

Horizontaler Gentransfer durch gentechnisch manipulierte Organismen findet statt

Dr. Mae-Wan Ho und Prof. Joe Cummins

Übersetzung aus dem Englischen: Jutta Hercher

Pressemitteilung des „Institute of Science in Society“ ISIS vom 10.3.2008

Neueste Erkenntnisse bestätigen, dass Transgene auf Bakterien und sogar auf Pflanzen und Tiere überspringen, wie es von den Mitarbeitern unseres Instituts vorausgesagt worden ist.

Eine vollständige, mit Quellenangaben versehene Version dieses Berichts wurde, im Auftrag des ISIS an das USDA (United State Departement of Agriculture) übermittelt. Eine elektronische Fassung dieses Artikels mit sämtlichen Quellenangaben, sowie anderer Artikel des ISIS sind gegen eine Gebühr von 3.50 engl. Pfund zu beziehen über report@i-sis.org.uk

Gentechnik, horizontaler Gentransfer und das Auftauchen von Infektionskrankheiten.

Die Gentechnik erzeugt eine große Menge transgener DNS, die sich ausbreiten kann, nicht nur durch Auskreuzen während der Fortpflanzung gleicher oder verwandter Arten, sondern auch durch die direkte Aufnahme der transgenen DNS über die Artgrenzen hinweg, ein Vorgang, der als horizontaler Gentransfer bezeichnet wird. Schon seit Ende der 90er Jahre haben wir die Regulierungsbehörden bei verschiedenen Anlässen gewarnt: „Horizontaler Gentransfer – die versteckten Gefahren der Gentechnik“ (1) und „Gentechnik – Traum oder Albtraum“, (2-4) (*Genetic Engineering – Dream od Nightmare*, ISIS-Veröffentlichung). Doch die zuständigen Stellen und ihre wissenschaftlichen Berater haben stetes vehement bestritten, dass horizontaler Gentransfer stattfindet und gingen fälschlicherweise davon aus, dass transgene DNS sich, wie jede DNS, außerhalb der Zelle schnell zersetzt.

In einem Artikel, den wir 1998 veröffentlichten (5), präsentierten wir umfangreiche Beweise, wonach DNS in diversen Umgebungen weiter besteht und tatsächlich von den Zellen vieler lebender Organismen aufgenommen werden kann. Wir forderten eine offizielle Untersuchung darüber, ob die kaum regulierte Freisetzung transgener Organismen und transgener

Nukleinsäuren in die Umwelt, seit dem Beginn der gentechnischen Manipulation Mitte der 70er Jahre, für das vermehrte Auftauchen neuer, durch Viren und Bakterien verursachter Krankheiten und die zunehmende Resistenz gegen Antibiotika und Arzneimittel verantwortlich ist. Horizontaler Gentransfer und Rekombination sind die Haupttrouten für die Entstehung neuer Krankheitserreger und die sich ausbreitenden Resistenzen gegen Antibiotika. Denn tatsächlich ist die Gentechnik nichts anderes als die breit angelegte Vereinfachung von horizontalem Gentransfer und Rekombination.

Transgene DNS unterscheidet sich von natürlicher DNS und verbreitete sich leichter

Regulierungsbehörden wehren unsere Bedenken häufig mit dem Argument ab, dass die Sicherheit der Nukleinsäuren weitgehend anerkannt sei. RNS und DNS seien Teil der Lebensmittel, die wir konsumieren. (6) (*USDA FONSI for Transgenic Poplars Absurd & Dangerous*, SiS 38). Dabei geht man davon aus, dass sich transgene DNS (oder RNS) nicht von natürlichen Nukleinsäuren unterscheidet und folglich auch keine höhere Bereitschaft zeigt, sich durch horizontalen Gentransfer auszubreiten.

Doch zweifellos unterscheidet sich transgene DNS von natürlicher DNS; nicht nur enthält sie neue Kombinationen von Genen, sondern auch neue, synthetische Gene, die während der Jahrmillionen der Evolution nicht existierten: neu-codierende Sequenzen, Promoter und nicht-codierende, regulierende Sequenzen, die die Genexpression auf einen unnatürlich hohen Level ansteigen lassen.

Darüber hinaus gibt es Anlass für die Vermutung, dass transgene DNS sich leichter horizontal ausbreitet und rekombiniert als natürliche DNS (7) (*Living with Fluid Genome*, ISIS-Veröffentlichung). Die Hinweise darauf haben sich verdichtet, auch wenn es dazu immer noch sehr wenige dezidierte Untersuchungen gibt.

Transgene DNS breitete sich leichter horizontal aus

1. Transgene DNS ist dafür konstruiert, in fremde Genome einzudringen, oft über ein virales oder bakterielles Plasmid, das sich in das Genom integriert.
2. Transgene DNS neigt zu struktureller Instabilität und weshalb sie leicht zerbricht und sich neu zusammensetzt. Während des Transformationsprozesses entstehen diverse

Veränderungen wie Auslöschungen, Verdoppelungen oder andere Umgruppierungen, die sich im Wirtsgenom ausbreiten; und diese Effekte sind teilweise auch verantwortlich für die Instabilität der transgenen Varianten. (8,9) (siehe *Transgenic Lines Unstable hence Illegal an Ineligible for Protection* und *MON810 Genome Rearranged Again, Stability of All Transgenic Lines in Doubt*, SiS 38)

3. Ein Mechanismus, der verhindert, dass transgene Konstrukte in ein Genom springen, verhindert, dass sie wieder herausspringen und sich an anderer Stelle oder in ein anderes Genom integrieren.
4. Die Ränder der T-DNS des *Agrobacterium*s, eines am häufigsten benutzten Vektors zur Herstellung transgener Pflanzen, sind Rekombinations-Hotspots (DNS-Abschnitte, die besonders leicht zerfallen und sich neu verknüpfen). Rekombinations-Hotspots werden auch mit dem CaMV-Promoter des Blumenkohl-Mosakivirus (Cauliflower Mosaic Virus CaMV) und vielen Transkriptionsterminatoren in Verbindung gebracht, was bedeutet, dass Teile oder die gesamte integrierte DNS eine erhöhte Neigung zum sekundären horizontalen Gentransfer und zur Rekombination haben (siehe Haupttext).
5. Der *Agrobacterium*-Vektor verbleibt in der transgenen Pflanze und kann so ein Vehikel für die „Genflucht“ sein, sowie Gene in viele Bakterien genauso wie in menschliche Zellen weiterverbreiten. (siehe Haupttext)
6. Transgene Konstruktionen neigen zur Integration in Rekombinations-Hotspots im Genom, was wiederum die Gefahr erhöht, dass sie sich lösen und horizontal verbreiten. (8)
7. Transgene DNS behält oft weitere genetische Signale wie z.B. den Replikationsursprung, die aus dem Plasmid-Vektor stammen. Auch das sind Rekombinations-Hotspots, die zudem die transgene DNS in die Lage versetzen, sich unabhängig zu replizieren, so wie ein Plasmid, das bereits horizontal zwischen Bakterien und anderen Zellen übertragen wurde.
8. Der Streß für den Stoffwechsel des Wirtsorganismus, verursacht durch die fortwährenden Hyperaktivierung der Gene durch aggressive Promotoren wie dem CaMV 35S-Promoter, erhöhen ebenfalls die Instabilität der transgenen DNS und erleichtert auf diese Weise den horizontalen Gentransfer.
9. Typisch für transgene DNS ist, dass sie ein Mosaik aus Kopien der DNS-Sequenzen vieler verschiedener Spezies und ihrer genetischen Parasiten ist. Diese Homologien oder

Übereinstimmungen bedeuten, dass sie vermehrt dazu neigt, sich mit dem Genom vieler verschiedener Spezies und ihrer genetischen Parasiten zu verbinden. Homologe Rekombination findet eintausend bis eine Million Mal häufiger statt als nicht homologe Rekombination, und kurze homologe Gensequenzen können als Anker fungieren, um nicht homologe Sequenzen zu binden. (siehe Haupttext)

Der CaMV 35S-Promoter ist in allen Spezies einschließlich der menschlichen Zellen aktiv

In 1999/2000 warnten wir die Regulierungsorgane vor dem CaMV 35S-Promoter, der in praktisch jeder kommerziell hergestellten transgenen Nutzpflanze vorhanden ist. Ein Promoter liefert das notwendige Signal für die Genexpression. Der CaMV 35S-Promoter wird in vielen Transgenen benutzt. Er hat einen Rekombinations-(Fragmentierungs)-Hotspot, der den horizontalen Transfer der transgenen DNS steigert, gleichzeitig aber die transgene DNS und die transgenen Linien instabil macht. (10, 11). Hinzu kommt, dass im Gegensatz zur bisher verbreiteten Annahme, der CaMV 35S-Promoter sei nur in Pflanzen und pflanzenähnlichen Organismen aktiv, er tatsächlich in Spezies quer durch die lebendige Welt aktiv ist, also auch in tierischen und in menschlichen Zellen. (12) Folglich hat er das Potential, schlafende Viren zu aktivieren und Krebs auszulösen, wenn er neben bestimmten Krebs-verursachenden „Proto-Onkogenen“ landet. Inzwischen konnte gezeigt werden, dass der CaMV 35S-Promoter sogar in menschlichen enterozyten-ähnlichen Zellen aktiv ist. (13) Eine offenkundige transgene Instabilität tritt auch hier in Erscheinung, der CaMV 35S-Promoter repräsentiert eine Hauptbruchstelle. (14, 15) (*Transgenic Lines Proven Unstable*, SiS 20), genau wie wir es vorhersagten.

***Agrobacterium*-Vektor als Vehikel für „Genflucht“**

Außerdem lieferten wir Hinweise, die deutlich machen, dass die am weitesten verbreitete Methode zur Herstellung transgener Pflanzen gleichzeitig als Bahn für den horizontalen Gentransfer fungiert. (16, 17)

Agrobacterium tumefaciens, das Bodenbakterium welches Wurzelhalsgallen hervorruft, wurde zum Hauptvektor für die Genübertragung bei der Herstellung transgener Pflanzen. Die fremden Gene werden dabei in die T-DNS eingespleißt, die Teil eines Plasmids des

Agrobacterium tumefaciens ist und als Ti (Tumor-induzierend) bezeichnet wird. Sie wird schließlich in das Genom der Pflanzenzelle integriert, aus der sich später ein Tumor entwickelt.

Doch weitere Untersuchungen haben ergeben, dass der Prozess, bei dem *Agrobacterium*-T-DNS in die Pflanzenzelle induziert, stark der Konjugation ähnelt, dem direkten Austausch genetischen Materials zwischen zwei miteinander verbundenen Bakterienzellen.

Die Konjugation, durch bestimmte bakterielle Plasmide ermöglicht, benötigt eine Sequenz, die als Replikationsursprung (*oriT*) bezeichnet wird und sich auf der übertragenen DNS befindet. Alle anderen Funktionen können aus nichtverbundenen Quellen bereitgestellt werden, übergeben an Transaktionsfunktionen oder *tra*-Gene. Somit können auch „entschärfte“ Plasmide, die keine Transaktionsfunktionen haben, trotzdem von „Helfer“-Plasmiden übertragen werden, die den genetischen Code für eine Transaktionsfunktion in sich tragen. Und das bildet die Basis für ein kompliziertes Vektor-System, das erfunden wurde, um mithilfe der T-DNS des *Agrobacterium*s diverse gentechnisch veränderte Pflanzen zu erzeugen.

Bald wurde bekannt, dass der linke und der rechte Rand der T-DNS dem Replikationsursprung *oriT* gleich und von ihm ersetzt werden kann. Darüber hinaus kann einer „entwaffneten“ T-DNS, die ihre Transaktionsfunktion verloren hat (virulente Gene, die zur Entstehung von Krankheiten beitragen), von ähnlichen Genen geholfen werden, die zu vielen anderen pathogenen Bakterien gehören. Es scheint, dass sowohl das Reich der Genübertragung durch das *Agrobacterium* als auch das konjugative System der Bakterien am Transport von Makromolekülen beteiligt sind, nicht nur von DNS, sondern auch von Proteinen.

Das bedeutet, dass transgene Pflanzen, die durch das T-DNS-Vektorsystem geschaffen wurden, eine fertige Bahn für die horizontale „Genflucht“ besitzen, via *Agrobacterium* und unterstützt durch normale Konjugationsmechanismen diverser anderer pathogener Bakterien, die in der Umwelt präsent sind.

Tatsächlich wurde die Möglichkeit, dass das *Agrobacterium* als Vehikel für die horizontale „Genflucht“ dient, 1997 in einer Studie, die von der britischen Regierung unterstützt wurde, zum ersten Mal zur Sprache gebracht. (18, 19) Hier wurde es auch als extrem schwierig beschrieben, das *Agrobacterium* nach der Umwandlung wieder aus dem Vektorsystem zu entfernen. Auch durch die Behandlung mit einem Arsenal von Antibiotika und durch die

wiederholte Kultivierung der transgenen Pflanzen über 13 Monate konnte das Bakterium nicht aus den Pflanzen entfernt werden. Außerdem enthielt 12,5 % der verbleibenden *Agrobacterien* immer noch den binären Vektor (T-DNS und Helfer-Plasmide) und waren folglich *vollständig in der Lage, andere Pflanzen zu transformieren*.

Das *Agrobacterium* überträgt nicht nur Gene in die Pflanzenzellen; es besteht auch die Möglichkeit der Rückübertragung von DNS *aus* der Pflanzenzelle *in* das *Agrobacterium*. (20) Hohe Raten des Gentransfers finden in den Wurzelsystemen der Pflanzen und der keimenden Saat statt, wo die Konjugation am wahrscheinlichsten ist. (21) Hier kann das *Agrobacterium* transgene DNS vervielfältigen und auf andere Bakterien übertragen, genauso wie auf die nächste Generation angepflanzter Feldfrüchte. All diese Möglichkeiten müssen empirisch untersucht werden.

Schließlich heftet sich das *Agrobacterium* an verschiedene menschliche Zelllinien und kann sie genetisch verändern. (22) In dauerhaft veränderten HeLa-Zellen (eine menschliche Zell-Linie, die ursprünglich von einem Krebspatienten stammt) passiert die Integration der T-DNS am rechten Rand, genau da, wo es auch in ein Pflanzenzellengenom übertragen wird. Das legt nahe, dass das *Agrobacterium* menschliche Zellen durch einen ähnlichen Mechanismus verändert wie Pflanzenzellen.

Das Problem des *Agrobacteriums* als Vehikel für den horizontalen Gentransfer bleibt bis heute ungelöst.

Beweise für horizontalen Gentransfer auf Bakterien werden geleugnet und verharmlost

Schon 1999 gab es Hinweise, dass horizontaler Gentransfer aus transgener DNS stattfindet, nicht nur in den Labors, sondern auch im Freiland. (23) Unglücklicherweise waren die Forscher damals als Wissenschaftler zu vorsichtig und verleugneten schließlich die ersten offensichtlichen Anzeichen, dass transgene DNS sich horizontal von Pflanzen auf Bodenbakterien übertragen kann. (24) Obwohl doch gerade die Einhaltung des Vorsorgeprinzips die Forscher dazu hätte veranlassen müssen, zu betonen, dass diese Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann.

Häufiges Vorkommen von horizontalem Transfer transgener Pflanzen-DNS wurde bei Bodenbakterien wie *Pseudomonas stutzeri* und *Acinetobacter sp.* nachgewiesen, wenn die transgene Pflanzen-DNS Sequenzen enthält, die eine gleiche oder ähnliche DNS-Abfolge

haben wie die der Bakterien. (25) Wiederum betonen die Autoren, dass der Transfer „stark von homologen Sequenzen abhängt.“ Das vermittelt Uninformierten ein falsches Gefühl von Sicherheit, verschweigt es doch, dass Homologien bei vielen verschiedenen Bakterien und Viren vorkommen, die deshalb untereinander in hohem Maße zu horizontalem Gentransfer und Rekombination in der Lage sind. (24)

Wir lenkten die Aufmerksamkeit auf Anzeichen für den erhöhten horizontalen Transfer von transgener DNS in unserem Bericht über einen Freilandversuch mit transgenen Algenarten. (26, 27) (*Molecular Pharming by Chloroplast Transformation, GM Pharmaceuticals from Common Green Alga*, SiS 27) Die Genehmigungsbehörden von Hawaii sollten bei einem geplanten Freilandversuch auf die Gefahr aufmerksam gemacht werden, dass eine transgene Algenart, *Chlamydomonas reinhardtii*, die eine Reihe von pharmazeutischen Proteinen, in Chloroplasten integrierte Transgene, produzieren soll, gleichzeitig eine große Anzahl Kopien der transgenen DNS pro Zelle herstellt. Wir wiesen darauf hin, dass DNS in allen Umgebungen überlebt, sowie auf die Transformation durch direkte Aufnahme von DNS als eine Hauptbahn des horizontalen Gentransfers zwischen Bakterien. (25) Die großen Ähnlichkeiten (Homologien) zwischen den transformierten Chloroplasten in transgener *Chlamydomonas reinhardtii* und dem Genom der Bakterien lässt einen weiteren Anstieg des horizontalen Gentransfers erwarten.

Tatsächlich fanden Forscher der Universität Oldenburg heraus, dass horizontaler Gentransfer auch bei nicht-homologer DNS in relativ hohem Maße auftritt, wenn eine homologe DNS-„Anker-Sequenz“ vorhanden ist, die nicht mehr als 99 Basenpaare lang ist. (28) In einem 2004 veröffentlichten Bericht listen die Forscher 87 Formen von natürlich transformierbaren Bakterien auf (29), die 2 % aller bekannten Arten repräsentieren. Und transgene DNS kann sich nicht nur über Wurzeln und Pflanzenreste, sondern auch über Pollen verbreiten, die auf Felder fliegen, auf denen nie eine transgene Pflanze kultiviert wurde. Die Autoren haben außerdem eine Technik für ein Bio-Monitoring entwickelt, um transgene DNS zu ermitteln, die durch Transformation eines Bakterienstamms durch ein doppeltes Cross-over zwischen der transgenen DNS und dem Bakterienchromosomen entstanden ist, theoretisch ein wesentlich selteneres Ereignis als das einfache Cross-over. Diese Technik des Bio-Monitoring ist ebenso genau wie eine normale Polymerase-Kettenreaktion (PCR), um kleinste Mengen von DNS zu ermitteln, die zeigen *dass horizontaler Transfer transgener DNS kein seltenes Ereignis ist*. Das kollidiert mit der Schlussfolgerung im selben Bericht, dass „jeder der vielen Schritte, die nötig sind, von der Freisetzung einer intakten DNS aus einer

Pflanzenzelle bis zur Integration in ein prokaryotisches Genom, eine so geringe Wahrscheinlichkeit hat, dass ein erfolgreicher Transfer extrem selten ist.“

Forscher der Cardiff University in Großbritannien haben bestätigt, dass horizontaler Transfer von transgener DNS in einer nachweisbaren Menge vorkommt, indem sie ein ähnliches System benutzten. (30) Transgene Sequenzen mit Kanamycin-Resistenz (*nptII*) und grün fluoreszierendes Protein (*GFP*) werden von ihren eigenen bakteriellen Promotern gesteuert. Die Empfänger sind Bakterien, die eine Kopie dieser zwei Gene haben mit Löschung im 3'-terminalen Ende, was die Markeraktivität aufhebt. Die erfolgreiche Rekombination zwischen den Pflanzentransgenen und dem Bakteriengenom hatte die Restauration der Marker zur Folge, festgestellt durch Antibiotika-Selektion und Fluoreszenz. Messbare Transformationshäufigkeit wurde auch unter zunehmend komplexen Bedingungen erreicht, die sich den Freilandbedingungen annäherten. In einem sterilen Bodenmikrokosmos, wurde eine Transformation mit reiner Pflanzen-DNS von $3,6 \times 10^{-8}$ festgestellt und in Bodenblättern von $2,5 \times 10^{-11}$ Transformationen pro Empfänger; für nicht sterile Böden bei Nutzung reiner Pflanzen-DNS war die Häufigkeit der Transformation $5,5 \times 10^{-11}$ pro Empfänger.

Hinweise haben sich weiter verdichtet (31) (*Horizontal Gene Transfer Happens II*, ISIS Bericht), dass transgene DNS aus Nahrungs- und Futtermitteln in tierische und menschliche Zellen übertragen werden kann (32) (*DNS in GM Food&Feed*, SiS 23). Verschiedene Studien dokumentieren das Überleben der DNS aus Futtermitteln im Darmtrakt von Mäusen und Schweinen (33, 34), im Pansen von Schafen (35), und im Zwölffingerdarm und Pansen von Rindern (36), in unterschiedlichen Mengen durch PCR-Analyse.

Im einzigen, mit freiwilligen Versuchspersonen [z.T. mit künstlichem Darmausgang] durchgeführten Test (37), wurde bei einer einzigen Malzeit mit gentechnisch verändertem Soja mit ca. 3×10^{12} Kopien des Sojagenoms, konnte das komplette 2 266Bp des epsps-Transgens im Kolostoma-Beutel bei sechs von sieben Patienten mit künstlichem Darmausgang nachgewiesen werden, allerdings in sehr unterschiedlichen Konzentrationen, von 10^{11} Kopien (3,7 %) bis zu 10^5 Kopien. Das ist ein deutliches Anzeichen, dass DNS im Verdauungstrakt nicht sofort zerstört wird und bestätigt frühere Forschungsergebnisse derselben Gruppe. Bei drei der sieben Patienten mit künstlichem Darmausgang, wurden ca. 1 bis 3 pro eine Million Bakterien aus dem Inhalt des Kolostoma-Beutels positiv auf das GM-Soya-Transgen getestet, ein Indiz, dass horizontaler Gentransfer transgener DNS stattgefunden hatte, entweder, wie behauptet, bevor die einzige Malzeit eingenommen wurde, oder als Resultat aus der Gensoja-Mahlzeit, eine Möglichkeit, die nicht ausgeschlossen

werden kann (32). Interessanterweise wurden keine Bakterien gefunden, die nicht-transgene Soya-DNS aufgenommen hatten, was nahe legt, dass transgene DNS aus den oben erwähnten Gründen leichter übertragen werden kann.

Keine transgene DNS wurde dagegen in den Ausscheidungen der 12 gesunden Testpersonen festgestellt. Entweder war die verbliebene DNS vollständig zerstört worden, wie die Forscher behaupteten, oder andere nachweisbare Teile gelangten vom Darm in die Blutbahn (31). Die Forscher haben den Nachweis über das Vorhandensein von transgener DNS in der Blutbahn nicht geführt. Es ist bereits bekannt, dass Material aus der Nahrung in die Lymphozyten gelangt, indem es die Darmwand direkt durchdringt. Teile von Pflanzen-DNS wurden in den peripheren Lymphozyten im Blut von Kühen nachgewiesen (38). Durch das Blut kann die DNS zu den Gewebezellen transportiert und von ihnen aufgenommen werden, was schon seit Experimenten aus den späten 90er Jahren bekannt ist. Transgene und virale DNS, die an Mäuse verfüttert wurde, fand sich in den Zellen verschiedener Gewebe (39). Und wenn sie an schwangere Mäuse verfüttert wurde, konnte die DNS die Placenta durchdringen und fand sich in Föten und Neugeborenen (40). Auch DNS aus aufgenommenen Futterpflanzen wurde in Gewebezellen transportiert (41).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse zeigen, dass horizontaler Transfer von transgener DNS stattfindet, sowohl im Boden als auch im Verdauungstrakt, auch wenn viele Wissenschaftler nicht Willens oder in der Lage sind, diese Tatsache anzuerkennen, oder sie herunterspielen indem sie behaupten, es hätte eine „geringe Wahrscheinlichkeit“ und sei „extrem selten“. Doch aktuelle Hinweise zeigen, dass diese Vorgänge bisher weitgehend unterschätzt wurden.

Hinweise, dass horizontaler Transfer von transgener DNS weitgehend unterschätzt wurde

Ein Team von Forschern unter der Leitung von Aurora Rizzi an der Universität von Mailand, entwickelte eine Strategie, um eine Transformation im Bodenbakterium *Acinetobacter baylyi* BD413 *in situ* durch Markierung mit dem grün-fluoreszierenden Protein (GFP) nachzuweisen (42). Transformierte Bakterien, die auf dem Pflanzengewebe wachsen, können erkannt und mithilfe eines Fluoreszenz-Mikroskops direkt gezählt werden. Mit dieser Methode konnten die Forscher zeigen, dass mit konventionellen Methoden, bei der die Transformanten auf einer

antibiotikahaltigen Nährlösung kultiviert werden, die Häufigkeit der Transformation um ein hundertfaches unterschätzt wird.

Der Schritt der Kultivierung zerstört das Originalmaterial, so dass weder Information über die spezielle Position des Gentransfers gewonnen werden kann, noch über die Interaktion zwischen Bakterien und dem transformierenden Material einschließlich der Spender-DNS. So ist es nicht möglich, die Hotspots der Transformation in komplexen Umgebungen wie dem Boden oder der Pflanze zu lokalisieren. Außerdem können mit den konventionellen Labortechniken nur Zellen isoliert werden, die sich kultivieren lassen (vermutlich weniger als ein Prozent der existierenden Bodenmikroben).

Die Reporter-Gene werden mit dem grün-fluoreszierenden Protein (GFP) versehen, das nicht ausgedrückt wird infolge einer Löschung des Promoters und das in der transgenen DNS präsent ist. Wenn nun das entsprechende Stück der transgenen DNS in die korrekte Position gebracht wird – was geschieht, weil die Löschung von Sequenzen flankiert wird, die homolog zur transgenen DNS sind, zeigt sich das GFP und erleuchtet die Zellen unter dem Fluoreszenz-Mikroskop.

Mit dieser Technik können die Forscher aktuelle Transformationsereignisse in einem Membranfilter und in faulenden Tabakblättern und Wurzeln lokalisieren. So liegt die Häufigkeit der gemessenen Transformationen schließlich um zwei Größenordnungen höher als bei der Kultivierung auf Nährstoffplatten.

In faulenden Tabakblättern konnten transformierte Zellen in den Zwischenräumen zwischen den Hautzellen auf der Oberfläche der Blätter, nahe den Stoma (Poren für den Gasaustausch) an der Grenze zu anderen Hautzellen gefunden werden. Transformierte Bakterien wurden außerdem auf der Wurzeloberfläche gefunden.

Horizontaler Transfer in Pflanzen- und Tiergenome könnte in wesentlich größerem Umfang stattfinden

Während die Forscher für Biosicherheit sich auf den horizontalen Gentransfer von Pflanzen auf Bakterien konzentriert haben, bestätigen sich Anzeichen, dass Genome von höheren Pflanzen und Tieren sogar ein leichteres Ziel für horizontalen Gentransfer sein könnten, wenn transgene DNS von Zellen anderer Pflanzen aufgenommen wird und dann von Tieren und Menschen, die sich von Pflanzen ernähren. Wir haben bereits seit 2001 vor diesen

Möglichkeiten gewarnt, als Experimente in der „Gentherapie“ – Herstellung von transgenen menschlichen Zellen – zeigten, wie leicht transgene Konstruktionen von menschlichen und tierischen Zellen aufgenommen werden (43) (*Slipping Through the Regulatory Net: „naked“ and „free“ nucleic acids*).

Aktuelle Informationen über transgene *Arabidopsis* und Reis mit sequenziertem Genom, sowie die enormen Mengen von Resten aus Viren-DNS, Transposons, Retroelementen, Chloroplasten und Mitochondrien-DNS, die in diesen oder anderen Genomsequenzen gefunden wurden, überzeugt die Genetiker, dass (44): „Kerngenome von Pflanzen, wie die von anderen eukaryotischen Genomen, bereit sind, sich in nicht-homologe DNS zu integrieren“. „Illegitime Rekombination“, eine Rarität bei Prokaryonten, ist die Hauptbahn für transgene Integration in Eukaryonten. Mit anderen Worten, eukaryontische Genome, einschließlich des menschlichen Genoms, integrieren fremde DNS wesentlich bereitwilliger als bakterielle Genome. Wir haben versucht, zu ergründen, was die Konsequenz sein könnte (43): Die Aufnahme von Mutationen einschließlich Krebs, Aktivierung von schlafenden Viren und Rekombination mit Virus-Sequenzen, was neue Viren erzeugt.

Die Forschungen der letzten Jahre haben ergeben, dass entscheidende Mengen an DNS und RNS im peripheren Blutkreislauf zirkulieren, die von lebenden Zellen ausgeschieden wurden, und selbständig in der Lage waren, andere Zellen zu transformieren. Die Nukleinsäuren scheinen eine Rolle in der Entwicklung von Krankheiten und der Metastasierung von Krebs zu spielen. Auch in Pflanzen zirkuliert fremde und endogene Nukleinsäure (47), teilweise agieren sie als interzelluläre Boten. Es gibt deutliche Anzeichen dafür, dass transgene DNS zwischen Pflanzen von Insekten ebenso wie von Bodenbakterien transportiert werden kann; transgene DNS aus Nahrungsmitteln kann in den peripheren Blutkreislauf und in die Zellen gelangen.