



Allgemeine Stellungnahme der ZKBS

Az.: 6790-10-62 06.07.1999

Stellungnahme der ZKBS zur Biologischen Sicherheit von Antibiotika-Resistenzgenen im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen

I. Einleitung

Als Methoden zur Transformation von Kulturpflanzenarten haben sich die indirekte Übertragung von Genkonstrukten mittels *Agrobacterium tumefaciens* und das direkte Einbringen von Genkonstrukten in Protoplasten oder Zellen bewährt. Im Einzelfall ist es möglich, daß aufgrund der speziellen Eigenschaften der jeweiligen Kulturpflanze derzeit nur die Transformation mittels *Agrobacterium tumefaciens* erfolgreich ist.

Für die direkte Transformation von Protoplasten wie auch für die Transformation mittels *Agrobacterium tumefaciens* werden die DNA-Konstrukte in der Regel zusätzlich mit Marker-Genen gekoppelt, um jeweils nach Teilschritten der Transformation diejenigen Zellen (bei der direkten Transformation von Protoplasten die Pflanzenzellen; bei der Transformation mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens* zuerst *E. coli*, dann *Agrobacterium tumefaciens* und später die Pflanzenzellen) sicher und schnell identifizieren zu können, in deren Genom das DNA-Konstrukt inseriert worden ist. Als Selektionsmarker-Gene für den letzten Schritt (s.o.) sind bestimmte Antibiotika-Resistenzgene bakteriellen Ursprungs (in den meisten Fällen das *nptII* - oder das *hph* -Gen) gebräuchlich, die zusammen mit dem Ziel-Genkonstrukt in geeignete Ti-Plasmid-Vektoren inseriert werden. Bei dem Transformationsverfahren mit *Agrobacterium tumefaciens* können jedoch gelegentlich auch solche Antibiotika-Resistenzgene aus Vektorabschnitten in das pflanzliche Genom übertragen werden, welche sich außerhalb der in das Ti-Segment inserierten DNA aus Ziel-Genkonstrukt und Selektionsmarker-Gen befinden und u.U. der Bakterien-Selektion im ersten und zweiten Schritt (s.o.) dienen.

Auf der Grundlage von bisherigen Stellungnahmen im Einzelfall nimmt die ZKBS im Folgenden allgemein Stellung zu der Frage der Biologischen Sicherheit von gentechnisch veränderten Pflanzen, in deren Genom Antibiotika-Resistenzgene vorhanden sind.

II. Antibiotika-Resistenzgene, die in das Genom transgener Pflanzen mittels gentechnischer Methoden inseriert worden sind

II.1. Antibiotika-Resistenzgene mit Selektionsmarker-Funktion

II.1.1. Das *nptII* -Gen

Das *nptII* -Gen stammt aus dem Transposon Tn5 (Garfinkel et al., 1981

) und kodiert für eine Neomycin-Phosphotransferase. Die Neomycin-Phosphotransferase ist eine Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase des Typs II (APH(3')II), welche die ATP-abhängige Phosphorylierung der 3'-Hydroxyl-Gruppe des Aminohexose-Rings bestimmter Aminoglycosid-Antibiotika katalysiert und sie damit inaktiviert. Das Enzym zeichnet sich durch eine hohe Substratspezifität aus (Nap et al., 1992).

II.1.2. Das *hph* -Gen

Das *hph* -Gen stammt aus *Escherichia coli* und kodiert für eine Hygromycin-Phosphotransferase. Diese inaktiviert spezifisch das Antibiotikum Hygromycin durch Phosphorylierung (Gritz und Davies, 1983). Andere Aminoglycosid-Aminocyclitol-Antibiotika wie Kanamycin oder Geneticin werden nicht umgesetzt.

II.2. Antibiotika-Resistenzgene ohne Selektionsmarker-Funktion

II.2.2. Das *aadA* (Strep/Spec^R)-Gen

Das *aadA* (Strep/Spec^R)-Gen stammt aus dem Plasmid R538-1 von *Escherichia coli* und kodiert für eine Streptomycin-Adenyltransferase (Davies und Smith, 1978). Tomalsky und Crosa (1987) wiesen das *aadA* (Strep/Spec^R)-Gen auch auf dem Multiresistenz-Transposon Tn1331 in *Klebsiella pneumoniae* nach. Die Streptomycin-Adenyltransferase modifiziert die 3'-OH Position des Streptomycin-N-methyl-L-glucosamin-Rings bzw. eine 9-OH Position des Spectinomycins. Untersuchungen von Hollingshead und Vapnek (1985) haben gezeigt, daß das *aadA* (Strep/Spec^R)-Gen bei der Konstruktion von Vektoren verwendet werden kann.

II.2.1. Das *amp^r* -Gen

Das *amp^r* -Gen kodiert für die weit verbreitete TEM-1 β -Laktamase (Sanders und Sanders, 1992) [TEM = Thomas Edison Murphy]. Etwa 35% der klinischen *E. coli* -Isolate besitzen heute eine Ampicillinresistenz (Kresken et al, 1999). Diese ist überwiegend, d.h. zu etwa 90 %, durch den β -Laktamasetyp TEM-1 bedingt (Livermore, 1995), der ebenfalls bei anderen Enterobakterien-Spezies, sowie bei *Haemophilus* und bei *Neisseria gonorrhoeae* nachgewiesen wurde.

Im molekularbiologischen Sprachgebrauch wird es als *amp^r* oder *bla* (*TEM-1*) bezeichnet und liegt auf einer Reihe von Klonierungsvektoren vor (pBR322-Derivate, pUC-Serien etc.).

Dieses TEM-1-Enzym hat gegen neuere Cephalosporine nur eine sehr geringe Aktivität und ist durch β -Laktamase-Hemmer wie Clavulansäure oder Tazobactam inhibierbar. Jedoch kann bei *E. coli* eine hohe Expressionsrate Resistenzen gegen Amoxicillin / Tazobactam und gegen andere Kombinationen von β -Laktamen mit β -Laktamase-Inhibitoren hervorrufen (Sanders und Sanders, 1992).

Mutationen der β -Laktamase (z.B. TEM-30 bis TEM-41) können weiterhin dazu führen, daß die veränderten Enzyme nur schlecht durch Clavulansäure inhibierbar sind. Im Klassifizierungsschema von Bush et al. (1995) wurden solche Varianten als eigene Unterklasse 2br eingeführt. Bisher wurden diese "inhibitor resistant TEM-

β -laktamases" (IRT) nur in *E. coli* und vereinzelt in *Proteus mirabilis* oder *Klebsiella* gefunden (Bermudes et al., 1997).

In vielen Fällen ist der Gebrauch von Ampicillin heute nur dann angezeigt, wenn zuvor die Ampicillin-Sensitivität im Test nachgewiesen ist. Jedoch wird Ampicillin bei Infektionen, z.B. mit Enterokokken oder mit *Listeria monocytogenes* weiterhin als Mittel der Wahl betrachtet.

II.2.3. Das *nptIII* -Gen

Das *nptIII* (= *aphAIII*)-Gen stammt aus *Enterococcus faecalis* und kodiert für eine Amino-glycosid-3'-Phosphotransferase des Typs III, die nicht nur eine Resistenz gegen Kanamycin und Neomycin, sondern auch gegenüber dem Antibiotikum Amikacin und weiteren Substanzen dieser bedeutsamen Klasse verleiht.

II.2.4. Das *cm^R* -Gen

Das *cm^R*-Gen stammt aus dem Transposon Tn9 und kodiert für eine Acetyltransferase, die eine Acetyl-CoA-abhängige Acetylierung des Antibiotikums Chloramphenicol katalysiert und damit dessen antibakterielle Wirkung aufhebt (Proctor und Rownd, 1982).

II.2.5. Das *tetA* -Gen

Das *tetA*-Gen stammt aus dem Transposon Tn10 und kodiert für ein Membranprotein, das die Ausschleusung von Tetracyclinen bewirkt (Bryan, 1984). Die Tetracycline sind chemisch sehr nahe untereinander verwandt und leiten sich vom Naphthacen-Gerüst ab.

III. Übertragbarkeit der Antibiotika-Resistenzgene aus transgenem Pflanzenmaterial auf Mikroorganismen (Horizontaler Gentransfer)

In die Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Pflanzen sind die übertragenen Antibiotika-Resistenzgene mit einzubeziehen. Hierbei ist auch eine mögliche Übertragung der Antibiotika-Resistenzgene auf andere Organismen (z. B. Mikroorganismen) zu beachten. Ein solcher Transfer könnte z.B. im Tierpansen, im Magen-Darmtrakt von Säugern, in Silagen, in Komposten, Kläranlagen oder im Boden stattfinden. Ein Ablauf von folgenden Schritten wäre dazu erforderlich:

1. Freisetzung des Antibiotikum-Resistenzgens in intakter Form aus der Pflanzenzelle,
[Bei Freisetzung von DNA aus pflanzlichen Geweben wird diese durch pflanzeigene Nukleasen effektiv degradiert. Auch im Pansen und Verdauungstrakt von Säugern ist ein hoher Spiegel an DNAsen vorhanden, ebenso im Boden und in anderen von Mikroorganismen besiedelten Habitaten.]
2. Aufnahme durch kompetente Bakterien,
[Die Fähigkeit, natürlicherweise freie DNA aufzunehmen, wurde erst bei relativ wenigen Bakterien beobachtet (Lorenz und Wackernagel, 1994). Die Aufnahme und stabile Expression von DNA im natürlichen Habitat wurde bislang bei zwei Bodenbakterienarten nachgewiesen (Nielsen et al, 1997; Sikorski et al., 1998). Darüber hinaus ist die Entwicklung zur DNA-Aufnahmefähigkeit unter den physiologischen Bedingungen des jeweiligen Habitats selbst bei diesen ein sehr seltenes Ereignis.]
3. Etablierung eines transformierten DNA-Fragments in der Bakterienzelle

- a. durch Integration ins Genom mittels legitimer oder illegitimer Rekombination
 - b. in seltenen Fällen durch Ringschluß zu einem Plasmid, falls das transformierte DNA-Fragment die Genausstattung zur Plasmidreplikation trägt,
[Die Bildung eines Plasmid-Replikons in einer Zelle, z.B. durch Verknüpfung der Enden des DNA-Fragmentes, könnte erfolgreich nur durch sehr seltene Ereignisse erfolgen, etwa ein illegitimes cross-over.]
4. erfolgreiche Expression des übertragenen Antibiotikum-Resistenzgens.
[Die für eine Genexpression erforderlichen Regulationsabschnitte müssen in geeigneter Anordnung vorliegen und in der neuen Wirtszelle erkannt werden.]

Das gemeinsame Eintreffen all dieser, jeweils einzeln als sehr selten eingeschätzter Ereignisse macht einen Gentransfer der Antibiotika-Resistenzgene von Pflanzen auf Bakterien sehr unwahrscheinlich (rev. Dröge et al., 1998; Nielsen et al., 1998). Nach Berechnungen von Schlüter und Potrykus (1996) liegt z. B. die Wahrscheinlichkeit der Transformation von Bodenbakterien mit dem kan^r -Gen aus Ernterückständen transgener Pflanzen bei bakteriellen Rezipienten, die wie *Bacillus subtilis* ein effizientes Transformationssystem, aber keine Homologie zur aufgenommenen DNA besitzen, bei 2×10^{-11} bis $2,7 \times 10^{-17}$, und bei bakteriellen Rezipienten, die wie *Agrobacterium tumefaciens* kein effizientes Transformationssystem, aber Homologie zur aufgenommenen DNA besitzen, bei 2×10^{-14} bis $1,3 \times 10^{-21}$.

IV. Bewertung der Biologischen Sicherheit der Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen

Von grundsätzlicher Bedeutung für die Bewertung der Biologischen Sicherheit der Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen ist es, die Wahrscheinlichkeit der Transformation von Boden- und Enterobakterien durch die aus dem Genom transgener Pflanzen freigesetzten Antibiotika-Resistenzgene in Relation zu sehen zu der Wahrscheinlichkeit der Übertragung solcher Antibiotika-Resistenzgene durch Konjugation von Bakterium zu Bakterium. Da (a) die Wahrscheinlichkeit der Gen-Übertragung von transgenen Pflanzen auf Bakterien auf 2×10^{-11} bis $1,3 \times 10^{-21}$ pro Bakterium geschätzt wird (siehe unter III), jedoch die der Gen-Übertragung durch Konjugation zwischen Boden- und Enterobakterien bei 10^{-1} bis 10^{-8} pro Spenderzelle liegt (Dröge et al, 1998), (b) Freisetzungsexperimente mit gentechnisch veränderten Pflanzen zeitlich und räumlich begrenzt sind und (c) gentechnisch veränderte Pflanzen aus Freisetzungsexperimenten nicht für Lebens- oder Futtermittelzwecke vorgesehen sind, stellt die ZKBS fest, daß aufgrund des Vorhandenseins der oben aufgeführten Antibiotika-Resistenzgene in gentechnisch veränderten Pflanzen, die für Freisetzungsexperimente vorgesehen sind, keine schädlichen Einwirkungen auf Leben und Gesundheit von Menschen, Tiere, Pflanzen sowie die sonstige Umwelt in ihrem Wirkungsgefüge und Sachgüter (§ 1 GenTG) zu erwarten sind. Im Hinblick auf das Inverkehrbringen solcher Pflanzen wird ferner festgestellt, daß von den o.g. Antibiotika-Resistenzgenen (bzw. von deren Genprodukten) kein allergenes Potential ausgeht und daß es keine Hinweise für die Aufnahme funktionsfähiger DNA in Epithelzellen gibt (U. S. Food and Drug Administration, 1998).

IV.1. Gruppeneinteilung der Antibiotika-Resistenzgene nach ihrer Verbreitung und nach dem derzeitigen Stand der therapeutischen Bedeutung der relevanten Antibiotika

Wenn überhaupt die Übertragung eines Antibiotika-Resistenzgenes aus dem Genom einer transgenen Pflanze in das eines Bakteriums eintreten sollte, müßte man dieses sehr seltene Ereignis vor dem Hintergrund der gegebenen Verbreitung des jeweiligen Antibiotikum-Resistenzgens in Boden- und Enterobakterien und in Bezug auf seine Bedeutung für den therapeutischen Einsatz der relevanten Antibiotika sehen. Aufgrund dieser beiden Bewertungskriterien werden für die o. g. Antibiotika-Resistenzgene drei Gruppen zugeordnet:

Gruppe I

Die Gruppe I enthält Antibiotika-Resistenzgene, die (a) in Boden- und Enterobakterien bereits weit verbreitet sind und (b) deren relevante Antibiotika keine oder nur geringe therapeutische Bedeutung in der Human- bzw. Veterinärmedizin besitzen, so daß davon ausgegangen werden kann, daß - wenn überhaupt - das Vorhandensein dieser Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen keine Auswirkung auf die Verbreitung dieser Antibiotika-Resistenzgene in der Umwelt zur Folge hat. Dabei handelt es sich um folgende Antibiotika-Resistenzgene:

- ***nptII* -Gen:** Zu den Substraten der APH(3')II-Enzyme zählen die Antibiotika Kanamycin, Neomycin, Geneticin, Butirosin, Gentamicin A und B sowie Paromomycin. Die in der Humanmedizin therapeutisch bedeutsamen Amikacin, Gentamicin (vorwiegend C₁, C₁ und C₂) und sonstige Aminoglycoside und Aminocyclitole gehören nicht zum Substrat-spektrum der APH(3')-II-Enzyme (Trieu-Cuot et al., 1987; Davies, 1991; Simon und Stille, 1989).
- ***hph* -Gen:** Hygromycin wird in der Humanmedizin nicht verwendet (WHO, 1993); eine Kreuzresistenz mit anderen in der Humanmedizin gebräuchlichen Antibiotika besteht nicht.
- ***cm^R* -Gen:** Chloramphenicol wird aufgrund des Risikos, aplastische Anämie hervorzurufen, humantherapeutisch heute nur noch in sehr wenigen Fällen eingesetzt und ist in der EU für die Anwendung an Tieren zur Erzeugung von Nahrungsmitteln nicht zugelassen. Chloramphenicol-resistente Mikroorganismen sind in der Umwelt weit verbreitet.

Gruppe II

Die Gruppe II enthält Antibiotika-Resistenzgene, die (a) in Mikroorganismen verbreitet sind und (b) deren relevante Antibiotika nur noch in Teilbereichen der Human- bzw. Veterinärmedizin therapeutische Anwendung finden, so daß davon ausgegangen werden kann, daß — wenn überhaupt - das Vorhandensein dieser Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen nur sehr geringe Auswirkung auf die Verbreitung dieser Antibiotika-Resistenzgene in der Umwelt zur Folge hat. Es handelt sich um folgende Antibiotika-Resistenzgene:

- ***amp^r*-Gen:** Es ist anzunehmen, daß fast jeder Mensch, auch ohne β -Laktam-Antibiotika exponiert zu sein, im Intestinaltrakt *E. coli*- Zellen beherbergt, die das *amp^r*- Gen besitzen. Dies wird durch die Beobachtung gestützt, daß etwa 35 % aller klinischen *E. coli*- Isolate resistent gegen Ampicillin sind (Kresken et al., 1999) davon wieder 90% durch TEM-1 β -Laktamasen bedingt (Livermore, 1995). Untersuchungen (BgVV, 1997) zeigten auch, daß Ampicillin-Resistenzen bei *E. coli*- Isolaten von Rindern und Schweinen in etwa 74 % aller Proben auftreten.
- ***aadA*-Gen :** Streptomycin und Spectinomycin werden nur begrenzt in der Humanmedizin eingesetzt (WHO, 1993), besitzen aber durchaus noch für die Behandlung der Tuberkulose (Streptomycin) oder der Gonorrhoe (Spectinomycin) nennenswerte humanmedizinische Bedeutung.

Gruppe III

Die Gruppe III enthält Antibiotika-Resistenzgene, deren relevante Antibiotika in der Humanmedizin von therapeutischer Bedeutung sind, und deshalb im Genom transgener Pflanzen — einem hohen Maß an Vorsorge folgend — vermieden werden sollten. Es handelt sich um folgende Antibiotika-Resistenzgene:

- ***nptIII*-Gen:** Für den Einsatz in der Humantherapie ist Amikacin ein wichtiges Reserve-Antibiotikum, dessen therapeutische Bedeutung nicht einmal potentiell durch die Verwendung des *nptIII*-Gens bei der Etablierung von gentechnisch veränderten Pflanzen geschmälert werden sollte.
- ***tetA*-Gen:** Tetracycline sind durch ein breites Wirkungsspektrum ausgezeichnet und sind in der Humanmedizin therapeutisch weiterhin von Bedeutung; sie werden u.a. gegen *Brucella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia* und *Vibrio* eingesetzt.

IV.2. Bewertung der Biologischen Sicherheit der Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen, die für Freisetzungsexperimente vorgesehen sind.

Die ZKBS ist grundsätzlich der Auffassung, daß künftig bei gentechnisch veränderten Pflanzen, die für Freisetzungsexperimente vorgesehen sind, die eingeführten heterologen Gene beschränkt werden sollten auf diejenigen Gene, welche für die angestrebte Veränderung funktionell als Ziel- oder Markergene erforderlich sind.

IV.3. Bewertung der Biologischen Sicherheit der Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen, die in Verkehr gebracht werden sollen.

Die ZKBS ist grundsätzlich der Auffassung, daß künftig bei gentechnisch veränderten Pflanzen, die in Verkehr gebracht werden, die eingeführten heterologen Gene auf diejenigen Gene zu beschränken sind, welche für die angestrebte Veränderung funktionell als Ziel- oder Markergene erforderlich sind.

Die zukünftige Entwicklung in den Verkehr zu bringender gentechnisch veränderter Pflanzen, die für die Herstellung von Lebens- oder

Futtermittel Verwendung finden sollen, muß darauf abzielen, Gene, die Resistenzen gegen therapeutisch bedeutende Antibiotikaklassen bewirken, zu vermeiden.

Literatur:

- Bermudes H, Jude F, Arpin C, Quentin C, Morand A und Labia R (1997) Characterization of inhibitor-resistant TEM (IRT) β -lactamases in a novel strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother **41**:222.
- BgVV, Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. 1997. Resistenzsituation 1995. Deutsches Tierärzteblatt. **1**/1997:84
- Bryan LE (1984) Antimicrobial drug resistance. Academic Press, pp. 191-240.
- Bush K, Jacoby GA und Medeiros AA (1995) A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structur. Antimicrob. Agents. Chemother. **39**:1211-1233.
- Davies JE (1991) Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes. In: Lorian V (Hrsg.) Antibiotics in laboratory medicine . Williams and Wilkins, Baltimore, 3. Aufl., pp. 691-713.
- Davis JE und Smith D (1978) Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Annu Rev Microbiol **32**:469-518.
- Dröge M, Pühler A und Selbitschka W (1998) Horizontal gene transfer as a biosafety issue: A natural phenomenon of public concern. J Biotechnol **64**:75-90
- Garfinkel DJ, Simpson RB, Ream LW, White FF, Gordon MP, Nester EW (1981) Genetic analysis of crown gall: fine structure map of the T-DNA by site-directed mutagenesis. Cell **27**:143-153.
- Gritz L und Davies J (1983) Plasmid-encoded hygromycin B resistance: the sequence of hygromycin B phosphotransferase gene and its expression in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. Gene **25**:179-188.
- Hollingshead S und Vapnek D (1985) Nucleotide sequence analysis of a gene encoding a streptomycin/spectinomycin adenylyltransferase. Plasmid **13**:17-30.
- Kresken M, Hafner D und von Rosenstiel N (1999) Zeitliche Entwicklung der Antibiotikaresistenz bei klinisch wichtigen Bakterienspezies in Mitteleuropa. Bundesgesundheitsblatt, Jahrgang 42, Heft 1, pp17-25.
- Livermore DM (1995) β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clinical Microbiology Reviews **8**:557-584.
- Lorenz MG, Wackernagel W (1994) Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbiol Rev **58**:563-602.
- Nap JP, Bijvoe J, Stiekema WJ (1992) Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants. Transgenic Res **1**:239-249.

- Nielsen KM, Bones AM, Smalla K und van Elsas JD (1998) Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria — a rare event? *FEMS Microbiol Rev* **22**: 79-103
- Proctor GN und Rownd RH (1982) Rosanilins: indicator dyes for chloramphenicol-resistant enterobacteria containing chloramphenicol acetyltransferase. *J Bacteriol* **150**: 1375-1382.
- Sanders C und Sanders WE (1992) β -Lactam resistance in gram-negative bacteria: Global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* **15**: 824-839.
- Schlüter K und Potrykus I (1996) Horizontaler Gentransfer von transgenen Pflanzen zu Mikroorganismen (Bakterien und Pilzen) und seine ökologische Relevanz. In: E Schulte und O Käppeli (eds) *Gentechnisch veränderte krankheits- und schädlingsresistente Nutzpflanzen. Eine Option für die Landwirtschaft? Publikation des Schwerpunktprogrammes Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds, Bern, pp. 160-190*
- Sikorski J, Graupner S, Lorenz MG, Wackernagel W (1998) Natural genetic transformation of *Pseudomonas stutzeri* in a non-sterile soil. *Microbiology* **144**: 569-576.
- Simon GW und Stille W (1989) *Antibiotiktherapie in Klinik und Praxis*. Schattauer, Stuttgart, New York, 8. Aufl.
- Tomalsky ME und Crosa JH (1987) Tn1331, a novel multiresistant transposon encoding resistance to amikacin and ampicillin in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **31**: 1955-1960
- Trieu-Cuot P, Arthur M und Courvalin P (1987) Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. *Microbial Sciences* **4**: 263-266.
- U. S. Food and Drug Administration (1998) *Guidance for industry: Use of antibiotic resistance marker genes in transgenic plants*
- WHO (1993) *Health aspects of marker genes in genetically modified plants*. WHO/FNU/FOS/ 93.6, pp. 1-12.
-

Für fachliche Rückfragen steht Ihnen [das Zentrum Gentechnologie](#) gerne zur Verfügung. Antworten auf häufig gestellte Fragen, eine Suchmaschine, die Themenübersicht, technische Hinweise sowie eine E-Mail-Adresse bei technischen Problemen finden Sie [hier](#).

weitere Themengebiete zur Gentechnik:

[ZKBS](#) [Freisetzungen](#) [Internet-Forum](#) [FAQ's](#) [Links](#)

[Haftungsausschluß](#) | [Datenschutzerklärung](#) | [Themenübersicht](#)