

Stabilität der Transgen-Expression in Nachkommen gentechnisch veränderter Pflanzen

Dietz-Pfeilstetter, Antje

Julius Kühn-Institut, Institut für Sicherheit in der Gentechnik bei Pflanzen

Bei der Herstellung gentechnisch veränderter Pflanzen ist eine zuverlässige und stabile Expression der neuen Eigenschaften über mehrere Generationen ein wichtiges Ziel. Expressionsstabilität ist auch die Voraussetzung, um phänotypisch basierte Nachweissysteme für Transgen-Auskreuzungen anzuwenden. Parallel zur Bestimmung der wechselseitigen Auskreuzungsrate zweier Herbizidresistenzgene aus Raps im Freiland wurde daher die Expression der beiden Resistenzgene *epsps* und *pat* in doppelt resistenten Rapspflanzen untersucht. Es wurde keine wechselseitige Beeinflussung der Genexpression gefunden, dagegen wurde bei beiden Genen ein Gendosiseffekt beobachtet.

Generell können Transgene in Folgegenerationen oder unter bestimmten Umweltbedingungen abgeschaltet werden („gene silencing“). Die größte Wahrscheinlichkeit, stabile transgene Linien herzustellen, bietet die Selektion von Einzelkopie-Transformanten mit Insertion in hypomethylierten Genombereichen. Allerdings können auch bei solchen Pflanzen unter bestimmten Bedingungen Transgene abgeschaltet werden. Eine Möglichkeit, die Expression in transgenen Pflanzen sowie die Stabilität in Folgegenerationen zu erhöhen, ist die Flankierung des Transgens mit S/MARs (scaffold/matrix attachment regions). Bei Verwendung eines S/MAR-Elements aus Petunien (Petun-SAR) zeigten P35S-*gus*-Gen-transformierte Tabakpflanzen im Vergleich zu Transformanten ohne Petun-SAR eine 1,5 bis 2-fach erhöhte Expression und einen Gendosiseffekt. Transgene Linien mit multiplen Genkopien und Rearrangements zeigten unabhängig von der S/MAR-Flankierung spätestens in der F1-Generation „gene silencing“, das mit Methylierungen im Promotor- und Genbereich assoziiert war. Petun-SAR-Linien mit nur einer Genkopie exprimierten das Markergen dagegen in den beiden untersuchten Folgegenerationen stabil, während bei Transformanten ohne S/MAR bei einem großen Teil der F2-Pflanzen das Transgen im Lauf der Entwicklung abgeschaltet wurde. Die Expressionsstabilität der Petun-SAR-Linien blieb auch nach der Einkreuzung eines P35S-*gus*-Transgens aus instabilen Linien erhalten. Weitere Untersuchungen sollen unter anderem klären, inwieweit dieser Effekt von der Kreuzungsrichtung abhängig ist.