

Angewandte Wissenschaft » Originalarbeiten exklusiv für Sie vorgestellt

Eine universell einsetzbare PCR-Methode zur Pflanzenartbestimmung von Lebensmitteln: Erfahrungen und Möglichkeiten

Albert Eugster, Petra Murmann und André Käzigi

Amt für Verbraucherschutz des Kantons Aargau, Obere Vorstadt,
CH-5000 Aarau/Schweiz

Zusammenfassung

Diese Arbeit beschreibt eine konventionelle PCR-Methode, die in einer großen Anwendungsbreite die Pflanzenartbestimmung in beinahe beliebigen pflanzlichen Lebensmitteln zulässt. Die Primerbindungsstellen liegen auf der plastidären DNA und sind hoch konserviert. Die Wahl fiel auf einen Abschnitt im *trnL*-Gen, da von diesem Gen in öffentlich zugänglichen DNA-Datenbanken am meisten Datensätze von verschiedenen Pflanzenarten vorliegen. Bei der Verwendung des beschriebenen PCR-Systems liegt ein stark ausgeprägter Amplikonlängen-Polymorphismus (ca. 200 bis 500 bp) vor, was oftmals den Einsatz von weiteren Post-PCR-Schritten erübrigt. Zudem unterstützt eine große Heterologie der Nukleobasensequenz innerhalb der Amplikons verschiedener Pflanzenarten die Zuordnung von DNA-Sequenzen zu einer bestimmten Pflanzenart.

Summary

This work describes a conventional PCR method for the identification of a broad range of plant species in almost all kind of food. The primer binding sites are located in highly conserved regions of the chloroplast DNA. A section of the *trnL* gene was chosen due to the availability of its datasets in public DNA databases for various plant species. Applying the described PCR method results in a high polymorphism in amplicon length (approx. 200 to 500 base pairs), which might permit analysis without further post PCR steps. Additionally, the large heterology within the amplicon DNA sequences enhances the attribution to a specific plant species.

Einleitung

Anfangs der 1990er-Jahre wurden unspezifische, konventionelle PCR-Systeme, entwickelt von Systembiologen (Phylogenetiker) in die Lebensmittel-Analytik übernommen. Der Zweck der Anwendung lag im Nachweis von amplifizierbarer DNA als Erfolgskontrolle nach erfolgter DNA-Extraktion („Amplifikationskontrolle“) resp. im Nachweis der Abwesenheit von mitisolierten, PCR-stö-

renden Substanzen („PCR-Inhibitoren“). Zur Anwendung gelangten hauptsächlich ein pflanzenspezifisches PCR-System von *Taberlet et al.* [1] auf dem Chloroplastengenom mit einem PCR-Produkt von ca. 600 bp Länge und ein zweites System für den Eukaryonten-Nachweis auf der ribosomalen DNA mit einem PCR-Produkt von konstant 137 bp Länge [2].

Auf dem Gebiet der Allergen-Analytik, wo es gilt, quantitative Bestimmungen von allergenen pflanzlichen Lebensmittelanteilen durchzuführen, die als Kontamination oder als Zutat in das zu untersuchende Lebensmittel gelangt sind, kommen neben proteinspezifischen Methoden (ELISA) immer öfter pflanzenartspezifische Real-time-PCR-Systeme im Single- oder Multiplex-Modus zum Einsatz [3–6].

Wird in der Analytik von gentechnisch veränderten Lebensmitteln der Anteil eines bestimmten GVO-Events quantifiziert, so bezieht sich der angegebene GVO-Anteil immer auf die pflanzenartspezifische Zutat. Wird z. B. der Mais-GVO-Event Bt11 in einem zusammengesetzten Lebensmittel quantifiziert, so kommt neben der Real-time-PCR für den Bt11 ebenso eine Real-time-PCR zum Einsatz, die den Maisanteil in der Probe pflanzenartspezifisch erfasst. Dies erfordert die Anwendung von pflanzenartspezifischen Bestimmungsmethoden, heutzutage nur noch Real-time-PCR-Systemen auf sog. endogenen Kontrollgenen [7] für die Quantifizierung von Soja [8], Mais [9–11], Raps [12,13], Reis [14,15] und Weizen [16]. Da in den Anfängen der GVO-Analytik hauptsächlich pflanzenart-reine Mehle untersucht wurden, waren die Anforderungen an die Spezifität der endogenen Kontrollgene nicht sehr hoch. Werden nun aber zusammengesetzte Lebensmittel auf GVO-Anteile untersucht und diese anschließend quantifiziert, steigen die Anforderungen an die Spezifität. Bei einem Teil der beschriebenen Kontrollgene ist die Güte der Spezifität in Zweifel zu ziehen.