Überprüfung der Echtheit von Lebensmitteln anhand genetischer Untersuchungen

Kompetenzzentrum Verbraucherforschung und nachhaltiger Konsum der Hochschule Pforzheim

Verbraucherforschungsforum 15. März 2018 an der Hochschule Pforzheim

Einsatz von PCR und Mikrochip-Elektrophorese in der studentischen Ausbildung

Jessica Becker*, Doreen Lutz*, Marwa Erok, Ann Kathrin Grau, Dr. Oliver Vielhauer, <u>Prof. Dr. Tobias Preckel</u>

Hochschule Pforzheim, Fakultät für Technik, Tiefenbronner Straße 65, 75175 Pforzheim.

*die Autorinnen haben gleichermaßen zu der Studie beigetragen

Einleitung

Die Überprüfung der Echtheit von Lebensmitteln ist ein zunehmend wichtiger Bereich der Qualitätskontrolle durch Hersteller und öffentliche Organisationen. Die Ziele sind vor allem:

- Nachweis der Authentizität der verwendeten Rohmaterialien.
- Vermeidung von Lebensmittel Kontaminationen (z.B. durch Fabrikanlagen, die zur Herstellung unterschiedlicher Lebensmittel verwendet werden).
- · Detektion genmanipulierter Lebensmittel (GMO).

Moderne analytische Verfahren verwenden immer häufiger molekulargenetische Ansätze, bei denen das Vorhandensein oder Fehlen bestimmter DNA-Sequenzen in der Probe überprüft wird. Über die Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) lassen sich charakteristische Gensequenzen in der Lebensmittel-Probe vervielfältigen und nachweisen. Das Thema der Lebensmittel Authentizität eignet sich ideal für die studentische Ausbildung im Bereich der Molekularbiologie, da es eigenen Konsum mit moderneren Analyseverfahren in Verbindung bringt.

Analytik

Zum Nachweis der PCR-Produkte wird traditionell die Technik der Agarose-Elektrophorese verwendet. Dies ist ein bewährtes, aber zeitaufwändiges und manuelles Verfahren (hier nicht dargestellt). Im Gegensatz dazu beruht die Microchip-Elektrophorese (MCE) auf der mikrofluidischen Integration verschiedener Operationen auf einer einzelnen, miniaturisierten Anordnung. Beide Verfahren wurden im Rahmen der Studie zum Nachweis von PCR Produkten eingesetzt.







Trennung und Detektion der DNA Fragmente aus der PCR Probe über Mikrochip Elektrophorese

Messansatz

Die meisten GMO Lebensmittel enthalten DNA-Sequenzen des 35S Promoter des Cauliflower Mosaic Virus und/oder des Nopaline Synthase Gen Terminators des Agrobacterium tumefaciens. Detektiert werden diese beiden Sequenzen durch spezifische PCR Primer (GMO Primer). Diese binden nur, wenn die extrahierte DNA der Lebensmittelprobe gentechnisch modifiziert ist. Da hier die DNA als zentrales Nachweismolekül verwendet wird, lassen sich solche Tests für praktisch jedes biologische Nahrungsmittel entwickeln.

Versuchsablauf:

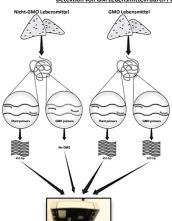
- 1) Sammeln von Probenmaterial
- 2) Extraktion der Proben-DNA
- 3) Vervielfältigung der Proben DNA mittels der PCR
- 4) Auswertung mit Hilfe der Mikrochip-Elektrophorese

Schematische Darstellung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Ausgangs DNA (Probe)

- Trennung der DNA in Einzelstränge und Anlagerung der Primer
- ·
 - Synthese des komplementären DNA Strangs

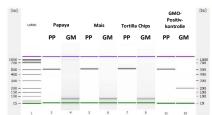
Detektion von GM Lebensmitteln durch PCR



- Lebensmittel Probe
- Extraktion der genomischen DNA aus der Probe
- PCR mit Proben DNA und GMO Primer. Für jeden Ansatz wird eine Positivkontrolle mit einem pflanzenspezifischen Primer (Plant Primer) durchgeführt
- PCR Ergebnis: DNA Vervielfältigung nur bei Vorliegen der passenden DNA Sequenz für Primer-Bindung
- Analyse durch
 Mikrochipelektrophorese

Ergebnisse

a) Nachweis GMO Lebensmittel



PP: Plant Primer (PCR Kontrolle) GM: GMO Primer

Alle getesteten Lebensmittel waren nicht genmanipuliert

b) Didaktische Vermittlung moderner analytischer Verfahren und von technologischen Entwicklungsschritten. Die Studierenden

- erlernen ein modernes Verfahren der Bioanalytik, dass direkte Relevanz für ihr Lebensumfeld hat.
- erkennen, wie durch Integration von Mechatronik, Optik, Informatik und Biochemie eine Verbesserung des traditionellen manuellen Verfahrens entsteht.
- erleben die Vorteile des Mikrochip-Elektrophorese Verfahrens: die Reduzierung von Analysenzeiten, des Probenverbrauchs, digitale Daten und die Einsparung von Laborplatz. Daher eignet sich dieses Verfahren insbesondere für die studentische Ausbildung im Bereich der Bioanalytik.

Materialien & Geräte

- GMO Investigator Kit, BioRad
- Sure Cycler PCR System, Agilent Technologies
- Bioanalyzer DNA1000 Kit, Agilent Technologies
- Bioanalyzer System, Agilent Technologies

Literatur

- S. Garrett, M.-A. Clarke (2007) Use of the 2100 Bioanalyzer for Basmati Rice Authenticity Testing, Agilent Application Note, https://www.agilent.com/cs/library/.../5989-6836Fb
- G. Downey, (2016) Advances in Food Authenticity Testing, Woodhead Publishing, Elsevier

Danksagung

Die Autoren danken der Firma Agilent für die Spende von Verbrauchsmaterialien für die Durchführung von Experimenten am Bioanalyzer.

rerändert nach BIO-RAD, Biotechnology Explorer GMO Investigator Kit, S. 34