

Nachweis des gentechnisch veränderten "Maximizer"-Mais mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) = Detection of the genetically engineered "maximizer" maize using the polymerase chain reaction (PCR)

Autor(en): **Studer, Edgar / Dahinden, Isabelle / Lüthy, Jürg**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **88 (1997)**

Heft 5

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982333>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Nachweis des gentechnisch veränderten «Maximizer»-Mais mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Detection of the Genetically Engineered «Maximizer» Maize using the Polymerase Chain Reaction (PCR)

Key words: Novel food «Maximizer» maize *cryIA (b)*, Genetically modified organisms (GMO), Polymerase chain reaction

Edgar Studer, Isabelle Dahinden, Jürg Lüthy und Philipp Hübner
Labor für Lebensmittelchemie, Departement für Chemie und Biochemie,
Universität Bern

Einleitung

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist zu einem der wichtigsten Werkzeuge in der Molekularbiologie geworden. Sie hat insbesondere auch in der Lebensmittelanalytik einen wichtigen Platz eingenommen (1), sei es für den Nachweis von pathogenen Mikroorganismen (2, 3) oder von Nahrungsmittelkomponenten (4) sowie für die Identifikation von Tierarten in Fleischprodukten (5, 6).

Seit dem 1. Juli 1995 sind gentechnisch veränderte Lebensmittel in der Schweiz bewilligungs- und deklarationspflichtig. *Alle Lebensmittel, Zusatzstoffe und Verarbeitungstoffe, die gentechnisch veränderte Organismen sind oder daraus gewonnen wurden, müssen mit dem Hinweis «GVO-Erzeugnis» gekennzeichnet sein* (Art. 22 Abs. 1^k). *Nicht unter die Deklaration fallen Erzeugnisse, die vom Organismus abgetrennt und vom Erbmaterial gereinigt sind* (z. B. chemisch definierbare Stoffe).

Gentechnisch veränderte Lebensmittel können mit einer molekularbiologischen Methode wie die eingangs erwähnte PCR nachgewiesen werden. Mittlerweile sind in den USA 27 gentechnisch veränderte Pflanzen zum Verkauf zugelassen (7); in der EU sind es drei gentechnisch veränderte Pflanzen («Roundup ReadyTM»-Sojabohne, «Maximizer»-Mais und Raps von Plant Genetic Systems) und in der Schweiz eine («Roundup ReadyTM»-Sojabohne). Mit einem Screening-PCR-Verfahren (8) lassen sich die meisten dieser transgenen Pflanzen in Lebensmitteln nachweisen. Dieses System basiert auf den folgenden oft verwendeten genetischen Elementen: 35S-Promotor, NOS-Terminator sowie Kanamycinresistenzgen. Die Identifikation der einzelnen gentechnisch veränderten Pflanzen ist mit dieser Me-

thode jedoch nicht möglich. Zu diesem Zweck wurden spezifische PCR-Nachweissysteme beschrieben, welche die Detektion der «FlavrSavrTM»-Tomate (9) oder der «Roundup RedayTM»-Sojabohne (10) erlauben.

Der «Maximizer»-Mais von Ciba Seeds (11) trägt 3 Transgene: das Bt-Gen (*cryIA(b)*), das BASTA-Resistenzgen (*bar*) sowie das Antibiotikaresistenzgen (*bla*). Das Bt-Gen stammt ursprünglich aus *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* HD-1 und kodiert für das δ -endo-Toxin CryIA(b), welches ein Frassgift für gewisse Insekten wie z. B. den Maiszünsler ist. Das Gen wurde dem Mais entsprechend angepasst (Erhöhung des GC-Gehaltes von 38% auf 65%) und um beinahe die Hälfte gekürzt. Das synthetische Gen kodiert nur für die ersten 648 von 1155 Aminosäuren, wobei das aktive Toxin nach der Spaltung mit einer Peptidase im Darm des Zielorganismus (Maiszünsler) aus denselben Aminosäuren zusammengesetzt ist wie das ursprüngliche Toxin. Die Homologie zum ursprünglichen Gen beträgt nur noch 65% (11). Das synthetische Bt-Gen wurde zweifach in die Maispflanze eingeführt, einmal unter der Kontrolle des Mais-Promotors PEPC sowie unter der Kontrolle eines Mais-pollenspezifischen Promotors (11). Diese Wahl der Promotoren erlaubt die Expression des Toxins in denjenigen pflanzlichen Geweben, welche vom Maiszünsler gefressen werden. Die Expression im Maiskorn hingegen ist 20- bis 100mal tiefer als in den Zielgeweben (11).

Das Ziel dieser Studie war die Entwicklung und Etablierung eines sensitiven Nachweissystems für den «Maximizer»-Mais. Um die Anwesenheit und Amplifizierbarkeit von Mais-DNA in verschiedenen Maisprodukten überprüfen zu können, wurde zudem ein spezifisches Nachweissystem für Mais-DNA entwickelt und ausgetestet.

Material und Methoden

DNA-Extraktion und -Reinigung

Je 300 mg der gemahlten bzw. zerkleinerten Maisproben wurden abgewogen und zusammen mit 860 μ l Extraktionspuffer (10 mM Tris [pH 8,0], 150 mM NaCl, 2 mM EDTA und 1% [w/V] Natrium-Dodecyl-Sulfat), 100 μ l (5 M) Guanidin-Hydrochloridlösung (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) und 40 μ l (20 mg/ml) Proteinase K (E. Merck, Darmstadt, Deutschland) in einem 2-ml-Röhrchen vermischt. Anschliessend wurden die Proben auf einem Thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) bei 58 °C während 3 bis 15 Stunden inkubiert.

Nach der Verdauung wurden die Proben bei 14 500 g 10 Minuten lang zentrifugiert. 450 μ l des Überstandes wurden zu 1 ml «WizardTM DNA Purification Resin» (Promega, Madison, WI, USA) pipettiert und gemäss dem WizardTM-Protokoll aufgearbeitet. Die gereinigte DNA wurde in 50 μ l Wasser (70 °C) eluiert. Die DNA-Lösung wurde unverdünnt oder verdünnt für die PCR-Analysen eingesetzt.

Oligonukleotide

Alle Primer wurden bei Microsynth (Balgach, Schweiz) synthetisiert, im Labor aliquotiert und gefriergetrocknet bei minus 20 °C aufbewahrt. Die Sequenzen der verwendeten Primer sind in Tabelle 1 aufgelistet. Die Sequenzen und Längen der Primer wurden mit Hilfe der Computer Software «*Oligo 5.0 Primer Analysis Software*» (NBI, Plymouth, MN, USA) bestimmt.

Die Primer CRYIA1, CRYIA2, CRYIA3 und CRYIA4 sind komplementär zur Sequenz des transgenen *cryIA(b)*-Gens (12), während die Primer ZEIN1, ZEIN2, ZEIN3 und ZEIN4 Sequenzen des Gens für das 10-kD-Zein-Speicherprotein (13) erkennen. Die Primer TR03 und TR04 («Eukaryonten-PCR») sowie 35S-1 und 35S-2 wurden schon früher beschrieben (4, 8).

Tabelle 1. Liste der verwendeten Primer

Name	Sequenz (5' -3')	Referenz
CRYIA1	CGG CCC CGA GTT CAC CTT	12
CRYIA2	CTG CTG GGG ATG ATG TTG TTG	12
CRYIA3	CCG CAC CCT GAG CAG CAC	12
CRYIA4	GGT GGC ACG TTG TTG TTC TGA	12
ZEIN1	GCT TGC ATT GTT CGC TCT C	13
ZEIN2	CGA TGG CAT GTC AAC TCA TTA	13
ZEIN3	AGT GCG ACC CAT ATT CCA G	13
ZEIN4	GAC ATT GTG GCA TCA TCA TTT	13
35S-1	GCT CCT ACA AAT GCC ATC A	8
35S-2	GAT AGT GGG ATT GTG CGT CA	8
TR03	TCT GCC CTA TCA ACT TTC GAT GGT A	4
TR04	AAT TTG CGC GCC TGC TGC CTT CCT T	4

PCR

Das CRYIA- und das ZEIN-PCR-System sind «Nested-PCR-Systeme». Optimierte Konzentrationen für beide Systeme sind: 1x Reaktionspuffer (Promega), 3 mM MgCl₂, 2 µg/ml bovines Serumalbumin (Sigma), 200 µM dNTPs (dGTP, dATP, dTTP, dCTP) (Promega), 0,5 µM Primer und 1 Unit *Taq*-DNA-Polymerase (Promega). Je 5 µl Templat-DNA wurden zu 45 µl des PCR-Reaktionsmixes pipettiert. Die Amplifikation erfolgte auf einem *Progene*-Thermocycler (Techne, Princeton, NY, USA) mit folgendem Temperaturprogramm: Prädenaturierung bei 95 °C für 5 min; Zyklen bei 96 °C für 1 min und bei 60 °C für 1 min (2-Step-PCR); Schlussexension bei 72 °C für 3 min; Abkühlung auf 30 °C für 1 min.

In der ersten PCR (25 Zyklen) wurden die äusseren Fragmente (CRYIA1-CRYIA2 bzw. ZEIN1-ZEIN2) und in der zweiten PCR (35 Zyklen) die inneren Fragmente (CRYIA3-CRYIA4 bzw. ZEIN3-ZEIN4) amplifiziert.

Die Konzentrationen der PCR-Reagenzien und die PCR-Bedingungen für die einfachen PCR-Systeme (ZEIN1-ZEIN2, ZEIN3-ZEIN4, CRYIA1-CRYIA2 und

CRYIA3-CRYIA4) sind dieselben wie oben beschrieben. Die DNA wurde während 40 Zyklen amplifiziert.

Die Bedingungen für die «Eukaryonten-PCR» (TR03, TR04) und für die CaMV-35S-PCR (35S-1, 35S-2) wurden bereits früher beschrieben (4, 8). Optimierte Konzentrationen sind: 1x Reaktionspuffer (Promega) 1,5 mM MgCl₂ («Eukaryonten-PCR») bzw. 2,5 mM MgCl₂ (CaMV-35S-PCR), 2 µg/ml bovines Serumalbumin (Sigma), 200 µM dNTPs (dGTP, dATP, dTTP, dCTP), 0,5 µM Primer und 1 Unit *Taq*-DNA-Polymerase (Promega). Je 5 µl Templat-DNA wurden zu 45 µl des PCR-Reaktionsmixes pipettiert. Die Amplifikation erfolgte auf einem *Progene*-Thermocycler (Techne, Princeton, NY, USA) mit folgendem Temperaturprogramm: Prädenaturierung bei 95 °C für 5 min; 40 Zyklen bei 95 °C für 36 s, bei 55 °C für 72 s und bei 72 °C für 84 s; Schlussexension bei 72 °C für 3 min; Abkühlung auf 30 °C für 1 min.

Resultate und Diskussion

Für die Herstellung vieler Lebensmittel werden Mais oder Maisprodukte wie z. B. Maisstärke verwendet. Der Nachweis von Mais-DNA aus prozessierten Lebensmitteln ist dadurch erschwert, dass einerseits der Anteil der zu amplifizierenden DNA nur sehr gering ist und andererseits die DNA degradiert und nicht mehr amplifizierbar ist. Aus diesen Gründen ist es wichtig, dass das System zum Nachweis des gentechnisch veränderten «Maximizer»-Mais sensitiv genug ist, um Spuren von DNA in prozessierten Lebensmitteln nachzuweisen. Zudem muss ein System zur Verfügung stehen, welches die DNA aller Maissorten amplifiziert, damit kontrolliert werden kann, ob überhaupt amplifizierbare Mais-DNA vorhanden ist.

Design der Nachweissysteme

PCR-Protokolle für den Nachweis des gentechnisch veränderten «Maximizer»-Mais sowie für den generellen Nachweis von Mais-DNA wurden entwickelt und ausgetestet.

Das synthetische *cryIA(b)*-Gen wurde als Zielsequenz für die Detektion von «Maximizer»-Mais ausgewählt. Das Nachweissystem für diesen Mais (CRYIA-System) wurde als «Nested»-PCR-System konzipiert. Die beiden äusseren Primer CRYIA1 und CRYIA2 bestimmen ein Fragment mit einer Länge von 420 bp. Das innere PCR-Produkt hat eine Länge von 189 bp und entsteht durch die Amplifikation mit den Primern CRYIA3 und CRYIA4 (siehe Abb. 1). Da diese Primer nicht mit der DNA von *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* HD-1 hybridisieren (14), besteht die Gefahr von falsch positiven Resultaten aufgrund der Anwesenheit von DNA dieses Bakteriums nicht. Neben dem «Maximizer»-Mais wird ebenfalls der «NatureGard»-Mais von Mycogen nachgewiesen, da bei dieser Maissorte das gleiche Plasmid für die Transformation der Maispflanze verwendet wurde. Andere

gentechnisch veränderte Maissorten (7) tragen auch synthetische *cryIA(b)*-Gene, wobei deren Sequenzen nicht publiziert sind. Daher ist nicht bekannt, ob diese Transgene mit unserem PCR-System nachweisbar sind.

Für den Nachweis von Mais-DNA wählten wir das Gen für das 10-kD-Zein-Speicherprotein aus (13). Das generelle Nachweissystem für Mais-DNA (ZEIN-System) ist ebenfalls ein «Nested»-PCR-System. Die Primer ZEIN1 und ZEIN2 begrenzen das äussere Fragment mit einer Länge von 485 bp. Die Primer ZEIN3 und ZEIN4 führen zur Amplifikation eines Fragments von 277 bp Länge (siehe Abb. 1).

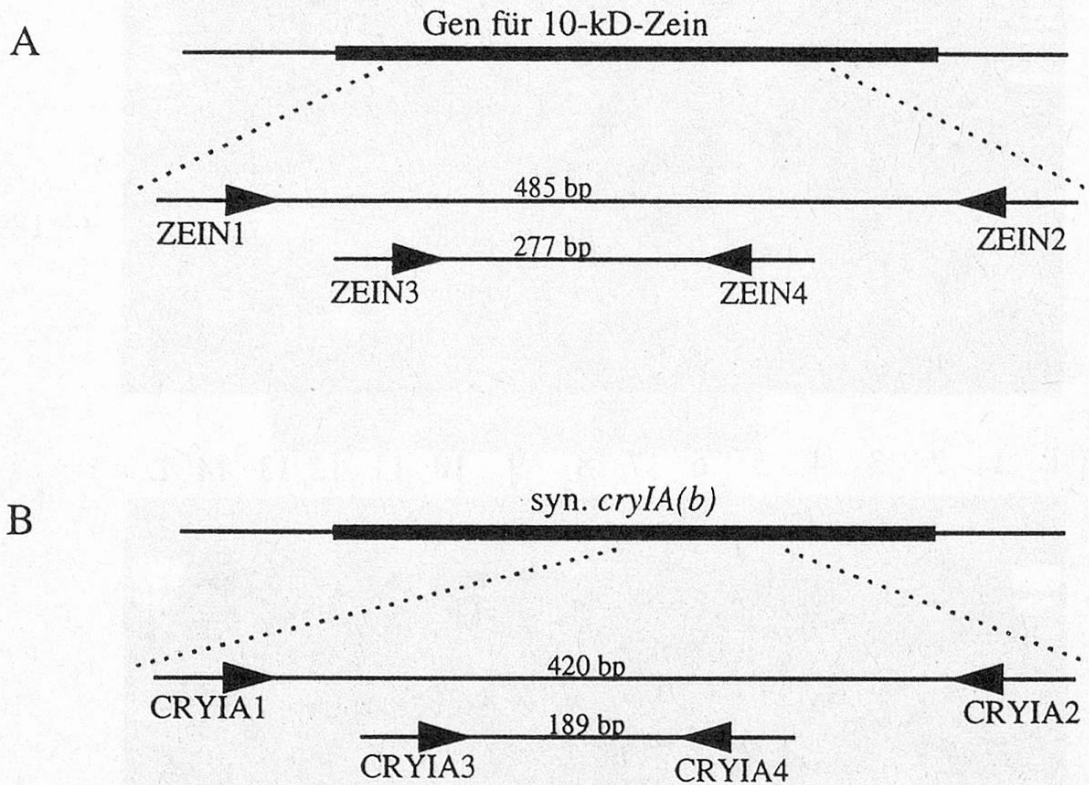


Abb. 1. Schematische Darstellung des ZEIN- und CRYIA-PCR-Systems

Spezifität der Nachweissysteme

Um die Spezifität des CRYIA-Systems zu überprüfen, wurden DNA-Extrakte von verschiedenen Pflanzen und Tieren mit dem CRYIA-System getestet (siehe Abb. 2A). Die Amplifikation eines richtigen Fragmentes von 189 bp Länge konnte nur bei «Maximizer»-Mais (siehe Abb. 2A, Spur 13) beobachtet werden. Insbesondere wurde weder DNA von konventionellem Mais (Spur 12) noch von der «Roundup Ready™»-Sojabohne (Spur 11) oder von der «FlavrSavr™»-Tomate (Spur 9) amplifiziert. Die Amplifizierbarkeit der verschiedenen DNA-Extrakte wurde mit der früher beschriebenen «Eukaryonten-PCR» (4) verifiziert. Die Primer hybridisieren also nur an das im «Maximizer»-Mais verwendete synthetische *cryIA(b)*-Gen. Andere gentechnisch veränderte Maissorten (7) waren nicht erhältlich und konnten nicht getestet werden.

Die Spezifität des ZEIN-Systems wurde mit denselben DNA-Extrakten getestet, die für das CRYIA-System benutzt wurden (siehe Abb. 2B). Ausser bei konventionellem Mais (siehe Abb. 2B, Spur 12) und bei «Maximizer»-Mais (Spur 13) wurde keine DNA-Amplifikation beobachtet. Somit ist das ZEIN-System spezifisch für Mais-DNA.

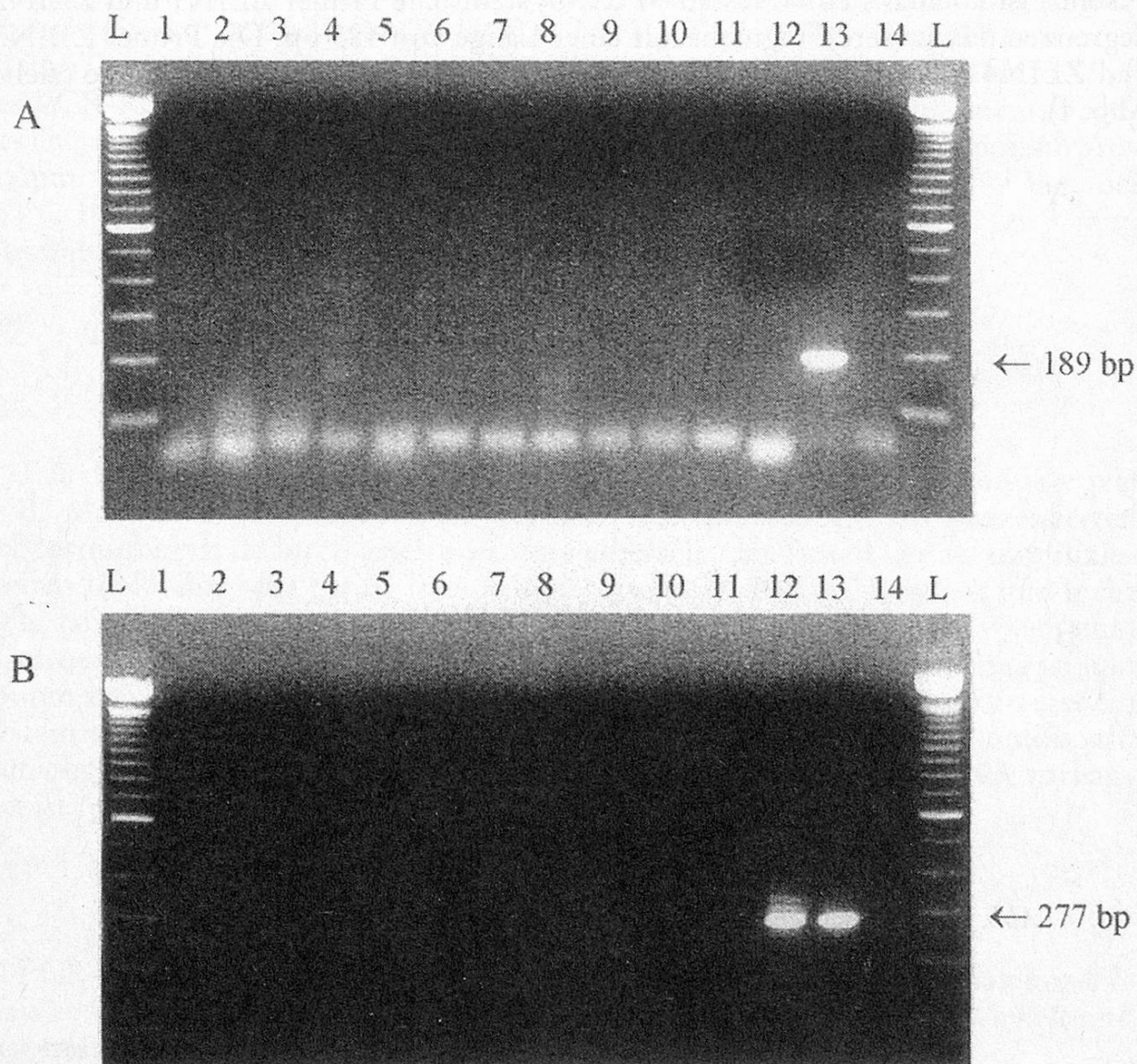


Abb. 2. Spezifität der PCR-Nachweissysteme für «Maximizer»-Mais (A) und Mais (B). 1, Weizen; 2, Dinkel; 3, Hafer; 4, Gerste; 5, Roggen; 6, Reis; 7, Kartoffel; 8, Hauschwein; 9, «FlavrSavrTM»-Tomate; 10, konventionelle Soja; 11, «Roundup ReadyTM»-Soja; 12 konventioneller Mais; 13 «Maximizer»-Mais; 14 negative PCR-Kontrolle; L, 100-bp-Leiter

Sensitivität der Nachweissysteme

Damit relevante Aussagen über die Amplifizierbarkeit der extrahierten Mais-DNA erhalten werden und das maisspezifische System (ZEIN) mit dem GVO-

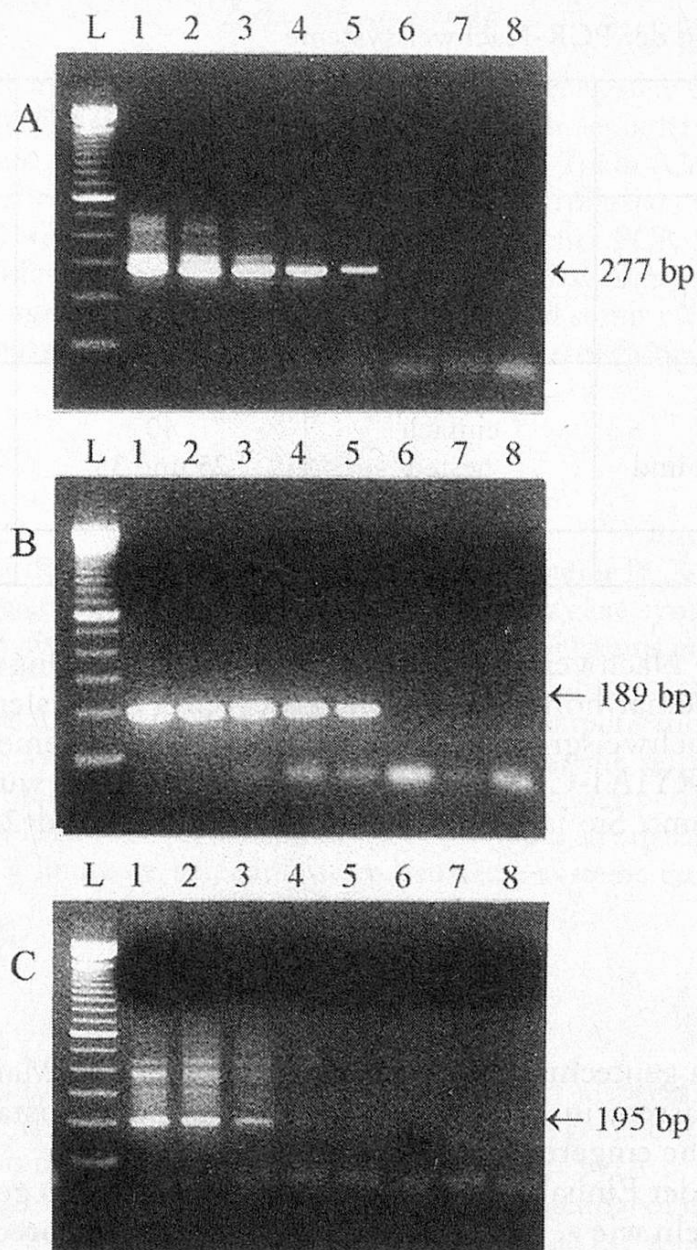


Abb. 3. Sensitivität der PCR-Nachweissysteme für Mais (A) und «Maximizer»-Mais (B) im Vergleich zum CaMV-35S-System (C).

Folgende Mengen von DNA aus «Maximizer»-Mais wurden ausgetestet: 1, 250 ng; 2, 25 ng; 3, 2500 pg; 4, 250 pg; 5, 25 pg; 6, 2500 fg; 7, 250 fg; 8, negative PCR-Kontrolle; L, 100-bp-Leiter

maisspezifischen (CRYIA) verglichen werden kann, sollten die beiden Systeme annähernd die gleiche Sensitivität aufweisen.

Die Sensitivität dieser Systeme wurde mittels der Amplifikation von seriellen 10fach-Verdünnungen einer DNA-Extraktion aus «Maximizer»-Mais getestet. Die Ausgangskonzentration der DNA-Lösung wurde bestimmt und betrug 490 µg/ml. Die experimentell bestimmten Nachweisgrenzen der beiden Systeme lagen im gleichen Bereich bei ungefähr 25 pg DNA (siehe Abb. 3, Tabelle 2). Dieselben Verdünnungen wurden zur Bestimmung der Sensitivität des CaMV-35S-Systems

Tabelle 2. Sensitivität der PCR-Nachweissysteme

PCR-System	PCR-Format	Anzahl PCR-Zyklen	Nachweisgrenze (in pg «Maximizer»- Mais-DNA)
ZEIN1 - ZEIN2	einfach	40	250 bis 2500
ZEIN3 - ZEIN4	einfach	40	2500
ZEIN1 - ZEIN2 und ZEIN3 - ZEIN 4	nested	25 und 35	25
CRYIA1 - CRYIA2	einfach	40	250
CRYIA3 - CRYIA4	einfach	40	25
CRYIA1 - CRYIA2 und CRYIA3 - CRYIA4	nested	25 und 35	25
35S-1 - 35S-2	einfach	40	2500

(8) verwendet. Die Nachweisgrenze dieses Systems lag bei ungefähr 2,5 ng DNA und war damit 100mal höher als diejenige des CRYIA-Systems (siehe Abb. 3, Tabelle 2). Die Nachweisgrenzen der einfachen PCR-Systeme (ZEIN1-ZEIN2, ZEIN3-ZEIN4, CRYIA1-CRYIA2 und CRYIA3-CRYIA4) wurden ebenfalls experimentell bestimmt. Sie lagen zwischen 2,5 ng DNA und 25 pg DNA (siehe Tabelle 2).

Schlussfolgerung

Die EU hat den gentechnisch veränderten «Maximizer»-Mais als Lebens- und Futtermittel zugelassen; in der Schweiz wurden bei den zuständigen Behörden Bewilligungsgesuche eingereicht.

Eine Kontrolle der Einhaltung der Deklarationspflicht von gentechnisch veränderten Lebensmitteln wie z. B. «Maximizer»-Mais setzt entsprechende Nachweismethoden voraus. Das von uns entwickelte CRYIA-PCR-System erlaubt den spezifischen und sensitiven Nachweis des synthetischen *cryIA(b)*-Gens, welches im gentechnisch veränderten «Maximizer»-Mais vorhanden ist. Mit dem ebenfalls von uns entwickelten ZEIN-PCR-System kann zudem abgeklärt werden, ob überhaupt amplifizierbare Mais-DNA vorhanden ist. Dies ist umso wichtiger, da Inhaltsstoffe vieler Lebensmittel die PCR hemmen können. Mit diesen beiden Systemen haben wir die nötigen Werkzeuge in der Hand, um die Einhaltung der Deklarationsvorschriften für «Maximizer»-Mais kontrollieren zu können.

Dank

Wir danken Herrn Dr. W. Hemmer (Fachagentur BATS) für die Vermittlung der molekularen Daten und dem Migros-Genossenschaftsbund, Zürich, für die finanzielle Unterstützung.

Zusammenfassung

In dieser Studie wird ein spezifisches und sensitives PCR-System für den Nachweis des synthetischen *cryIA(b)*-Gens beschrieben. Der gentechnisch veränderte «Maximizer»-Mais enthält unter anderem dieses Gen, welches für das δ -endo-Toxin (CryIA(b)) codiert. Das System hat eine Nachweisgrenze von 25 pg DNA. Zur Kontrolle der Amplifizierbarkeit der extrahierten Mais-DNA wurde zusätzlich ein maisspezifisches PCR-System basierend auf dem Gen für das 10-kD-Zein-Speicherprotein entwickelt. Mit diesem System kann überprüft werden, ob ein *Erzeugnis vom Erbmaterial gereinigt* ist und somit nicht unter die (schweizerische) Deklarationspflicht fällt. Die Nachweisgrenze dieses Systems liegt ebenfalls bei 25 pg DNA.

Résumé

Ce travail décrit le développement et l'évaluation d'un système PCR (réaction polymérase en chaîne) spécifique et sensible pour la mise en évidence du gène synthétique *cryIA(b)*. Le maïs «maximizer», maïs modifié par la méthode du génie génétique, contient entre autre ce gène codant pour la δ -endo-toxine (CryIA(b)). Le système PCR est caractérisé par une limite de détection de 25 pg ADN. Afin de vérifier le potentiel d'amplification de l'ADN de maïs extrait, un deuxième système PCR a été développé. Ce système se base sur le gène de la 10-kD-zéine, une protéine de réserve. La méthode PCR présentée permet de contrôler si un produit a été libéré de l'ADN et qui par conséquent ne doit pas être déclaré selon la législation alimentaire suisse. La limite de détection de ce deuxième système est également de 25 pg ADN.

Summary

This study describes the development and evaluation of a specific and sensitive PCR system for the detection of the synthetic *cryIA(b)* gene. The genetically engineered «Maximizer» maize contains this gene coding for the δ -endo toxin (CryIA(b)). The detection limit of the system is 25 pg DNA. To control the amplification potential of the extracted DNA, a second maize specific PCR system based on the gene for the 10 kD zein storage protein was developed. This system allows to check, whether a *product is purified from DNA* and has not to be labelled according to the (swiss) food regulation. The detection limit of this system is also 25 pg DNA.

Literatur

1. Candrian, U.: Die Polymerase-Kettenreaktion in der Lebensmittelanalytik. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **85**, 704–718 (1994).
2. Wegmüller, B., Lüthy, J. and Candrian, U.: Direct polymerase chain reaction detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in raw milk and dairy products. Appl. Environ. Microbiol. **59**, 2161–2165 (1993).
3. Allmann, M., Höfelein, C., Köppel, E., Lüthy, J., Meyer, R., Niederhauser, C., Wegmüller, B. and Candrian, U.: Polymerase chain reaction (PCR) for detection of pathogenic

- microorganisms in bacteriological monitoring of dairy products. *Res. Microbiol.* **146**, 85–97 (1995).
4. *Allmann, M., Candrian, U., Höfelein, C. and Lüthy, J.*: Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. Detection of wheat contamination in non-wheat food products. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* **196**, 248–251 (1993).
 5. *Meyer, R., Candrian, U. und Lüthy, J.*: Tierartbestimmung und Sojanachweis in erhitzten Fleischprodukten mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR). *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **84**, 112–121 (1993).
 6. *Meyer, R., Höfelein, C., Lüthy, J. and Candrian, U.*: Polymerase chain reaction – Restriction fragment length polymorphism analysis: A simple method for species identification in food. *J. AOAC Intern.* **78**, 1542–1551 (1995).
 7. *Hemmer, W.*: Foods derived from genetically modified organisms and detection methods. *BATS-report.* **2/97** (1997).
 8. *Pietsch, K., Waiblinger, H. U., Brodmann, P. und Wurz, A.*: Screeningverfahren zur Identifizierung «gentechnisch veränderter» pflanzlicher Lebensmittel. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.* **93**, 35–38 (1997).
 9. *Meyer, R.*: Nachweis gentechnologisch veränderter Pflanzen mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) am Beispiel der FLAVRSavrTM Tomate. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* **201**, 583–586 (1995).
 10. *Köppel, E., Stadler, M., Lüthy, J. and Hübner, P.*: Sensitive Nachweismethode für die gentechnisch veränderte Sojabohne «Roundup ReadyTM». *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **88**, 164–175 (1997).
 11. *Koziel, M. G., Beland, G. L., Bowman, C., Carozzi, N. B., Crenshaw, R., Crossland, L., Dawson, J., Desai, N., Hill, M., Kadwell, S., Launis, K., Lewis, K., Maddox, D., McPherson, K., Meghji, M. R., Merlin, E., Rhodes, R., Warren, G. W., Wright, M. and Evola, S.*: Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technol.* **11**, 194–200 (1993).
 12. *Koziel, M. G., Desai, N. M., Lewis, K. S., Kramer, V. C., Warren, G. W., Evola, S. V., Crossland, L. D., Wright, M. S., Merlin, E. J., Launis, K. L., Rothstein, S. J., Bowman, C. G., Dawson, J. L., Dunder, E. M., Pace, G. M. and Suttie, J. L.*: Synthetic DNA sequence having enhanced insecticidal activity in maize. Patent: US 5625136-A 10 (1997).
 13. *Kirihara, J. A., Hunsberger, J. P., Mahoney, W. C. and Messing, J. W.*: Differential expression of a gene for a methionine-rich storage protein in maize. *Mol. Gen. Genet.* **211**, 477–484 (1988).
 14. *Schurter, L. W., Geiser, M. and Mathe, D.*: Efficient transformation of *Bacillus thuringiensis* and *B. cereus* via electroporation: transformation of acrySTALLIFEROUS strains with a cloned delta-endotoxin gene. *Mol. Gen. Genet.* **218**, 177–181 (1989).

Edgar Studer
 Isabelle Dahinden
 PD Dr. Jürg Lüthy
 Dr. Philipp Hübner
 Labor für Lebensmittelchemie
 Departement für Chemie und Biochemie
 Universität Bern
 Freiestrasse 3
 CH-3012 Bern