

Überprüfung von Bakterien und Pilzen



Staatliches Gewerbeaufsichtsamt Hildesheim

Gewerbeaufsicht in Niedersachsen Behörde für Arbeits-, Umwelt- und Verbraucherschutz
Zentrale Unterstützungsstelle Abfall, Gentechnik und Gerätesicherheit (ZUS AGG)
Dezernat 33 Gentechnik



Dr. Christina Scharnhorst und Dr. Sigrun Feldmann

Einleitung

Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefen und Pilze werden bei gentechnischen Arbeiten als Spender- und Empfängerorganismen im Bereich der Grundlagenforschung und vermehrt auch in der Anwendung eingesetzt. Das Paradebeispiel ist die Produktion von menschlichem Insulin mit Hilfe von gentechnisch veränderten *E. coli* Bakterien. In der Medizin werden gentechnisch veränderte Mikroorganismen oder Zellen hauptsächlich zur Gewinnung von Arzneimitteln und Impfstoffen, sowie zur Entwicklung diagnostischer Möglichkeiten angewandt. Weiterhin kann man mit Gentechnik die Ausbeute bei Antibiotika produzierenden Bakterien und Pilzen um das 1000fache steigern und unerwünschte Nebenwirkungen eliminieren.

Ziel der Untersuchungen

Die Probenahme kann in gentechnischen Anlagen beispielsweise aus Bakterien- bzw. Pilzkulturen (Reinkultur) oder von Oberflächen (Wischprobe/ Umgebungsprobe) erfolgen. Die Identität und Reinheit des Empfängerorganismus/GVO ist ein wichtiges Kriterium bei der Sicherheitsbewertung von gentechnischen Arbeiten. Weiterhin soll bei der analytischen Überwachung der Nachweis von GVO in Wisch- und Umweltproben ggf. Lücken in den Einschließungsmaßnahmen dem „Containment“ aufdecken und Hinweise zur Verbesserung des Arbeitsschutzes liefern.



Abb. 2: Bakterienkokken auf Blutagar



Abb.3: Aspergillus Schimmelpilz (mikroskopisch)

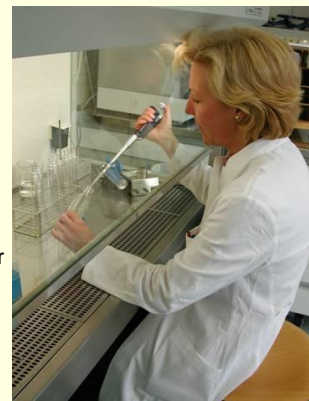


Abb.1: Mikrobiologische Arbeit

Überprüfung von Mikroorganismen auf Identität und Reinheit

Im Wesentlichen kommen folgende Methoden zum Einsatz:

- ⇒ Kultivierung auf speziellen Nährböden
- ⇒ Biochemische Prüfung von Stoffwechseleigenschaften
- ⇒ DNA Extraktion aus Einzelkolonien (genomische bzw. Plasmid-DNA)
- ⇒ Überprüfung der Mikroorganismen auf Identität mit Hilfe der PCR und ggf. Sequenzierung (z.B. 16S rDNA-Fragmente, ITS-Elemente)
- ⇒ Typisierung der Mikroorganismen mittels Fragmentanalyse (z.B. PFGE)
- ⇒ Überprüfung und ggf. Quantifizierung der gentechnischen Veränderungen mittels PCR, Real-time PCR

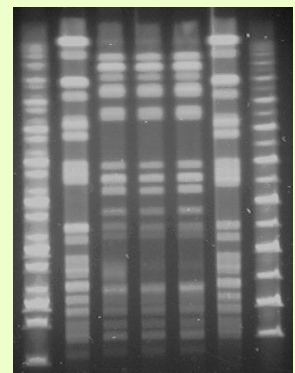


Abb.4: PFGE von SfiI geschnittener genomischer DNA verschiedener *E. coli* Stämme

Ergebnisse aus der Überwachung

- ⇒ andere Bakterienstämme verwendet als dokumentiert
- ⇒ fehlende bzw. zusätzliche Antibiotikaresistenzen
- ⇒ Konstrukte schlecht charakterisiert
- ⇒ andere Plasmide verwendet