnenseite.
- Drigalskispatel oder Glasspatel, mit denen Bakterien ausplattiert wurden, in Ethanol tauchen und anschließend abflammen. Somit sind sie wieder steril.
- Impfösen immer vor und nach dem Arbeiten mit Bakterien ausglühen. Bevor Sie mit der Impföse in eine Bakteriensuspension oder Bakterienkolonie eintauchen, die heiße Impföse in den Agar am Rand der Petrischale zum Abkühlen eintauchen. Zu heiße Impfösen töten die Bakterien ab.
- Beimpfte Petrischalen am Rand mit hitzebeständigem Klebematerial (Parafilm oder Tesaband) verschließen.

IV	Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken	
Herstellung von Agarplatten		

Materialien: Petrischalen aus Kunststoff
oder Glas
Handtuch
Thermometer
steriler Agar

Vorbereitung:

- a) Sterilen Nähragar verflüssigen und auf 60 - 70 °C abkühlen
- b) Sterile Petrischalen auf die Tischkante aufreihen
- c) Um den Hals des Erlenmeyerkolbens legt man einen Handtuchstreifen, damit man sich beim Ausgießen die Hände nicht verbrennt.



Durchführung:

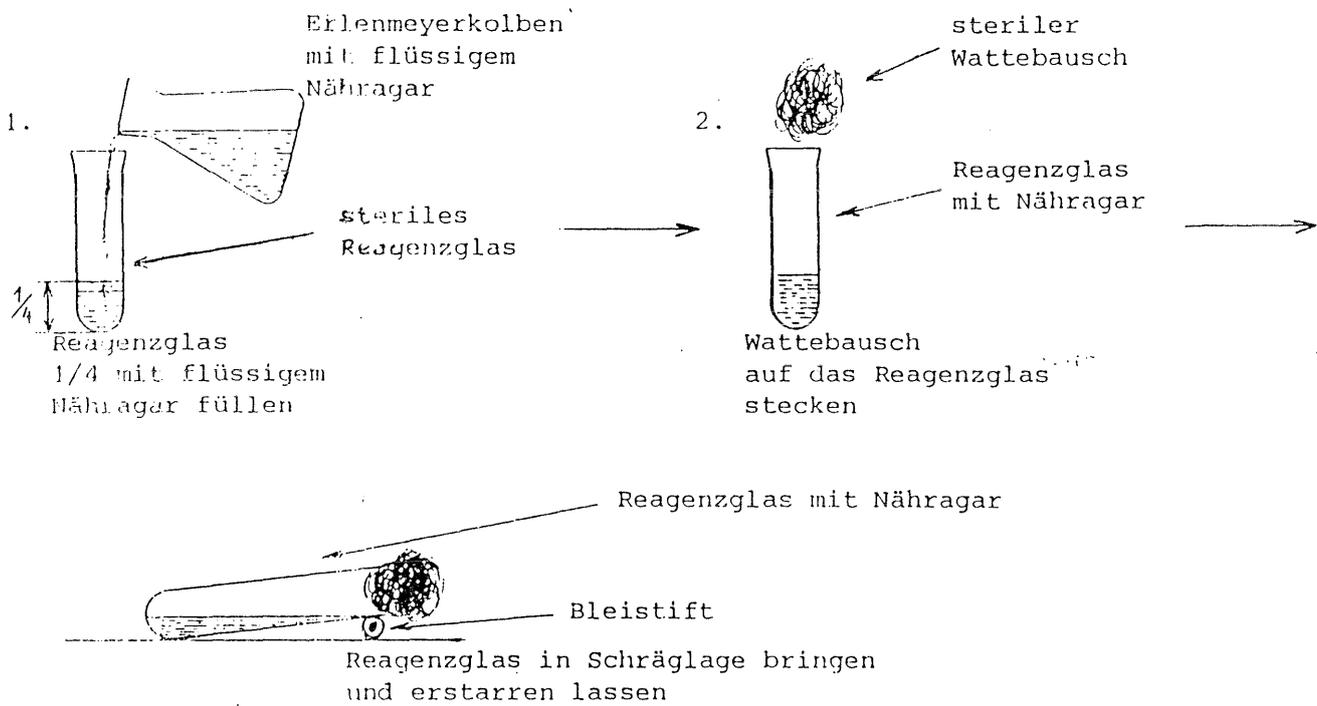
1. Mit der linken Hand hebt man den Deckel der Schale.
2. Mit der rechten Hand wird der flüssige Agar in die Petrischale gegossen, bis der Schalenboden gleichmäßig mit ca. 3 mm Flüssigkeit bedeckt ist.
3. Nach jedem Füllen der Schale Deckel sofort verschließen.
4. Agar in der Petrischale erstarren lassen.
5. Nach dem Erstarren bewahrt man die Platten umgekehrt auf (sonst Kondenswasserbildung).

IV	Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken	
Herstellung von Schrägagar und Beimpfung		

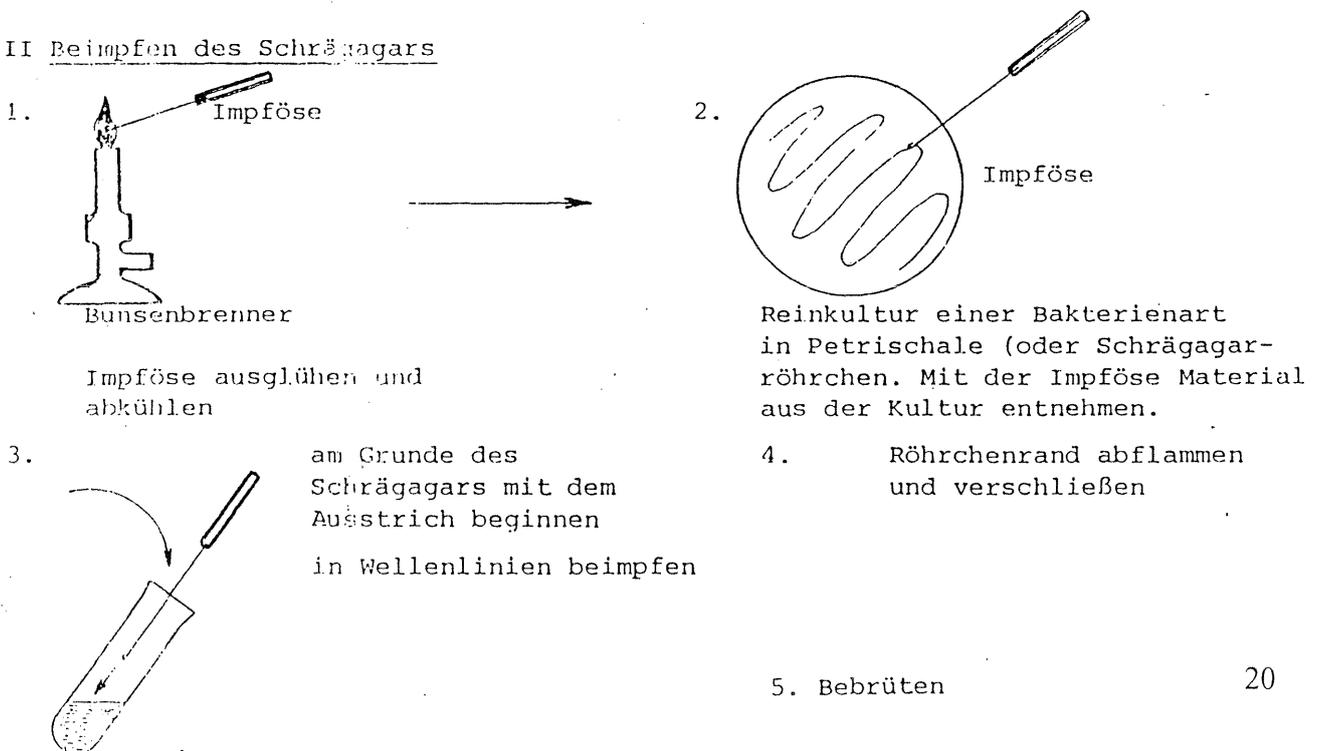
Materialien: Reagenzglas aus Glas
 Bleistift
 Impfnadel
 Bunsenbrenner
 Erlenmeyerkolben
 Nähragar
 Watte

Durchführung:

I Herstellung des Schrägagars



II Beimpfen des Schrägagars



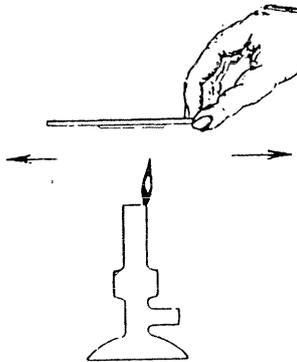
IV	Grundlagen mikrobiologischer Arbeitstechniken	
Fixierungsmethode		

Materialien: Deckglas mit angetrockneten Bakterien (aus Ausstrich)

Bunsenbrenner mit Sparflamme

Durchführung:

Mit der Schichtseite nach unten
3 x durch die Sparflamme des
Bunsenbrenners ziehen.



Lehrerinformation: (zugleich Schülerinformation)

Weshalb fixiert man eigentlich?

1. Durch das Fixieren werden Bakterien an der Glasfläche festgehalten.
2. Die Bakterien werden abgetötet unter weitgehender Erhaltung ihrer Struktur.

Hinweis:

Es kann auch mit der Schichtseite nach oben fixiert werden. Dann mußs man allerdings mindestens 10 mal den Objektträger durch die Flamme ziehen.

V	Mikrobiologische Versuche	KI. 9-12
Versuch 1: Plaques-Bildung durch Bakteriophagen		

Grundlagen: Wenn der Infektionszyklus eines Bakteriophagen im Wirtsbakterium schnell und vollständig abläuft, handelt es sich um einen **lytischen Zyklus**. Durch Auflösen (Lyse) der Bakterien werden die in ihnen massenhaft vermehrten Phagen freigesetzt. Wird die Bakteriensuspension unmittelbar nach dem Zusetzen von Phagen auf Agar ausplattiert, ist die Lyse der Bakterien in Form von **Plaques** auf dem Bakterienrasen sichtbar. Jeder Plaque ist eine klare Zone. Sie entsteht, weil infizierte Bakterien sich auflösen und die dabei freigesetzten Phagen benachbarte Bakterien infizieren, die dann wiederum lysieren.

Materialien: Alufolie, z.T. sterile Pipetten, Brenner, Dampftopf, Drigalski-Spatel, Eppendorfgefäße + Ständer, 1x 100-mL- u. 2x 750-mL-Erlenmeyerkolben, Filzstift, Impföse, Petrischalen (Ø = 90 mm), Trockenschrank, Waage, 37 °C-Wasserbad.

Demineralisiertes Wasser, Nähragar (Fluka 70148), Nährbouillon (Fluka 70123), Desinfektionsmittel. E.coli (DSM 613), Phage T4-Aktivkultur (DSM 4505).

Durchführung:

1. Tag: Übernachtskultur (ÜK) von E.coli ansetzen und Agarplatten gießen:

Vorbereiten (für 10 Gruppen):

- (1) 50 mL Nährbouillon nach den Angaben des Herstellers zubereiten.
- (2) 1 L Nähragar nach den Angaben des Herstellers zubereiten.

Sterilisieren:

- (1) und (2) im Schnellkochtopf (115 °C, 30 min) oder im Dampfdrucktopf = Autoklav (121 °C, 20 min) sterilisieren.

Weitere Arbeiten:

- (3) Mit sterilisiertem Nähragar 4-5 Agarplatten gießen.
- (4) DSM-Röhrchen öffnen (siehe [1] Bayrhuber/Lucius Bd.3, 20/21) und das darin befindliche E.coli-Pellet in den Erlenmeyerkolben (1) mit abgekühlter, steriler Nährbouillon überführen.
Pellet ca. 20 min lang quellen lassen. Danach den Inhalt dieses Erlenmeyerkolbens gut mischen und im Trockenschrank bei 30-37 °C, 12-14 h lang inkubieren (bebrüten)
---> ÜK.

2. Tag: Infektion von E.coli mit Bakteriophagen und Anlegen der Plattenkulturen:

(5) Infektionsansätze herstellen:

Eppendorf-Gefäß Nr.	E.coli-Übernachtskultur	T4-Lysat *
1	0,5 mL o. weniger	- (Kontrolle)
2	0,5 mL	1 Impfösen-Portion
3	0,5 mL	1 Tropfen
4	0,5 mL	2 Tropfen

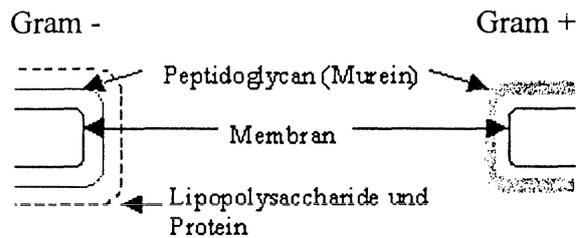
- (6) Zur Adhäsion der Phagen an die Wirtszellen werden die Ansätze 1-4 für 20 min bei 37 °C inkubiert (Wasserbad oder Trockenschrank).
- (7) Mit steriler Pipette jeweils 1 Tropfen der Ansätze 1-4 auf beschriftete Agarplatten übertragen und ausplattieren ---> Inkubation bei 30-37 °C, 1-2 Tage.

* Hinweis: Für Unterrichtszwecke kann das T4-Lysat mit sterilem Aqua dest. bis zum Volumenverhältnis 1 : 10 verdünnt werden.

V	Mikrobiologische Versuche	Kl. 9 - 10
Versuch 2: Gramfärbung		

Grundlagen:

Die von dem Arzt Christian Gram 1884 entwickelte Färbemethode hat eine große Bedeutung in der Bakteriensystematik. Gram-positive Bakterien haben ein besonders dickes Mureinnetz in der Zellwand, was die Farblackabgabe beim Entfärben verhindert. Gram-positive Bakterien erscheinen violett-schwarz; gram-negative hellrot.



Der eigentlichen Gramfärbung geht eine Hitzefixierung voraus.

I. Hitzefixierung

Materialien:

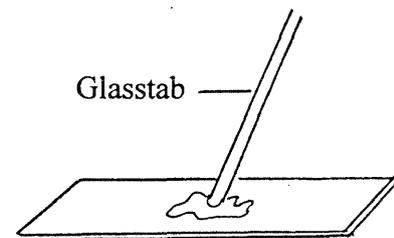
- Brenner
- Objektträger mit Deckglas
- Tropfpipette
- Pinzette
- Glasstab

Durchführung

a. Entfetten des Objektträgers (z.B. mit Alkohol)

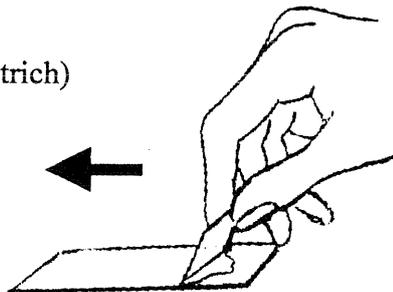
b. Aufbringen der Bakteriensuspension (1 kleiner Tropfen) auf einen Objektträger mit einem Glasstab.

Alternativ: Aufbringen von wenig Zellmaterial aus einer Agarkultur, das mit einem Glasstab in einem Tropfen Leitungswasser suspendiert wird.



c. Gleichmäßiges Verteilen der Suspension mit einem Deckglas oder Objektträger (Ausstrich)

Ausstrich an Luft trocknen lassen!



d. Fixieren: Bakterien mit Schichtseite nach unten dreimal kurz durch die kleine Brennerflamme ziehen.

V	Mikrobiologische Versuche	
Versuch 2: Gramfärbung (Fortsetzung)		

II. Gramfärbung

Materialien:

- Hitzefixierte Bakterien
- Färbewanne oder Papiertücher
- Spiritus
- LUGOLsche Lösung
- Gram's Carbol-Gentianaviolettlösung (Kristallviolettlösung)
- Gram's Safraninlösung
- Immersionsöl
- Mikroskop
- Tropfpipetten

Durchführung:

a. Färben

Auftragen von 1-2 Tropfen Kristallviolettlösung.
3 Minuten einwirken lassen.

b. Beizen

Farblösung nicht abspülen, sondern abgießen
Zwei- bis dreimal mit LUGOLscher Lösung nachspülen (Tropfpipette)
Dann LUGOLsche Lösung 2 Minuten einwirken lassen
Abgießen; nicht mit Wasser spülen

c. Entfärben

Auf schräg gehaltenem Objektträger mit Spiritus spülen (Tropfpipette) bis keine Farbwolken mehr sichtbar sind (nur wenige Sekunden).
Unterseite des Objektträgers mit Papiertuch reinigen.

d. Gegenfärbung

2 - 3 Tropfen Safraninlösung auftragen. Nach 5 Minuten die Safraninlösung abgießen.
Erst mit Leitungswasser; dann mit Aqua dest. spülen.

Präparat an Luft trocknen lassen !

e. Mikroskopieren

Ölimmersion ohne Deckglas !

Literatur:

H.Bayrhuber/E. Lucius, Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik Bd.1
Schroedel Verlag 1997

V	Mikrobiologische Versuche	
Versuch 2a: Schnelltest auf Gram-positive und Gram-negative Mikroorganismen		

Bactident[®] Aminopeptidase

Inhalt: 50 Teststäbchen

Verwendung: Zum Nachweis der L-Alanin-Aminopeptidase in Mikroorganismen.

Zusammensetzung: Die Reaktionszone eines Teststreifens enthält:
L-Alanin-4-nitroanilid 0,5 µmol;
Puffersubstanzen

Prinzip: Die L-Alanin-Aminopeptidase ist ein in der Bakterien-Zellhülle lokalisiertes Enzym, das in relevanter Aktivität praktisch nur bei Gram-negativen Mikroorganismen gefunden wurde. Dieses Enzym spaltet die Aminosäure L-Alanin aus unterschiedlichen Substraten ab. Bei den vorliegenden Teststäbchen wird das Substrat L-Alanin-4-nitroanilid bei Anwesenheit von Alanin-Aminopeptidase in 4-Nitroanilin und die Aminosäure L-Alanin gespalten. Aufgrund der Gelbfärbung durch das 4-Nitroanilin wird die Anwesenheit der L-Alanin-Aminopeptidase nachgewiesen. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen besteht eine sehr gute Korrelation zwischen Aminopeptidase-Reaktion und dem Gram-Verhalten der Mikroorganismen.

Anwendung: Eine gut gewachsene Einzelkolonie (ca. 2 mm Ø) wird in 0,2 ml dest. Wasser zu einer deutlichen Opaleszenz suspendiert.

Anmerkung: Für den Aminopeptidase-Test sollten nur Bakterienkolonien ohne starke Eigenfarbe verwendet werden. Es wird empfohlen, immer einen Kontrolltest mit einem Aminopeptidase-positiven Keim (z.B. *E. coli*) und einem Aminopeptidase-negativen Keim (z.B. *Staphylococcus aureus*) mit durchzuführen.

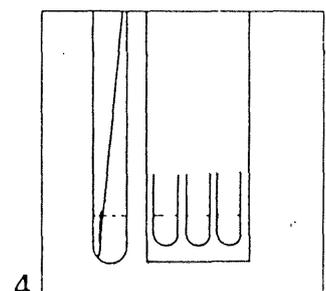
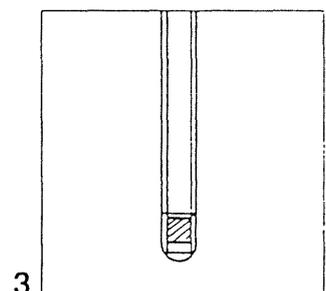
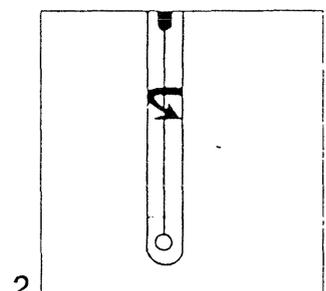
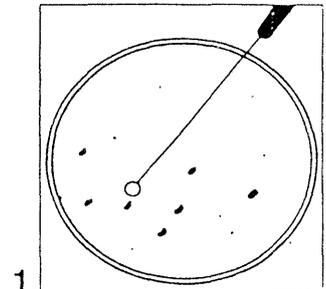
Haltbarkeit: siehe Verfalldatum
Nur die dem jeweiligen Bedarf entsprechende Stäbchenmenge entnehmen! Reaktionszonen der Teststäbchen nicht berühren! Behälter sofort wieder fest verschließen. Bitte die aufgedruckte Lagertemperatur beachten.

Unschädliche Beseitigung: Das Teststäbchen ist nach Gebrauch wie bakterienhaltiges Material unschädlich zu beseitigen. Das kann durch Verbrennen, Autoklavieren oder Einlegen in eine 5- bis 6%ige Desinfektionsmittellösung – mindestens 6 Stunden – geschehen.

Durchführung

1. Mit der Impföse einzel- liegende, gut gewachsene Kolonie dem Nährboden entnehmen (Bild 1).
2. Bakterienmasse in kleinem Reagenzröhrchen in 0,2 ml destilliertem Wasser gut suspendieren (Bild 2).
3. Aminopeptidase-Teststäbchen so in das Reagenzröhrchen einbringen, daß die Reaktionszone völlig in die Bakterien-Suspension eintaucht (Bild 3).
4. Inkubation des Reagenzröhrchens im Wasserbad (oder Brutschrank) bei 37°C über 10 bis max. 30 min*.
5. Ablesen der Reaktion durch Vergleich mit der Farbskala (Bild 4).

- * Bei den meisten Aminopeptidase-positiven Mikroorganismen ist schon nach 10 min eine deutliche Gelbfärbung der Bakterien-Suspension festzustellen; tritt nach dieser Zeit eine Gelbfärbung nicht ein, so sollte die Inkubationszeit auf max. 30 min verlängert werden, um auch schwach Aminopeptidase-positive Stämme zu erkennen bzw. die Abwesenheit Gram-negativer Mikroorganismen abzusichern (Ausnahmen s.u.).



Aminopeptidase-positive Stämme*
alle Gram-negativen Mikroorganismen
Bei L-Alanin-Aminopeptidase-positiven Keimen färbt sich die Bakterien-Suspension gelb.
Ausnahmen: *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter*-Spezies, *Veillonella parvula*

Aminopeptidase-negative Stämme*
alle Gram-positiven Mikroorganismen
* nach den bisher vorliegenden umfangreichen Untersuchungen.

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, Tel. (0 61 51) 7 20

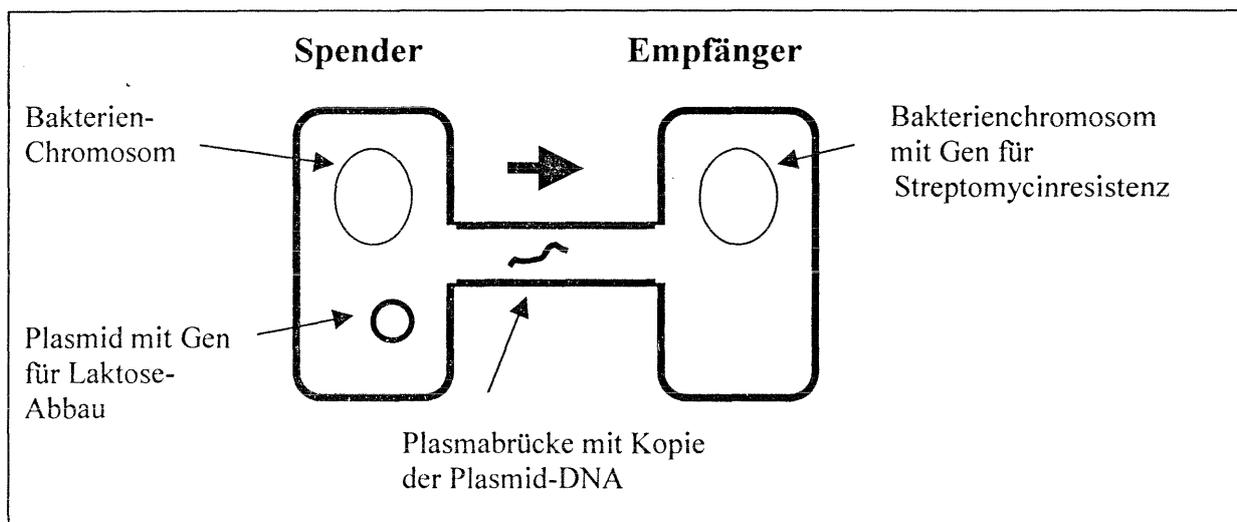
Diagnostica

MERCK

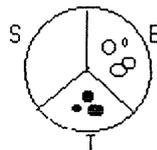
V	Mikrobiologische Versuche	Kl. 9-12
Versuch 3: Genübertragung durch bakterielle Konjugation		

Grundlagen:

Über Plasmabrücken können Bakterien Gene austauschen. Der **Spender** *Escherichia coli* K12 L17 hat die Fähigkeit, Laktose zu Milchsäure abzubauen. Auf MacConkey-Agar bildet er rote Kolonien. Gegenüber dem Antibiotikum Streptomycin ist er jedoch empfindlich. Daher kann er auf streptomycinhaltigem MacConkey-Agar nicht wachsen. Der **Empfänger** *Escherichia coli* K12 CSH 36 ist gegenüber Streptomycin resistent; kann jedoch Laktose nicht abbauen. Er bildet weiße Kolonien



Der gebildete **Transkonjugant** ist nun streptomycinunempfindlich und kann Laktose abbauen. Dieser wächst also auf streptomycinhaltigem Agar und zeigt den Laktoseabbau zu Milchsäure durch Rotfärbung des Indikators in den Kolonien.



Material:

- Kulturen des Spenders (*Escherichia coli* K12 CSH36, DSM 6253) und des Empfängers (*Escherichia coli* K12 L17, DSM 6254).
- Standard-Nährbouillon (enthält 5,0 g Pepton, 3,0 g Fleischextrakt, 15 g NaCl auf 1000 ml Aqua dest.)
- MacConkey-Agar mit Streptomycinzusatz (10 g MacConkey-Agar (Merck 105465) auf 200 ml Aqua dest.). Kurz vor dem Abkühlen auf ca. 50 °C wird dem Agar eine Lösung von 40 mg Streptomycinsulfat (Sigma 6501) in 2 ml sterilem Aqua dest. zugegeben)
- Sterile Petrischalen (d = 90 mm, für ca. 15 – 20 ml Agar)
- Impföse oder sterile Wattestäbchen
- 3 sterile Pipetten (10 ml, 2ml, 2ml) mit Pipettierhilfen
- sterile Erlenmeyerkolben (1 x 300 ml, 3 x 50 ml) mit Alu-Abdeckung
- Brutschrank
- Wasserfester Filzschreiber

V	Mikrobiologische Versuche	
Versuch 3: Genübertragung durch bakterielle Konjugation (Forts.)		

Durchführung

1. Tag (ca. 45 min)

1. Herstellen von 200 ml sterilen Nährbouillon (andere Erlenmeyerkolben gleichzeitig sterilisieren)
2. Ansetzen je 5 ml der Übernachtskulturen von Spender- und Empfängerbakterien nach beiliegender DSM-Anweisung. Diese werden bei 37°C über Nacht bebrütet.
3. Petrischalen (eine pro Gruppe) werden mit streptomycinhaltigem McConkey-Agar gefüllt.

2. Tag (ca. 15 min, nach mindestens 3 h Wartezeit: 15 min)

4. Herstellung des Transkonjuganten: In den 50 ml Erlenmeyer-Kolben werden nacheinander pipettiert: 9 ml Nährbouillon, 0,2 ml Übernachtskultur Empfänger und 0,8 ml Übernachtskultur Spender. Dann wird mindestens 3 Stunden bei 37°C bebrütet.
5. Die Petrischale wird auf der Unterseite gleichmäßig in drei Sektoren unterteilt und die Sektoren markiert (Spender, Empfänger, Transkonjugant)
6. Jeder Sektor wird mittels Impföse oder Wattestäbchen mit dem jeweiligen Bakterienstamm beimpft.
7. Bebrütung bei 37 °C (eine Nacht)

3. Tag (ca. 15 min)

8. Auswertung

Tip:

- Frische Spender-Stämme verwenden; ältere verlieren gern ihr Plasmid
- Beimpfte Agarplatten nicht länger als eine Nacht bebrüten oder vor dem Bebrüten maximal eine Woche im Kühlschrank aufbewahren, da die Empfängerstämme mit der Zeit sich auch rot färben können.

Literatur:

H.Bayrhuber/E. Lucius, Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik Bd.2 Schroedel Verlag 1997

M. Müller: Zwei Versuche mit natürlichem Gentransfer: PdN-Ch. 4/47. Jg. 1998, 19 - 20

V	Mikrobiologische Versuche	Kl. 9-11
Versuch 4: Keimzahlbestimmung in Milch oder Milchprodukten		

Grundlagen: Das Lebensmittelgesetz deklariert Milch ausschließlich als das Produkt von Kühen. Milch besteht u.a. aus einer wässrigen Lösung von Eiweißen, Salzen und Zuckern, in der Fetttröpfchen emulgiert sind. Sie ist ein ausgezeichneter Nährboden für Mikroorganismen. Im Euter gesunder Tiere ist die Milch keimfrei. Beim Melkvorgang wird die Milch bei der Passage des Strichkanals mit Mikroorganismen verunreinigt. Dabei gelangen, auch bei eutergesunden Tieren, 10^2 - 10^3 Keime/mL in die Milch. Es handelt sich vorwiegend um grampositive Milchsäurebakterien: Mikrokokken, Streptokokken und Korynebakterien. Maschinengemolkene Milch enthält 10^3 - 10^4 Keime/mL, wobei das Verhältnis der Säurebildner (vorwiegend Milchsäurebakterien) zu den Nichtsäurebildnern (Schmutzbakterien) bei 1:1 bis 1:3 liegen kann.[1]

Rohmilch (= unbehandelte Milch) wird in warmer Umgebung (20 bis 30 °C) nach ca. 10 Stunden bei $> 10^6$ Keimen/mL sauer. Dabei vermehren sich hauptsächlich die Milchsäurebakterien, da sie zu den wenigen Mikroorganismen gehören, die Milchzucker (= Lactose) abbauen können. Durch die dabei freigesetzte Milchsäure gerinnt die Milch. Der im Agar enthaltene pH-Indikator Chinablau zeigt Milchsäure bzw. Milchsäurebakterien durch einen Farbumschlag von farblos nach blau an. Die milchverarbeitende Industrie setzt zur Herstellung von Milchprodukten spezielle Starterkulturen ein, z.B. für Sauermilch Kulturen von *Lactobacillus acidophilus*.

Zur Keimzahlbestimmung von Milch oder eines Milchproduktes wird eine Verdünnungsreihe nach einem vereinfachten Verfahren angelegt. Als Verdünnungsmittel dient sterile Ringerlösung, ihre Ionenzusammensetzung wird von allen Mikroorganismen toleriert. Nach der Bebrütung eignen sich nur die Agarplatten mit 30 - 200 Kolonien zur Auswertung. Bei der Berechnung der Keimzahl müssen der Verdünnungsfaktor und das Tropfenvolumen der benutzten Pipette berücksichtigt werden. [2]

Materialien: Alufolie, Autoklav o. Schnellkochtopf, Brenner, Drigalski-Spatel, 200-mL- und 300-mL-Erlenmeyerkolben, Filzstift, 10-mL-Messzylinder, Petrischalen ($\varnothing = 90$ mm), kurze Reagenzgläser oder Zentrifugengläser, Reagenzglasständer, Trockenschrank, Tropfpipetten mit Gummihütchen, Waage.

Demineralisiertes Wasser, Chinablau-Lactose-Agar (Fluka 22520), Desinfektionsmittel, Ringer-tabletten (Merck 15525), Spiritus.

Milchprobe: Rohmilch o. Vollmilch. o. Sauermilch, etc.

Durchführung:

1. Tag: Vorbereiten:

- (1) 100 mL Ringerlösung in 200 mL-Erlenmeyerkolben, mit Alufolie verschließen.
- (2) 200 mL Chinablau-Lactose-Agar nach den Angaben des Herstellers
- (3) 2 Gummihütchen einzeln in Alufolie einwickeln (davon 1x Ersatz).
- (4) 2 Tropfpipetten einzeln in Alufolie einwickeln (davon 1x Ersatz).
- (5) 8 kurze Reagenzgläser (RG) mit Kappe aus Alufolie verschließen (davon 1x Ersatz).

Sterilisieren:

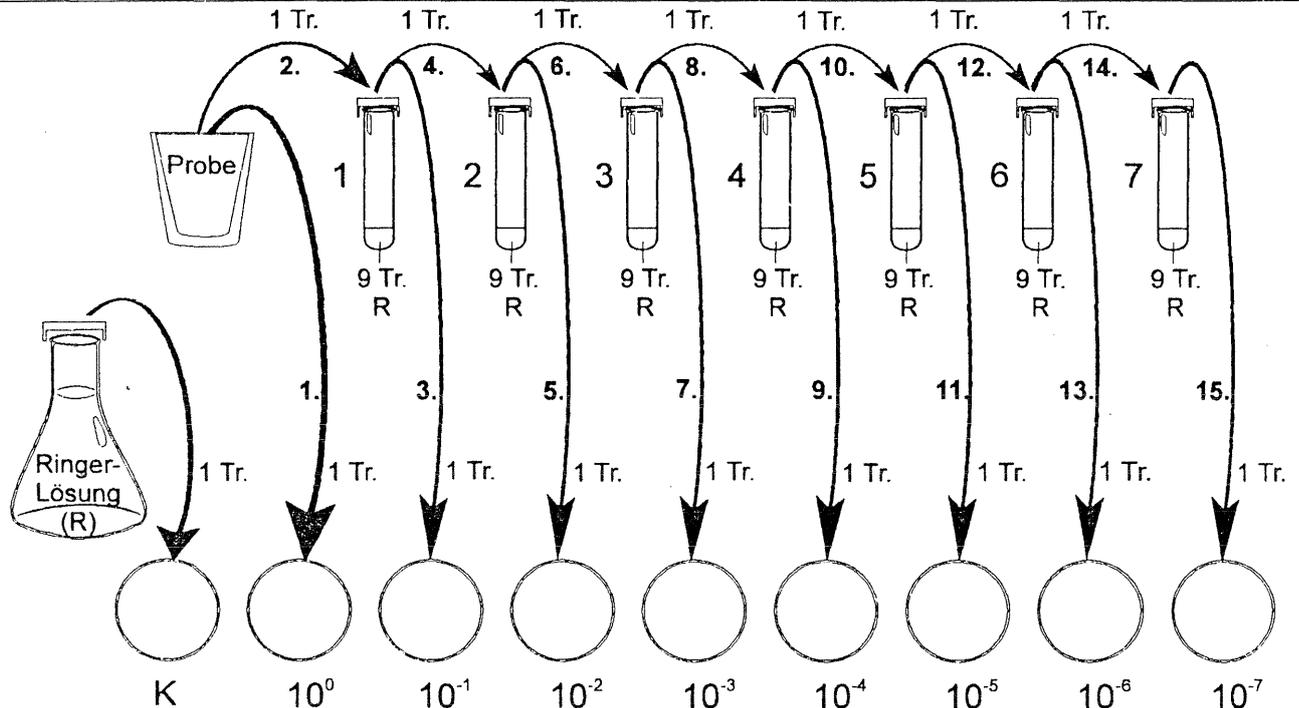
- (1) bis (3) im Schnellkochtopf (115 °C, 30 min) oder im Dampfdrucktopf = Autoklav (121°C, 20 min).
- (4) und (5) im Trockenschrank (180 °C, 30 min).

Weitere Arbeiten:

- (6) Mit sterilisiertem Agar 9-10 Platten gießen.

Nach dem Erstarren des Agars Unterseite entsprechend der Skizze beschriften.

V	Mikrobiologische Versuche	KI. 9-11
Versuch 4: Keimzahlbestimmung in Milch oder Milchprodukten (Fortsetzung)		



2. Tag: Verdünnungsreihe erstellen und Plattenkulturen anlegen (siehe Skizze):

- (7) Mit der sterilen Tropfpipette werden 1 Tropfen sterile Ringerlösung auf die Agarplatte K (= Kontrolle) und jeweils 9 Tropfen in die Reagenzgläser RG 1-7 übertragen.
- (8) Mit derselben Tropfpipette werden alle Pipettierarbeiten mit der Milchprobe, z.B. Sauermilch, ausgeführt (siehe Skizze, 1.-15.):
- Je 1 Tropfen Milchprobe auf die Agarplatte 10^0 und ins RG 1 übertragen.
 - Inhalt von RG 1 mit der Pipette mischen und davon je 1 Tropfen auf die Agarplatte 10^{-1} und ins RG 2 übertragen.
 - Inhalt von RG 2 mit der Pipette mischen und davon je 1 Tropfen auf
- (9) Die Flüssigkeitstropfen aller Agarplatten jeweils mit einem zuvor in Spiritus getauchten, dann abgeflamten und wieder abgekühlten Drigalskispatel gleichmäßig verteilen.

Tropfenvolumen der benutzten Tropfpipette bestimmen:

In den 10-mL-Messzylinder wird mit der benutzten Tropfpipette so viel Leitungswasser getropft (Tropfen zählen!) bis die 2-mL-Marke erreicht ist.

Bsp.: Man benötigt dazu 55 Tropfen Leitungswasser.

$$\text{---> Tropfenvolumen } V(\text{Tr.}) = 2 \text{ mL} : 55 \text{ Tr.} = \underline{0,036 \text{ mL}}$$

Agarplatten bebrüten:

(10) Nach dem Einziehen der ausgestrichenen Flüssigkeit in den Agar werden die Platten umgedreht (Deckel unten) in den Trockenschrank gelegt und bei 30 °C, 24 h lang oder länger bebrütet.

3. Tag: Auswertung: Die Kolonien werden ausgezählt und die Keimzahl berechnet.

Bsp.: Auf der Agarplatte " 10^{-3} " werden 57 Kolonien gezählt, das Tropfenvolumen beträgt 0,036 mL.

$$\text{---> Keimzahl } N = \frac{\text{Kolonienzahl} \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Tropfenvolumen}} = \frac{57 \text{ Keime} \cdot 1000}{0,036 \text{ mL}} \approx 1600000 \frac{\text{Keime}}{\text{mL}}$$

- Lit.: [1] W.Gruber, S.Klautke: Milch u.Milchprodukte, UB 170/15.Jg.,12(1991),4-13
 [2] H.Bayrhuber, E.R.Lucius (Hrsg.): Handbuch d.praktischen Mikrobiologie u.Biotechnik, Bd.1, Metzler 1992, 92-94

V	Mikrobiologische Versuche	Kl. 9-12
Versuch 5: Tumorinduzierung bei Pflanzen		

Einführung

Für die Land- und Forstwirtschaft sowie für den Gartenbau sind pflanzliche Tumore mit Schädigung von Pflanzen schon seit vielen Jahrzehnten ein ernst zu nehmendes Problem. Dabei handelt es sich meist um einen Bakterienbefall, der nach winzigen Verletzungen an den Pflanzen auftreten kann. Die Verletzungen kommen durch Frostschäden oder mechanische Verletzungen bei der Bodenbearbeitung zustande.

Erst um 1900 erkannte man, dass bestimmte Tumore immer in Verbindung mit einer bakteriellen Infektion einhergehen. Die in die Pflanze eingedrungenen Bakterien wurden Agrobacterium tumefaciens genannt (von lateinisch *ager* ~ Boden, *tumor* ~ Anschwellung und *facere* ~ machen).

Das Agrobacterium ist stäbchenförmig und ca. 1-3 mm lang. Es lebt aerob in der Wurzelzone und greift nur zweikeimblättrige Pflanzen an .

Wirkung auf Pflanzen

Agrobacterium tumefaciens kann nur über Wunden in die Pflanzen eindringen, intakte Zellwände kann es nicht überwinden. Bei einer Infektion heftet sich das Bakterium nur an die defekte Zellwand und schleust sein Ti-Plasmid (Ti steht für **T**umor **i**nduzierend), also ein Teil eines zusätzlichen DNA-Ringes, in das genetische Material des Zellkerns der infizierten Pflanzenzelle ein und veranlasst somit die Wucherungen. Das Ti-Plasmid enthält auch Gene, welche die Produktion der Argininderivate Octopin und Nopalin durch die Pflanze bewirken. Beide Stoffe dienen den Bakterien zu einem optimalen Wachstum, sie ermöglichen aber auch die Identifikation von Agrobacterium.

Versuchsdurchführung

Materialien: Kalanchoe (Bryophyllum) ca. 3-4 Monate alt, steriles Wasser, Impfnadel, Impföse, Ethanol, $\sigma(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 70\%$, Bunsenbrenner, wasserfester Filzstift, Agrobacterium tumefaciens-Kultur auf Nähragar.

Versuch 1: Eine Pflanze als Nr.1 kennzeichnen. Die Impfnadel in Ethanol tauchen und im Bunsenbrenner kurz abflammen, damit das Ethanol abbrennt. Stiel oder Blattoberfläche der Pflanze 1 mit der Impfnadel ein- oder mehrmals einritzen. Impfnadel kurz abflammen. Impföse abflammen und abkühlen, dann von der weißlichen Bakterienkultur auf dem Nährboden eine kleine Menge Bakterien aufnehmen und über der Wunde ausstreichen. Anschließend die Impföse erneut abflammen.

Versuch 2: Pflanze Nr.2 mit einem weichem Filzstift an einer kleinen Stelle am Stiel oder Blatt durch Umrandung markieren ohne dabei das Pflanzengewebe zu verletzen. Impföse abflammen und abkühlen. Wieder eine kleine Menge von der weißlichen Bakterienkultur mit der Impföse aufnehmen und innerhalb der Markierung so ausstreichen, daß die Pflanze unbeschädigt bleibt. Impföse wieder abflammen.

Versuchsbeobachtungen

Während 4-6 Wochen die beiden Pflanzen mindestens dreimal in der Woche beobachten. An Pflanze 1 sollte sich ein Tumor bilden.

V	Mikrobiologische Versuche	KI. 9-12
Versuch 5: Tumorinduzierung bei Pflanzen (Fortsetzung)		

Versuch 3: Nach 6 Wochen wird das Tumorgewebe im Binokular untersucht; ebenso die nicht infizierte Vergleichspflanze.

Materialien: Tumorinfizierte Pflanze, Vergleichspflanze, Rasierklinge, Pinzette, Binokular, Ethanol, $\sigma(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 70\%$, Bunsenbrenner, Petrischale.

Durchführung: Rasierklinge und Pinzette in Ethanol tauchen und kurz abflammen. Vorsichtig ein kleines Stück tumorhaltiges Gewebe mit der Rasierklinge abschneiden und mit der Pinzette auf die Petrischale legen. Rasierklinge und Pinzette wieder im Bunsenbrenner abflammen. Das Tumorgewebe unter dem Binokular ansehen. Von der Vergleichspflanze ebenfalls ein Gewebestück abschneiden und im Binokular anschauen.

Beobachtung: Bei der gesunden Pflanze sieht man einen glatten Stiel mit regelmäßiger Zellanordnung. Bei der tumorinfizierten Pflanze beobachtet man verdicktes, unregelmäßig wachsendes Gewebe.

Besondere Hinweise:

1. Agrobakterium tumefaciens erhält man bei der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1B, 38124 Braunschweig) unter der Nummer DSM-Nr. 30205. Wenn mit diesem natürlichem Wildstamm gearbeitet wird, sind die entsprechenden Versuche ungefährlich.
2. Nach dem Versuch muss die infizierte Pflanze und alles abgeschnittene Gewebe ordnungsgemäß entsorgt, d.h. im Autoklaven erhitzt werden. Die Bakterienkulturen können etwa sechs Wochen aufbewahrt werden. Spätestens dann müssen sie ebenfalls autoklaviert werden.

Bewertung:

Mit Hilfe von Agrobakterium tumefaciens lässt sich auf einfachem Wege ein natürlicher Gentransfer von Bakterien auf Pflanzen zeigen. Der Versuch stellt somit ein Modell für einen gentechnischen Versuch dar, da die Gentechniker heute das Ti-Plasmid als Genfähre bei der pflanzlichen Genmanipulation nutzen.

Literatur

- [1] H. Bayrhuber und E.R. Lucius, Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik. Metzler Verlag, Hannover, 1992
- [2] D. Heß, Pflanzenphysiologie. UTB Ulmer-Verlag, Stuttgart, 1988
- [3] U. Nellen, EIBE Unit 1 Microorganismen und Moleküle, Kiel 1997
- [4] H.G. Schlegel, Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1981

Diese Versuchsanleitung wurde veröffentlicht in PdN Ch 4/47 unter "Zwei Versuche zur Gentechnik" von M. Müller.

VI	Anhang	
Literaturliste Teil 1		

Allgemeine Mikrobiologie:

- Bast, E. Mikrobiologische Methoden, Urban und Fischer, Stuttgart, Jena 1999
- Bayerhuber, H. Lucius, E. R.: Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnologie
Band 1- 3; Metzler Verlag, Hannover, 1992 und 1997
- Dawid, W.: Experimentelle Mikrobiologie. Quelle und Meyer Verlag, Heidelberg, 1981
- Fritsche, W. Mikrobiologie, Urban und Fischer, Stuttgart, Jena, 1999
- Jagnow, G.; Dawid, W.: Biotechnologie dtv und F. Enke Verlag, Stuttgart, 1985
- Lucius. E.R., und andere: Mikroorganismen und Moleküle, unit 1; EIBE Kiel 1997
- Lucius, E. R., Bayerhuber, H. zur Sicherheit mikrobiologischer Schulversuche an Gymnasien,
IPN, 1997
- Mülhardt, C. Der Experimentator: Mikrobiologie, Urban und Fischer, Stuttgart, Jena, 1999
- Müller, M., Das Arbeiten mit Bakterien im Unterricht, PdN - B, 6/83 S. 194-195
- Müller, M., Biologische Begründung der Sicherheitsrichtlinien für Experimente mit
Mikroorganismen an deutschen Schulen, in: interdisziplinäre Themenbereiche und
Projekte im Biologieunterricht, Sektion Fachdidaktik des VDBiol und EIBE,
Ludwigsfelde 1993
- Müller, M.: Versuche zu Bakterien, Mittelstufe, LEU, BIO 48, Stuttgart 1984
- Müller. M.: Versuche zu Bakterien, Oberstufe, LEU, BIO 47, Stuttgart 1984
- Schlegel, H.: Allgemeine Mikrobiologie, Thieme Verlag, Stuttgart 1981
- Schwarzmaier, W. Bakteriologisches Praktikum, August Hedinger, Stuttgart, 1991
- Staley, J. T., ed., Bergey's Manual of determinative Bacteriology, 3. Aufl. 1989 Williams and
Wilkins Company, Baltimore
- Stüßmuth, R., Eberspächer, J., Haag, R. Springer, W.: Biochemisch-mikrobiologisches
Praktikum, Thieme Verlag, Stuttgart 1987 und 1998

VI	Anhang	
Literaturliste Teil 2		

Gentechnologie:

Alberts, B. und andere: Molekularbiologie der Zelle, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1995

Brown, T.A.: Gentechnologie für Einsteiger, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1995

Buckel, P., Fischer, E. P.; Nord, D.: Das Handwerk der Gentechnik, Serie Piper, München, 1991

Drlica, K., DNA und Genklonierung, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1995

Fischer, E.P., Schleuning, W.-D.: Vom richtigen Umgang mit Genen, Serie Piper, München 1991

Gassen, H. G., Minol, K., Gentechnik, UTB, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1996

Glick, B.R., Pasternak, J., J.: Molekulare Biotechnologie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1995

Gründel, J.: Spannungsfeld: Ethik und Gentechnik, PdN-Ch8/47 Jg. 1998

Haniel, A.: Zwischen Segen und Fluch, PdN-Ch 8/47. Jg. 1998, S.7-12

Harms, U., Schalow, E.K.: Gentechnik und Medikamentenherstellung, PdN-Ch. 88/47.Jg. 1998, S. 13-19

Jendrsczok, S., Lucius, E. R., Rojek, R.: Praktische Immunologie, PdN-Ch. 8/47. Jg. 1998. S. 20-31.

Müller, M.: Gentechnik heute, PdN-Ch. 4/47. Jg. 1998, S 13-18.

Müller, M.: Biotechnologie, was ist das?, PdN-Ch. 4/47.Jg. 1998, S. 6-9.

Old, R. W., Primrose, S. B.,: Gentechnologie- Eine Einführung, Thieme Verlag, Stuttgart, 1992

Watson, D. und andere: Rekombinierte DNA, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1993

Winnacker, E.L., Gene und Klone, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1987

Biologie Klasse 7 – Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Schimmelpilze 77 Nutzen und Gefahren	Mikroskopieren von Schimmelpilzen in Petrislides Bewährtes Präparat: Penicillium roqueforti	Bayrhuber/Lucius I, S. 85 sicheres Anzuchten von Schimmelpilzen ohne der Gefahr, dass Sporen eingeatmet werden können
	Antibiotikumproduktion durch einen Streptomyceten	Bayrhuber/Lucius I, S. 104 Eindrucksvoller, einfacher Versuch zur Wirkung von Streptomycin auf verschiedene Mikroorganismen
Hefe und ihre wirtschaftliche Bedeutung	„Hefeteig geht“	Bayrhuber/Lucius I, S. 132 Ein Teigkloß mit Hefe steigt in Wasser durch die Gasbildung auf
	Hefezopf / Pizzaboden	vgl. allg. Backbücher
	Alkoholische Gärung	z.B. Natura 7/8, Klett-Verlag
	Sauerteig	Bayrhuber/Lucius I, S. 138 Zusammenarbeit zweier Mikroorganismen Modell einer Sukzession
	Herstellung eines Apfelcidres	Bayrhuber/Lucius I, S. 144 einfacher Gärungsversuch

Biologie Klasse 7 – Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Bakterien: Herstellung von Lebensmitteln	Herstellung von Joghurt	Hobbythek, Joghurt Quark & Käse, J. Pütz, vgs-Verlag Köln Bayrhuber/Lucius I, S. 125
	Herstellung von Käse	Hobbythek, Joghurt Quark & Käse, J. Pütz, vgs-Verlag Köln
	Essigproduktion	Bayrhuber/Lucius I, S. 145 Modellversuch
	Herstellung von Sauerkraut	Bayrhuber/Lucius I, S. 128

Biologie Klasse 7 – Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Bakterien Aufbau der Zelle, Vermehrungs- Geschwindigkeit Bakterienkulturen	Ansetzen einer Flüssigkultur	Bayrhuber/Lucius I, S. 56 Grundtechnik
	Anlegen von Plattenkulturen	Bayrhuber/Lucius I, S. 64 zur Aufbewahrung und Isolierung von Mikroorganismen Nachweis von Keimen
	Herstellung fixierter Präparate	Bayrhuber/Lucius I, S. 77 Grundlegende Technik zur Beobachtung von Bakterien. Anfärben mit Methyleneblau
	Herstellung eines Tuschepräparats	Bayrhuber/Lucius I, S. 78 gut für Anfänger, z.B. Bakterien auf Zahnbelag
	Gramfärbung	Bayrhuber/Lucius I, S. 80 Hilfsmittel zur Identifizierung
	Wirkung bakteriostatischer Substanzen	Bayrhuber/Lucius I, S. 106 Müller, LEU, Bio 48
Bakterien als Krankheitserreger	Abklatschversuche Anreicherung von Keimen aus der Luft	Bayrhuber/Lucius I, S. 70 Unbekannte Mikroorganismen! Vorsichtsmaßnahmen!

Biologie Klasse 8 – Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Ökosystem Wald Stoffkreislauf	Celluloseabbau	Zigarettenpapier wird auf Laubwaldstreu oder einfach in Erde gegeben (Petrischale, mit Filterpapier feucht halten)
	Abbau von Stärke durch <i>Bacillus subtilis</i>	Bayrhuber/Lucius II, S. 20
	Abbau von Carboxymethylcellulose (Tapetenkleister)	EIBE, Unit 1 EIBE Sekretariat, IPN Olshausenstr.62, 24118 Kiel
	Buttersäuregärung	M. Müller, LEU, Bio 47 Eindrucksvoller, einfacher Versuch zur Destruententätigkeit
Lebensbedingungen Mischwald	Antibiotikumproduktion durch einen Streptomyceten	Bayrhuber/Lucius I, S. 104 Ausschalten von Konkurrenten Typischer Modergeruch von <i>Streptomyces</i>
Stoffkreislauf Gewässer	Modellkläranlage	Prof. Menzel, Uni Hohenheim (Komplettapparatur Fa. Hedinger) gut funktionierender Versuch
Gewässergüte	Isolierung von Bakteriophagen für <i>Escherichia coli</i> K-12	Bayrhuber/Lucius II, S. 111 Phagenplaques als Hinweis für fäkale Verunreinigungen

Biologie Klassen 9 / 10 - Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Mikrobiologische Arbeitstechniken	Herstellen von Agarplatten und Anlegen von Plattenkulturen	Siehe Scriptum S. 19 Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.64-66
	Ansetzen einer Flüssigkultur	Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.56-60
	Herstellen von Schrägagar und Beimpfung	Siehe Scriptum S. 20; Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.60-62
	Untersuchung des Sauerstoffbedarfs im Stichagarröhrchen	Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.62-64
	Fixierungsmethode	Siehe Scriptum S. 21; Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.77/78
	Gramfärbung	Siehe Scriptum S. 23-24
	Keimzahlbestimmung in Milch oder Milchprodukten (Verdünnungsreihe)	Siehe Scriptum S. 28-29
Fortpflanzung und Entwicklung des Menschen - Infektionen - Resistenzen	Konjugation bei Bakterien	Siehe Scriptum S.26-27
	Plaques-Bildung durch Bakteriophagen	Siehe Scriptum S.22
	Antibiotikumproduktion durch <i>Streptomyces griseus</i>	Bayrhuber/Lucius, Bd.1, S.104-107
Vererbung beim Menschen - Chromosomen als Träger der Erbinformation	Konjugation bei Bakterien	Siehe Scriptum S.26-27

Biologie Klasse 11 - Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Alkoholische Gärung	Mikroskopieren von Bäckerhefe - ungefärbte Präparate - Herstellen eines Ausstriches - Färbung mit Methyleneblau - Herstellen eines "Films" über die Teilung von Hefezellen (Sprossung)	Fortbildung zum naturwissenschaftlichen Praktikum im naturwissenschaftlichen Profil in den Klassen 9-11, Projekt D, S.17
	Hefeimmobilisierung in Alginatgelen bzw. Alkoholische Gärung mit Hilfe immobilisierter Hefezellen	dto., S.18/19 H.Bayrhuber,E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1997), Bd.2, 27-29
	Einfluss der Temperatur auf die Gäraktivität - Bestimmung der CO ₂ -Volumina in Abhängigkeit von Temperatur und Zeit	--> Temperatur als abiotischer Faktor --> Temperatur-Toleranzkurve der Bäckerhefe
	Wärmeentwicklung durch Gärung	Temperaturmessungen im Vergleich: - 150 mL Wasser + 20 g Bäckerhefe - 150 mL Wasser + 20 g Bäckerhefe + 20 g Zucker
	Einfluss der Zuckerart (Haushalts-, Trauben-, Fruchtzucker) auf die Gäraktivität - Bestimmung der CO ₂ -Volumina bei 40 °C in Abhängigkeit von der Zeit	--> Zuckerart als biotischer Faktor
Ökologische Nische bzw. Ökosystem	Winogradsky-Säule als Labormodell eines Ökosystems	H.Bayrhuber,E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1992), Bd.1, 72-74 Versuchsdauer: 2-3 Monate

Biologie Klasse 11 - Versuche mit Mikroorganismen

Thema	Versuch	Literaturangabe bzw. Hinweise
Symbiose bzw. Stickstoffkreislauf	Mikroskopie von "Knöllchenbakterien" aus Wurzeln von Schmetterlingsblütlern	M.Müller: LEU, Bio 47, S.35 Informationen zu Rhizobium leguminosarum --> H.Bayrhuber, E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1992), Bd.3, 78-80
Destruententätigkeit und Stoffkreislauf	Celluloseabbau durch Bodenbakterien	M.Müller: LEU, Bio 47, S.60
	Stärkeabbau durch Bacillus subtilis	H.Bayrhuber, E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1997), Bd.2, 20-22
	Harnstoffspaltung durch Sporosarcina urea	M.Müller: LEU, Bio 47, S.58 Informationen zu Sporosarcina urea --> H.Bayrhuber, E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1992), Bd.3, 86-87
Sukzession	Milchsäurebildung im Sauerteig - Ein Modell der Sukzession in mikrobiellen Mischkulturen oder Heuaufguss	H.Bayrhuber, E.R.Lucius: Handbuch der praktischen Mikrobiologie u. Biotechnik (1992), Bd.1, 139-143

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 1		

Bezugsquellen für Mikroorganismen:

- DSM, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
Mascheroder Weg 16
38124 Braunschweig
Tel. 0531/2616-351
Fax. 0531/2616-418
- Schlüter KG, Haus für Biologie, Gerberstraße 11
71364 Winnenden
Tel. 07195/2205
- Firma A. Hedinger, Heiligenwiesen 26
70327 Stuttgart
Tel. 0711/402050
Fax. 0711/4020535

Weitere Bezugsquellen:

- Biorad Laboratories GmbH
Postfach 450133
80901 München
Tel. 089/31884-0
Fax. 089/31884-100
- Boehringer Mannheim GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Tel. 0800/759-2226
Fax. 0621/759-8509
- Eppendorf, Eppendorf Gerätebau GmbH
Barkhausenweg 1
22339 Hamburg
Tel. 040/538010
- Fluka-Chemie
Sigma Aldrich GmbH
Geschäftsbereich Fluka
Grünwalder Weg 30
82041 Deisenhofen
Tel. 089/65130; 0130/2341

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 2		

- C.A. Greiner und Söhne GmbH und Co. KG Kunststoffwerke
Galgenbergstr./ Postfach 1320
72622 Nürtingen
Tel. 07022/501-0

- W.C. Heraeus GmbH
Heraeusstr. 12-14, Postfach 1220
63450 Hanau am Main
Tel. 06181/35-1

- Hoffmann La Roche AG Diagnostica
Emil-Barell-Str. 1
79639 Grenzach-Wylen
Tel. 07624/14355

- IPN- Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften
Olshausenstr. 62
24118 Kiel
Tel. 0431/880-3129

- E. Merck
Frankfurter Str.25, Postfach 4119
64293 Darmstadt
Tel. 06151/72-0

- Merck Labor und Chemie GmbH
Fraunhofer Str. 7
85737 Ismaning
Tel. 089/996548-0
Fax. 089/31884-100

- Millipore GmbH
Hauptstr.71-79
65760 Eschborn
Tel. 06196/494-0

- Riedel de Haen AG
Wunstorfer Str.40
30926 Seelze
Tel. 05137/91979, 707-123

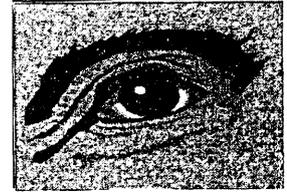
VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 3		

- Carl Roth GmbH und Co
Schoemperlenstr. 1-5
76185 Karlsruhe
Tel. 0130/5699
Fax. 9721/5606149

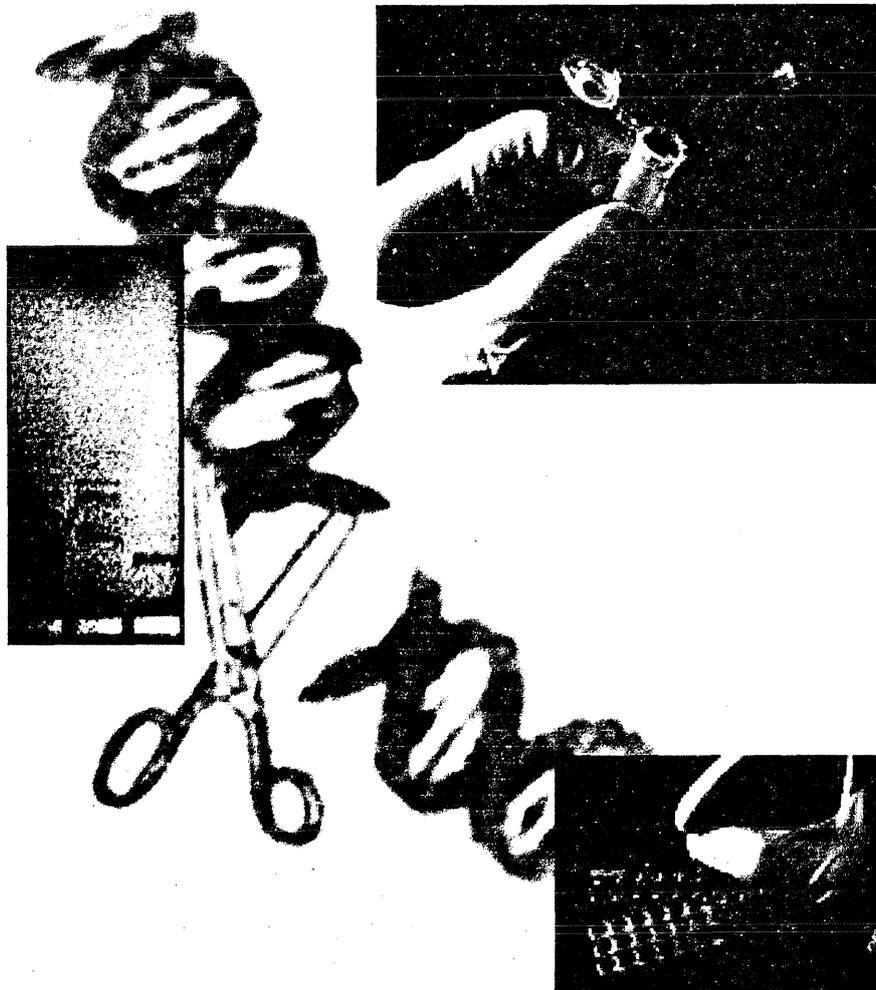
- Sartorius GmbH
Weender Landstr. 94-108
37075 Göttingen
Tel. 0551/308-1

- Schleicher und Schuell GmbH
Hahnestr.3, Postf.4
37586 Dassel
Tel. 05561/791-0

- Sigma Aldrich GmbH
Grünwalder Weg 30
82041 Deisenhofen
Tel. 0130/5155
Fax. 0130/6490



Materialien zur Fortbildung Mikrobiologie und Gentechnik Grundlagen (II)



Herausgeber: Oberschulamt Stuttgart

Impressum

Herausgeber **Oberschulamt Stuttgart**
Breitscheidstraße 42
70176 Stuttgart
☎ (07 11) 66 70 - 241

Autorenteam

- StR'in Bayya Assem, Werkgymnasium Heidenheim
- StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall
- OStR Rudolf Heinze, Württemberg-Gymnasium Stuttgart
- GP Gero Holl, Max-Planck-Gymnasium Nürtingen
- StD Markus Müller, Württemberg-Gymnasium Stuttgart
- StD Günter Ost, Georg-Büchner-Gymnasium Winnenden

Redaktion

- RSD Thomas Dietrich, Oberschulamt Stuttgart
- StD Gerhard Braun, Gymnasium bei St. Michael Schwäbisch Hall

Das Oberschulamt bedankt sich beim Autorenteam für die mit sehr großem Engagement vorgenommene Zusammenstellung, Erprobung und Ausarbeitung der Fortbildungsmaterialien.

Druck

Hausdruckerei des Oberschulamts Stuttgart

Auflage: 150 Exemplare

	Mikrobiologie und Gentechnik	
Vorwort		

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Die ersten regionalen Fortbildungen zum Thema Mikrobiologie sind erfolgreich gelaufen. Bei diesen Tagungen haben wir schon Versuche angeboten, die in der Thematik auf die kommenden Fortbildungen hinweisen, wie z.B. die Versuche zur Konjugation oder die Wundinfektion mit *Agrobacterium tumefaciens*.

Bei der zweiten Fortbildungsrunde bieten wir einige ausgewählte Versuche zur Thematik rund um die Gentechnik an. Hierbei werden keine direkten gentechnischen Versuche durchgeführt, da sie in der schulischen Praxis nicht erlaubt sind. Wir haben aber einige Versuche zusammengestellt, mit denen man exemplarisch die Arbeitsmethoden der Gentechniker zeigen kann und die auch in der mikrobiologischen und medizinischen Praxis eine bedeutende Rolle spielen.

Wir isolieren DNA aus verschiedenen Gewebezellen und schneiden Phagen-DNA mit Hilfe von Restriktionsenzymen. Die Fragmente werden dann mit Hilfe der Gelelektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht.

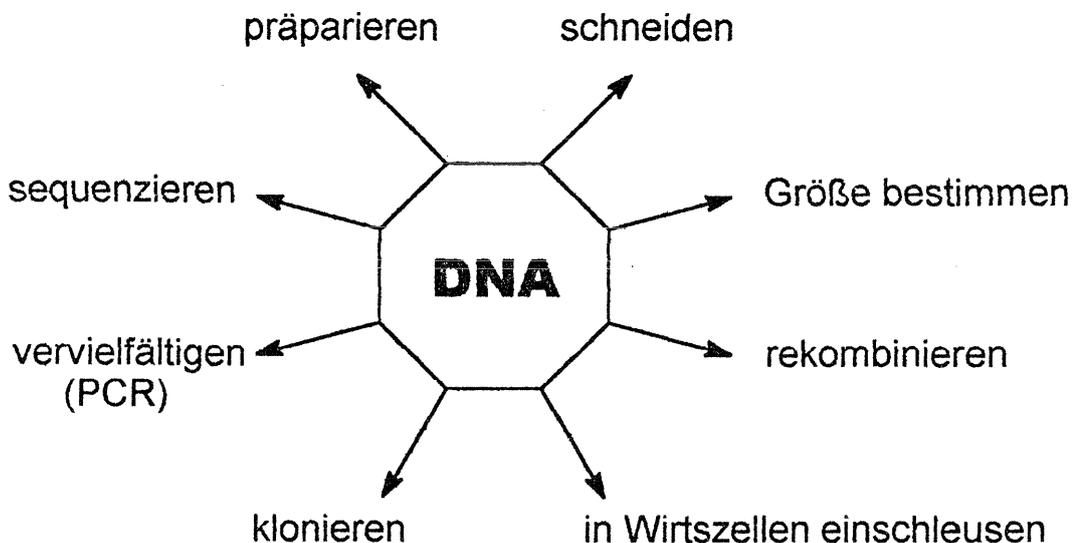
Außerdem weisen wir eine Virus-Infektion bei Pflanzen nach, analog zum HIV-Test beim Menschen (ELISA-Test).

Wir haben uns bemüht, die Versuche möglichst anschaulich und einfach zu gestalten. Zwei Versuche sind als Test-Kits im Handel erhältlich.

In Planung sind Fortbildungen, die sich u.a. mit der PCR-Methode befassen.

Das Fortbildungsteam hofft, dass auch diese Fortbildungsrunde auf reges Interesse stößt und wünscht allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern viel Spaß und Freude beim Experimentieren.

Ihr Fortbildungsteam



Inhaltsverzeichnis

Vorwort	3
I: Sicherheitsbestimmungen	
Arbeitsregeln für den Umgang mit Bakterien	7
Grundregeln für mikrobiologische Arbeiten (Kopiervorlage)	9
II: Molekularbiologische Versuche	
Arbeitsheft: Der Lambda-Kit - Informationen zum DNA-Gelelektrophorese-Kasten	
Versuch 1: Der Lambda-Kit: Ergänzungen zum Original-Arbeitsheft	11
Versuch 2: ELISA-Test	15
Kopiervorlage: Das Sandwich-Prinzip mit Peroxidase (POD)	16
Kopiervorlagen: Schülerarbeitsbogen / Typisches Ergebnis	18
Versuch 3: DNA-Extraktion aus Pflanzen- und Tierzellen	19
III: Molekularbiologie - Interaktiv experimentieren	
CD-ROM: Gentechnik virtuell	21
Rezensionen zur CD-ROM „Gentechnik“	22
IV: Anhang	
Literaturliste	23
Adressenverzeichnis	27

I	Sicherheitsbestimmungen	
Arbeitsregeln		

Die wichtigsten Arbeitsregeln für den Umgang mit Bakterien.

Mit Bakterien umzugehen ist eigentlich gefahrlos, wenn einige einfache Arbeits- und Verhaltensmaßregeln beachtet werden.

Nach dem Bundesseuchen-Gesetz vom Dezember 1979 und allen folgenden Ergänzungen sowie den entsprechenden Ausführungsbestimmungen und Länderverordnungen und nach dem Gentechnik-Gesetz vom 20. Juni 1990 und dem ersten Gesetz zur Änderung des Gentechnik-Gesetzes vom 16.12.1993 ist es verboten, in der Schule pathogene Keime zu züchten. Da es jedoch nie ganz auszuschließen ist, dass sich bei Untersuchungen nicht pathogener Keime ausnahmsweise auch pathogene entwickeln, sollte stets so verfahren werden, als ob mit pathogenem Material gearbeitet wird.

Allgemeine Regeln.

- Auf hygienisches Verhalten und peinliche Sauberkeit am Arbeitsplatz achten.
- Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken, schminken, rauchen und schnupfen.
- Nahrungsmittel, auch verpackt, nicht auf den Arbeitsplatz legen.
- Fenster und Türen sollen während der mikrobiologischen Arbeiten geschlossen sein.
- Schleimhäute von Mund, Augen und Nase nicht mit Gegenständen oder Händen berühren, die durch die Arbeit mit Mikroorganismen kontaminiert sein können.
- Bakterienkulturen stets gut verschließen. Petrischalen mit einem Tesaband oder Parafilm versehen.
- Petrischalen mit Bakterienkulturen beschriften: Bakterienstamm und Datum der angesetzten Kultur angeben. Dazu einen wasserunlöslichen Filzstift verwenden.
- Bakterienmaterial nicht mit den Händen berühren.
- Petrischalen mit bekannten und unbekanntem Bakterienkulturen nicht offen stehen lassen.
- Eintrocknete Präparate bergen die Gefahr staubförmiger Verbreitung.
- Keine Substanzen untersuchen, bei denen eine erhebliche fäkale Verunreinigung anzunehmen ist (z. B. Wasserproben aus dem Vorfluter einer Kläranlage).
- Bakteriensuspensionen nur mit einer Pipettierhilfe pipettieren. Keinen Peleus-Ball verwenden. Niemals mit dem Mund pipettieren.
- Aerosolbildung vermeiden.
Aerosole entstehen bei abrupten Druckveränderungen an Grenzflächen verschiedener Aggregatzustände wie Gas (z. B. Luft) und Flüssigkeit (z. B. Nährbouillon). Dabei werden Tröpfchen als Aerosole mitgerissen und gelangen über die Luft in die Atemwege.

I	Sicherheitsbestimmungen	
Arbeitsregeln (Fortsetzung)		

- Impfösen vor und nach Gebrauch in der Brennerflamme ausglühen.
- Sämtliche Laborgeräte, die mit Bakterien in Berührung gekommen sind, sterilisieren.
- Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich benötigten Geräte und Materialien stehen.
- Im Arbeitsbereich Laborkittel oder andere Schutzkleidung tragen.
- In der Mikrobiologie, Virologie oder Zellbiologie unerfahrene Mitarbeiter müssen besonders umfassend unterrichtet, sorgfältig angeleitet und überwacht werden.
- Ausgediente Kulturen unschädlich machen und gefahrlos beseitigen.
- Unbekannte Bakterienkulturen (Abklatschversuche) sollten nach Möglichkeit nicht bei 37°C bebrütet werden. Hier reichen maximal 30°C.
- Schimmelpilzkulturen und Pilzsporen nicht auf einem Objektträger im Mikroskop betrachten. Hierzu nur Petrislides verwenden.
- Entsorgung der Bakterien in einem Dampfdrucktopf oder einem Autoklaven.
- Nach dem Arbeiten den Arbeitsplatz reinigen und desinfizieren.
- Anschließend unbedingt die Hände waschen und desinfizieren.

I	Sicherheitsbestimmungen	
Grundregeln für mikrobiologische Arbeiten (Kopiervorlage)		

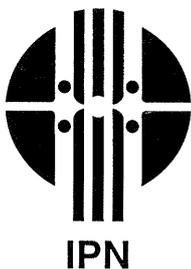
- Fenster und Türen sollen während der Arbeiten geschlossen sein.
- In den Arbeitsräumen darf nicht getrunken, gegessen oder geraucht werden.
Nahrungsmittel dürfen im Arbeitsbereich nicht aufbewahrt werden.
- Im Arbeitsbereich müssen Laborkittel oder andere Schutzkleidung getragen werden.
- Bei allen Arbeiten muss darauf geachtet werden, dass Aerosolbildung so weit wie möglich vermieden wird.
Aerosole entstehen bei abrupten Druckveränderungen an Grenzflächen verschiedener Aggregatzustände wie Gas (z.B. Luft) und Flüssigkeit (z.B. Nährbouillon). Dabei werden Tröpfchen als Aerosole mitgerissen und gelangen über die Luft in die Atemwege.
- Nach Beendigung der Arbeit und vor Verlassen des Arbeitsbereiches müssen die Hände sorgfältig gewaschen, gegebenenfalls desinfiziert werden.
- Arbeitsbereiche sollen aufgeräumt und sauber gehalten werden. Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich benötigten Geräte und Materialien stehen.
- In der Mikrobiologie, Virologie oder Zellbiologie unerfahrene Mitarbeiter müssen besonders umfassend unterrichtet, sorgfältig angeleitet und überwacht werden.

Steriles Arbeiten

- Gefäße mit Medium nur in unmittelbarer Nähe der Brennerflamme öffnen.
- Gefäße vor dem Wiederverschließen kurz abflammen.
- Nur sterile Pipetten verwenden. Eine Pipette, mit der Sie bereits die Arbeitsfläche berührt haben, ist nicht mehr steril.
- Die Eppendorfgefäße dürfen nur am Rand angefasst werden, nicht an der Deckelinnenseite.
- Drigalskispatel, mit denen Sie Bakterien ausplattieren, können Sie keimfrei machen, indem sie in Ethanol eingetaucht und anschließend abgeflammt werden.



Der Lambda Kit



**Informationen zum DNA-
Gelelektrophorese-Kasten**

Bakteriophage Lambda

Bakteriophagen (wörtlich: »Bakterienfresser«) sind Viren, die in Bakterien eindringen. Um sich zu vermehren, müssen Phagen in den molekularen Replikationsmechanismus ihrer Wirte eingreifen. Der Bakteriophage Lambda (λ) befällt das Bakterium *Escherichia coli*. Entweder vermehrt er sich in der Wirtszelle und zerstört sie anschließend (virulenter oder lytischer Kreislauf). Oder seine DNA fügt sich in das Bakterienchromosom ein und verbleibt dort ohne weitere Auswirkung über einige Generationen (temperenter oder lysogener Kreislauf), bevor die Vermehrungsphase einsetzt. Ultraviolettes Licht kann z.B. den lytischen Kreislauf aktivieren (Abb. 1).

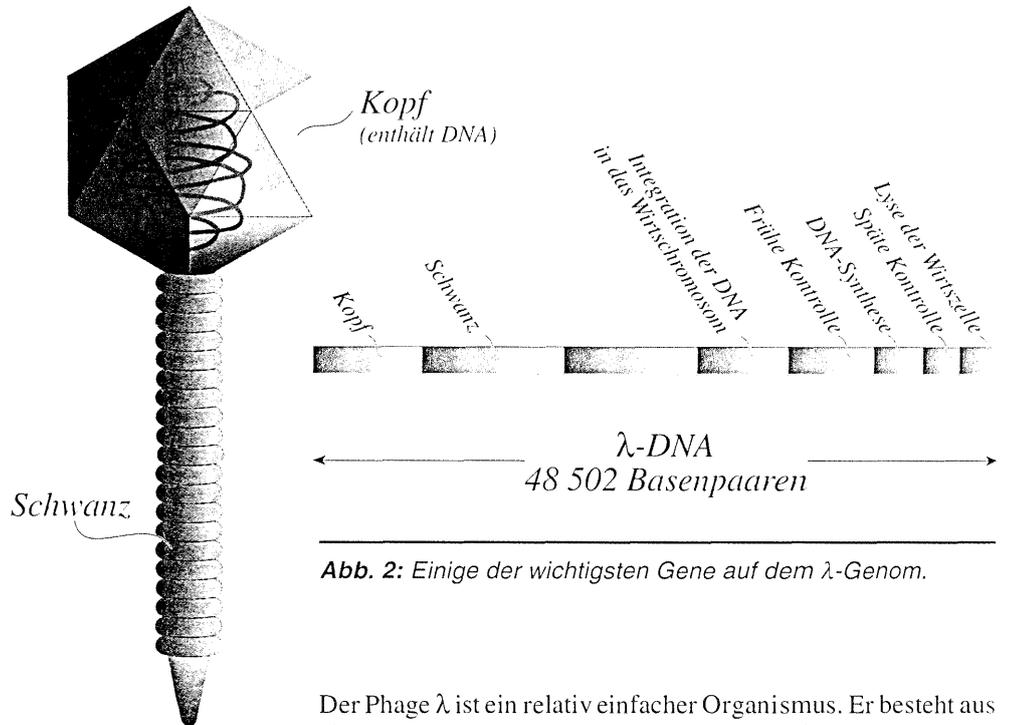


Abb. 2: Einige der wichtigsten Gene auf dem λ -Genom.

Der Phage λ ist ein relativ einfacher Organismus. Er besteht aus einem doppelten DNA-Strang, der um einen Proteinkern gewickelt ist. Seine Hülle besteht im wesentlichen aus Protein. Das Genom des Phagen λ besteht aus 48 502 Basenpaaren. Darin finden sich u.a. Gene, die für die Proteinhülle des Virus, die Lyse der Bakterienwirtszelle sowie das Einfügen von λ -DNA in das Bakterienchromosom codieren (Abb. 2).

Wichtig ist die Reihenfolge, in der die einzelnen Gene aktiviert werden. Es wäre z.B. wenig sinnvoll, wenn die Bakterienwirtszelle zerstört (lysiert) wird, bevor sich neue Viruspartikel gebildet haben. Folglich besitzt der Phage λ ein sorgfältig entwickeltes System der Genregulation, das auch bis ins Detail untersucht wurde und bekannt ist.

Nur ein kleiner Teil des Genoms vom Phagen λ wird zum Einpacken der DNA in den Kopf sowie zum Entlassen der DNA in die Bakterienzelle benötigt. Etwa 20 000 Basenpaare können durch DNA von anderen Organismen ersetzt werden, ohne daß diese Funktion und überhaupt die Lebensfähigkeit des Phagen λ davon betroffen wäre. Mehrere speziell konstruierte Formen des Phagen λ werden bereits von Gen-Ingenieuren dazu benutzt, als »Gen-Fähren« neue Gene in Bakterienzellen einzuschleusen.

Restriktionsenzyme

Enzyme, die DNA aufschneiden, heißen Restriktionsenzyme oder Restriktionsendonukleasen. Sie werden von Bakterien produziert, wo sie die Vermehrung von eingedrungenen Phagen hemmen. Die Enzyme haben ihre jeweiligen Namen von den Bakterien bekommen, die sie produzieren. *EcoRI* leitet sich von *Escherichia coli*, Stamm R13 her. Die Nummer I besagt, daß es das erste Restriktionsenzym ist, das in diesem Stamm gefunden wurde. *BamHI* kommt von *Bacillus amyloliquefaciens* H, und *HindIII* ergibt sich aus *Haemophilus influenzae* R_d. In diesem Fall besagt die III, daß es das dritte Restriktionsenzym ist, welches aus *H. influenzae* isoliert wurde.

Unterschiedliche Restriktionsenzyme schneiden an ganz spezifische Orten in der DNA (Abb. 3). Die bakterieneigene DNA ist durch Addition von Methyl-(-CH₃)-Gruppen an Adenin oder Cytosin geschützt, das normalerweise von den Enzymen erkannt wird.

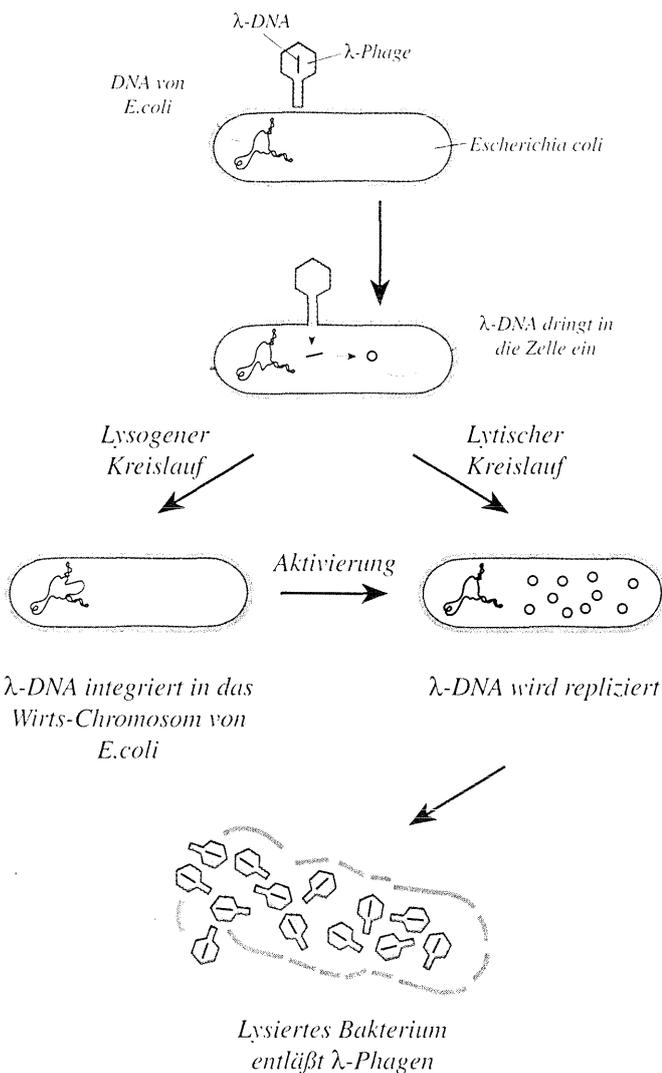


Abb. 1: Phageninfektion und -vermehrung.

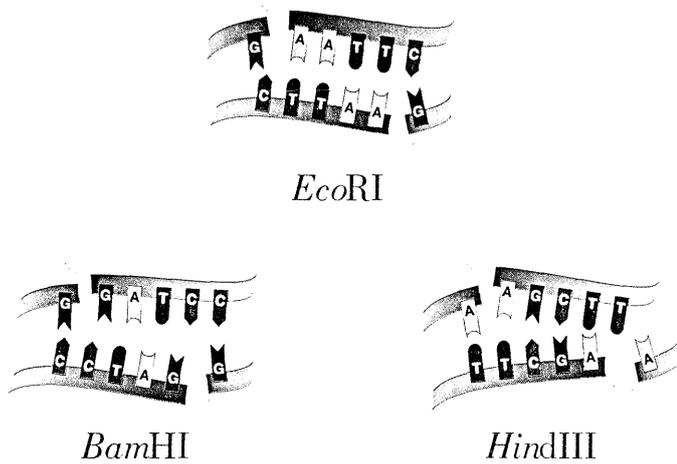


Abb. 3: Restriktionsenzyme erkennen und schneiden unterschiedliche, spezifische Abfolgen von Basenpaaren. Wie bei den drei verwendeten Enzymen sind dies meist »palindromische« Sequenzen. Dabei besitzt der zweite DNA-Strang, umgekehrt gelesen, die gleiche Basenabfolge wie der erste. Für jedes Restriktionsenzym existiert in der dazugehörigen Bakterienzelle ein Enzym, das Schutz-Methylgruppen (-CH₃) an die eigene DNA anbindet, damit diese nicht angegriffen werden kann.

Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese wird zum Trennen von verschiedenen großen DNA-Bruchstücken eingesetzt. Zuerst wird ein Agarosegel gegossen. Agarose ist eine Reinform von Agar, der aus Algen gewonnen wird. An einem Ende der Gelschicht sind kleine rechteckige Taschen. Diese werden durch die Zähne eines Kammes geformt, der dort vor dem Gießen des Geles angebracht wird. Nach dem Erstarren des Geles wird eine Pufferlösung darüber geschichtet, die die Taschen füllt und den Kontakt zwischen den Elektroden auf beiden Seiten des Geles herstellt. Die Ionen in der Pufferlösung leiten den elektrischen Strom. Außerdem bewahrt der Puffer das Gel vor dem Austrocknen.

Die unsichtbaren DNA-Fragmente werden mit etwas Markerfarbstoff gemixt. Dieser wird in einer gesättigten Zuckerlösung gelöst, die beim Einfüllen auf den Boden der Taschen sinkt und die DNA mitreißt. Im Gel wird ein elektrisches Feld aufgebaut, indem die Elektroden an eine Gleichspannungsquelle angeschlossen werden. Phosphatgruppen geben den DNA-Fragmenten eine negative elektrische Ladung, so daß sie durch das Gel zur positiven Elektrode wandern.

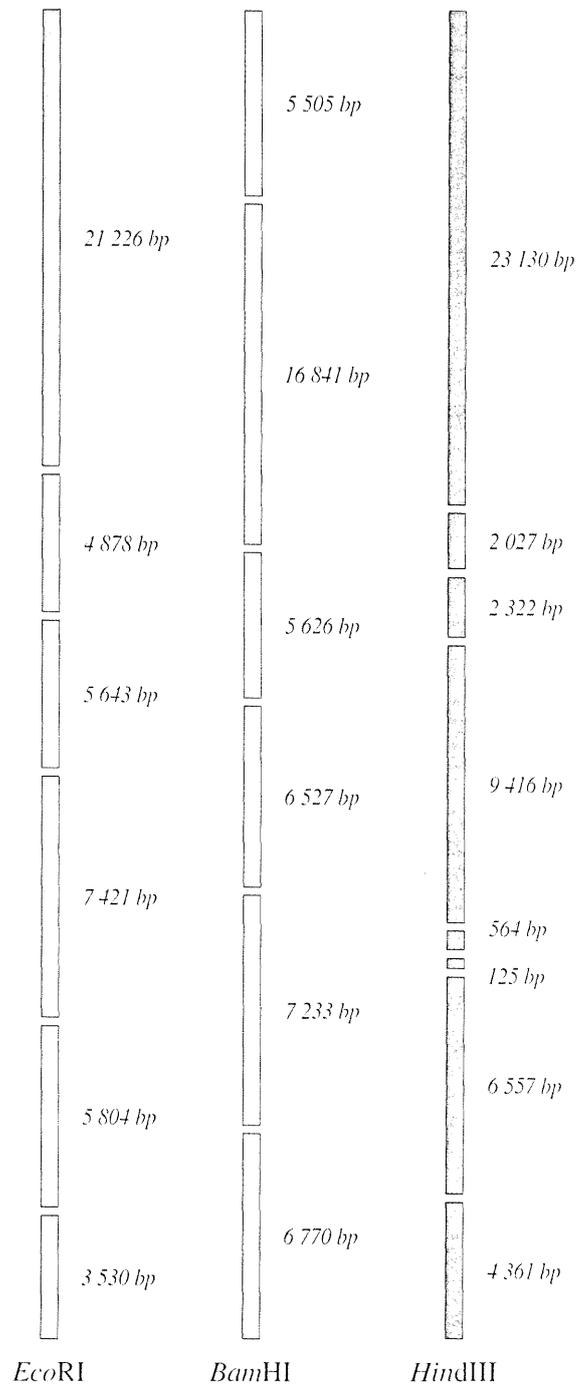
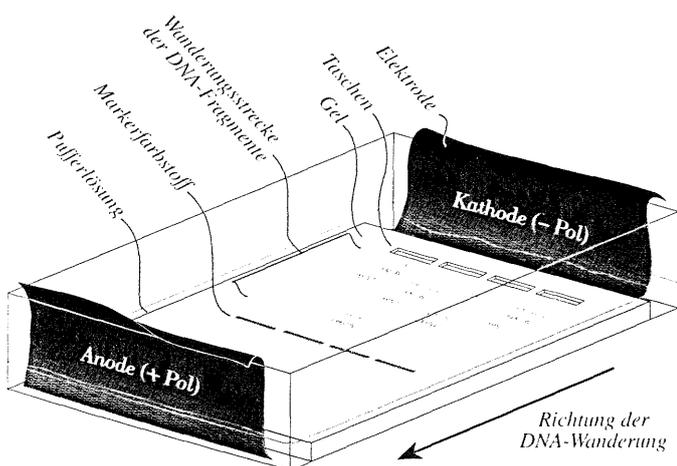
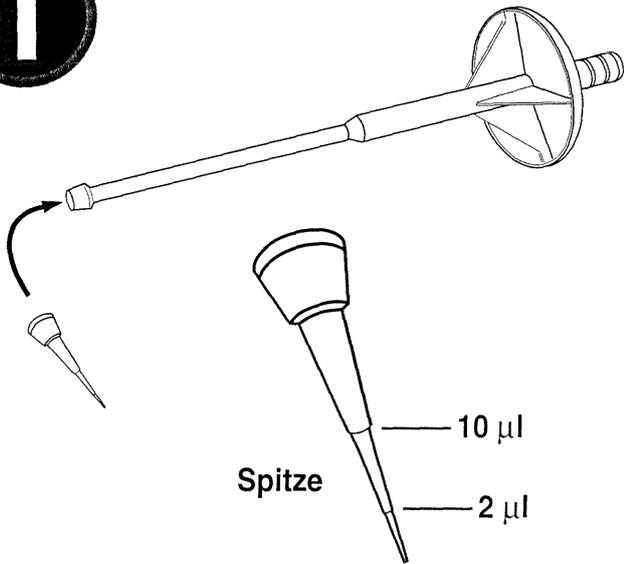


Abb. 4: Eine Restriktionskarte zeigt die Stellen innerhalb eines DNA-Stranges an, an denen bestimmte Restriktionsenzyme schneiden können. Die Schnittstellen der verwendeten Enzyme sind jeweils für das vollständige λ -Genom angegeben. Die Zahlenangaben bedeuten die Größe der jeweiligen Fragmente in Basenpaaren (bp).

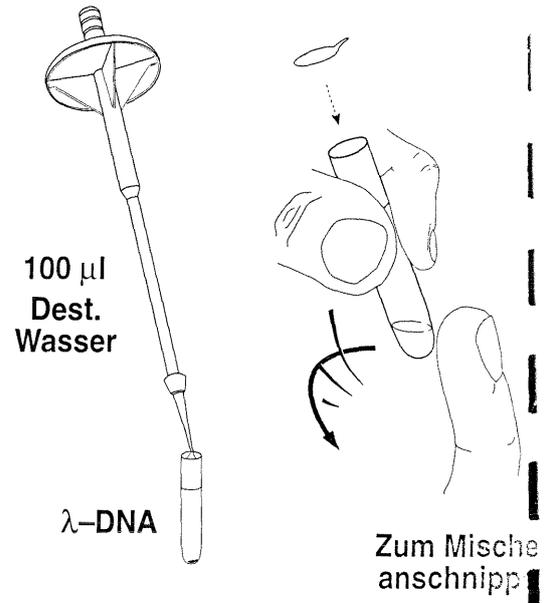
Kleine Bruchstücke bewegen sich schneller durch das poröse Gel als größere. Dadurch werden die DNA-Fragmente, nach Größe sortiert, aufgetrennt. Der Markerfarbstoff wandert ebenfalls durch das Gel, und zwar schneller als alle DNA-Bruchstücke, die kleiner als 300 bp sind (nur eines davon ist kleiner; s. Abb. 4). So wird der Elektrophoreseprozeß optisch sichtbar.

Nach der Elektrophorese wird das Gel mit einem speziellen Farbstoff angefärbt, um die einzelnen DNA-Banden sichtbar zu machen. Jede Bande enthält Millionen von DNA-Bruchstücken von einer ganz bestimmten Größe.

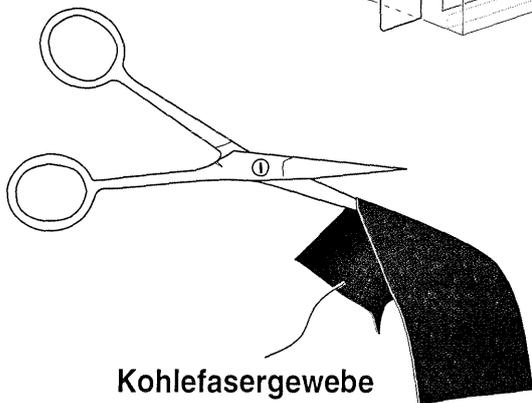
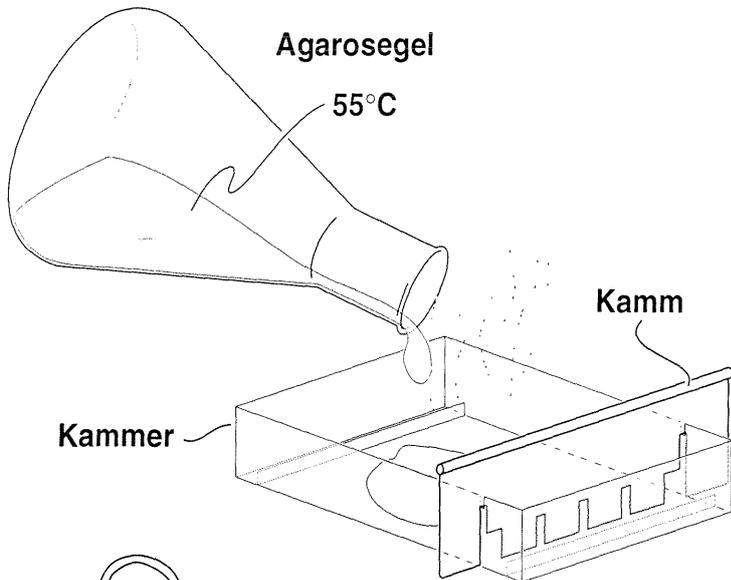
1



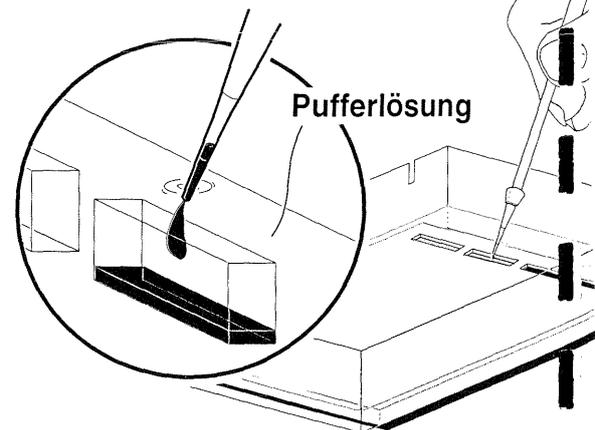
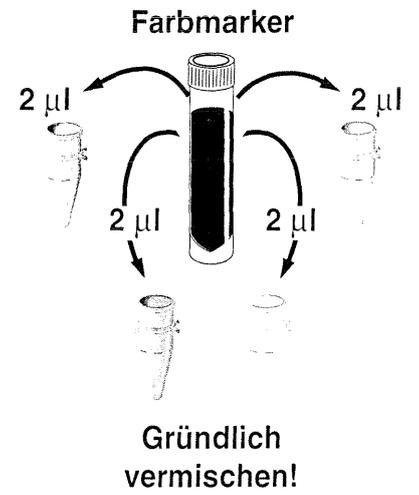
2



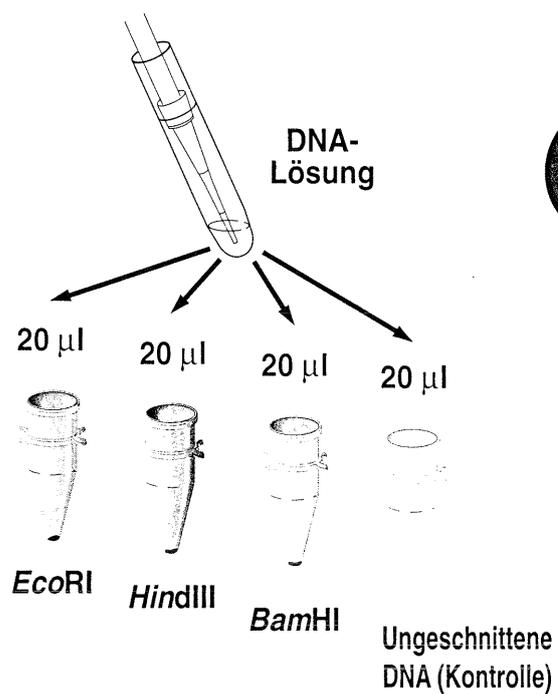
5



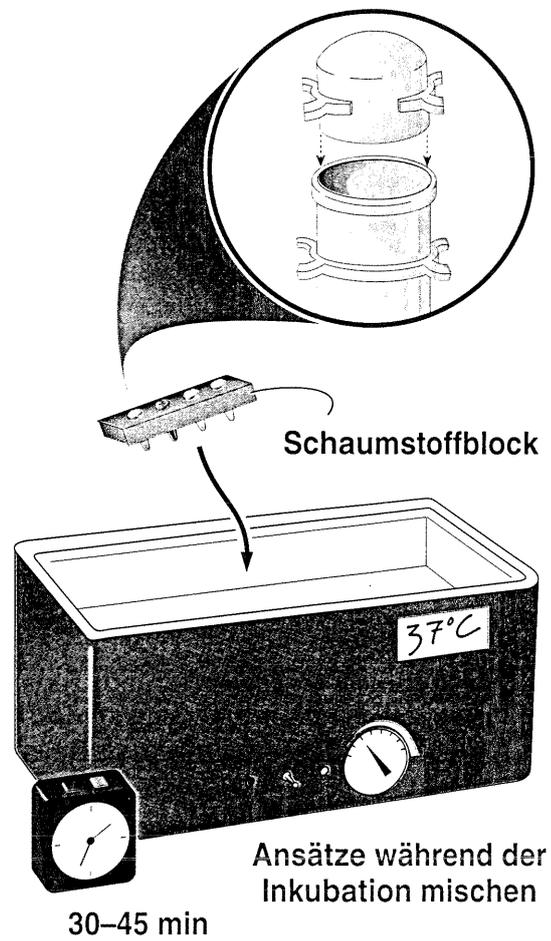
6



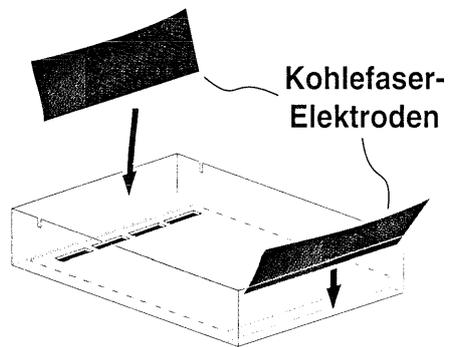
3



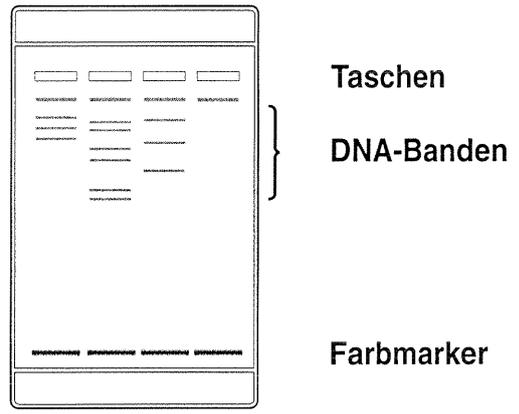
4



7



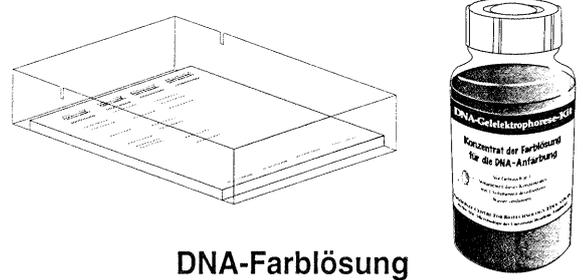
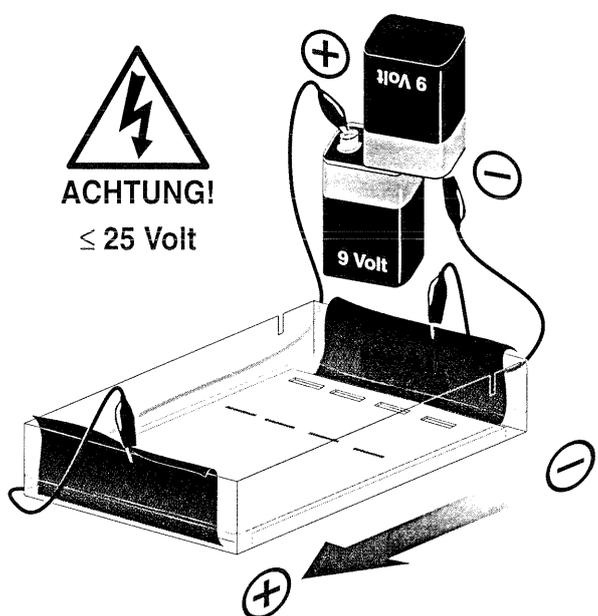
8



⚡

ACHTUNG!

≤ 25 Volt



Schwarzer Karton

Bevor Sie beginnen, lesen Sie bitte die einzelnen Arbeitsschritte und die Sicherheitshinweise auf der letzten Seite!

Ein Mikrogramm entspricht einem millionstel Gramm	Ein Mikroliter entspricht einem millionstel Liter
1 Gramm (g) =	1 Liter (l) =
1 000 Milligramm (mg)	1 000 Milliliter (ml)
1 Milligramm (mg) =	1 Milliliter (ml) =
1 000 Mikrogramm (μ g)	1 000 Mikroliter (μ l)

1 Gebrauch der Mikropipetten

Die Mikropipetten, mit denen dieser Versuchskasten ausgestattet ist, passen zu den beigelegten Einwegspitzen. Jede Spitze darf nur einmal benutzt werden und wird anschließend verworfen. Die Spitzen sind für Mengen von zwei und zehn Mikrolitern (μ l) markiert, so daß diese Flüssigkeitsportionen präzise entnommen werden können. Gute Ergebnisse werden erzielt, wenn Sie folgende Vorsichtsmaßnahmen beachten:

- Der Kolben darf niemals völlig aus dem Pipettenschaft herausgezogen werden; denn wenn der Kolben wieder zurückgesteckt wird, kann die Dichtung beschädigt werden.
- Bevor die Mikropipette gefüllt wird, muß der Kolben etwas hochgezogen werden (1–2 mm). Dadurch gelangt zusätzliche Luft in die Pipette, mit deren Hilfe später der letzte Tropfen Flüssigkeit aus der Spitze gedrückt werden kann.
- Wenn Lösungen zubereitet werden, wird die Mikropipette so senkrecht wie möglich in Augenhöhe gehalten, so daß man die Markierungen der Spitze erkennen kann.
- Der letzte Tropfen Lösung in der Spitze der Mikropipette wird dadurch entfernt, daß die Innenwand des Reagenzgefäßes (Mikroröhrchen) mit der Pipettenspitze berührt wird.
- Die Pipettenspitzen dürfen nicht mit den Fingern berührt werden. Darauf befindet sich Schweiß, der Proteasen und DNAsen enthält, die die Reaktionspartner kontaminieren und zerstören können.

2 Reaktivierung der getrockneten DNA (14 Minuten)

- Es werden 100 μ l destilliertes Wasser in das λ -DNA-Röhrchen (weiß) gegeben. Die Spitze muß zehnmal bis zur 10 μ l-Markierung gefüllt und wieder in das Röhrchen entleert werden, um die DNA zu lösen.
- Das Röhrchen wird verschlossen und 5 min stehengelassen.
- Das Röhrchen wird am oberen Ende festgehalten. Dann wird mit dem Finger in schneller Folge 1 min lang an das untere Ende des Röhrchens geklopft (das Röhrchen wird »angeschnippt«), um den Inhalt zu mischen. *Sollte das Röhrchen herunterfallen oder sollten Flüssigkeitströpfchen innerhalb des Röhrchens verteilt sein, so wird es mehrmals kräftig mit dem unteren Ende auf den Tisch geklopft, so daß sich alle Tropfen am Grund des Röhrchens sammeln.*
- Das Röhrchen wird für weitere 5 min stehengelassen. Die λ -DNA-Lösung sieht in Vergleich zu reinem Wasser schwach trübe aus.

HINWEISE UND ERLÄUTERUNGEN

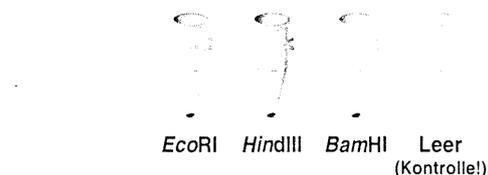
DNA und Restriktionsenzyme haften an Glas fest. Aus diesem Grund werden im Versuchskasten Einwegröhrchen aus Polypropylen verwendet, an denen DNA und Enzyme nicht kleben bleiben. Das weiße Röhrchen enthält 10 μ g λ -DNA. Ein pH-Puffer im Röhrchen sorgt dafür, daß die Stabilität der DNA in der Lösung aufrecht erhalten bleibt. Außerdem ist ein blauer Farbstoff zugegeben, der zu beurteilen hilft, wann die DNA gelöst ist. *Falls sich der blaue Farbstoff beim Mischen nicht vollständig auflöst: muß länger als angegeben geklopft oder auch mit der Pipettenspitze umgerührt werden. Es kann auch ein kleiner Rüttler (Vortexer) verwendet werden.* Besonders wichtig ist es, die DNA mit der richtigen Menge Wasser zu reaktivieren, so daß die Konzentration der Pufferlösung korrekt eingestellt ist (siehe auch die Punkte 3/4). Kräftiges Mischen ist Voraussetzung dafür, daß die DNA vollständig gelöst wird.

3/4 Schneiden der DNA (35–50 Minuten)

- Eine neue Spitze wird auf die Mikropipette gesteckt. Anschließend werden 20 μ l λ -DNA-Lösung in eines der Enzymröhrchen gegeben.
- Der Vorgang wird für jedes Enzymröhrchen und dem leeren »Kontroll«-Röhrchen wiederholt. Es muß jedesmal eine *neue* Spitze verwendet werden, um Kreuzkontaminationen zwischen den Röhrchen vorzubeugen. Die Röhrchen werden verschlossen und 5 min stehengelassen.
- Jedes verschlossene Röhrchen wird am oberen Ende festgehalten. Dann wird mit dem Finger 1 min lang das untere Ende in schneller Folge angeschnippt, um den Inhalt zu mischen. Damit der Ansatz, wenn nötig, am Grund des Röhrchens vereinigt wird, wird es mit dem unteren Ende auf den Tisch geklopft. *Die Flüssigkeit in den Enzymröhrchen sollte einen einheitlichen blauen Farbton zeigen. Eine Ansammlung blauen Farbstoffes am Grund des Röhrchens sollte nicht sichtbar sein.*
- Die Röhrchen werden bei 37°C im Wasserbad oder im Brutschrank 30–45 min lang inkubiert. Während dieser Zeit müssen sie alle 10–15 min wie oben beschrieben durchgemischt werden, um sicherzugehen, daß die Enzyme wirksam werden.

HINWEISE UND ERLÄUTERUNGEN

Jedes Röhrchen enthält 10 Einheiten eines Restriktionsenzym. Eine Einheit Enzym zerschneidet 1 μ g λ -DNA bei 37°C in einer Stunde. Die Röhrchen haben verschiedene Farben. Diese haben die folgende Bedeutung:



Wie die DNA sind auch die Enzyme mit einem entsprechenden Puffer sowie einem blauen Farbstoff versehen. Es ist besonders wichtig, das richtige Flüssigkeitsvolumen zu den Röhrchen hinzuzufügen und sicherzustellen, daß deren Inhalte gründlich gemischt werden. Denn *EcoRI* und *BamHI* wirken weniger spezifisch, wenn sie im Überschuß, im falschen Puffer oder bei der falschen Pufferkonzentration eingesetzt werden. Beispielsweise könnte *EcoRI* in einer ungeeigneten Pufferkonzentration die Sequenz AATT anstelle der längeren, spezifischeren Sequenz GAATTC schneiden. Die im Kit verwendeten Enzyme besitzen ihr Temperaturoptimum bei 37°C. Sie sind durch Hitzebehandlung inaktiviert und sollten, einmal reaktiviert, sofort eingesetzt werden. Die DNA kann ohne weiteres länger als 50 min verdaut werden. Nach einigen Stunden wird jedoch die Enzymaktivität abnehmen.

5 Vorbereiten des Gels (Durchführung in der Zeit, in der die DNA geschnitten wird)

- Pro Gel werden 25 ml Puffer angesetzt (vor Gebrauch je 1 Volumenteil des Pufferkonzentrates mit 9 Volumenteilen destilliertem Wasser verdünnen).
- Es werden 0,08 g Agarose in ein kleines Becherglas (50 ml) eingewogen und 10 ml verdünnte Pufferlösung hinzugegeben.

- c) Der Agaroseansatz wird etwa 5 min im Wasserbad aufgeköcht, bis keine Schlieren mehr sichtbar sind (Sicherheitshinweise auf der Letzte Seite beachten!). *Es muß sichergestellt sein, daß in der geschmolzenen Agarose keine Klumpen verbleiben!*
- d) Der Kamm wird an dem einen Ende der Kammer in die vorhandenen Kerben gesteckt. Dann wird die Kammer auf eine waagerechte Fläche gestellt.
- e) Das geschmolzene Gel wird auf etwa 55°C abgekühlt (Handrückenstest!) und in die Kammer gegossen, so daß der zentrale Raum befüllt ist. *Es darf dabei nichts in die beiden Bereiche an den gegenüberliegenden Seiten der Kammer laufen, die später die Elektroden enthalten und am Boden der Kammer durch schmale Stege abgetrennt sind. Auch muß kontrolliert werden, ob das Gel unter und zwischen die Zähne des Kammes gelaufen ist.*
- f) Es wird etwa 10 min ohne Erschütterung stehengelassen, bis es erstarrt ist. *Das Gel wird beim Erstarren trübe.*
- g) Es werden zwei Stück Kohlefaserewebe in der Größe von etwa 50 mm x 30 mm zugeschnitten. *Diese fungieren später in der Elektrophoresekammer als Elektroden.*

6 Beladen des Geles (5–10 Minuten)

- a) Die restlichen 15 ml verdünnte Pufferlösung werden in die Elektrophoresekammer gefüllt. Die Flüssigkeit übersichert dabei die Oberfläche des Geles und sollte auch in die durch Stege abgegrenzten Bereiche fließen, in denen später die Kohlefaser-Elektroden montiert werden.
- b) Der Kamm wird sehr vorsichtig aus dem Gel herausgezogen, so daß die Pufferlösung in die Taschen hineinfließen kann, die die Zähne des Kammes hinterlassen. *Es dürfen dabei die Taschen nicht eingerissen werden, da andernfalls die später eingebrachten Substanzen auslaufen!*
- c) Während die Elektrophorese durchgeführt wird, wird die Kammer an einen ungestörten Platz gestellt.

Die Beobachtung des nächsten Arbeitsschrittes wird erleichtert, wenn die Kammer auf eine dunkle Oberfläche gestellt wird, z.B. auf ein Stück schwarzen Karton. Alternativ kann ein Streifen schwarzes Isolierband zwischen die Abgrenzungen der Elektrodenbereiche am Boden der Kammer angebracht werden.

- d) Mit einer neuen Pipettenspitze werden 2 µl blauer Markerfarbstoff in eines der farbigen Reaktionsröhrchen gegeben. Der Farbstoff wird mit Hilfe der Pipettenspitze mit der λ-DNA-Lösung verrührt.
- e) Der gesamte Inhalt des Röhrchens wird in die erste Tasche des Geles eingefüllt, indem die Pipettenspitze über die Öffnung der Tasche, jedoch in die Pufferlösung gehalten wird (s. Abbildung). *Es muß darauf geachtet werden, daß der Boden der Tasche nicht mit der Spitze berührt wird.*
- f) Es wird notiert, welche Lösung in die erste Tasche eingefüllt wurde (z.B. kann die Seite der Kammer mit einem wasserfesten Filzstift beschriftet werden).
- g) Die Schritte 6d–6f werden mit jedem farbigen Reaktionsröhrchen und zum Schluß auch mit der Lösung im »Kontroll«-röhrchen ohne Restriktionsenzyme (gelb) durchgeführt.

HINWEISE UND ERLÄUTERUNGEN

Die Ionen der Pufferlösung, die sich in und über dem Gel befinden, leiten den elektrischen Strom. Die Pufferlösung ist alkalisch. Unter diesen Bedingungen sind die Phosphatgruppen der DNA negativ geladen. Deshalb wandert die DNA in Richtung positiver Elektrode (Anode). EDTA im Puffer fängt zweiwertige Kationen ab. Da solche Ionen als Co-Faktoren für DNA-zerstörende Enzyme benötigt werden, wird auf diese Weise Schäden an der DNA vorgebeugt. Der Markerfarbstoff reagiert nicht mit der DNA. Er bewegt sich langsam durch das Gel und ist dabei etwas schneller als alle DNA-Fragmente, bis auf das Kleinste, das nur 125 bp groß ist.

7

Elektrophoretische Auftrennung (5–12 Stunden)

- a) Die Kohlefaser-Elektroden werden in die beiden Elektrodenkammern eingesetzt, so daß sie in die Pufferlösung eintauchen. Sie werden mit Hilfe der Krokodilklemmen-Kabel an den Kammerwänden fixiert (s. Abbildung in der Heftmitte). *Das Kohlefaserewebe darf nicht an den Rand der Kammer überhängen, da andernfalls durch die Kapillarwirkung des Gewebes Pufferlösung austritt. Es muß glatt anliegen.*
- b) Die Elektroden werden mit ausreichend starken Batterien verbunden, die in Serie geschaltet sind. Deren Gesamtspannung darf nicht höher als 25 Volt sein. *Es muß sichergestellt sein, daß das positive Ende der Batterie (Anode) mit der am weitesten von den Taschen entfernten Elektrode verbunden ist.*



ACHTUNG!

Die Apparatur darf unter keinem Umständen mit mehr als 25 Volt Gleichspannung betrieben werden (s. Sicherheitshinweise).

- c) Die Elektrophorese wird einige Stunden lang ungestört betrieben. In einem warmen Raum kann es nötig sein, das Gel durch Abdecken der Kammer vor dem Verdunsten des Puffers zu schützen. Die ungefähre Dauer der Elektrophorese beträgt

bei 9,0 V	—	12 Stunden,
bei 18,0 V	—	5–6 Stunden.
- d) Die Batterien werden abgetrennt, sobald der blaue Markerfarbstoff das Ende der Kammer erreicht hat. *Wenn die Batterien weiterhin angeschlossen bleiben, kann die DNA über das Ende des Geles hinauslaufen. Das sollte nicht passieren!*
- e) Die Krokodilklemmen werden mit Leitungswasser abgespült und anschließend abgewischt, um Korrosionen vorzubeugen.

HINWEISE UND ERLÄUTERUNGEN

Bei höheren Spannungen läuft das Gel zwar schneller, aber die Auftrennung der Banden wird ungenauer, da die Bewegungsbeschwindigkeit von Fragmenten höheren Molekulargewichts unterschiedlich stark zunimmt.

8

Färben der DNA (6 Minuten und 30 Minuten Entwicklungszeit)

- a) Die Elektroden werden entfernt und weggelegt. Die Pufferlösung wird abgegossen. *Sie kann zurückbehalten und wiederverwendet werden, ist aber nicht unbegrenzt haltbar.*
- b) Es müssen Schutzhandschuhe getragen werden, damit die Haut nicht mit dem Färbemittel in Berührung kommt.
- c) Es werden etwa 10 ml Färbelösung (vor Gebrauch mit dem gleichen Volumen destilliertem Wasser verdünnen) auf die Oberfläche des Geles gegossen.
- d) Sie wird genau 4 min lang dort belassen und kann danach zur Wiederverwendung in eine andere Flasche gegossen werden (siehe auch Sicherheitshinweise).
- e) Die Oberfläche des Geles wird mit etwa 5 ml 70%igem Ethanol 30 sec lang überschichtet. *Vergällter Alkohol kann ebenfalls verwendet werden.*
- f) Der Alkohol wird verworfen, und anschließend wird das Gel drei bis viermal vorsichtig mit kaltem Leitungswasser übergossen.
- g) Nach 10 min erscheinen schwache Banden. Des Gel wird 30 min stehengelassen, so daß das Färbemittel durch das Gel zur DNA vordringen kann. *Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn sich das Gel über Nacht »entwickeln« kann. Dabei muß das Gel in eine Plastiktüte gelegt werden, um es vor dem Austrocknen zu schützen.*

HINWEISE UND ERLÄUTERUNGEN

Gele können in einem verschlossenen Plastikbeutel praktisch unbegrenzt im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Sicherheit

DNA und Enzyme

Die natürlich vorkommende λ -DNA sowie die Restriktionsenzyme, die in diesem Versuchskasten verwendet werden, können gefahrlos gehandhabt werden. Es werden keine lebenden Organismen verwendet, so daß keine Maßnahmen zur Desinfektion getroffen werden müssen. Sauberkeit ist jedoch wichtig, um Kreuzkontaminationen innerhalb der Versuchsansätze (darunter fällt z.B. die unbeabsichtigte Übertragung von Enzymen zwischen verschiedenen Reaktionsröhrchen) zu vermeiden und gute Ergebnisse zu erzielen. Einwegspitzen und Mikroröhrchen können gefahrlos im Abfalleimer für Kunststoff-Recycling entsorgt werden.

Agarosegel

Wenn ein Mikrowellengerät zum Schmelzen des Agarosegels eingesetzt wird, ist es wichtig, das Gel in ein unverschlossenes Gefäß zu stellen. Ist keine Mikrowelle vorhanden, kann stattdessen auch ein kochendes Wasserbad oder eine Kochplatte benutzt werden.

Um ein Anbrennen oder Verklumpen zu verhindern, muß das Gel gerührt werden. Zum Schmelzen des Gels ist der Gebrauch eines Bunsenbrenners nicht empfehlenswert, weil dabei die Agaroselösung leicht lokal anbrennt.

VORSICHT! Heiße, geschmolzene Agarose kann plötzlich überkochen (Siedeverzug!). Sie muß daher vorsichtig gehandhabt werden.

Spannungsquelle

VORSICHT! Die Gelelektrophorese-Apparatur ist nur für Gleichspannung bis maximal 25 Volt aus Trockenzellbatterien konzipiert. Unter keinen Umständen darf diese Spannung überschritten werden, da die elektrischen Teile für den Benutzer nicht isoliert sind. Schwerwiegende oder tödliche elektrische Schläge können die Folge sein, wenn die Ausrüstung an elektrischen Hauptstrom angeschlossen wird.

DNA-Färbemittel

Die Färbelösung ist entflammbar und darf nicht mit offenen Flammen in Berührung gebracht werden. Es müssen Schutzhandschuhe getragen werden, um zu verhindern, daß die DNA-Färbelösung mit der Haut in Berührung kommt. Sie ist zwar nicht giftig, die Haut nimmt aber vorübergehend den Farbstoff an.

Die Färbelösung sollte auch nicht direkt in den Ausguß gegossen werden, da sich dadurch das Waschbecken verfärben kann. Sie kann in einen Eimer geschüttet werden, der im Waschbecken unter dem laufenden Wasserhahn steht.

IMPRESSUM



IPN

*Institut für die Pädagogik
der Naturwissenschaften
an der Universität Kiel
Olshausenstraße 62
D-24098 Kiel
Deutschland*

Die Verwendung von Elektroden aus Kohlefaserewebe bei der Gelelektrophorese ist eine Erfindung des NCBE, die für Deutschland patentrechtlich geschützt wurde.
[Patentbewerbungs-Nr. P4408129.4]

Dieser Versuchkit wurde vom
National Centre for Biotechnology Education (NCBE) in Reading,
England, in Kooperation mit dem Institut für die Pädagogik der
Naturwissenschaften (IPN) in Kiel entwickelt.

Herausgegeben von: Dean Madden, Eckhard R. Lucius.
Deutsche Bearbeitung: Christine Labahn-Lucius.



*National Centre for
Biotechnology Education
University of Reading
Whiteknights, Reading
RG6 2AJ
United Kingdom*

II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 1: Der Lambda-Kit (Ergänzungen zum Original-Arbeitsheft)		

Kurzbeschreibung: Mit Restriktionsenzymen wird DNA geschnitten. Die DNA-Fragmente werden danach durch Gelelektrophorese getrennt und durch Anfärbung sichtbar gemacht. Der λ -Kit enthält DNA und Enzyme für 16 Versuche und 5 Elektrophoresekammern. Somit können 5 Schüler-Arbeitsgruppen zeitgleich folgende Arbeitsschritte durchführen:

Arbeitsschritt-Nr. laut Original-Arbeitsheft	Arbeitsschritt	Zeit	
1	Gebrauch der Mikropipetten	D o p p e l s t u n d e	5 min
2	Reaktivierung der getrockneten DNA		15 min
3,4	Schneiden der DNA des Lambda-Phagen mit 3 verschiedenen Restriktionsenzymen		35-50 min oder länger
5	Vorbereiten des Agarose-Gels *)		während 3,4
6	Vorbereiten der aufzutragenden DNA-Fragmente (Proben) und Beladen des Gels		5-10 min
7	Gelelektrophorese		3-12 Stunden
8	Färben der DNA im Agarose-Gel, Herauswaschen der Hintergrundfärbung (Entwicklung)		5 min 30 min oder länger

*) Die Restriktionsansätze können bei Bedarf im Gefrierfach bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt werden.

Lernvoraussetzungen:

- Bau und Funktion der DNA
- Bau und Vermehrung des λ -Phagen (siehe Original-Arbeitsheft)
- Bedeutung der λ -Phagen als Vektoren

Ein Vektor ist ein DNA-Stück, das sich in einer Zelle selbständig, d.h. unabhängig von Chromosomen, vermehren kann. Vektoren dienen als Transport- und Vermehrungsmoleküle für DNA-Stücke, die in Zellen eingeführt werden sollen. Als Vektoren dienen Plasmide und Viren.
- Funktion der Restriktionsenzyme

Ein Restriktionsenzym erkennt eine ganz bestimmte Nukleotidsequenz in der DNA und kann die DNA an dieser Stelle spalten (schneiden). Es gibt verschiedene Sorten von Restriktionsenzymen für unterschiedliche Schnitte. Sie werden aus Bakterien gewonnen.
- Trennprinzip der Gelelektrophorese

Unter Elektrophorese versteht man eine Trennmethode für biologische Moleküle (Proteine, DNA, RNA) mit Hilfe eines elektrischen Feldes. Die in der Pufferlösung negativ geladenen DNA-Fragmente wandern im elektrischen Feld, wobei die kleineren DNA-Stücke schneller durch das Maschenwerk des Agarose-Gels gelangen als die größeren.

II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 1: Der Lambda-Kit (Fortsetzung)		

Zusätzlich zum Lambda-Kit benötigte Materialien:

Pro Gruppe:

- destilliertes Wasser
- Stoppuhr oder Kurzzeitwecker
- Reaktionsgefäßständer mit Gruppennummer

Tip: Bodenteil einer Petrischale mit darüber gelegter Platte (ca. 35 x 100 mm) aus Hartschaum oder Sperrholz. Die Platte enthält für die Aufnahme der Reaktionsgefäße und das DNA- bzw. Farbmarker-Gefäß 5 Bohrungen mit 6 mm (4x) und 12 mm (1x) Durchmesser.

- Filzschreiber
- Gefäß für 25 mL Pufferlösung
- 10-mL-Pipette
- Pipettierhilfe (z.B. Pi-pump)
- 50-mL-Becherglas
- kurzer Glasstab (zur Verhinderung des Siedeverzuges beim Agarosekochen)
- Brenner + Zündhölzer + Vierfuß + Ceranplatte
oder **alternativ** 1 Mikrowellengerät für alle Gruppen (siehe Anmerkung 1)
- Schere
- 1-3 9-V-Batterien oder **alternativ** Netzgerät + 2 Experimentierkabel + 2 Krokodilklemmen (siehe Anmerkung 2)
- Einmal-Schutzhandschuhe
- Gefäß für DNA-Anfärbelösung
- breiter Spatel (zum Abheben des Gels)
- 100-mL-Flasche mit verdünntem Spiritus, $\sigma(\text{Ethanol}) = 70\%$ (siehe Anmerkung 3)
- Abfallbehälter (z.B. Joghurtbecher)
- Papiertücher

Pro Klasse:

- 37°C-Wasserbad oder Brutschrank
- Waage (Ablesbarkeit: 0,01 g)
- Gefäß für „gebrauchte DNA-Anfärbelösung“ und Trichter dazu

Anmerkung 1: Schmelzen des Agarose-Pulvers im **Mikrowellengerät**

Die 50-mL-Bechergläser (Inhalt: 0,08 g Agarose + 10 mL H₂O + kurzer Glasstab) aller Gruppen werden im Mikrowellengerät bei mittlerer Stärke dreimal kurz (15 - 30 s) aufgekocht. Es dürfen keine Schlieren erkennbar sein!

Anmerkung 2: 9-V-Batterien oder **Netzgerät**

Die Dauer der Elektrophorese beträgt

bei 9V	⇔	12 Stunden,
bei 18 V	⇔	5-6 Stunden
bei 25 V	⇔	3-4 Stunden *)
bei 60 V	⇔	1 Stunde *)

*) Spannungsquellen bei Schülerversuchen müssen galvanisch vom Netz getrennt sein. Diese Forderung erfüllen z.B. Sicherheitstransformatoren nach VDE 0551, bei denen die Primär- und Sekundärwicklung völlig getrennt sind.

VIII	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 1: Der Lambda-Kit (Fortsetzung)		

Bei Schülerversuchen in der **Mittelstufe** mit nicht berührungssicheren Schaltungen sollen Spannungen von 25 V nicht überschritten werden, auch nicht bei Gleichspannungen.

Nach VDE 0100 TI.410 Ziffer 4.1 darf bei Spannungen bis 25 V Wechselspannung oder **60 V Gleichspannung** in normalen Anwendungsfällen auf Maßnahmen zum Schutz gegen direktes Berühren verzichtet werden.

Anmerkung 3: Für 1 L Spiritus, σ (Ethanol) = 70 %, werden 745 mL Spiritus mit 255 mL destilliertem Wasser gemischt.

Bezugsquelle: National Centre for Biotechnology Education (NCBE), University of Reading, Whiteknights, Reading, RG6 2 AJ, United Kingdom, German Version.

Preis: Ca. 450,- DM zzgl. Versand

Alternativen zum Lambda-Kit:

1	<p>Experimentierkit „Blue Genes“: Versuch 1: Bezug: Fonds der Chemischen Industrie Karlstraße 21 60329 Frankfurt Preis: Erstausrüstung kostenlos</p>
2	<p>DNA-Fingerprinting-Kit: Im Rahmen dieses Versuchs verwenden die Schüler Restriktionsenzyme dazu, fünf hypothetische Proben menschlicher DNA zu verdauen. Eine dieser Proben stammt vom Tatort eines Verbrechens, während die anderen Proben vier potentiellen Tätern entnommen wurden. Die Schüler analysieren die DNA-Bandenmuster und ordnen dann die DNA der Tatverdächtigen der am Tatort gefundenen DNA-Probe zu. Bezug: Bio-Rad Laboratories GmbH Postfach 45 01 33 Heidemannstr. 164 80939 München Tel.: 089 / 318 84-177 Fax: 089 / 318 84-123 Bestell-Nr.: 166-0007-EDU (Materialien für 8 Schülerarbeitsplätze) Preis: 195,00 DM + MWSt.</p>

II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 2: ELISA-Test		

Das Prinzip des ELISA-Tests

Im Diagnoseverfahren wird die Eigenschaft der Antikörper genutzt, bestimmte Oberflächenstrukturen der Antigene auf molekularer Ebene zu erkennen und sich mit ihnen zu einem Komplex zu verbinden. So können Spuren von Antigenen noch im Nanogrammbereich nachgewiesen werden. Um den Test auswerten zu können, müssen die Antigen-Antikörper-Komplexe sichtbar gemacht werden. Dies erreicht man damit, dass die Antikörper mit einem Enzym gekoppelt werden. Das Enzym reagiert in der Folge mit einem Substrat, das zu einem Farbstoff umgesetzt wird. Die Farbreaktion deutet auf eine positive Reaktion hin.

- Beim direkten ELISA-Test werden zum Antigennachweis die Antigene irreversibel an den Träger - meist Mikrotiterplatten - gebunden und der spezifische Antikörper direkt mit dem Enzym markiert.
- Beim indirekten ELISA-Test (Steffens-ELISA-Kit) lässt man den spezifischen Antikörper mit dem Antigen reagieren und weist diesen dann durch einen markierten „Zweitantikörper“ nach. In diesem sogenannten Sandwich-Test wird das Antigen zwischen zwei Antikörpern gebunden. Der eine Antikörper ist fest an den Testkamm gebunden, der andere liegt frei vor und ist mit einem Enzym markiert. Somit können Testantigene aus Extrakten angereichert und nachgewiesen werden. (Siehe Abbildung)

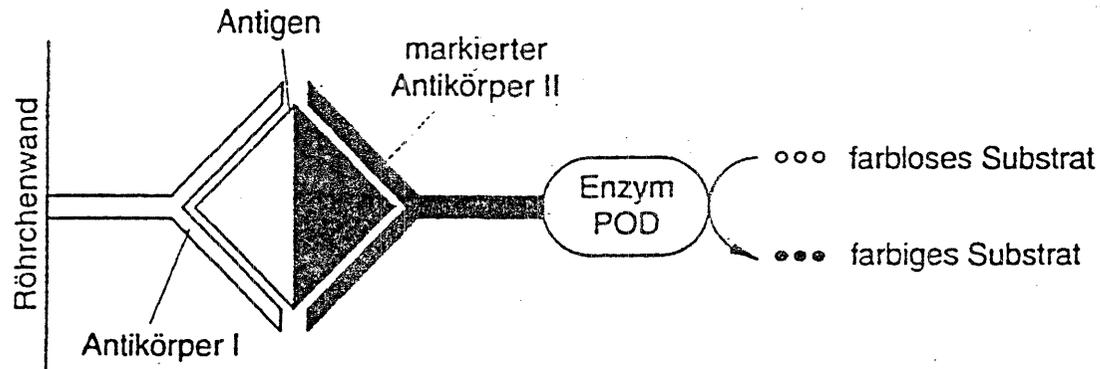
Im ELISA-Test werden Antikörper oder Antigen kovalent mit einem niedermolekularen Enzym, das eine hohe Umsatzzahl hat, verbunden. Eine erfolgte Antigen-Antikörper-Bindung kann indirekt dadurch sichtbar gemacht werden, dass die gekoppelten Enzyme aus einem farblosen Chromogen ein farbiges Reaktionsprodukt liefern. Dieses ist sichtbar und kann auch noch photometrisch bestimmt werden.

Als Indikatorsysteme kommen zur Anwendung:

- Peroxidase (POD) z.B. aus Meerrettich (mit Wasserstoffperoxid und Diaminobenzidin) oder
- alkalische Phosphatase (mit p-Nitrophenylphosphat)

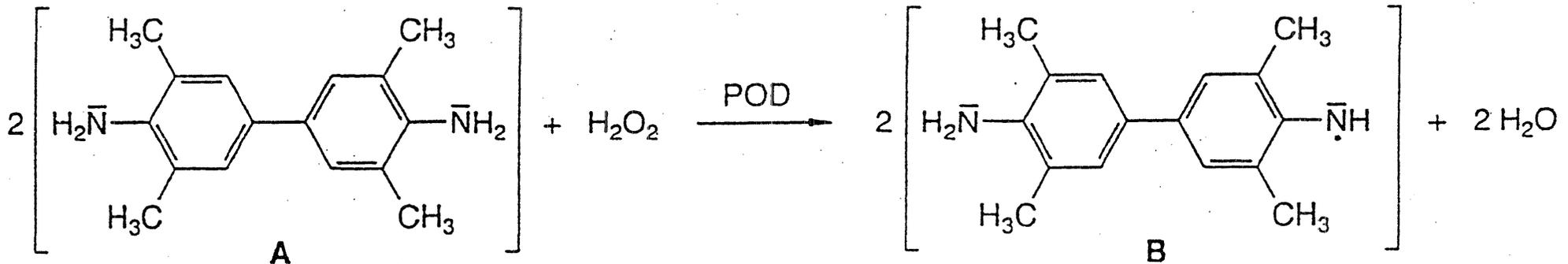
Im Steffens ELISA-Kit steht zur Bestimmung der Peroxidasereaktion 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin als Redoxindikator zur Verfügung. (Siehe Abbildung)

Kopiervorlage 2: Abb. 3: Das Sandwich-Prinzip mit Peroxidase (POD)



Wie bei einem Sandwich liegt das Antigen zwischen zwei Antikörpern (Antikörper I und markierter Antikörper II). Das Enzym POD katalysiert die Umsetzung eines farblosen Substrates zu einem farbigen Substrat. Im STEFFENS-ELISA-Kit wird als Substrat 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin eingesetzt.

Das farblose Tetramethylbenzidin (A) wird über die Enzymreaktion in das blaugefärbte Tetramethylbenzidin-Radikal (B) entsprechend folgender Reaktionsgleichung umgesetzt:



II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 2: ELISA-Test (Fortsetzung)		

Grundlagen zum Steffens-ELISA-Test-Kit

Da in den Schulen nicht mit infiziertem Blut gearbeitet werden darf, muss eine harmlose und für die Schülerinnen und Schüler ungefährliche Variante gesucht werden.

Es ist bekannt, dass **Pflanzenviren** für den Menschen **ungefährlich** sind.

Am Beispiel des Pelargonien-Blüten-Bruch-Virus kann der ELISA Test durchgeführt werden.

Das **Pelargonium flowerbreak Virus (PFBV)** befällt ca. 25% aller Geranien. Es verändert die Blütenfarbe. Seine Vermehrung erfolgt dadurch, dass die meisten Geranien nicht aus Samen gezogen, sondern durch Stecklinge vermehrt werden. Dadurch werden häufig die Krankheiten der Mutterpflanzen, wie Pilz- oder Bakterienbefall oder Viruserkrankungen, sogenannte **Virosen** auf die Jungpflanzen übertragen.

Wie erhält man Antikörper gegen das PFBV?

Pflanzen können keine Antikörper ausbilden. Deshalb werden die Viren aus den Pflanzen isoliert und anschließend in Kaninchen injiziert. Im Kaninchenblut werden Antikörper gebildet, die dann isoliert werden.

Bedeutung des ELISA-Tests für Schülerinnen und Schüler:

Mit Hilfe dieses Tests werden

- grundlegende Bestimmungsmethoden in der chemischen und biochemischen Analytik vorgestellt.
- im Alltag Viren, Medikamente und Doping-Mittel nachgewiesen.
- die Prinzipien für die Funktion eines Schwangerschaftstests erklärt
- in der Umweltanalytik Pestizide und andere toxische Stoffe nachgewiesen.
- in der Landwirtschaft der Nachweis von Virosen geführt.

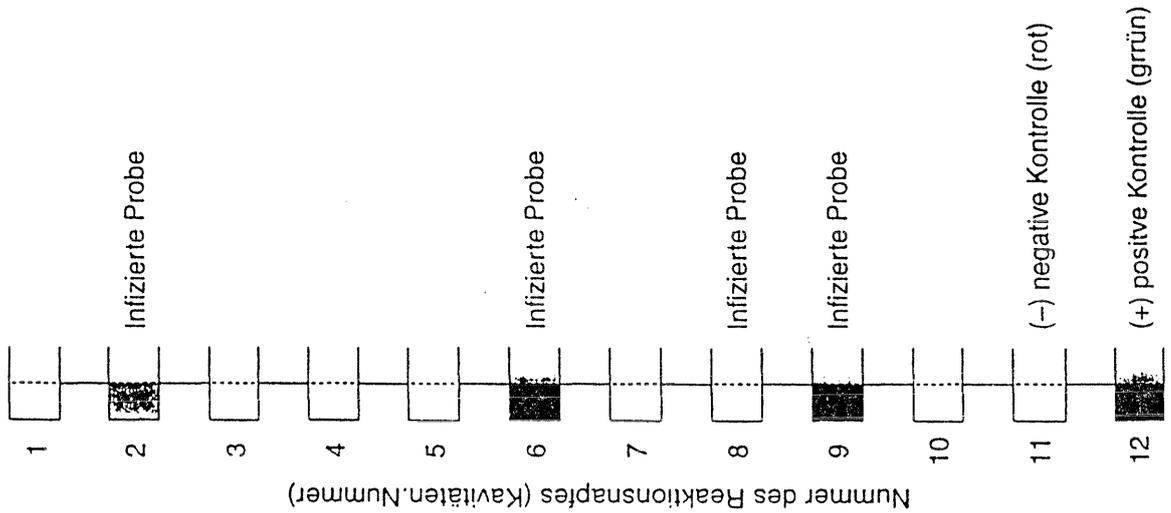
Voraussetzungen bei den Schülerinnen und Schülern:

Sie sollten

- die Zusammensetzung und die Funktion des Blutes kennen.
- den Bau und die Funktion der Leukozyten kennen.
- Grundkenntnisse über Antikörper und Enzyme besitzen.

Abb. 7: Typisches Ergebnis des ELISA-Tests

Die folgende schematische Darstellung des dritten Kavitäten-Streifens (Substrat) zeigt ein typisches Ergebnis. Im Näpfchen (11) der negativen Kontrolle (entsprechend dem grünen Punkt am Kamm) darf in keinem Fall eine Farbreaktion auftreten, im Näpfchen (12) der positiven Kontrolle (roter Punkt am Kamm) ist immer eine intensive Blaufärbung zu erkennen. Diese beiden Ergebnisse werden mit den Ergebnissen der Proben verglichen (Näpfchen 1 bis 10). Die Farbtönungen variieren je nach Befall des eingesetzten Pflanzenmaterials zwischen schwach und stark Blau.



Kopiervorlage 5: Abb. 6: Schülerarbeitsbogen Versuchsprotokoll

Proben Nr.	Identität (Herkunft, Name etc.)	Bemerkungen (Versuchsablauf etc.)	Ergebnis
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11	negative Kontrolle		(farblos)
12	positive Kontrolle		(blau)

II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 3: DNA-Extraktion aus Pflanzen- und Tierzellen		

Grundlagen: Dies ist eine grobe Methode, um DNA und RNA aus pflanzlichem Gewebe zu isolieren - sie zeigt die Grundprinzipien der DNA-Extraktion aus Geweben. Das Gewebe wird zunächst mechanisch zerkleinert, danach werden die Zell- und Kernmembranen durch die Tensidwirkung eines Haushaltsreinigers zerstört. Die Zellreste werden herausgefiltriert, die Nukleinsäuren gelangen durch die groben Poren eines Kaffeefilters ins Filtrat. Mit Hilfe von eiskaltem Spiritus oder Ethanol wird die DNA dehydratisiert, dadurch unlöslich und deshalb in Form von weißlichen Fäden sichtbar.

Materialien: 250mL-Becherglas, großer Trichter, Kaffeefilterpapier, Messer, 50mL-Messzylinder, großer Mörser mit Pistill, Pipette, 2 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Schneideunterlage, eventuell Gabel.
Reife Kiwi (oder Zwiebel, Tomate, Banane), Extraktionspuffer, eiskalter Spiritus, eventuell Toluidinblau.

Durchführung:

1. Eine halbe Kiwi (Zwiebel, Tomate) mit dem Messer in kleine Würfel schneiden (oder ein Viertel einer Banane mit der Gabel zerdrücken) und ins Becherglas geben.
2. 30 mL Extraktionspuffer dazugeben. Pufferzusammensetzung:
 - 44 g Natriumcitrat-dihydrat
 - 8,8 g Kochsalz
 - 100 mL Spülmittel
 - mit Wasser auf einen Liter auffüllen.
3. Das Gemisch 5 - 10 min lang bei Zimmertemperatur stehen lassen.
4. Den Inhalt des Becherglases mindestens 5 min lang gut zerreiben (Mörser + Pistill).
5. Die erhaltene Suspension durch einen Kaffeefilter in ein Reagenzglas filtrieren
⇒ Filtrat.
6. Ein zweites Reagenzglas ca. 2 cm hoch mit eiskaltem (!) Spiritus füllen.
7. Mit einer Pipette vorsichtig etwa ebenso viel Filtrat am Rand des Reagenzglases entlang in den Spiritus hineintropfen.

Die nun unlösliche DNA ist als weißlicher Klumpen sichtbar.

8. Nach dem Isolieren des Klumpens kann die DNA mit Toluidinblau angefärbt werden - vorher wird die Flüssigkeit am besten abdekantiert. Der Nachweis ist positiv, wenn sich der Klumpen nach Zugabe von Wasser nicht mehr entfärben lässt.

II	Molekularbiologische Versuche	S II
Versuch 3: DNA-Extraktion aus Pflanzen- und Tierzellen (Fortsetzung)		

Hinweise und Variationen:

Kiwi enthält mehr **Proteasen** als die anderen o.a. Pflanzlichen Gewebe, so dass die Nucleinsäuren nach der Fällung ohne allzu viel Eiweißverunreinigungen vorliegen.

Um Nucleinsäuren und Proteine zu trennen, kann man auch vor Schritt 7 einige Tropfen Protease-Enzyme (z.B. Neutrase von Novo Nordisk) zugeben oder 3 g Fleischzartmacher („Meattenderizer“ bzw. Papain) oder einige mL frischen Ananassaft (enthält auch Proteasen).

Variation zu 6./7.: Ein Reagenzglas ca. 2 cm hoch mit Filtrat füllen.
Die gleiche Menge eiskalten Spiritus vorsichtig auf die Oberfläche des Filtrats gießen.
Die Nucleinsäuren fallen in der oberen Alkoholschicht aus.

Isolierung von DNA aus tierischem Gewebe:

Soll DNA aus tierischem Gewebe gewonnen werden, so eignen sich gut: Kalbsbries, Pankreas von Kalb oder Lamm, Leber, Dorschrogen.
Vorgehensweise wie oben geschildert, doch wird bei der Zerkleinerung mit Mörser und Pistill Seesand zugesetzt.

Literatur:

- EIBE European Initiative for Biotechnologie Education 1997: Unit 1: Microorganismen und Moleküle, 12-13
 Jungbluth, A.: BioTech mobil, PdN-Ch. 4/47. Jg. 1998, 28-31
 Braun, G. et al.: DNA-Extraktion aus Tomaten oder Bananen.
[Http://www.osa.s.bw.schule.de/gym/biologie/ARBEITSB/dna01.htm](http://www.osa.s.bw.schule.de/gym/biologie/ARBEITSB/dna01.htm)
 Bayrhuber H., Gliesche, C.G., Lucius, E.R.: DNA-Isolierung mit einfachen Mitteln. UB 151, Jan. 1990, 44
 Krotscheck, F.: Biotechnologie - Vorbereitungspraktikum. Int. Gesamtschule Heidelberg, 1998/99, 4-7

III	Molekularbiologie - Interaktiv experimentieren	S II
CD-ROM: Gentechnik virtuell		

Untertitel: Interaktiv experimentieren
Virtuell im Biozentrum der Universität Basel

Bestell-Nr.: ISBN 3-907168-04-6 (1998)

Preis: 98,50 DM

Teil	Thema / kurze Inhaltsangabe	Einsatz im Unterricht? (Autorenmeinung)
1	Grundwissen: Vermittlung anhand gut beschriebener mikroskopischer Aufnahmen und Modellen. Zelle, Chromosomen, Plasmid, Viren, Bakteriophagen, Gen, Genom, DNS, Puffer, Enzym, Restriktionsenzyme, Ligasen, Gelelektrophorese, Agarplatte, Interferon.	Für Einstieg oder Wiederholung gut geeignet.
2	Interaktives Experiment: Menschliche Zellen können Interferon bilden. Das Gen für Interferon wurde der menschlichen Zelle entnommen und in eine Bakterienzelle eingeschleust. Nun produzieren Bakterien Interferon. Mit Interferon kann Haarzellenleukämie wirksam bekämpft werden. - einfache Übersicht - Experiment zur Theorie und Hilfe - Experiment für Könner	Zur Motivation geeignet Zur Motivation geeignet Ungeeignet
3	Zur Produktion: Industrielle Produktion von Interferon - virtueller Rundgang durch die Produktion eines Medikamentes	Ungeeignet
4	Zum Biozentrum: Virtueller Rundgang durch das Forschungslabor im Biozentrum der Universität Basel	Bedingt geeignet
5	Zum Arzt: Kurzreferate zu 1. Anwendungen der Gentechnik in der Medizin 1.1 Gentherapie 1.2 Diagnose 1.3 Herstellung von Arzneimitteln 1.4 Transgene Tiere 2. Beispiel Interferon	Zur Motivation bzw. Abrundung des Themas sehr gut geeignet
6	Glossar: Begriffe zur Gentechnik	Gute Begriffsdefinitionen, aber Lehrbuch zum Nachschlagen von Begriffen besser geeignet

Rezensionen zu unserer CD
“GENTECHNIK”



Mit dieser CD-ROM werden Sie *Gentechnik leicht verstehen*. Der Hauptteil der CD ist ein *interaktives Experiment*, welches sehr wirklichkeitsgetreu durchführbar ist. Ziel des Experimentes ist die Herstellung von Interferon, welches als Medikament gegen Krebs und Viruserkrankungen eingesetzt wird. Das Experiment erlaubt eine *intensive Auseinandersetzung mit Theorie und Praxis der Gentechnik*. Sie haben damit die Möglichkeit, ein Experiment durchzuführen, welches in der Wirklichkeit drei bis vier Tage beansprucht. Das Programm braucht am Computer hingegen nur rund ein bis zwei Stunden zur Bewältigung. Theorie und Praxis werden nach und nach vermittelt. *Das Programm ist auch unabhängig von einer Lehrkraft benutzbar (ab 16 Jahre für Schüler und interessierte Erwachsene)*. Da keine Stellung zur politischen Auseinandersetzung eingenommen wird, kann man sich auf sachlicher Basis die eigene Meinung bilden.

(aus Chemie + Biologie 1/97)

Die Gentechnik erhitzt die Gemüter. Der Eingriff in die natürliche Erbmasse macht Angst, weil uns die technischen Zusammenhänge und Manipulationen hinter verschlossenen Laborportalen unheimlich sind. Die CD *“Gentechnik, interaktiv experimentieren”* nimmt sich dieser Thematik an. Auf einem virtuellen Spaziergang wandelt der Wissensdurstige durch das Biozentrum... . Keine Tür bleibt verschlossen. Ja, man wird sogar ermuntert, selber Hand anzulegen und den Zellbotenstoff Interferon zu extrahieren. ... Um zu begreifen, wie ein Darmbakterium dazu gebracht wird, Interferon zu erzeugen, ist Grundwissen gefragt. Solches erhält man jeweils als Einführung zu den Vorgehensphasen Restriktion, Ligation, Transformation und Selektion, sowie aus einem Glossar.

Leider drücken sich die Autoren um eine Auseinandersetzung mit den Gefahren solchen Tuns. Dennoch, wer von der Funktionsweise etwas versteht,

wird sich mit der Problematik besser auseinandersetzen. Denn mit Verteufeln auf der einen und dem Verharmlosen auf der anderen Seite ist der Gentechnik wenig gedient. *In diesem Sinn bietet die CD einen wertvollen Beitrag zum offenen Dialog.*

(aus Online PC Zeitung, 5/1997)

Ist Gentechnologie die größte Gefahr der Menschheit? Kann sein. Ganz bestimmt aber ein Gebiet, von dem die meisten nur Halbwahrheiten und Spekulationen kennen. Die CD-ROM *Gentechnik* wurde in Zusammenarbeit mit verschiedenen Spezialisten ... geschaffen. Der Inhalt gliedert sich in drei Teile. Zum einen wird Grundlagenwissen vermittelt, zum anderen können einige einfache Experimente mit der Maus nachvollzogen werden. ... *Tatsächlich schafften es die Macher, das Thema allgemeinverständlich darzustellen*. Im Informationsteil halten sich die Animationen und Multimedia-Spezialeffekte zwar in Grenzen, doch die einfachen Erklärungen und das hochwertige Bildmaterial entschädigen allemal. Die Oberfläche selbst präsentiert sich mit einem Minimum an Bedienungselementen und Übersichten, da die meisten Punkte direkt über die Menüs angesprungen werden. *Gentechnik* bietet eine Menge interessanter Informationen für alle, die ihr Allgemeinwissen aufpolieren möchten.

(aus Macworld)

Alleinvertrieb in Deutschland:



Art.-Nr.	Beeichnung	Preis/DM incl. MWSt
306	Gentechnik	98.50
506	Gentechnik (mit Verleihrecht für Bibliotheken)	349.00

VI	Anhang	
Literaturliste Teil 1		

Gentechnologie:

- Alberts, B. und andere: Molekularbiologie der Zelle, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1995
- Brown, T.A.: Gentechnologie für Einsteiger, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1995
- Buckel, P., Fischer, E. P., Nord, D.: Das Handwerk der Gentechnik, Serie Piper, München, 1991
- Dingermann, Th.: Gentechnik, Biotechnik, WVG, Stuttgart, 1999
- Drlica, K.: DNA und Genklonierung, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1995
- Fischer, E.P., Schleuning, W.-D.: Vom richtigen Umgang mit Genen, Serie Piper, München 1991
- Gassen, H. G., Minol, K.: Gentechnik, UTB, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1996
- Glick, B.R., Pasternak, J., J.: Molekulare Biotechnologie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 1995
- Gründel, J.: Spannungsfeld: Ethik und Gentechnik, PdN-Ch8/47 Jg. 1998
- Haniel, A.: Zwischen Segen und Fluch, PdN-Ch 8/47. Jg. 1998, S.7-12
- Harms, U., Schalow, E.K.: Gentechnik und Medikamentenherstellung, PdN-Ch. 88/47.Jg. 1998, S. 13-19
- Jendrsczok, S., Lucius, E. R., Rojek, R.: Praktische Immunologie, PdN-Ch. 8/47. Jg. 1998. S. 20-31.
- Müller, M.: Gentechnik heute, PdN-Ch. 4/47. Jg. 1998, S 13-18.
- Müller, M.: Biotechnologie, was ist das?, PdN-Ch. 4/47. Jg. 1998, S. 6-9.
- Old, R. W., Primrose, S. B.: Gentechnologie - Eine Einführung, Thieme Verlag, Stuttgart, 1992
- Schallies, M., Wachlin, K. D. (Hrsg): Biotechnologie und Gentechnik, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1999

VI	Anhang	
Literaturliste Teil 1 (Fortsetzung)		

Watson, D. und andere: Rekombinierte DNA, Spektrum Akademischer Verlag,
Heidelberg, 1993

Winnacker, E.L.: Gene und Klone, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1987

IV	Anhang	
Literaturliste Teil 2		

Literatur zum ELISA-Test:

- Baron, D.: Anwendung monoklonaler Antikörper, UB, 219,1996, S. 51-53
- Bayer-research: Spürnasen für Virengene, Bayer-research, Ausg. 11,1999
- Bayrhuber und Kull, U. (Hrsg): Linder Biologie, Lehrbuch für die Oberstufe, Metzler Verlag, Hannover, 1998
- Bayrhuber, H., Lucius, E. R.: Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnologie, Bd.2., Metzler, Schroedel Verlag, Hannover, 1997
- Bömer, H.: Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, UTB, 518, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 1989
- Clark, M. F. und Adams, A. N. : J. Gen. Virol., 34, S. 475-483, 1977
- Deifel, A. und Lehmann, H.: Mit Antikörpern auf Spurensuche - Enzymimmunoassays in der chemischen Analytik, PdN- Chemie, 45, S. 7-14, 1996
- Dingermann, Th.: Gentechnik, Biotechnik, WVG, Stuttgart,1999
- European Initiative for Biotechnology Education (Hrsg): unit 8, „praktische Immunologie“
<http://www.eibe.org/u8.html>, mit Acrobat Reader lesbar
- Forth, W., Henschler, D., Rummel, W.: Pharmakologie und Toxikologie, BI Verlag, Mannheim, Zürich 1997, 1996
- Frank, R., Sommermann, U., Ströhla, G.: Natura, Genetik und Immunbiologie, Klett Verlag, Stuttgart, München, Düsseldorf, Leipzig, 1997
- Frommer, U., Wöllert, W: Immunbiologie, Schroedel Verlag, Hannover, 1995
- Götz, U.: Infektionsnachweis mit dem ELISA- Test, UB, 251/24, Jg., 1, 2000, S. 32-35
- Hänsch, G. M.: Einführung in die Immunbiologie, UTB, G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1986
- Hettenhofer, H-J.: Rheumatologie, Thieme, Verlag, Stuttgart, New York, 1986
- Hollings, M. und Stone, O. M.: Description of plant viruses, CMI/MB, 130, 4, 1974
- Jendrsczok, S., Lucius, E.R., Rojek, R.: Praktische Mikrobiologie, PdN/Ch 8/47 Jg
S.20-31

IV	Anhang	
Literaturliste Teil 2 (Fortsetzung)		

- Lucius, E. R., Steffens, U., und Labahn-Lucius, C.: Der ELISA-Kit, Steffens Biotechnische Analysen GmbH, Lehrerheft 1996
- Miriam, W., Scharf, K.-H., (Hrsg): Biologie heute SII, Schroedel Verlag, Hannover, 1997
- Mutschler, E.: Arzneimittelwirkungen, WVG Verlag, Stuttgart, 1991
- Prankl, K.: Die ansteckende Immunschwäche AIDS, UB, 152,1990, S. 26-31
- Roitt, I. M., Brostoff, J., Male, D. K.: Kurzes Lehrbuch der Immunologie, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1987
- Schallies, M., Wachlin, K. D., (Hrsg): Biotechnologie und Gentechnik, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1999
- Schettler, G.: Innere Medizin, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1989
- Stegner, H. E.: Gynäkologie und Geburtshilfe, Enke Verlag, Stuttgart, 1989
- Thews, G., Mutschler, E., Vaupel, P.: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, WVG, Stuttgart, 3. Aufl. 1989 und 5. Aufl. 1999
- VDBiol, (Hrsg): Infektionskrankheiten, Tagungsband VDBiol Forum, Uni Ulm, 14.10.1999
- Watson, J. D., Gilman, M., Withowski, J., Zoller, M.: Rekombinierte DNA, Spektrum Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1993

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 1		

Bezugsquellen für Mikroorganismen:

- DSM, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
Mascheroder Weg 16
38124 Braunschweig
Tel. 0531/2616-351
Fax. 0531/2616-418
- Schlüter KG, Haus für Biologie, Gerberstraße 11
71364 Winnenden
Tel. 07195/2205
- Firma A. Hedinger, Heiligenwiesen 26
70327 Stuttgart
Tel. 0711/402050
Fax. 0711/4020535

Weitere Bezugsquellen:

- Biorad Laboratories GmbH
Postfach 450133
80901 München
Tel. 089/31884-0
Fax. 089/31884-100
- Boehringer Mannheim GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Tel. 0800/759-2226
Fax. 0621/759-8509
- Eppendorf, Eppendorf Gerätebau GmbH
Barkhausenweg 1
22339 Hamburg
Tel. 040/538010

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 2		

- Fluka-Chemie
Sigma Aldrich GmbH
Geschäftsbereich Fluka
Grünwalder Weg 30
82041 Deisenhofen
Tel. 089/65130; 0130/2341
Fax. 089/6513-1165; 0130/847766

- C.A. Greiner und Söhne GmbH und Co. KG Kunststoffwerke
Galgenbergstr./ Postfach 1320
72622 Nürtingen
Tel. 07022/501-0

- W.C. Heraeus GmbH
Heraeusstr. 12-14, Postfach 1220
63450 Hanau am Main
Tel. 06181/35-1

- Hoffmann La Roche AG Diagnostica
Emil-Barell-Str.1
79639 Grenzach-Wylen
Tel. 07624/14355

- IPN- Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften
Olshausenstr. 62
24118 Kiel
Tel. 0431/880-3129

- E. Merck
Frankfurter Str.25, Postfach 4119
64293 Darmstadt
Tel. 06151/72-0

- Merck Labor und Chemie GmbH
Fraunhofer Str. 7
85737 Ismaning
Tel. 089/996548-0
Fax. 089/31884-100

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 3		

- Millipore GmbH
Hauptstr.71-79
65760 Eschborn
Tel. 06196/494-0

- NCBE
Whiteknights, PO BOX 228,
Reading, RG6,6AJ, UK
Tel. 0044 118 9873743
Fax. 0044 118 9750140
<http://www.rdg.ac.uk/NCBE>

- Novo Nordisk Biotechnologie GmbH
Gonsenheimerstr. 56a
55126 Mainz
Tel. 06131/947700

- Novo Nordisk Biotechnologie GmbH
August-Braun-Str. 8
88239 Wangen
Tel. 07522/912113

- Riedel de Haen AG
Wunstorfer Str.40
30926 Seelze
Tel. 05137/91979, 707-123

- Carl Roth GmbH und Co
Schoemperlenstr. 1-5
76185 Karlsruhe
Tel. 0130/5699
Fax. 9721/5606149

- Sartorius GmbH
Weender Landstr. 94-108
37075 Göttingen
Tel. 0551/308-1

VI	Anhang	
Adressenverzeichnis Teil 4		

- Schleicher und Schuell GmbH
Hahnestr.3, Postf.4
37586 Dassel
Tel. 05561/791-0
- Sigma Aldrich GmbH
Grünwalder Weg 30
82041 Deisenhofen
Tel. 0130/5155
Fax. 0130/6490
- Steffens Biotechnische Analysen GmbH
Baumgartenstrasse 5
79285 Ebringen
Tel. 0764 600254
Fax. 0764 600255