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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 86 (1995)

**Heft:** 6

**Artikel:** Nachweis gentechnologisch veränderter Lebensmittel mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) = Detection of genetically engineered food by the polymerase chain reaction (PCR)

**Autor:** Meyer, Rolf

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-983653

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

**Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

**Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 14.07.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch**

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **86**, 648–656 (1995)

# Nachweis gentechnologisch veränderter Lebensmittel mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)*

Detection of Genetically Engineered Food by the Polymerase Chain Reaction (PCR)

*Key words:* GMOs, Flavr Savr™, Tomato, *Antisense*-RNA, Labelling of food

*Rolf Meyer*
Universität Bern, Institut für Biochemie, Abteilung für Lebensmittelchemie, Bern

## Einleitung

In diesem Vortrag wird das Thema «gentechnologisch veränderte Lebensmittel» vom analytischen Gesichtspunkt her angegangen und die Problematik eines Nachweises von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) in Lebensmitteln aufgezeigt. Über die Möglichkeiten, wie mittels gentechnologischer Verfahren hergestellte Lebensmittel in Zukunft nachgewiesen werden könnten, wurde bereits viel diskutiert (1). Ein solches Nachweisverfahren wurde nun in die Praxis umgesetzt, und es wird am Beispiel der auf dem Markt erhältlichen Flavr Savr™-Tomate demonstriert, wie ein solcher Test durchgeführt wird. Die beschriebene Methode (2) ist relativ einfach und somit für verschiedene Laboratorien der Lebensmittelkontrolle ein neues Mittel, um die Deklaration von gentechnisch veränderten Nutzpflanzen zu überwachen.

Mit dem Inkrafttreten des revidierten Lebensmittelgesetzes (LMG) und der neuen Lebensmittelverordnung (LMV) in der Schweiz, am 1. Juli 1995, sind gentechnisch veränderte Lebensmittel bewilligungs- und deklarationspflichtig. Alle *Lebensmittel, Zusatzstoffe und Verarbeitungshilfstoffe, 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 Deklarationspflicht fallen Erzeugnisse, die vom Organismus abgetrennt und vom Erbmaterial gereinigt sind,* dies sind alle *chemisch definierbaren Stoffe,* wie Kristallzucker aus gentechnisch veränderten Zuckerrüben sowie Aminosäuren, Aromastoffe, Vit-

* Vortrag gehalten an der 107. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Löwenberg (bei Murten), 8. September 1995

amine, organische Säuren usw. Ebenfalls nicht deklarationspflichtig ist Käse, welcher mit gentechnisch hergestellten Käselab (Chymosin, z. B. MAXIREN®; Gist Brocades, Delft, NL) hergestellt wurde. Gentechnisch hergestellte Proteine (Enzyme) sind im Endprodukt kaum mehr nachweisbar, zumal sie meist «naturidentisch» sind. Deklarationspflichtig ist nur, was generell auch kontrollier- und analysierbar ist.

Das Spektrum der Möglichkeiten von gentechnologischen Verfahren bei der Herstellung von Lebensmitteln ist sehr vielfältig (3–5). Grundsätzlich lassen sich drei Hauptgruppen von gentechnisch veränderten oder hergestellten Lebensmitteln unterscheiden:

1. *Gentechnisch veränderte Pflanzen und Tiere.* Sie können direkt in vermehrungsfähiger Form als Lebensmittel in Verkehr gebracht werden (z. B. Tomaten, Kartoffeln) oder in verarbeiteter Form Verwendung finden (z. B. Tomatenketchup, Kartoffelprodukte, Brot aus herbizidtolerant gemachtem Weizen).
2. *Lebensmittel, die mit Hilfe gentechnisch veränderter Mikroorganismen hergestellt wurden.* Sie können Bakterien oder Hefen in noch vermehrungsfähiger Form (z. B. Joghurt, frisches Sauerkraut, Camembert) oder infolge technologischer Prozesse abgetöteter Form (z. B. Pasteurisation, Backen) enthalten.
3. *Lebensmittelzusatzstoffe, die mit Hilfe gentechnisch veränderter Mikroorganismen gewonnen wurden.* Dabei ist der Reinheitsgrad der isolierten Einzelsubstanzen und Enzyme massgebend. Ein Nachweis solcher Produkte wird nur möglich sein, wenn sich noch genügend rekombinante DNA oder spezifische Proteine der verwendeten Mikroorganismen darin finden lassen.

## Nachweismethoden

Ein Nachweis von gentechnologisch veränderten Nahrungsmittel kann einerseits *indirekt* erfolgen über die Analyse von Inhaltsstoffen, sofern das Lebensmittel eine signifikant verschiedene Zusammensetzung gegenüber nicht transgenen Produkten aufweist (Fettsäuremuster, Enzymaktivität, Vitamingehalt, Aminosäuren, Aromen, Zuckergehalt usw.). Der indirekte Nachweis dieser *phänotypischen* Eigenschaften lässt sich hierbei vor allem auf der Proteinebene führen durch die Bestimmung der Expression fremder oder veränderter Proteine. So lässt sich mittels ELISA oder Western-Blot die Expression von Genen für Selektionsmarker (z. B. Kanamycinresistenz) (6) oder Insektenresistenz (z. B. das Endotoxin von *B. thuringiensis*) nachweisen (7). Obwohl gentechnisch hergestelltes Chymosin naturidentisch ist mit Kälberchymosin, lässt sich das gentechnologische Präparat aufgrund seiner Reinheit mittels SDS-Page vom Labferment unterscheiden, da dieses mit Proteinen der Magenschleimhaut verunreinigt ist und zusätzliche Proteasen (Pepsin I und II), aber nur wenig Chymosin enthält (5).

Mit molekularbiologischen Methoden kann andererseits rekombinante DNA *direkt* nachgewiesen werden, sofern genügend über die verwendeten Reportergene, Strukturgene, Terminatoren, Promotoren, Genkonstrukte oder Genverdopplun-

gen bekannt ist. Mittels Gensonden (Southern-Blot), PCR, RFLP (Restriktionsfragment Längenpolymorphismus) und RAPD (Randomly amplified Polymorphic DNA) kann ins Genom eingebrachte Fremd-DNA aufgrund der Sequenzen spezifisch nachgewiesen werden.

Im folgenden soll nun auf das Gebiet der DNA-Analytik näher eingegangen werden, und im speziellen wird dabei auf die erfolgreichen Anwendungen der PCR in der Lebensmittelchemie hingewiesen. Mit Hilfe dieser Amplifikationstechnik können Lebensmittel einerseits auf das Vorhandensein pathogener Mikroorganismen und Viren hin untersucht werden (8), und andererseits lässt sich auch die Authentizität der Lebensmittel selber überprüfen. Pflanzliche Komponenten von Nahrungsmitteln wie Weizen (9) oder Soja sowie Tierarten in Fleischprodukten (10–12) können so identifiziert werden. Der Nachweis von gentechnisch veränderten Tomaten ist hier in der Schweiz die erste Anwendung der PCR für den Nachweis eines gentechnisch veränderten Lebensmittels. Für die Entwicklung eines PCR-Nachweissystems müssen die ins Genom integrierten Veränderungen bekannt sein. Bei der Flavr Savr™-Tomate sind alle Daten publiziert (13). Ansonsten müssen die nötigen Informationen aus Patentschriften beschafft werden oder können zukünftig auch aus den Bewilligungspapieren des zuständigen Bundesamtes entnommen werden. Sollte das Bewilligungsverfahren *keine* Nachweismethode vorschreiben, so muss eine solche aufgrund der Gensequenzen mittels PCR zu entwickeln sein.

## *Methodik des PCR-Assays*

Die vorgeschlagene Methodik beruht auf drei Schritten:

1. DNA-Extraktion
2. Amplifikation mittels PCR
3. Bestätigung der PCR-Produkte

Für die Isolation der DNA aus komplexer Lebensmittelmatrix ist eine geeignete Methode zu wählen. Dabei ist der pH und der Verarbeitungsgrad der Nahrungsmittel zu beachten, welcher einen direkten Einfluss auf die DNA-Qualität hat (14); Säuren depurinieren die DNA, und der Degradationsgrad der DNA nimmt mit jeder thermischen Belastung zu. Die durchschnittliche DNA-Grösse aus z. B. Sojaproteinisolaten liegt bei 100–400 bp (unpublished data). Mittels DNA-bindenden Harzen (z. B. WIZARD™-DNA purification resin, Promega, Madison, WI, USA) kann DNA gereinigt und aufkonzentriert werden; diese Methode eignet sich meist auch für eine einfache Isolation aus einer wässerigen Extraktionslösung nach einer proteolytischen Aufarbeitung der Proben mit Proteinase K (z. B. bei Fleischprodukten, Tomaten).

Die Polymerase-Kettenreaktion muss für jedes der verwendeten Primerpaare optimiert werden, wobei auch ein Multiplexansatz mit mehreren Primerpaaren, welche je eine genetische Veränderung erkennen, möglich ist. Die Spezifität der Reaktion ist primär von den Primern abhängig; die Sensitivität beruht auf der

Konzentration der Ziel-DNA. Mittels einer «Nested»-PCR kann zudem noch die Sensitivität des Nachweissystems wesentlich gesteigert werden.

PCR-Produkte lassen sich mittels Gel-Elektrophorese und Färben mit Ethidiumbromid im UV-Licht sichtbar machen und durch Grössenvergleich mit einem Längenstandard bestimmen. Weitere Bestätigungsmöglichkeiten der Fragmente lassen sich mit anschliessender Restriktionsenzymanalyse oder Hybridisierung mit DNA-Sonden vornehmen.

## Beispiel: Flavr Savr™-Tomate

Diese von Calgene Inc. entwickelte Tomate ist in den USA seit letztem Jahr unter dem Namen «MacGregor's» auf dem Markt und wird bei uns oftmals als «Anti-Matschtomate» bezeichnet. Sie weist eine verlängerte Haltbarkeit auf, da das Weichwerden der Früchte während der Reifung verzögert wird. Dies wurde erreicht durch die Hemmung eines Enzyms, der Polygalacturonase (PG; eine Pektinase), welche das Pektin in den Zellwänden abbaut. Die Tomaten werden in vollreifem Stadium geerntet und erweichen langsamer.

### *Modell Antisense-Technologie*

Wie wurde eine solche spezifische Hemmung eines Enzyms erreicht? Den Wissenschaftlern gelang es, das Gen der Tomaten für PG zu klonieren und «umgedreht», also in verkehrter Orientierung, als Antisense-PG (Flavr-Savr-Gen) in das Tomatengenom zu integrieren und zur Expression zu bringen (15). Das Antisense-Transkript blockiert die Translation der mRNA durch komplementäre Basenpaarung der homologen Sequenzen und führt zur fast vollständigen Reduktion der Polygalacturonaseaktivität und somit zu einem stark verlangsamten Abbau des Pektins; die Tomaten bleiben länger fest.

Das Prinzip der Inaktivierung einer Eigenschaft durch Antisense-Wirkung ist im nachstehenden Modell (nach 16) veranschaulicht (Abb. 1).

### *Entwicklung eines Nachweissystems*

Das Antisense-PG-Gen wird mit Hilfe des starken CaMV35S-Promotors aus dem Blumenkohlmosaikvirus (17) transkribiert, welcher ebenfalls (vor dem PG-Gen) ins Genom integriert worden ist. Das Vorhandensein dieses *Konstrukts* aus Promotor und Strukturgen lässt sich mit PCR nachweisen, in dem die Primer komplementär zu beiden Strängen der zu amplifizierenden Sequenzabschnitte gewählt werden. Das Antisense-PG-Gen allein eignet sich nicht als Zielgen, da es sequenzidentisch ist mit PG (Abb. 2). Ebenfalls ins Tomatengenom integriert wurde das selektive Markergen Tn5 *npt*II, welches für die Antibiotikaresistenz gegenüber Kanamycin verantwortlich ist. Diese Eigenschaft ist zwar nötig, um

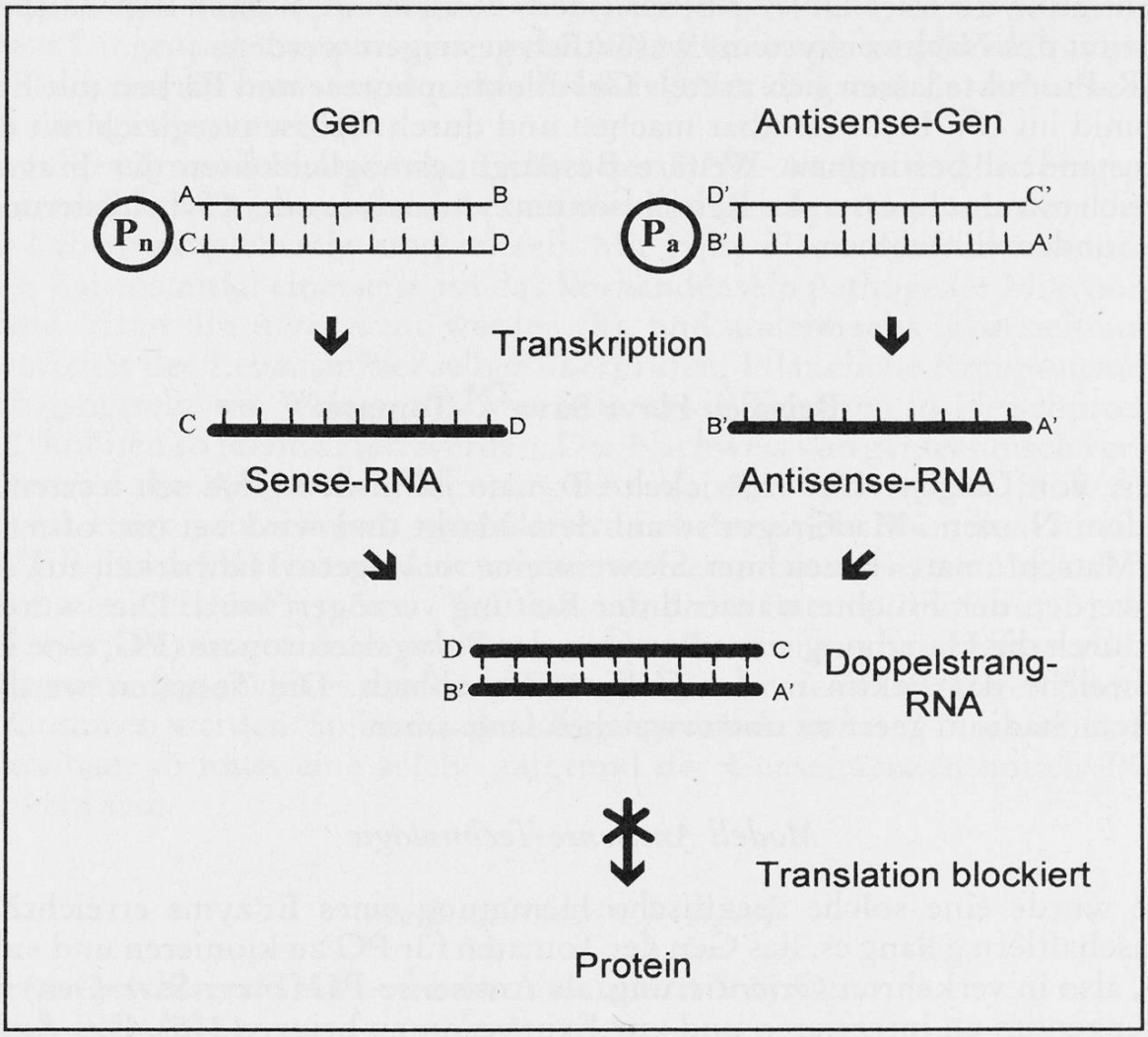


*Abb. 1.* Modell der Inaktivierung einer Eigenschaft durch Antisense-Wirkung
$P_n$ = natürlicher Promotor, $P_a$ = künstlicher (artificial) Promotor

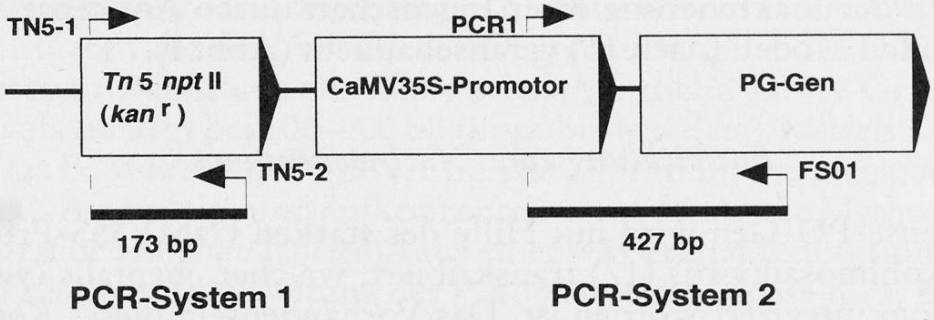


*Abb. 2.* Schema der PCR-Nachweissysteme für den Nachweis der Flavr Savr™ Tomate. Mit dem Primerpaar TN5-1/TN5-2 wird ein 173 bp grosses Fragment aus dem Markergen (*npt*II) amplifiziert. Der Primer PCR1 hybridisiert mit der Promotorsequenz und bildet mit dem Primer FS01, welcher mit dem Flavr Savr™-Gen (= Antisense-PG) homolog ist, ein 427 bp grosses Amplikon (2). Die breiten Pfeile neben den Boxen zeigen die Richtung der Transkription an.

transformierte Pflanzenzellen selektionieren zu können, ist aber in den Endprodukten aus Sicherheitsgründen unerwünscht. Diese Markergene können ebenfalls mittels PCR nachgewiesen werden (Abb. 2).

### *Praktische Umsetzung und Anwendung in der Praxis*

Neben den spezifischen Systemen zum Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen oder Konstrukten zwischen Promotor und Strukturgenen benötigt man eine Kontrolle über die Amplifizierbarkeit der DNA. Dies sollte eine DNA-Sequenz sein, welche in vielen Lebewesen konserviert ist. Die von unserer Gruppe beschriebene Eukaryonten (18S-rDNA)-PCR (9) wurde verwendet, um falsch negative Resultate beim Nachweis von gentechnisch veränderten Tomaten zu vermeiden (2). In der Literatur wurde ebenfalls bereits ein Primerpaar für den Nachweis des Neomycinphosphotransferase-II-Gens (*npt* II) beschrieben (18); diese PCR konnte direkt auf die Tomate angewandt werden, um das beschriebene Markergen nachzuweisen. Auch konnte ein bewährter *sense*-Primer, welcher komplementär zum CaMV35S-Promotor ist und bereits zum Nachweis transgener Kartoffeln verwendet wurde (19), für den Flavr-Savr™-Gen-Assay benützt werden. Somit brauchte lediglich noch eine geeignete Region für den *antisense*-Primer auf dem Antisense-PG-Gen gesucht werden. Dies konnte mit Hilfe eines Primeroptimierungsprogrammes (Oligo® 5.0, NBI, USA) durchgeführt werden. Von den mit diesen zwei PCR-Systemen getesteten Freiland-, Import- und Büchsentomaten wurden nur bei der gentechnologisch veränderten «MacGregor's»-Tomate die erwarteten positiven Signale von definierter PCR-Fragmentgrösse erhalten (2).

Die PCR ist somit eine geeignete Methode für den Nachweis von GVO. In Zukunft wird zwar eine universelle Nachweismethode nicht möglich sein, aber Detektion ähnlicher Konstrukte mit dem CaMV-Promotor und Strukturgenen (z. B. Virenhüllproteine oder die Synthase des 1-Aminocyclopropan-1-Carboxylats, ACC, in Tomaten) gemäss dem diskutierten Protokoll sind denkbar. Die verwendeten Markergene werden in Zukunft aus den Produkten verschwinden, bereits existiert ein «marktreifer» Kürbis mit Resistenz gegen zwei Viren aufgrund der Expression von Hüllproteingenen, aber *ohne* dem Kanamycinresistenzgen.

In verarbeiteten Produkten, welche aus verschiedenen pflanzlichen und tierischen Nahrungskomponenten zusammengesetzt sind, müssen, als Positivkontrolle für die DNA-Qualität, PCR-Systeme für die Speziesidentifizierung zur Verfügung stehen (z. B. tomatenspezifische Primer). Problemlebensmittel in bezug auf die DNA-Isolation sind beispielsweise Ketchup und Sojasauce, da hier die DNA bei tiefen pH im Endprodukt oder durch das verwendete Herstellungsverfahren stark degradiert und hydrolisiert wurde.

Ein Nachweisverfahren muss jedoch von Fall zu Fall für jedes Lebensmittel entwickelt werden.

## Ausblick

Die Entwicklung neuer Produkte wird laufend vorangetrieben, so sind auf dem Markt als nächstes z. B. gentechnologisch hergestelltes Rapsöl und Tomatenpaste sowie gentechnisch veränderte Sojabohnen, Kürbisse und Kartoffeln usw. zu erwarten. Jedes Kontrollabor müsste im Besitz solcher Gentechprodukte als Referenz sein, um veränderte von nicht gentechnisch veränderten Produkten unterscheiden zu können. Die Informationsbeschaffung über neue Produkte dürfte zunehmend schwieriger werden und die Publikationsflut steigt immer mehr, so dass der Arbeitsaufwand für das Beibehalten einer ausreichenden Übersicht der Neuentwicklungen immer grösser wird.

Die neue LMV verlangt ein Bewilligungsverfahren durch das Eidg. Departement des Innern, so dass davon ausgegangen werden kann, dass zumindest die in der Schweiz zugelassenen und deklarierten Lebensmittel nachgewiesen werden können. Die Analytik ist Aufgabe der kantonalen Laboratorien (Vollzug), welche eng mit der für die Bewilligung zuständigen Behörde (BAG) zusammenarbeiten müssen (3). Die Laboratorien müssen über das nötige Know-how in der Molekularbiologie sowie die nötigen Gerätschaften für die Analytik verfügen. Wie gross der Aufwand für die Kontrolle dieser neuen Produkte in Zukunft sein wird, vermag noch niemand abzuschätzen.


## *Dank*

Diese Arbeit wurde als Forschungsvertrag (Nr. 316.94.0448) des Bundesamtes für Gesundheitswesen (BAG) finanziert und im Laboratorium für Lebensmittelchemie am Institut für Biochemie der Universität Bern durchgeführt. Ich danke dem Migros-Genossenschaftsbund, Zürich, für zusätzliche Unterstützung.



## *Zusammenfassung*

Ausgehend von der neuen Lebensmittelgesetzgebung in der Schweiz wird auf die Problematik bei der Überprüfung der Deklaration gentechnisch veränderter Organismen (GVO) eingegangen. Der Direktnachweis von rekombinanter DNA mittels der PCR, einer bewährten DNA-analytischen Methode für die Lebensmittelchemie, wird anhand des praktischen Beispiels der Flavr Savr™-Tomate gezeigt. Auf mögliche analytische Ansätze auf Proteinebene wird nur hingewiesen.

## *Résumé*

Le problème du côntrole de la déclaration d'organismes génétiquement modifiés (GMO) est traité à partir de la nouvelle législation alimentaire de la Suisse. Le diagnostic direct d'ADN recombinante par PCR, une méthode d'analyse d'ADN éprouvée en chimie alimentaire, est démontré *pas par pas* grâce au cas concret de la tomate Flavr Savr™. Les possibilités d'analyse au niveau des protéines ne sont que brièvement évoquées.

## *Summary*

Beginning with the new food legislation of Switzerland the problem, how to control the labelling of genetically modified organisms (GMOs) is discussed. The direct detection of recombinant DNA by PCR, an established method of DNA analysis, which is used in the food chemistry, is demonstrated *step by step* for the Flavr Savr™ tomato. The possibilities of analysis on the protein level are briefly mentioned.


## *Literatur*


1. *Engel, K.-H., Schreiber, G.A.* und *Bögl, K.W. (Hrsg.):* Entwicklung von Methoden zum Nachweis mit Hilfe gentechnischer Verfahren hergestellter Lebensmittel. Ein Statusbericht. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. Berlin 1995 (BgVV-Hefte **1**/1995).
2. *Meyer, R.:* Nachweis gentechnologisch veränderter Pflanzen mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) am Beispiel der Flavr Savr™ Tomate. Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. (in press 1995).
3. *Baumgartner, A.* und *Schlatter, J.:* Anwendung der Gentechnik in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **83,** 158–172 (1992).
4. *Beck, C.I.* and *Ulrich, T.:* Biotechnology in the food industry. Bio/Technology **11,** 895–902 (1993).
5. *Teuber, M.:* Genetic engineering techniques in food microbiology and enzymology. Food Reviews Intern. **9,** 389–409 (1993).
6. *Murry, L.E., Elliot, L.G., Capitant, S.A.* et al.: Transgenic corn plants expressing MDMV strain B coat protein are resistant to mixed infections of maize dwarf mosaic virus and chlorotic mottle virus. Bio-Technology **11,** 1559–1564 (1993).
7. *Noteborn, H.P.J.M.:* Safety assessment of genetically modified plant products. Case study: *Bacillus thuringiensis*-toxin tomato. Biosafety of foods derived by modern biotechnology. Proceedings, Basel, CH, Forum on Biosafety, BATS, 17–22 (1994).
8. *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).
9. *Allmann, M., Candrian, U., Höfelein, Ch.* 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).
10. *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).
11. *Meyer, R., Candrian, U.* and *Lüthy, J.:* Detection of Pork in Heated Meat Products by the Polymerase Chain Reaction. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **77,** 617–622 (1994).
12. *Meyer, R., Höfelein, Christiane, Lüthy, J.* and *Candrian, U.:* PCR-RFLP analysis: A simple method for species identification in food. J. AOAC Intern. (in press 1995).
13. *Redenbaugh, K., Hiatt, W., Martineau, B., Kramer, M., Sheehy, R., Sanders, R., Houck, C.* and *Emlay, D.:* Safety assessement of genetically-engineered fruits and vegetables: A case study of the Flavr Savr™ tomato, 267 pages Boca Raton, FL, CRC Press Inc. (1992).

14. *Candrian, U.:* Die Polymerase-Kettenreaktion in der Lebensmittelanalytik. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **85,** 704–718 (1994).
15. *Sheehy, R.E., Kramer, M.* and *Hiatt, W.R.:* Reduction of polygalacturonase activity in tomato fruit by antisense RNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85,** 8805–8809 (1988).
16. *Eckes, P.:* Inhibierung der Fruchtreifung durch Antisense-RNA-Technologie. Angew. Chem. **104,** 182–184 (1992).
17. *Gardner, R.C., Howarth, A.J., Hahn, P., Brown-Luedi, M., Shepherd, R.J.* and *Messing, J.:* The complete nucleotide sequence of an infectious clone of cauliflower mosaic virus by M13mp7 shotgun sequencing. Nucleic Acids Research **12,** 2871–2888 (1981).
18. *Padegimas, L., Shulga, O.A.* and *Skryabin, K.G.:* Screening of transgenic plants with polymerase chain reaction. Molecular Biology **27,** 583–585 (1993).
19. *Jongedijk, E., de Sutter, A.A.J.M., Stolte, T., van den Elzen, P.J.M.* and *Cornelissen, B.J.C.:* Increased resistance to potato virus X and preservation of cultivar properties in transgenic potato under field conditions. Bio-Technology **10,** 422–429 (1992).

Gegenwärtige Adresse des Autors:
Dr. Rolf Meyer
Nestec SA
Centre de Recherche Nestlé
Quality and Safety Assurance
Vers-chez-les-Blanc
*CH-1000 Lausanne 26*