

Biologie Kurs Q11 im G8, Didaktik

II Genetik: 5 Gentechnik

Thomas Nickl, Januar 2020

Inhalt:

Vorbemerkungen

5 Gentechnik

5.1 Werkzeuge der Gentechnik

5.1.1 Ligase

5.1.2 Reverse Transkriptase

5.1.3 Restriktions-Enzyme = Endonukleasen

5.1.4 Gensonden

5.1.5 Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

5.1.6 Genetische Marker

5.2 Künstlicher Gen-Transfer

5.2.1 Gentransfer mit modifizierten Plasmiden als Vektoren

5.2.2 Gentransfer mit modifizierten Viren als Vektoren

5.2.3 Klonierung

5.3 Anwendung der Gentechnik

5.3.1 Der genetische Fingerabdruck

5.3.2 Beispiele aus Tier- und Pflanzenzucht

5.3.3 Medikamenten-Herstellung

5.3.4 Gendiagnostik und Gentherapie beim Menschen

5.4 Neue Entwicklung: CRISPR/Cas

5.5 Herstellung von Impfstoffen

5.6 Ethische Aspekte*

5.7 Praktikum

*) Keine Inhalte, nur didaktischer Hinweis

Materialien:

(unter Materialien Oberstufe > Genetik > Humangenetik)

- 01 Umfragebogen
- 02 Informationsblatt: Werkzeuge der Gentechnik
- 03 Arbeitsblatt: Transfer der Gene für Humaninsulin
- 04 Informationsblatt: Gentransfer mit Vektoren
- 05 Arbeitsblatt: Aufgabe Genetischer Fingerabdruck

Vorbemerkungen:

Die Gentechnik ist ein zentrales Thema innerhalb der Genetik, weil ihre gesellschaftliche und wirtschaftliche Bedeutung in den kommenden Jahrzehnten stark steigen wird. Die meisten Menschen werden dazu eine emotionale bzw. ideologische Debatte führen, weil ihnen die Zusammenhänge nicht klar sind. Die Schule muss versuchen, an dieser Stelle Sachkompetenz aufzubauen – ein gewisser, wenn auch sicher nicht allzu großer, Prozentsatz der Bevölkerung sollte kompetent mitreden können.

Einerseits birgt die Gentechnik gewaltige Chancen, z. B. für die Ernährung der Weltbevölkerung angesichts des Klimawandels oder auf medizinischem Sektor, andererseits aber auch bedenkliche Risiken, z. B. durch das Einbringen der als Marker bedenkenlos verwendeten Resistenzgene gegen Antibiotica in die Natur bzw. nicht vorhersehbare Folgen durch künstlich

veränderte oder auch nur neu kombinierte Gene. Nur Wenige dürften verstanden haben, dass mittlerweile die stark von Zufällen abhängigen Methoden der „klassischen“ Gentechnik (Endonucleasen, Markergene) vom gezielt eingesetzten CRISPR/Cas-System abgelöst werden, das deshalb im Unterricht nicht fehlen darf, auch wenn es vom Lehrplan nicht erfasst ist, weil es noch zu jung ist.

Im Lehrplan steht eine beeindruckende Liste von gentechnischen Fachbegriffen, aber trotzdem müssen im Unterricht noch weitere auftauchen, sonst verstehen die Schüler die Vorgänge nicht. Als Prämisse für den Unterricht sollte gelten: Auch Schüler, die sich nicht für das Thema interessieren bzw. sich nicht die Mühe machen, die nicht immer einfachen Zusammenhänge zu verstehen, sollten am Ende das Gefühl mitnehmen, dass Gentechnik zwar wie jede andere Technik auch Gefahren birgt, aber auch enorme Chancen und dass sie kein Werk obskurer Zauberer oder gar des Teufels ist. „Bei uns bekommen Sie nur genfreie Nahrungsmittel“ – so ein Satz sollte am Ende jeder Kursteilnehmer als horrenden Unsinn entlarven können.

Ich gebe auch in diesem Abschnitt an verschiedenen Stellen Hintergrundinformation für die Lehrkraft, damit Sie nicht so lange recherchieren müssen. Manchmal kann es in der Erarbeitung hilfreich sein, wenn im Gespräch Zusammenhänge mit ein wenig Hintergrundinformation dargestellt werden; aber solche lediglich hinführenden Details sollten kein Lernstoff sein. Der soll sich immer nur auf die Kernaussagen beziehen. Wie immer und insbesondere hier gilt: Weniger ist mehr!

Das sollten Sie auch beachten, wenn Sie die sehr ausführlichen und teilweise sehr speziellen Artikel in den Schulbüchern lesen. Es hat keinen Sinn, zu sehr ins Detail zu gehen, weil die Schüler dadurch schnell verwirrt werden und auch weil solche Technologien im Detail sehr schnell überholt sind. Es kommt vielmehr auf die Grundprinzipien an. Ich gehe an verschiedenen Stellen im folgenden Text darauf ein, aber sicher nicht an allen.

Den Abschnitt Gentechnik gliedere ich weitgehend anders, als der G8-Lehrplan das vorschlägt. Das liegt nicht etwa daran, dass ich meinen alten G9-Plan nicht mehr ändern wollte, sondern dass die von mir vorgeschlagene Reihenfolge den Schülern das Lernen erleichtert. Damit sie sich verlässlich auf das Abitur vorbereiten können, sollte ihnen zusätzlich die Formulierung des Lehrplans angehängt werden:

G8-Lehrplan: Gentechnik

- Neukombination von Erbanlagen mit molekulargenetischen Techniken: Einbringen von Fremd-DNA in Wirtszellen (Viren und Plasmide als Vektoren), Selektion transgener Zellen durch Markergene, Klonierung
- bedeutsame Methoden der Gentechnik: Gensonden, cDNA, PCR
- Anwendung der Gentechnik: genetischer Fingerabdruck, Beispiele aus Tier- und Pflanzenzucht, Lebensmittel- und Medikamentenherstellung, Gendiagnostik und Gentherapie beim Menschen
- ethische Aspekte

5 Gentechnik

Im Kursunterricht geht es im Wesentlichen um die Frage, wie mit molekularbiologischen Methoden Erbanlagen mehr oder weniger gezielt neu kombiniert bzw. modifiziert werden können bzw. wie Allele von einem auf einen anderen Organismus übertragen werden können. Weitere Anwendungen werden nur kurz gestreift. Dabei sollen auch ethische Werte diskutiert werden (unter Einbezug wirtschaftlicher, medizinischer, gesellschaftlicher Aspekte), nicht zuletzt bei der Gendiagnostik.

*Vor allem, wenn Sie bei bestimmten Kursmitgliedern schon eine ablehnende Haltung gegenüber der Gentechnik festgestellt haben, ist es ratsam, eine Woche vor dem Einstieg in das Thema eine anonyme Kurzumfrage durchzuführen, entweder durch Ankreuzen vorgegebener Aussagen (**Umfragebogen**: beim Material) oder durch eigene Formulierung persönlicher Statements („Was bedeutet für mich „Gentechnik“?“).*

Einen guten **Einstieg** bieten Diabetes-Patienten, die auf Humaninsulin angewiesen sind. Die Schüler sehen sofort ein, dass es inhuman wäre, dieses Peptidhormon ausschließlich aus Spenderblut gewinnen zu wollen. Die kostengünstige Alternative des Schweine-Insulins (aus täglich in unermesslichem Maßstab anfallenden Bauchspeicheldrüsen von Schlachtschweinen) wird von bestimmten Menschen nicht vertragen; sie sind heute auf Human-Insulin angewiesen, das von gentechnisch veränderten Bakterien produziert wird. Es bedarf schon einer massiven Grundangst bzw. eines kompromisslosen Fundamentalismus, ihnen dieses Medikament verweigern zu wollen. Gleichzeitig leitet die Insulin-Problematik direkt über zur Behandlung der Reversen Transkriptase.

5.1 Werkzeuge der Gentechnik

Das Problem beim ersten Abschnitt besteht darin, dass sowohl die Vorgänge zur Neukombination von Erbanlagen als auch die dazu verwendeten Werkzeuge völlig alltagsfern und den Kursteilnehmern bislang noch nicht bekannt sind, so dass die Gefahr besteht, dass manche von ihnen im Unterricht schon bald nicht mehr mitgenommen werden. Um diesem Effekt entgegen zu wirken, schlage ich vor, die Besprechung der Werkzeuge und die ihrer Verwendung voneinander zu trennen. Ich habe jedenfalls gute Erfahrung damit gemacht.

Zum gezielten Nachschlagen (bei der Fülle an neuen Fachbegriffen wichtig) dient das **Informationsblatt**: Werkzeuge der Gentechnik

5.1.1 Die Ligase

Die Ligase ist ein Enzym, das benachbarte, aber nicht miteinander verbundene Nukleotide miteinander verknüpft. (In der Regel bereits bekannt von der Replikation.)

5.1.2 Die Reverse Transkriptase

Seit der Mittelstufe wissen die Schüler, dass eine Transkriptase nach der Vorlage einer DNA einen RNA-Strang herstellt. Dieses Wissen ist inzwischen so gut gesichert, dass ein „perverses“ Enzym, das genau das Gegenteil veranstaltet, keine Verwirrung mehr hervorrufen dürfte.

Fragestellung: Angenommen, das Gen für Human-Insulin wird direkt aus menschlicher DNA ausgeschnitten und in ein Bakterium eingesetzt. Wird das Bakterium anhand dieser Information Human-Insulin herstellen?

Antwort: Nein, weil es sämtliche Introns mit transkribiert und translatiert, so dass das Protein viel zu lang und damit untauglich wird.

Lösung: Es muss die Information der fertig gespleißten m-RNA in die Bakterien-DNA eingebracht werden. Dazu muss nach der Vorlage des m-RNA-Einzelstrangs ein DNA-Doppelstrang hergestellt werden.

Diese „rückwärts“ gerichtete Transkription übernimmt das Enzym **Reverse Transkriptase**.

Diese Information genügt im Allgemeinen. Wer es superexakt machen will, hält sich an die Abbildung auf Seite 135 von Fokus Biologie 11 (Cornelsen, 2009), die zeigt, dass die Reverse Transkriptase einen DNA-Einzelstrang erzeugt, der mit der ursprünglichen RNA einen Hybrid-Doppelstrang bildet, der anschließend in seine Einzelstränge getrennt wird, damit schließlich eine DNA-Polymerase den zweiten DNA-Einzelstrang zum bereits bestehenden produziert.

Herkunft: Dieser Enzymtyp wurde 1970 zum ersten Mal bei Retroviren beschrieben, die deshalb so heißen, weil sie ihr Erbgut in Form von RNA in sich tragen, die zuerst in DNA transkribiert werden muss, wenn die Wirtszelle neue Kopien von Viren-RNA sowie Viren-Proteine herstellen soll. Das heißt: Die Reverse Transkriptase wird bereits von der Natur bereit gestellt. Einschränkung: Die Gentechnik verwendet aus Viren gewonnene Reverse Transkriptasen, die nachträglich gentechnisch verändert wurden, so dass sie mit erheblich geringerer Fehlerquote arbeiten. (Natürliche Reverse Transkriptasen machen alle 1000 bis 10.000 Basen einen Fehler.)

Beispielbezug: Aus gesunden Zellen einer menschlichen Bauchspeicheldrüse gewinnt man fertig prozessierte m-RNA für Insulin. Eine Reverse Transkriptase stellt nach dieser Vorlage die entsprechende DNA (ohne Introns) her.

Lernziel: Die Schüler sollen wissen, dass Reverse Transkriptasen anhand der Vorlage einer einsträngigen RNA eine doppelsträngige DNA herstellen können. Und sie sollten ggf. ein konkretes Beispiel skizzieren können (ein RNA-Ausschnitt wird vorgegeben, die Schüler ergänzen den dazu passenden DNA-Doppelstrang). Um herauszustellen, dass die DNA anhand der Information einer RNA hergestellt worden ist, bezeichnet man sie als **cDNA** (complementary DNA, copy DNA) – ein Fachbegriff, der im G8-Lehrplan steht. (Weitere Details sind überflüssig und sollten weggelassen werden, denn es kommt noch sehr viel Neues auf die Schüler zu.)

Fachbegriffe:

- die Reverse Transkriptase
- die cDNA

5.1.3 Restriktions-Enzyme = Endonukleasen

„molekulare Schere“

restringere, lateinisch: zurückziehen, beschränken (hilft leider nicht für das Verständnis)

endo, griechisch: innen => eine Endonuklease spaltet eine Nukleinsäure (hier: DNA) nicht vom Ende her, sondern mittendrin

Ein **Restriktions-Enzym** (exakt: eine Restriktions-Endonuklease) ist ein Enzym, das DNA an einer besonders gekennzeichneten Stelle durchschneidet. In den meisten Fällen sind die Schnitte an den beiden DNA-Strängen versetzt, so dass ein Strang wenige Nukleotide länger ist als der andere. So ein überhängendes Ende wird als „**sticky end**“ bezeichnet.

Herkunft: Endonukleasen treten in vielen Bakterien und Archaeen auf. Ihr Zweck ist es, eingedrungene Viren-DNA durch Zerschneiden in kleinere Stücke unwirksam zu machen. (Die Fremd-DNA wird daran erkannt, dass sie nicht methyliert ist.)

Die Erkennungsstelle ist eine bestimmte Basensequenz. Es fällt auf, dass es sich dabei um sogenannte Palindrome handelt. In den Sprachwissenschaften ist ein Palindrom ein Wort, Ausdruck oder Satz, der von hinten gelesen genau so lautet wie von vorne. *Es hat immer für gute Auflockerung gesorgt, an dieser Stelle ein paar Palindrome zu projizieren (allerdings habe ich es mir immer verkniffen, einen Ausschnitt aus dem Gedicht „An Anna Blume“ von Kurt Schwitters zu zitieren: „Weißt du es Anna, weißt du es schon? Man kann dich auch von hinten lesen. Und du, du Herrlichste von allen, bist von hinten wie von vorne A---N---N---A.“)*:

- Otto / Anna / Hannah / Reittier / Lagerregal / Rotor / Rentner / Reliefpfeiler
- Ein Neger mit Gazelle zagt im Regen nie. (Sehr bekannt, aber politisch nicht mehr korrekt.)
- Die Liebe ist Sieger, stets rege ist sie bei Leid.
- Nie grub Ramses Marburg ein.
- Erika feuert nur untreue Fakire.
- Die Liebe ist Sieger; stets rege ist sie bei Leid.
- Ein güldne gute Tugend: Lüge nie!
- O, Genie, der Herr ehre dein Ego!

[u. a.: https://de.wikipedia.org/wiki/Liste_deutscher_Palindrome#Satzpalindrome_und_Satzfragmentpalindrome]

In der Molekulargenetik ist ein **Palindrom** ein DNA-Abschnitt, bei dem sich die Basensequenz der einen Stranges an gleicher Stelle in umgekehrter Richtung auf dem Gegenstrang findet.

Beispiele mit Schnittstelle, Kurzbezeichnung und Herkunft der Endonuklease:

	BamH I	Bacillus amyloliquefaciens
	EcoR I	Escherichia coli
	Hae III	Haemophilus aegyptius
	Pvu I	Proteus vulgaris
	Xba I	Xanthomonas badrii
	Hind III	Haemophilus influenzae

[<https://de.wikipedia.org/wiki/Restriktionsenzym#Klassifizierung>]

Hae III schneidet mit sogenannten glatten Enden, alle anderen Endonukleasen erzeugen sogenannte klebrige Enden (**sticky ends**), PVu I mit einer Länge von 2 Basen, die anderen hier dargestellten mit einer Länge von 4 Basen. *Die sticky ends werden an dieser Stelle vorgestellt und benannt, weiter unten wird ihre Bedeutung klar.*

Ich schlage vor, zunächst den Lehrplan abzuarbeiten und erst am Ende des Kapitels auf die Revolution einzugehen, die das CRISPR/Cas-System für die Gentechnik bedeutet.

Wenn eine Endonuklease an einer unerwünschten Stelle schneidet (z. B. mitten im Gen), dann wird eine andere Endonuklease verwendet, die das Gen unberührt lässt. Es sind Hunderte von unterschiedlichen Endonukleasen in Gebrauch.

Lernstoff: Eine Endonuklease (= ein Restriktions-Enzym) zerschneidet an bestimmten Nukleotid-Sequenzen (Palindromen) die DNA. Meist entstehen dabei überstehende Enden („*sticky ends*“).

Fachbegriffe:

- die Endonuklease = das Restriktions-Enzym (die Restriktions-Endonuclease)
- das Palindrom
- das *sticky end*

5.1.4 Gensonden

Problem: Endonukleasen zerschneiden lange DNA-Stränge in viele kurze Stücke; aber nur eines davon enthält das gewünschte Gen.

Lösung: Das DNA-Stück mit dem gewünschten Gen wird über eine Gensonde identifiziert und isoliert.

Eine Gensonde besteht aus einem kurzen, aber charakteristischen Stück einsträngiger DNA (seltener RNA), das komplementär zu einem kurzen Abschnitt auf dem codogenen Strang der gewünschten DNA ist. Diese Sonde wird an einem Träger-Molekül befestigt, z. B. auf Kunstharz.

Die Einzelstränge der DNA-Stücke werden voneinander getrennt und laufen (zusammen mit Wasser) an dem Träger vorbei. Der gewünschte Einzelstrang bleibt wegen der Paarung der komplementären Basen an der Sonde kleben und kann am Ende von dort wieder abgelöst werden.

Sonde:

C-A-G-A-C-G-T

Träger-
molekül

DNA-Bruchstück: -A-A-C-G-A-T-G-**G-T-C-T-G-C-A**-A-G-C-T-T-C-A-G-

Die charakteristischen Nukleotid-Sequenzen sind oft erstaunlich kurz. Ein Analog-Beispiel macht das plausibel:

PFELNIS ist eine Sequenz aus nur 7 Buchstaben, die aber wohl nur auf das Goethedicht „Wanderers Nachtlied“ passen dürfte (eine „Buchstaben-Sonde“):

Über allen Gi**PFELN** **I**st Ruh,
In allen Wipfeln Spürest Du
Kaum einen Hauch;
Die Vögelein schweigen im Walde
Warte nur, balde
Ruhest Du auch.

Kurze DNA-Sequenzen können künstlich aus Einzelnukleotiden hergestellt werden; längere DNA-Sequenzen werden meist durch reverse Transcriptase anhand einer m-RNA-Vorlage hergestellt.

5.1.5 Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

polymerase chain reaction

Problem: Von einem wichtigen DNA-Stück liegen nur wenige Exemplare vor bzw. nur ein einziges (beispielsweise beim „Einfangen“ eines DNA-Stücks mittels einer Gensonde, Erzeugung von cDNA mit Reverser Transkriptase, ein DNA-Stück nach mühevoller Veränderung seiner Nukleotidsequenz im Labor oder bei minimalen DNA-Spuren an einem Tatort).

Lösung: Dieser DNA-Abschnitt wird *in vitro* (also nicht in einer Zelle) repliziert, die Tochterstränge wieder und so weiter, bis nach einer Reihe von Replikations-Vorgängen eine große Menge an Exemplaren dieses DNA-Abschnitts vorliegen. Weil sich der Bestand an DNA nach jedem Replikations-Zyklus verdoppelt, steigt die Menge an DNA dabei exponentiell an (2^n mit n = Anzahl der Replikations-Zyklen; nach 30 Zyklen sind aus 1 DNA-Doppelstrang etwa $2^{30} =$ etwa 10^9 DNA-Doppelstränge entstanden).

Zweck der PCR: starke Vermehrung von DNA-Stücken, die ursprünglich nur in sehr geringen Anzahl vorliegen

(Hinweis: Viele Schüler sind dankbar für eine kurze Formulierung des Zwecks, weil sie von vorneherein die häufig gestellt Frage beantwortet: „Wozu ist das gut? Wozu soll ich das lernen?“)

Ablauf:

- „Schmelzen“: Auftrennung der doppelsträngigen DNA in ihre beiden Einzelstränge bei hoher Temperatur (94 bis 96 °C); hierbei trennen sich die Wasserstoffbrücken zwischen den Nukleotiden.
- Primer anfügen („Primer-Hybridisierung“): Abkühlung auf 55 bis 65 °C, Zugabe kurzer DNA-Einzelstrangstücke (sogenannte Primer), die komplementär zu einer kurzen Nukleotidsequenz am 3'-Ende der DNA-Einzelstränge sind und die sich dort anlagern.
- Zugabe von isolierten DNA-Nukleotiden; Replikation der Einzelstränge durch eine hitzestabile DNA-Polymerase, z. B. Taq-Polymerase (sie stammt aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus*) bei Temperaturen um die 70 °C, so dass daraus jeweils Doppelstränge entstehen (der Primer stellt den Anfang des neuen DNA-Einzelstrangs dar, an ihm arbeitet die Polymerase vom 3'-Ende her weiter); dieser Replikationsvorgang wird auch als „Elongation“ oder „Amplifikation“ bezeichnet (*ich sehe keinen Sinn darin, diese Begriffe zum Lernstoff zu machen*).
- erneute Auftrennung dieser doppelsträngigen DNA und weiter wie oben

Man nennt diese Methode eine Kettenreaktion (*chain reaction*), weil dieser Ablauf 20 bis 50 Mal hintereinander wiederholt wird und jeder neue Zyklus das Ergebnis der Vorrunde als Ausgangsmaterial verwendet.

Übliche Polymerasen denaturieren bei Temperaturen über 45 °C; deshalb wird eine Polymerase aus einem Organismus verwendet, der die hohen Temperaturen aushält (das aerobe Bakterium *Thermus* lebt in heißen Quellen und Geysieren z. B. im Yellowstone Park).

Die PCR läuft heute vollautomatisch in einem sogenannten Thermocycler ab.

Im Wikipedia-Artikel „Polymerase-Kettenreaktion“ finden Sie im Abschnitt „Theoretischer Ablauf“ eine gute Abbildung der Vorgänge.

Hintergrund-Information: Die Methode wurde 1983 von Kary Mullis entwickelt; zehn Jahre später erhielt er dafür den Nobelpreis für Chemie. Danach fragten sich viele Molekulargenetiker, warum sie nicht selbst drauf gekommen waren. Mullis verwendete ursprünglich eine Polymerase aus dem Darmbakterium *Escherichia coli*, die bei jedem Erhitzen zerstört wurde und danach frisch zugesetzt werden musste; die Replikation fand bei einer Temperatur um die 40 °C statt.

Weil die Taq-Polymerase teilweise fehlerhaft arbeitet, werden heute hitzestabile Archaeen-Polymerasen verwendet, die über einen effektiven Reparaturmechanismus verfügen.

Didaktischer Hinweis: *Der Lernstoff für die Schüler sollte möglichst wenig Fakten umfassen, um plakativ zu wirken. Die genauen Temperaturen sind meines Erachtens ebensowenig Lernstoff wie spezielle Bezeichnungen, die sonst nie wieder vorkommen (Taq, Amplifikation usw.) Wesentlich ist vielmehr, dass die Schüler ihr Vorwissen im neuen Kontext anwenden können und das Prinzip der drei Schritte im Zyklus sowie die exponentielle Vermehrung der DNA verstehen.*

Fachbegriffe:

- „Schmelzen“ von DNA
- der Primer
- die hitzeresistente DNA-Polymerase
- die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Eine sehr übersichtliche Abbildung zum Ablauf der PCR zeigt Linder Biologie 11, Schoedel 2009, auf Seite 132.

5.1.6 Genetische Marker

Problem: Ein Fremdgen = Spender-DNA (z. B. die cDNA für Humaninsulin) wird in Bakterien eingebracht. Das funktioniert aber nur selten. Es sollen diejenigen Bakterienzellen identifiziert und isoliert werden, die das Fremdgen erfolgreich in ihr ringförmiges Chromosom eingebaut haben.

Lösung: Das in die Bakterien eingebrachte DNA-Stück enthält zusätzlich zu dem erwünschten Fremdgen ein Markergen, an dem der erfolgreiche Transfer direkt erkennbar ist.

a) Antibiotika-Resistenz:

Das Markergen codiert ein Protein, welches das Bakterium gegen ein bestimmtes Antibiotikum resistent macht (z. B. indem es das Antibiotikum-Molekül zerschneidet oder chemisch verändert). Wenn das Fremdgen in die Bakterien eingebracht ist, versetzt man die Bakterien-Emulsion mit dem entsprechenden Antibiotikum. Antibiotika verhindern das Wachstum von Bakterien. Deshalb bilden nur Bakterien, bei denen der Gentransfer funktioniert hat, Kolonien. Diesen werden Bakterien entnommen und weiter vermehrt.

Vorteil: Identifikation und Isolierung erfolgen in einem einzigen Schritt; die Methode ist einfach und kostengünstig.

Problem: Auch wenn die Sicherheitsvorschriften dafür sorgen sollen, dass solche resistenten Bakterien nicht in die Umwelt gelangen, kann das nicht vollständig ausgeschlossen werden. Durch sogenannten horizontalen Gentransfer (zwischen zwei nicht zwangsläufig eng miteinander verwandten Bakterien-Arten) kann das Antibiotika-Resistenz-Gen u. a. in pathogene (= Krankheit auslösende) Bakterien gelangen, gegen die das Antibiotikum dann nicht mehr wirkt. Das ist ein wesentliches Hauptargument gegen die Anwendung der („klassischen“) Gentechnik.

Die Schüler müssen an dieser Stelle auf keinen Fall irgendwelche Namen gängiger Antibiotika lernen (wie Ampicillin oder Tetracyclin).

b) Farbstoffe

Eine Alternative ist die Koppelung des Fremdgens an ein Gen, dessen Genprodukt für die Herstellung eines Farbstoffs verantwortlich ist, der z. B. unter UV-Bestrahlung aufleuchtet. Nach dem Einbringen der Fremd-DNA werden die Bakterien plattiert. Durch wiederholte Zweiteilung entsteht aus jeder einzelnen Bakterienzelle eine makroskopisch sichtbare Kolonie. Nur aus leuchtenden Kolonien werden Bakterien entnommen und weiter vermehrt. (Kein Lernstoff: Aus den Medien bekannt ist das GFP-Gen, das für ein grün fluoreszierendes Protein codiert.)

Vorteil: Keine Probleme mit der nicht kontrollierbaren Verbreitung von Antibiotika-Resistenzen.

Nachteil: Identifikation und Isolierung erfolgen in zwei Schritten; die Methode ist umständlicher und deshalb teurer.

Eine Besprechung in dieser Tiefe genügt vollauf. Die Methodik des Blau-Weiß-Tests (vgl. natura 11, Klett 2009, S. 113) ist ziemlich komplex (weil eine Endonuklease das Gen zerstört, das für ein Enzym codiert, das einen farblosen Indikator in einen blauen Farbstoff verwandelt) und sollte deshalb nicht im Unterricht auftauchen.

5.2 Künstlicher Gentransfer

Erst im 21. Jahrhundert wurde aufgrund von Freiland-Untersuchungen verstanden, dass der horizontale Gentransfer bei Prokaryoten keine seltene Ausnahme darstellt, sondern sehr verbreitet ist. Die Übertragung von Genen in Zellen ganz anderer Organismen stellt also einen in der Natur verbreiteten Vorgang dar (natürlicher Gentransfer). Wird dieser Vorgang durch den Menschen gezielt durchgeführt, spricht man von künstlichem Gentransfer.

Ziel: Ein Gen (Fremdgen, Spendergen) soll in eine Zelle eingebracht werden, in der es zuvor nicht existiert hat. Dort soll das Gen in das Erbgut der Zelle eingebaut werden (bei Bakterien in das ringförmige Chromosom), damit es transkribiert wird. Das Transportmittel für das Spendergen nennt man „Vektor“, „Gen-Fähre“ oder „Gen-Taxi“.

Fachbegriffe:

- natürlicher und künstlicher Gentransfer
- das Fremdgen = das Spendergen
- der Vektor (= die Gen-Fähre = das Gen-Taxi)

Nachdem die Schüler die Werkzeuge der Gentechnik kennengelernt haben, sollen sie jetzt einen in der „klassischen“ Gentechnik üblichen Weg für einen künstlichen Gentransfer kennen lernen.

5.2.1 Gentransfer mit modifizierten Plasmiden als Vektoren

Kurze Wiederholung mit Visualisierung: Bakterienzellen enthalten ein größeres ringförmiges DNA-Stück, das Bakterien-Chromosom, daneben auch meist ein oder mehrere kleine ringförmige DNA-Stücke, die sogenannten Plasmiden (sing.: das Plasmid).

Neu: Plasmide (bzw. deren Kopien) werden immer wieder mit anderen Bakterien ausgetauscht; sie werden gelegentlich in das Bakterien-Chromosom eingebaut bzw. aus ihm ausgekoppelt. In der Natur besteht der Zweck der Plasmide offenbar darin, mit ihnen natürlichen horizontalen Gentransfer zu betreiben. Weil das zu neuen Kombinationen des Erbguts führt, handelt es sich dabei definitionsgemäß um einen sexuellen Vorgang. (Oft bilden Bakterienzellen zu diesem

Zweck rohrförmige Gebilde aus, in deren Inneren die Plasmid-DNA transportiert wird; man nennt diese Röhren „Sex-Pili“. Es können aber auch freie DNA-Stücke von Bakterien aus der Umgebung aufgenommen werden; dieser Vorgang heißt Transformation. Beides natürlich kein Lernstoff.)

Plasmide besitzen neben einem oder wenigen Strukturgenen bestimmte DNA-Abschnitte, die das Eindringen in ein Bakterium ermöglichen, DNA-Abschnitte für den Einbau des Plasmids in das Bakterienchromosom sowie DNA-Abschnitte, die für die Transkription der Strukturgene sorgen (Promotor-Regionen).

Die im Folgenden beschriebenen Vorgänge werden z. B. anhand des **Arbeitsblatts** „Transfer der Gene für Humaninsulin“ Schritt für Schritt erarbeitet.

Beispiel: Einbringen des Gens für Humaninsulin in das Darmbakterium *Escherichia coli* (1979 etwa in der dargestellten Weise durchgeführt, so dass in *E. coli* produziertes Humaninsulin ab 1982 zur Verfügung stand.)

- Gewinnung von fertig prozessierter m-RNA für Humaninsulin aus Zellen einer menschlichen Bauchspeicheldrüse; Identifizierung und Isolierung dieser m-RNA mit Hilfe einer **Gensonde**
- Gewinnung einer cDNA für Humaninsulin, ausgehend von der m-RNA mit Hilfe der **Reversen Transkriptase**
- Anfügen von *sticky ends* an die cDNA mit Hilfe des Enzyms **Ligase**
- Koppelung der DNA mit dem **Markergen** (hier: Resistenzgen für ein bestimmtes Antibiotikum) an einen **Aktivator** (Promotor; auf einen Operator wird verzichtet, weil das Gen ständig transkribiert werden soll), Anfügen von *sticky ends*
- Koppelung des DNA-Abschnitts mit dem Fremdgen und des DNA-Abschnitts mit dem Markergen und dem Aktivator; passiv, weil sich die komplementären *sticky ends* ohne äußere Hilfe paaren; **Ligase** verbindet die Nukleotide miteinander
- Öffnen eines ringförmigen **Plasmids** (das entweder gar keine oder harmlose Strukturgene enthält) mit Hilfe einer **Endonuklease**, so dass *sticky ends* entstehen
- Zusammengeben des geöffneten Plasmids und dem DNA-Strang mit Aktivator, Markergen und Fremdgen: Durch Paarung der *sticky ends* verbinden sich beide DNA-Stränge und schließen sich wieder zu einem Ring, der **modifiziertes Plasmid** oder **Hybrid-Plasmid** genannt wird.
- Vermehrung des modifizierten Plasmids mit Hilfe der **PCR**.
- Eine große Menge von Bakterien wird mit einer großen Menge modifizierter Plasmide zusammen gebracht. In sehr wenigen Fällen dringt das modifizierte Plasmid in eine Bakterienzelle ein und wird dort in das Bakterien-Chromosom eingebaut.
- Am Ende der Inkubationszeit werden die Bakterien auf einem Nährboden mit dem entsprechenden Antibiotikum ausplattiert und im Brutschrank bebrütet.
- Nur diejenigen Bakterien, die das Resistenzgen besitzen, überleben und bilden Kolonien. Sie werden isoliert und weiter vermehrt. Diese Bakterien produzieren nun ohne Unterbrechung das Proteinhoromon Humaninsulin.

Immer, wenn benachbarte Nukleotide miteinander verbunden werden sollen, wird Ligase eingesetzt.

Wichtig ist, dass überall die gleiche Endonuklease verwendet wird, damit alle *sticky ends* zusammenpassen (sie sehen auf Strang und Gegenstrang gleich aus, weil sie ja Teil eines Palindroms sind).

Nur ein Teil des eingesetzten Materials setzt sich zum beabsichtigten modifizierten Plasmid zusammen. Daneben bilden sich wieder die ursprünglichen Plasmide bzw. die Fremd-DNA bildet in sich einen Ring usw. Auch die Aufnahme eines modifizierten Plasmids in eine Bakterienzelle (= Transformation) geschieht nur sehr selten (die Angaben in den Schulbüchern variieren von 5 pro 1000 und 1 pro 100.000 Zellen).

Didaktischer Hinweis: Allein die große Menge an Unterpunkten macht klar, dass diese Vorgänge für die Schüler alles andere als leicht zu durchschauen, geschweige denn zu reproduzieren sind. Dabei hilft einerseits, die Werkzeuge bereits im Vorfeld zu besprechen, andererseits die Vorgänge zu einem zusammenhängenden Erzählfluss zu verknüpfen (Ursache-Wirkungskette; Problem-Lösungs-Kette).

In den Schulbüchern finden Sie sehr komplexe Beschreibungen, wie mit zwei verschiedenen Markern gleichzeitig gearbeitet wird, von denen der eine durch das Restriktions-Enzym durchgeschnitten und damit inaktiv wird. Es werden Genbibliotheken und Stempeltechniken beschrieben. Ich rate Ihnen dringend, darauf zu verzichten und sich auf das Wesentliche zu konzentrieren. Ich würde auch darauf verzichten, superkorrekt von Proinsulin statt von Insulin zu sprechen. Sie müssen keine Techniken im Detail besprechen, die nach 20 Jahren ohnehin nur noch von historischem Interesse sind. Und Sie müssen der Vielfalt der gentechnischen Methoden absolut nicht gerecht werden. Sie sollen in möglichst bescheidenem Maß Verständnis wecken – und das ist Herausforderung genug!

(neuer) Fachbegriff:

- das modifizierte Plasmid = das Hybrid-Plasmid

5.2.2 Gentransfer mit modifizierten Viren als Vektoren

Der G8-Lehrplan ist inzwischen von der Praxis überholt worden. Heute würde man auf modifizierte Viren als Vektoren verzichten und stattdessen die CRISPR/Cas-Methode besprechen. Das können Sie sich aber bei einem Zentralabitur nicht leisten, denn die Viren stehen im Lehrplan und sind damit Abiturstoff.

Als Beispiel im Unterricht dienen ausschließlich Bakteriophagen (*phagein*, griechisch: fressen), also Viren, die nur an Bakterien andocken und ihr Erbgut (DNA oder RNA) in sie injizieren.

Ich habe hierfür kein Arbeitsblatt vorbereitet, denn es kann problemlos ein Tafelbild erarbeitet werden, das gleichzeitig Schritt für Schritt im Heft entsteht (mit einfachen Skizzen von Virus und Bakterium).

Vorgehensweise:

- Das Viren-Erbgut wird teilweise ersetzt durch ein DNA-Stück, das die Spender-DNA, ein Markergen und einen Aktivator enthält. Das Ergebnis ist ein **modifiziertes Virus** (das Virus; nur Computerviren sind maskulin). (Hinweis: Ein Teil der Viren-DNA ist für das Einschleusen in das Bakterium unerlässlich.)
- Dann wird eine möglichst große Menge solcher modifizierter Viren einer Bakterienkultur zugesetzt. In wenigen Fällen dockt ein modifiziertes Virus an ein Bakterium an und injiziert das DNA-Stück mit Spender- und Markergen in das Bakterium. In manchen Fällen wird dieses DNA-Stück in das Bakterien-Chromosom integriert.

- Am Ende der Inkubationszeit werden die Bakterien auf einem Nährboden mit dem entsprechenden Antibiotikum ausplattiert und im Brutschrank bebrütet.
- Nur diejenigen Bakterien, die das Resistenzgen besitzen, überleben und bilden Kolonien. Sie werden isoliert und weiter vermehrt. Diese Bakterien produzieren nun ohne Unterbrechung das vom Fremdgen codierte Protein.

Fachbegriffe:

- (ggf.) der Bakteriophage, -n
- das modifizierte Virus, -en

Hinweis: Die Frage, wie die gewünschte DNA in die Virenköpfe gelangt, sollte im Unterricht nicht erörtert werden, denn im Gegensatz zum früheren Leistungskurs wird im G8 der Vermehrungszyklus von Viren nicht mehr besprochen – es fehlen also die Voraussetzungen.

Weitere Anwendungen von Viren als Genträger würde ich nicht ansprechen, vor allem nicht den voreiligen Versuch von 1990, diese Methode am Menschen auszuprobieren – mit tödlichen Folgen.

5.2.3 Klonierung

Eine Zelle, in die ein fremdes Gen erfolgreich eingebracht worden ist, heißt: **transgene Zelle** (analog: transgener Organismus). Eine transgene Zelle wird nach ihrer Isolierung stark vermehrt, wobei alle Folgezellen genetisch identisch sind. Zellen (bzw. Organismen) mit identischem Erbgut nennt man **Klone** (*klon*, griechisch: Zweig, Schössling). Die starke Vermehrung heißt: Klonierung.

Fachbegriffe:

- transgene Zelle, transgener Organismus
- klonieren, der Klon, -e

*Wenn man der Mehrzahl der Schulbücher folgt, ist mit dem Begriff „Klonierung“ lediglich gemeint, dass transgene Zellen stark vermehrt werden (s. o.). In Fokus Biologie 11, Cornelsen 2009, ist auf Seite 129 allerdings unter anderem die Geschichte des Klonschafs Dolly dargestellt. Wer die Zeit dafür zur Verfügung hat und einen entsprechend interessierten Kurs, mag das Thema Klonierung vertiefen. **Nur** für diesen Fall folgt jetzt dieser*

Einschub (fakultativ):

Beispiele aus der Natur: Ableger von Erdbeeren, durch Stecklinge vermehrte Weiden, Fresspolypen in einer Polypenkolonie, eineiige Zwillinge ...

Vor allem in der Landwirtschaft sucht der Mensch seit Jahrtausenden Individuen von Nutzpflanzen, die eine für den Bauern besonders effektive Kombination von Erbanlagen besitzen. Solche Individuen sind zunächst Einzelfälle und werden am besten vegetativ (also ungeschlechtlich) vermehrt, damit die Nachfahren identisches Erbgut besitzen.

Problem: Bei Nutztieren ist ungeschlechtliche Vermehrung nicht möglich, erscheint aber oft wünschenswert, um beispielsweise eine widerstandsfähige Kuh, die viel Milch gibt und bei der Schlachtung gutes Fleisch, identisch zu vermehren. Nicht nur durch klassische Züchtung, sondern auch mit Hilfe der Gentechnik werden mit extremem Aufwand transgene Nutztiere erzeugt, deren Genkombination ebenfalls erhalten bleiben soll.

Lösung: Klone aus einzelnen Körperzellen solcher wertvoller Individuen herstellen (Keimzellen sind dafür nicht sinnvoll, weil sie nur eine beliebig gemischte Hälfte des Erbguts enthalten).

Es kann sinnvoll sein, bereits an dieser Stelle zu diskutieren, warum es vermutlich sinnvoll ist, dass höhere Tiere in der Natur keine Klone bilden: Verlust der genetischen Vielfalt und damit Einschränkung der Reaktion auf veränderte Umwelt usw.

Das Schaf Dolly

Am 5. Juli 1996 kam in Schottland das Schaf Dolly zur Welt, das keinen Vater, aber drei Mütter hatte. Dolly war das erste Tier, das aus einer ausdifferenzierten Körperzelle entstand. Ausdifferenzierte Zellen haben in der Regel ihre Teilungsfähigkeit verloren und aktivieren nur diejenigen Gene, die für ihrem Zelltyp nötig sind. Allerdings besitzt jede Körperzelle die gesamte Erbinformation, auch wenn sie diese nicht in vollem Umfang nutzt.

Ungefragter Namensgeber des Klonschafs ist angeblich die Country-Sängerin Dolly Parton aufgrund ihrer Oberweite, denn die ausdifferenzierte Zelle, aus der das geklonte Schaf entstanden ist, stammt aus dem Euter (der Milchdrüse) von Mutterschaf 1, das als **Genmutter** diente. Die Euterzelle wurde ausgehungert und durch diverse weitere Tricks umprogrammiert, so dass sie wieder wie eine embryonale Zelle arbeitete.

Aus dem Eierstock eines zweiten Schafs, der **Eimutter**, wurde eine Eizelle entnommen, aus der mit Hilfe einer Glaskapillare der Zellkern entfernt wurde. Durch elektrische Stromstöße wurde erreicht, dass die umprogrammierte Euterzelle der Genmutter und die entkernte Eizelle der Eimutter miteinander verschmolzen.

Die so entstandene diploide (!) Eizelle verhielt sich wie eine Zygote und führte zunächst *in vitro* einige Teilungsschritte durch. Der so entstandene sehr frühen Embryo wurde einem dritten Schaf eingesetzt, der Leihmutter, die durch eine Hormonbehandlung darauf vorbereitet war. Nach 150 Tagen gebar sie ein völlig normal aussehendes Lamm.

Man hatte bewusst drei unterschiedlich gefärbte Mutterschafe ausgewählt: Die Genmutter war rein weiß, die Eimutter hatte dunkelbraune Beine und einen dunkelbraunen Kopf bei sonst weißem Körper, die Leihmutter war durchgehend mittelbraun. Dolly war rein weiß. Das war zu erwarten, weil die Färbung von Genen im Zellkern abhängt.

Diese erste gelungene Klonierung war ein Glücksfall, der einzige innerhalb einer Reihe von 277 Versuchen.

Die Zeitschrift *Der Spiegel* berichtete darüber in seiner Ausgabe Nr. 10 vom 3.3.1997. Das Titelbild mit gezeichneten Klonen von Hitler, Einstein und Claudia Schiffer (damals das Starmodell) ist so bekannt wie umstritten [<https://www.spiegel.de/spiegel/print/index-1997.html> > 10 / 1997 Der Sündenfall] .

Diese Nachricht löste eine heftige Diskussion aus, denn – wie der Spiegeltitel zeigt – es wurde sofort davon ausgegangen, dass in absehbarer Zeit Klone von Menschen hergestellt werden könnten (z. B. als „Ersatzteillager“). In manchen Spielfilmen wird das Thema der Klonierung von Menschen aufgegriffen, aber völlig irreführend dargestellt, denn nach der Analyse des erwachsenen Originals steht der Klon im Film binnen kürzester Zeit im selben Erwachsenenalter neben ihm. Wenn von einem Tier aber aus einer Körperzelle ein Klon erwachsen soll, wäre die Entwicklungsdauer genau so lang wie bei der geschlechtlichen Vermehrung; es würde also beim Menschen zwanzig Jahre und neun Monate dauern, bis aus der umprogrammierten Körperzelle ein Zwanzigjähriger entstanden wäre.

Wenn der Kurs an dieser Stelle ein ausgiebiges Diskussionsbedürfnis zeigt, ist es sinnvoll, diesem erst gegen Ende des Schuljahres, beispielsweise an einem Projekttag, Zeit einzuräumen, damit vorher genügend Zeit für den noch ausstehenden Stoff bleibt und sich die Schüler vor der Diskussion sachlich angemessen informieren können.

5.3 Anwendung der Gentechnik

Mittlerweile wird Gentechnik in so vielen Bereichen angewendet, dass es sinnvoll ist, sich bei der Unterrichtsplanung streng an die Formulierung des G8-Lehrplans zu halten.

Es kann der Anschaulichkeit nützen, die groben Bereiche der Gentechnik Farben zuzuordnen:

- **grüne** Gentechnik: bei Nutzpflanzen
- **rote** Gentechnik: in der Medizin
- **weiße** (graue) Gentechnik: industrielle Anwendung (*im G8-Lehrplan nicht vorgesehen*)

(vgl. z. B. Linder Biologie 11, Schroedel 2009, S. 128)

5.3.1 Der genetische Fingerabdruck

Die Methode ist inzwischen zum alltäglichen Standard geworden; kaum ein moderner Krimi kommt ohne sie aus. Seit 1988 ist sie vor deutschen Gerichten zulässig.

Zweck: Es soll (mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit) festgestellt werden, ob ein Mann Vater eines Kindes ist, ob er der gesuchte Vergewaltiger ist, ob er am Ort einer sonstigen kriminellen Tat war bzw. Berührung mit Gegenständen am Tatort hatte.

Probennahme: Geeignet ist jegliches Material, das Zellkerne des Täters enthält wie Sperma, Blut, Haarfollikelzellen, Hautabrieb, Mundschleimhautzellen (bei der Probennahme von Verdächtigen) usw. Wenn nur extrem wenig DNA-Material zur Verfügung steht, wird es mit Hilfe der PCR vermehrt. Ein Problem dabei ist, dass die Probe evtl. mit DNA anderer Menschen verunreinigt sein könnte (z. B. der von Unbeteiligten, probenehmenden Beamten oder Personal des gentechnischen Labors).

Methode: In der Kriminalistik werden DNA-Spuren vom Tatort (bzw. dem Opfer einer Gewalttat) verglichen mit der DNA von (in der Regel) mehreren Verdächtigen. Dabei wird aus Zeit- und Kostengründen nicht die gesamte DNA untersucht und verglichen, sondern nur 8 bis 15 kurze Abschnitte (STR-Regionen: *short tandem repeats*; davon gibt es Tausende im menschlichen Genom; der Fachbegriff STR ist kein Lernstoff). Es wäre sinnlos, Exons von Strukturgenen zu vergleichen, denn die sind bei allen Menschen gleich bzw. extrem ähnlich. Vielmehr werden nicht-codierende DNA-Bereiche ausgewählt (die deshalb keinem Selektionsdruck ausgesetzt sind), die man als repetitive Bereiche bezeichnet, weil kurze Nukleotidsequenzen (von 2 bis 7 Basenpaaren) darin wiederholt werden (z. B. 6 x 3: TACTACTACTACTACTAC). Weil solche DNA-Bereiche keine Auswirkung auf den Phänotyp haben, kann die Anzahl der Wiederholungen von Mensch zu Mensch sehr unterschiedlich sein.

Beim genetischen Fingerabdruck wird die DNA nicht sequenziert, sondern nur festgestellt, wie oft sich eine Sequenz wie z. B. TAC wiederholt, d. h. wie lang so eine STR-Region ist. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Menschen in allen untersuchten Abschnitten übereinstimmen, ist extrem gering, außer sie sind eineiige Zwillinge.

Ablauf der Untersuchung:

- Probennahme
- Vermehrung der DNA mit Hilfe der PCR
- Zerschneiden der DNA mit Hilfe eines bestimmten Restriktions-Enzyms
- Trennung der DNA-Bruchstücke mit Hilfe der Gel-Elektrophorese

Gel-Elektrophorese:

phorein, griechisch: tragen

DNA ist elektrisch negativ geladen und wandert deshalb in einem elektrischen Feld. Je kürzer (weniger sperrig) das DNA-Stück ist und je höher seine Ladung, desto schneller erfolgt die Wanderung. Deshalb können unterschiedlich lange DNA-Stücke im elektrischen Feld aufgetrennt werden.

In einer Schale befindet sich ein Gel, in dem sich Ionen befinden, um es elektrisch leitfähig zu machen (die Hauptschubstanz im Gel ist das aus Rotalgen gewonnene Polysaccharid Agarose; kein Lernstoff. Wenn Sie das Wort Agarose-Gel unbedingt anschreiben wollen, dann bitte mit Bindestrich, damit kein unverständliches Segel daraus wird). Auf einer Seite des Gels werden die Proben mit den DNA-Stückchen nebeneinander in Vertiefungen eingefüllt. Dann wird an dieser Seite der Minuspol einer Gleichspannung angelegt, an der gegenüberliegenden Seite der Pluspol. Die negativ geladenen DNA-Stücke bewegen sich durch die Maschen des Gels Richtung Pluspol. (Bei einer Spannung von 9 Volt dauert der Trennvorgang 3 Stunden). Durch Zugabe von Farbstoffen (meist bereits im Gel) wird die DNA sichtbar gemacht (bei fluoreszierendem Farbstoff muss dafür mit UV-Licht beleuchtet werden).

Das Ergebnis ist ein für jede Probe charakteristisches Streifenmuster (Bandenmuster). Es gilt als sehr aussagekräftiges Indiz (auch wenn es für eine Verurteilung alleine nicht ausreicht), wenn das Streifenmuster eines Verdächtigen mit dem Streifenmuster der DNA-Probe vom Tatort übereinstimmt. (Eine sehr gut kopierbare Zeichnung für das Streifenmuster in einem fiktiven Kriminalfall zeigt Abbildung 133.1c in Linder Biologie 11, Schroedel 2009, Seite 133, während in den anderen Schulbüchern dazu Photographien abgebildet sind.)

Vgl. dazu das **Aufgabenblatt** „Genetischer Fingerabdruck“ sowie das sehr ausgefeilte (fiktive) Fallbeispiel in Linder Biologie 11, Schroedel 2009, Seite 133 unten (Zeitungsartikel und Gel-Elektrophorese).

Fachbegriffe:

- genetischer Fingerabdruck
- die Gel-Elektrophorese

5.3.2 Beispiele aus Tier- und Pflanzenzucht

„grüne Gentechnik“

Ein Organismus, dessen Erbgut mit Hilfe der Gentechnik verändert wurde, heißt „**Gentechnisch veränderter Organismus**“ (GVO bzw. englisch GMO: *genetically modified organism*) im Unterschied zu Organismen, die durch Mutation (selbst wenn diese durch Chemikalien oder Strahlung provoziert wurde) oder Rekombination (auch durch gezielte Befruchtung bei Kreuzungsversuchen) entstanden sind. Der Begriff GMO ist juristisch relevant.

Wurde einem Organismus Genmaterial aus einem anderen Organismus eingepflanzt, nennt man ihn: **transgen**.

Ziele bei Nutzpflanzen (Beispiele a-e):

- hoher Ertrag
- Resistenz gegen Krankheiten, Parasiten
- Toleranz gegen Stressfaktoren (Dürre, Staunässe)
- Toleranz gegen Herbizide (= Ackergifte gegen Wildkräuter; *herba*, lateinisch: Kraut; *caedere*, lateinisch: töten)
- längere Haltbarkeit der Früchte
- Selbstversorgung mit Stickstoff-Verbindungen (Knöllchenbakterien)
- Design (verändertes Aroma, veränderte Farbe, Form)

Ziele bei Nutztieren (Beispiele f-g):

- hoher Ertrag (z. B. viel Milch bei Rindern, viel Wolle bei Schafen usw.)
- bessere Futtermittelverwertung
- beschleunigtes Wachstum (durch vermehrte Ausschüttung von Wachstumshormonen)
- Resistenz gegen Krankheiten, Parasiten, Stressfaktoren

*Hier nicht versuchen, einen möglichst vollständigen Überblick zu vermitteln, sondern **ein oder zwei Fallbeispiele**, die in der Praxis relevant sind, darstellen, am besten auch mit der ökologisch-ethischen Diskussion.*

Methoden des Gentransfers sind bereits an zwei Beispielen (Plasmide und Viren als Vektoren) behandelt worden, deshalb sollten in diesem Abschnitt keine weiteren Mechanismen (z. B. Ti-Plasmid; Protoplasten) besprochen werden, auch wenn sie in den Schulbüchern ziemlich ausführlich beschrieben werden. Die Schulbücher führen kein bedeutendes Beispiel aus der Tierzucht auf; darauf kann auch verzichtet werden (die Nennung der Tierzucht bezieht sich dann ausschließlich auf den ersten Absatz dieses Abschnitts).

Die Zusammenhänge sind bei diesem Thema alles andere als übersichtlich. Eine rein schülerzentrierte Recherche sehe ich deshalb problematisch. Diese sollte sich auf eng umgrenzte Teilbereiche beschränken wie z. B. die momentane Rechtslage in EU und Deutschland, Daten aus Untersuchungen usw. Die teilweise recht schwierigen Fachbegriffe bei den folgenden Beispielen stellen eine gute Übung für das Abitur dar: Die Schüler sind in den Materialtexten oftmals mit ihnen unbekanntem und schwer lesbarem Fachbegriffen oder Artbezeichnungen konfrontiert und sollen lernen, sich davon nicht schrecken zu lassen. Beispielsweise kann dafür eine Abkürzung definiert und dann statt des komplizierten Namens verwendet werden.

a) Der Bt-Mais

Problem: Wie bei jeder Monokultur richtet ein eingedrungener Parasit enormen wirtschaftlichen Schaden an. Die Weibchen des Kleinschmetterlings Maiszünsler legen ihre Eier auf der Unterseite der Blätter von Maispflanzen (und anderen Nutzpflanzen) ab. Die daraus schlüpfenden Raupen fressen nach wenigen Tagen einen Gang in den Stängel; dort sind sie weder für Fressfeinde noch für Spritzmittel (mit Insektiziden) erreichbar.

Lösung: Das Bakterium *Bacillus thuringiensis* (abgekürzt: Bt) produziert ein Protein, das den Darm der Raupe zerstört und diese dadurch tötet. Das Gen, das dieses Protein codiert, wurde isoliert und in das Genom von Mais eingesetzt. Alle Zellen der Maispflanze produzieren nun das bakterielle Gift und die Raupe nimmt es beim Fressen auf, auch im Inneren des Stängels.

Ökologische Vorteile: Es wird eine kleinere Menge an Insektiziden eingesetzt (in Europa sank der Insektizid-Einsatz im Maisanbau von 1996 bis 2014 um 52 %). Auf Feldern neben Bt-Mais-Äckern ist der Schädlingsbefall geringer.

Ökologische Bedenken: Das Bt-Protein schädigt auch andere Tiere (eine Studie hat zwar festgestellt, dass die Schädigungen bei Honigbienen, die den Pollen sammeln, Asseln, Käfern, Spinnen und Regenwürmern gering sind; solche Ergebnisse sind aber immer mit Vorsicht zu interpretieren, weil sie von den Interessen der Geldgeber abhängen können). – Pollen von Bt-Mais kann über weite Strecken vertragen werden. – Wenn fast alle Maispflanzen das giftige Bt-Protein erzeugen, ist in relativ kurzer Zeit damit zu rechnen, dass Maiszünsler in größeren Mengen auftreten, die dagegen resistent sind (solche Resistenzen sind bereits bekannt).

Praxis: Die Europäische Kommission stufte die Risiken von Bt-Mais als tragbar ein. 2018 wurde die Bt-Maissorte MON810 (von der Firma Monsanto) in der EU zum Anbau zugelassen. Deutschland nutzte allerdings die sogenannte Ausstiegsklausel und verweigerte diese Zulassung auf seinem Staatsgebiet.

b) Gv-Soja („Gen-Soja“)

Herbizide werden zur Bekämpfung unerwünschter Wildkräuter („Unkraut“) eingesetzt; sie wirken meist intensiv auf Zweikeimblättrige, aber kaum auf Einkeimblättrige (z. B. Weizen, Gerste, Hafer, Mais). Das Herbizid **Glyphosat** (Markenname der Herstellerfirma Monsanto: Roundup®) wird sehr häufig eingesetzt und seit Jahren sehr kontrovers in Politik und Medien diskutiert.

Problem: Solche Herbizide können beim Anbau zweikeimblättriger Nutzpflanzen wie z. B. Soja nicht verwendet werden.

Lösung: In Soja wird ein Gen eingebracht, das die Pflanze resistent gegen Glyphosat macht. Dann kann das Herbizid auch während der Wachstumsphase von Soja gespritzt werden, so dass die unerwünschten Wildkräuter nicht mehr mechanisch entfernt werden müssen. (Glyphosat-Resistenz-Gene wurden bisher auch in Raps, Baumwolle und Mais eingebracht.)

Ökologische Bedenken: Aufgrund der Herbizid-Resistenz der Nutzpflanze wird deutlich mehr Herbizid auf das Feld ausgebracht und teilweise in benachbarte Gebiete vertragen: Mehr Gift in der Landschaft!

Medizinische Bedenken: Eine Reihe von Studien belegt, dass Glyphosat beim Menschen Krebs und andere Krankheiten hervorrufen kann. (Es gibt auch Gegengutachten, die aber in der Regel von den Pharmaunternehmen bezahlt wurden.)

Wirtschaftliche Aspekte: Die US-amerikanische Firma Monsanto verdiente viele Jahre nicht nur durch den Verkauf des Herbizids, sondern auch durch den Verkauf des gentechnisch veränderten Soja-Saatguts. 2018 wurde Monsanto von der deutschen Firma Bayer aufgekauft. Ein kalifornisches Gericht verurteilte 2019 den Bayer-Konzern als juristischen Nachfolger von Monsanto zur Zahlung von über 2 000 Millionen Dollar Schadenersatz an geschädigte Kläger, weil der Unkrautvernichter krebserregend sei und der Hersteller nicht ausreichend davor gewarnt habe.

c) Glufosinat-Resistenz

Glufosinat ist ein Herbizid, das sowohl bei ein- als auch bei zweikeimblättrigen Pflanzen in den Stoffwechsel eingreift (Hemmung der Glutamin-Synthetase, dadurch Anreicherung von Ammoniak sowie Mangel an Glutamin), was zur Hemmung der Photosynthese und damit zum Absterben führt. Chemisch gesehen ist Glufosinat eine Aminosäure, deren Aminosäurerest am Ende eine Phosphatgruppe gebunden hat (extrem ungewöhnlich). Es ist Bestandteil des giftigen Tripeptids Phosphinothricin von Streptomyceten (Bakterien). Der bekannteste Handelsname für Glufosinat ist Basta®.

Problem: Glufosinat schädigt sowohl ein- als auch zweikeimblättrige Nutzpflanzen und eignet sich normalerweise nicht als Herbizid in der Landwirtschaft.

Lösung: Das Bakterium *Streptomyces viridochromogenes*, welches das oben genannte giftige glufosinathaltige Tripeptid erzeugt, schützt sich selbst dagegen durch das Enzym Phosphinothricin-Acetyl-Transferase (PAT-Enzym), welches das Tripeptid chemisch verändert und dadurch inaktiviert. Das PAT-Enzym wurde in Nutzpflanzen wie z. B. Reis eingebracht.

Die Zulassung von Glufosinat als Herbizid ist nach EU-Recht 2017 ausgelaufen, aber nach wie vor in 21 EU-Staaten gültig, nicht aber in Deutschland.

(Dies ist das härteste Beispiel, was schwierige Namen betrifft!)

d) Die Antimatsch-Tomate

Dieses Beispiel greift auf Vorwissen aus der Molekulargenetik zurück, fordert das logische Denken und ist deshalb reizvoll. (Kam gleich im ersten G8-Abitur dran am Beispiel einer Antimatsch-Banane: C2 / Aufgabe 2.1)

Problem: Für die Reifung von Tomaten sind mehrere Gene verantwortlich: Zuerst bildet sich die rote Farbe, dann das typische Aroma, dann wird die Frucht weich und am Ende matschig. Deshalb müssen Tomaten normalerweise unreif geerntet werden und reifen auf Transport und Lagerung nach, worunter allerdings das Aroma leidet. Ein Enzym (Polygalacturonase) zersetzt nach und nach das Stützgewebe in den Zellwänden und führt zur Matschigkeit.

Lösung: Die Synthese des „Matsch“-Enzyms Polygalacturonase wird verhindert, so dass die Zellwände stabil und die Tomaten knackig bleiben. Anhand der m-RNA für dieses Enzym wurde mit Hilfe einer Reversen Transkriptase eine c-DNA hergestellt, die gentechnisch so in das entsprechende Tomaten-Chromosom eingebaut wurde, dass der nicht-codogene Strang direkt hinter das ursprüngliche Strukturgen auf dem codogenen Strang liegt. Wenn dieser DNA-Abschnitt transkribiert wird, entsteht nicht nur die korrekte m-RNA („sense“), sondern gleichzeitig auch deren komplementäre Version („antisense“). Beide m-RNAs bilden spontan einen Doppelstrang, der von den Ribosomen nicht translatiert werden kann. Die Antimatsch-Tomate kam 1994 als erstes gentechnisch verändertes Nahrungsmittel auf den US-amerikanischen Markt.

Bedeutung: Es traten verschiedene Probleme auf wie schlechtere Resistenzeigenschaften der Pflanze bzw. Aromaverlust durch die nun mögliche lange Lagerung, so dass der Antimatsch-Tomate letztlich kein wirtschaftlicher Erfolg beschieden war.

e) Trockentoleranz bei Soja

Durch Übertragung eines Regulatorgens aus der Sonnenblume wurde eine transgene Sojabohnen-Sorte (Verdeca HB4) erzeugt, die Trockenheit gut toleriert. Sie wurde 2015 in Argentinien zugelassen.

f) Transgener Lachs

Ein gentechnisch veränderter Lachs produziert ein zusätzliches Wachstumshormon, so dass er statt nach drei Jahren schon nach eineinhalb Jahren schlachtreif ist. 2017 wurden in Kanada davon 4,5 Tonnen frei verkauft. Das ist bisher das einzige Beispiel eines gentechnisch veränderten Nutztieres, das in den Lebensmittelhandel gekommen ist.

Ökologie: Damit der schnell wachsende Lachs keine Konkurrenz für seine natürlichen Artgenossen darstellt, wird er nur in Anlagen auf Land gezüchtet und es werden nur triploide Weibchen aufgezogen, die unfruchtbar sind.

g) Labortiere

Die meisten gentechnisch veränderten Tiere werden für wissenschaftliche Untersuchungen hergestellt und eingesetzt. Bekannt geworden sind Tiere, die unter UV-Bestrahlung ganz oder teilweise grün aufleuchten, weil ihnen das Gen für das grün fluoreszierende Protein (GFP) aus der Qualle *Aequorea victoria* eingesetzt worden ist.

Weniger öffentlichkeitswirksam sind sogenannte Knock-Out-Tiere, bei denen die Transkription von einem oder mehreren Genen blockiert ist, so dass untersucht werden kann, welche Bedeutung das von dem jeweiligen Strukturgen codierte Protein hat.

5.3.3 Medikamenten-Herstellung

„rote Gentechnik“

a) Humaninsulin

Das Beispiel der Insulin-Produktion durch gentechnisch veränderte *Escherichia coli* wurde im Abschnitt 5.2.1 bereits ausführlich besprochen (vgl. **Arbeitsblatt** „Transfer der Gene für Humaninsulin“). An dieser Stelle wird nur kurz darauf verwiesen.

b) Blutgerinnungsfaktor VIII

Wenn bei der Humangenetik die Bluterkrankheit besprochen wurde, ist den Schülern der Faktor VIII bereits bekannt und sie wissen, dass Blutern dieser Faktor gespritzt wird.

Problem: Faktor VIII ist ein mit 2351 Aminosäuren sehr langes Protein (das Gen umfasst insgesamt 187.000 Basenpaare mit 26 Exons). Das von den Ribosomen hergestellte Roh-Protein wird nachträglich mit großem Aufwand modifiziert (19 Aminosäuren werden nachträglich entfernt, an 31 Aminosäureresten werden Zuckermoleküle angeheftet und eine Protease schneidet das Glycoprotein an zwei Stellen auseinander). Prokaryoten oder einfache Eukaryoten kommen als transgene Organismen für die Produktion nicht in Frage.

Lösung: Faktor VIII wird von Säugetier-Zellen hergestellt, hier: geklonte sogenannte BHK-Zellen (ursprünglich aus der Niere eines einen Tag alten Hamsterbabys; *baby hamster kidney*), die sich auf Oberflächen in einem sogenannten Bioreaktor vermehren. Das Produkt ist zwar nicht ganz identisch mit dem menschlichen Faktor VIII, aber dennoch wirksam.

c) Gene Pharming

pharming ist ein Kunstwort aus *pharmaceutical engineering* und klingt gleichzeitig nach *farming*, also Landwirtschaft (auch: *molecular pharming*)

Man versteht darunter die Herstellung von Arzneistoffen durch (komplette) gentechnisch veränderte Organismen (GVO). Dabei kommen sowohl Tiere als auch Pflanzen in Betracht.

Beispiele:

- **Antithrombin III**, ein Blutgerinnungs-Hemmer, der Patienten mit Antithrombin-Mangel vor lebensgefährlichen Blutgerinnseln schützt (die zu Schlaganfall bzw. Herzinfarkt führen können); wird in den Milchdrüsen gentechnisch veränderter Ziegen gebildet und aus deren Milch isoliert. Seit 2008 u. a. in Deutschland auf dem Markt (als erstes Gene-Pharming-Produkt).
- Das **Hereditäre Angioödem** ist eine seltene Erbkrankheit, bei der lebensgefährliche Schwellungen der Haut, der Schleimhäute und der inneren Organe auftreten. Die Ursache ist eine örtlich zu starke Durchlässigkeit der Blutgefäße, beruhend auf einer zu geringen Konzentration des Blutplasma-Proteins **C1-Esterase-Inhibitor**. Dieses Protein wird in den Milchdrüsen von gentechnisch veränderten Kaninchen gebildet und aus deren Milch isoliert. Seit 2010 auf dem EU-Markt unter dem Namen Ruconest®.
- Das Enzym **lysosomale saure Lipase** baut in Lysosomen (besondere Zellorganellen für den zellinternen Abbau) Fette ab. Eine seltene Erbkrankheit führt zu einem Mangel an diesem Enzym, der zu mehrfachen Organschäden und zum frühen Tod führt. Bis vor Kurzem konnten Betroffene nicht behandelt werden. Seit 2015 wird eine entsprechende Lipase (Sebelipase alpha) aus dem Eiklar von Eiern transgener Hühner gewonnen und zur Enzymersatz-Therapie eingesetzt.

[alle drei Beispiele nach: <https://www.transgen.de/tiere/673.gentechnisch-veraenderte-tiere-medizin.html>, aufgerufen am 21.1.2020]

5.3.4 Gendiagnostik und Gentherapie beim Menschen

a) Gendiagnostik = DNA-Analyse

Mit dem **genetischen Fingerabdruck** haben die Schüler bereits eine mittlerweile in großem Umfang eingesetzte Methode kennengelernt.

Eine aufwendigere Untersuchung ist die **Sequenzierung von DNA-Abschnitten**, also die Analyse der Basensequenz. Dadurch können in bestimmten Fällen Prädispositionen von Erbkrankheiten diagnostiziert werden, d. h. eine grundsätzliche Neigung dazu, nicht aber eine Prognose ob und wann es dazu käme.

DNA-Sequenzierung wird in Ausnahmefällen auch eingesetzt, um Verwandtschafts-Verhältnisse zu klären, z. B. ob Kaspar Hauser tatsächlich Erbprinz von Baden war (seine DNA stimmt aber mit Nachfahren der badischen Seitenlinie nicht überein).

Svante Pääbo ist der Vorreiter der Sequenzierung fossiler DNA; die DNA moderner Menschen wird mit der von frühen Homo sapiens, Neanderthalern oder Denisova-Menschen verglichen (Ergebnis: Es scheinen einzelne Vermischungen stattgefunden zu haben). DNA-Vergleich zwischen Menschengruppen auf verschiedenen Kontinenten helfen, prähistorische Wanderungen unserer Vorfahren aufzuklären.

In den 1990er Jahren wurde das Humangenom-Projekt ins Leben gerufen, bei dem die gesamte DNA einer Person sequenziert werden sollte. Dieses globale Projekt benötigte etwa ein Jahrzehnt. Heute sind DNA-Sequenzierungen vollautomatisiert und laufen extrem schneller ab.

Wesentlich ist beim Thema Gendiagnostik vor allem **der gesellschaftlich-ethische Aspekt**: Krankenkassen bzw. Arbeitgeber könnten Interesse an Informationen über mögliche Prädispositionen von Erbkrankheiten künftiger Versicherter bzw. Arbeitnehmer haben. Das widerspricht aber dem Grundsatz der Solidargemeinschaft bzw. der Gleichbehandlung und ist verboten. Dass das auch so bleibt, darauf sollten die jungen Menschen kritisch achten.

b) Gentherapie

Ziel: Defekte Allele (z. B. bei Mukoviszidose, Bluterkrankheit, Diabetes usw.) sollen durch intakte Allele ausgetauscht werden.

Unterschiedliche Ansätze:

- somatische Therapie: Es wird Genmaterial nur im Zielorgan ausgetauscht. Weil davon die Keimdrüsen nicht betroffen sind, bezieht sich die genetische Veränderung nur auf den Patienten, nicht auf dessen Nachkommen.
- Keimbahn-Therapie (gesetzlich verboten): Der Austausch genetischen Materials betrifft Zellen der Keimbahn, also Urkeimzellen, Keimzellen, Zygoten usw. Die genetische Veränderung würde an alle Nachkommen weiter gegeben werden.

Problemfelder:

- Die Vektoren (z. B. Viren) können unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen wie z. B. eine massive Reaktion des Immunsystems (der erste Versuch, Spender-DNA mittels Viren in einen menschlichen Patienten einzubringen, endete tödlich).
- Gene haben oft eine vielfache Wirkung (der Fachbegriff Pleiotropie ist überflüssig), die Auswirkungen eines genetischen Austauschs sind deshalb nicht vollständig abschätzbar.
- Nicht rechtzeitig erkannte Fehler bei der Gentherapie würden sich bei den Nachkommen finden.

5.4 Neue Entwicklung: CRISPR/Cas

Die CRISPR/Cas-Methode steht nicht im G8-Lehrplan, weil sie dafür zu jung ist. Sie sollte im Unterricht dennoch angesprochen werden, weil sie eine dramatische Umwälzung in der Gentechnik bedeutet und mittlerweile zu einer Standard-Methode geworden ist. Der G8-Lehrplan schreibt sogar vor, neue Entwicklungen in den Unterricht aufzunehmen (dafür müssen andere Abschnitte gekürzt werden):

„Die raschen Fortschritte der Biowissenschaften zum Beispiel in den Bereichen Biotechnologie, Gentechnik, Verhaltensbiologie und Paläoanthropologie sowie globale Veränderungen der Ökosysteme erfordern es, moderne Forschungsergebnisse und aktuelle Entwicklungen einzubeziehen.“ (Kopftext Q11/Q12)

Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna veröffentlichten 2012 die erste Dokumentation zu dieser neuen Methode. Die Fachzeitschrift Science erklärte sie zum „*Breakthrough of the Year 2015*“.

CRISPR ist eigentlich ein wesentliches Bauteil des Abwehrsystems von Bakterien und Archaeen gegen eindringende Viren (und wird auch bei der CRISPR/Cas-Methode nicht genutzt; aber „Cas“ alleine klingt irgendwie fad).

Cas ist eine **Endonuklease**, die sich von „klassischen“ Endonukleasen dadurch unterscheidet, dass sie die DNA an jeder beliebigen Stelle schneiden kann, nicht nur an „ihrem“ Palindrom. Mit Cas sind also sehr gezielte Eingriffe möglich, bei denen die Erfolgsquote auch extrem höher liegt als bei „klassischer“ gentechnischer Veränderung. Deshalb wird dafür auch ein anderer Begriff verwendet: *genome editing* = **Genom-Editierung**. Die Methode ist einfach und kostengünstig, so dass sie auch von kleinen Labors problemlos durchgeführt werden kann.

Cas findet die richtige Stelle auf der DNA, weil das Enzym eine Bindungsstelle für eine **RNA** hat, bei der ein Abschnitt komplementär zu der gewünschten Stelle auf der DNA ist und damit die Endonuklease exakt an den richtigen Zielort führt. (Der andere RNA-Abschnitt ist so gestaltet, dass er von Cas gebunden wird.)

Obwohl sich die neue von der alten Methode wesentlich unterscheidet, entschied der Europäische Gerichtshof 2018, dass auch die Anwendung von CRISPR/Cas zu GVO (gentechnisch veränderte Organismen) führt und damit den gleichen gesetzlichen Bedingungen unterliegt wie die Produkte der „klassischen“ Gentechnik. Das bedeutet in Europa vor allem starke Einschränkungen in Forschung und Wirtschaft. In den USA wird die neue Methode dagegen nicht generell den „klassischen“ Gentechnik-Bestimmungen unterworfen. (Interessanterweise gilt in Europa der Einsatz von mutagenen Strahlen und Chemikalien als Methode klassischer Züchtung und unterliegt wesentlich großzügigeren Bestimmungen.)

In Deutschland haben die Wissenschafts-Akademien und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) eine Stellungnahme herausgegeben, in der sie Empfehlungen für eine Novellierung des Europäischen Gentechnik-Rechts geben, um eine wissenschaftlich begründete Regulierung genom-edierter Pflanzen in der EU zu erreichen: „Wege zu einer wissenschaftlich begründeten differenzierten Regulierung genomeditierter Pflanzen in der EU“. (Januar 2020)

[<https://www.vbio.de/aktuelles/wissenschaft/chancen-der-pflanzenzuechtung-nutzen-wissenschafts-akademien-und-dfg-empfehlen-ein-neues-europaeisches-gentechnikrecht/>]

In den USA wurde eine **Sojabohnen**-Sorte mit der CRISPR/Cas-Methode hergestellt, bei der zwei Gene inaktiviert wurden („knockout“), so dass die Pflanzen gegen Salz und Trockenheit tolerant sind. Weil keine Fremd-DNA eingeführt wurde, ließ das Landwirtschafts-Ministerium der Vereinigten Staaten den Anbau ohne weitere Prüfung zu.

Fachbegriffe:

- CRISPR/Cas-System
- Cas = Endonuklease, die von einer entsprechenden RNA gezielt an jede beliebige Stelle der DNA geführt werden kann
- Genom-Editierung (*genome editing*)

5.5 Herstellung von Impfstoffen

Im Zusammenhang mit der Corona-Pandemie ist 2020 die Herstellung von Impfstoffen in den Blick der Öffentlichkeit gerückt. Es kann deshalb sinnvoll sein, in der gebotenen Kürze diesen Aspekt im Unterricht zu berücksichtigen.

Bei einer konventionellen aktiven Impfung werden dem Patienten abgeschwächte Keime (deren Vermehrung zwar noch möglich ist, die aber keine Krankheits-Symptome auslösen), inaktivierte Keime (bei denen keine Vermehrung mehr möglich ist, deren Antigene aber noch intakt sind) oder isolierte Partikel des Keims (mit einem oder mehreren Antigen-Typen) verabreicht. Die Vermehrung der Viren geschieht dabei in Hühnereiern bzw. neuerdings auch in Säuger- oder Insektenzellen. Das Immunsystem des Patienten erkennt die fremden Antigene und bildet in der Regel in 10 bis 14 Tagen dazu passende Antikörper aus. Gedächtniszellen des Immunsystems bewahren die Information für den Bau dieser Antikörper.

Bei einer genbasierten Impfung wird dem Patienten ein Teil der DNA bzw. RNA des Virus verabreicht. Die meisten Labore, die an der Herstellung eines Impfstoffs gegen Sars-CoV-2 arbeiten, konzentrieren sich dabei auf das Gen für das Spike-Protein des Virus. DNA hat den Vorteil recht stabil zu sein, aber es ist problematisch, die DNA in Form eines Plasmids in die Zellen einzuschleusen. Die Information der DNA wird von der Wirtszelle in RNA umgeschrieben und mit ihrer Hilfe an den Ribosomen das Virus-Protein hergestellt, das dann vom Immunsystem erkannt wird. RNA wird in Lipide verpackt und dringt deshalb leicht in die Zellen ein, aber sie ist wenig stabil, wodurch sich vor allem in ärmeren Ländern bei Transport und Lagerung des Impfstoffs ernste Probleme ergeben. Klinische Tests zeigen, dass eine Impfung mit RNA effektiver ist als mit DNA.

Um die Zeit der Impfstoff-Entwicklung zu verkürzen, werden – statt wie normal nacheinander – in der frühen Phase gleichzeitige Tests an unterschiedlichen Tieren sowie an wenigen Menschen durchgeführt. [Quelle: © 2020 Charles Schmidt: Impfstoffsuche im Schnellgang; Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg, Heft 7/2020, S. 20 ff]

Das Coronavirus Sars-CoV-2 ist für ein RNA-Virus außergewöhnlich groß: Seine RNA umfasst 29.900 Nukleotide (zum Vergleich: Das Grippe auslösende Influenza-Virus besitzt 13.500 Nukleotide, das Schnupfen auslösende Rhino-Virus 8.000). Zudem verfügt Sars-CoV-2 über einen effektiven Korrekturmechanismus, der Replikationsfehler rückgängig macht (das ist zwar bei DNA-Viren verbreitet, nicht aber bei RNA-Viren). [Quelle: © 2020 David Cyranoski: Portrait eines Killers; Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg, Heft 8/2020, S. 47]

5.6 Ethische Aspekte

Damit die Schüler die ethischen Aspekte kompetent diskutieren können, müssen sie die wissenschaftlichen Zusammenhänge zuvor verstanden haben.

Die ethische Diskussion kann ganz oder teilweise am Ende der jeweiligen Einzelabschnitte erfolgen, aber ebenso gut am Ende der gesamten Unterrichtssequenz oder am Ende des Schuljahres auf einem Projekttag. Auch fächerübergreifende Projekte sind hierbei denkbar und sinnvoll.

Hinweise dazu finden Sie im vorliegenden Skript bei den jeweiligen Themen.

5.7 Praktikum

Eine Reihe von externen Labors bieten Schülerpraktika zur Gentechnik an. Die Schüler sollten dafür mit dem entsprechenden Vorwissen ausgestattet sein, damit sie wissen, was sie bzw. die Automaten gerade tun.

In der Regel wird eine PCR und eine Gel-Elektrophorese durchgeführt.

Der Besuch bei einem externen Partner wie einer Universität, einem Forschungslabor in der Wirtschaft oder einem Museum wirkt für sich genommen schon beeindruckend und kann auch helfen, irrationale Ängste vor der Gentechnik abzubauen.

Externe Partner finden Sie unter: www.lernortlabor.de

Daneben sind gentechnische Experimente auch in der Schule möglich, sie sind aber ziemlich aufwendig bezüglich Vorbereitung, Material und Unterrichtszeit. Experimentier-Kits dafür können ausgeliehen werden. Die Anschaffung der entsprechenden Geräte und Chemikalien für die Schule selbst ist nur zu empfehlen, wenn der Etat der Fachschaft Biologie entsprechend großzügig ausgestattet ist.

Seit 2017 gibt es ein Schülerpraktikum von der **TUM School of Education** (Technische Universität München) und **AMGEN** (US-amerikanisches Biotechnologie-Unternehmen). Für Lehrkräfte werden Fortbildungen für Biotechnologie und Bioinformatik angeboten (in der Regel an der TUM in München, am SFZ-BGL in Berchtesgaden oder bei ausreichender Teilnehmerzahl auch an der Schule; seit 2019 auch an der Universität Potsdam). Die Schule bekommt auf Antrag kostenlos ein umfangreiches Experimentier-Kit zur Verfügung gestellt. Am Rupprecht-Gymnasium haben wir recht gute Erfahrungen mit der „Lösung eines Kriminalfalls“ gemacht, auch wenn damit einige Zusatzarbeit verbunden ist und eine Doppelstunde nicht ganz ausreicht (die Pause von 20 Minuten musste immer mit verwendet werden). Die Anleitung zum Praktikum sollte vorher bereits besprochen sein und die Schüler sollten vorher den Umgang mit den Micropipetten geübt haben. Als Themen werden angeboten:

- **Lösung eines Kriminalfalles**
 - Identifizierung des Täters durch Polymerasekettenreaktion und Agarose-Gelelektrophorese.
 - Der bei der entführten Person vorliegende Gendefekt führt zur Aufklärung.
 - Zystische Fibrose dient als Beispiel einer durch Genmutation ausgelösten Krankheit.
- **Analyse der eigenen DNA hinsichtlich der bitteren Geschmackswahrnehmung**
 - Techniken: DNA-Extraktion, PCR, Restriktionsverdau, Agarose-Gelelektrophorese.
 - „Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)“, verändern die Wahrnehmung von Phenylthiocarbamid-ähnlichen Bitterstoffen.
 - Bestimmung des Genotyps des SNP785 des eigenen *TAS2R38*-Gens.
- **Bereitstellung und Besprechung eines möglichen Fragenkatalogs.**

[Text im Textkasten aus der Webseite von TUM/AMGEN unter „Lehrerfortbildung Molekularbiologie“]

Informationen: <https://www.edu.tum.de/fdls/lehrerfortbildung-molekularbiologie/>

Um den Transport der Materialien muss sich die Lehrkraft kümmern.

Warnung vom vbio:

„Im Internet können inzwischen **Gentechnik-Kits** aus dem Ausland bestellt werden, die bereits **gentechnisch veränderte Organismen** (GVO) enthalten, welche nicht für das Inverkehrbringen zugelassen sind. Teilweise sind diese Gentechnik-Kits Bestandteil von Online-Kursen zum Thema „Biohacking“.

Wer solche Kits bestellt, mit ihnen aber keine gesetzlich zulässigen gentechnischen Arbeiten in einem behördlich überwachten Labor durchführt, begeht eine **Ordnungswidrigkeit**:

Durch die Bestellung werden die in den entsprechenden Gentechnik-Kits enthaltenden GVO in den Verkehr gebracht, sobald sie in Deutschland ankommen. Bereits dies stellt eine Ordnungswidrigkeit gem. § 38 Abs. 1 Nr. 7 GenTG dar. Daher können entsprechende Sendungen vom Zoll beschlagnahmt werden. Gegen den Besteller oder die Bestellerin kann außerdem ein **Bußgeld** von bis zu fünfzigtausend Euro verhängt werden. Das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) rät daher Privatpersonen, insbesondere Schülerinnen und Schülern, dringend vom Kauf derartiger Gentechnik-Kits ab.

[<https://www.vbio.de/aktuelles/politik-gesellschaft/import-von-gentechnik-kits-verboten/>]

Nickl, Januar 2020