

Lebensmittelchemie 2011

Molekularbiologische Methoden in der Lebensmittelanalytik: Neben der seit einigen Jahren etablierten Real-Time-PCR werden andere moderne DNA-basierte Analysenmethoden für die Lebensmittelanalytik interessant. Besonders für die Detektion von geringen Sequenzunterschieden, bei der die PCR scheitert, gibt es mittlerweile attraktive Alternativen.

◆ Molekularbiologische Methoden haben sich mittlerweile als gängige Analysenmethoden in der Lebensmittelanalytik etabliert. Besonders bei der Analytik von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) ist die Detektion der DNA das Werkzeug der Wahl. Aber auch bei der Authentizitätskontrolle von tierischen und pflanzlichen Produkten sowie bei der Allergenanalytik sind DNA-basierte Analysenmethoden zum festen Bestandteil geworden. Sie spielen bei der Bestimmung von mikrobiellen Lebensmittelkontaminationen und bei der Qualitätskontrolle von bewusst eingesetzten Mikroorganismen (Produktionsstämmen) in der Lebensmittelproduktion eine große Rolle.

Neben den klassischen molekularen biologischen Methoden, bei denen die DNA als Analyt dient, lässt sich eine weitere Eigenschaft der DNA für die Analytik nutzen: Einzelsträngige DNA und RNA können in Abhängigkeit von der Sequenz durch intramolekulare Wechselwirkungen dreidimensionale Strukturen ausbilden. Diese Strukturen gehen analog zu Antikörpern, Bindungen mit anderen Molekülen (z.B. Proteinen, Zellen, niedermolekularen Substanzen) ein. Diese Eigenschaft wurde von der Natur abgeschaut und für unterschiedliche Anwendungen nutzbar gemacht. Die Aptamere dienen immer häufiger dazu, entsprechende Zielmoleküle spezifisch einzufangen, damit anzureichern und zu detektieren. Die Aptamertechnik wird am Ende des Berichts genauer beschrieben.

DNA als Analyt: Die Sequenz als Basis

◆ Grundvoraussetzung dafür, gerichtete molekulare biologische Methoden einzusetzen, ist die Kenntnis einer Target-DNA-(RNA)-Sequenz des zu detektierenden Organismus. Die schnelle Entwicklung der Sequenzierungsstrategien (von der klassischen Sanger-Sequenzierung bis zur modernen Next-Generation-Sequenzierung, siehe auch diese *Nachr.*, Trendbericht Biochemie, 2011, S. 300) führt dazu, dass neben mikrobiellen Genomen immer mehr Sequenzabschnitte und komplette, assemblierte Genome von lebensmittelrelevanten Pflanzen und Tieren publiziert werden. Beispielsweise sind mittlerweile die Genome von Apfel, Gurke, Hirse, Kakao, Kartoffel, Mais, Papaya, Reis, Senf, Soja, Wein und Walderdbeere sowie von Tieren wie Huhn, atlantischer Dorsch und Rind sequenziert und öffentlich zugänglich.¹⁻¹⁵⁾

Aber auch, wenn keine ausreichenden Sequenzinformationen für den nachzuweisenden Organismus vorliegen, sind mittlerweile durch eigene Sequenzierarbeiten größere Sequenzabschnitte bis hin zu Plastidengenomen in relativ kurzer Zeit zu gewinnen.

Ein Beispiel, bei dem die neuen Sequenzierungsstrategien schnell und effektiv ein Ergebnis brachten, ist der Ehec-Ausbruch in Deutschland im Mai 2011. Um genauere Informationen über den verursachenden

Escherichia coli-Stamm zu erhalten, entschlüsselten zwei Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Sequenzierungstechniken (Ion-Torrent-PGM-TM-Technik und Pyrosequencing) innerhalb kürzester Zeit das Genom des Erregers.^{16,17)} Die Sequenzinformationen trugen dazu bei, Aggressivität und Resistenz des Erregers besser zu verstehen und den Ausbruch einzudämmen.

Ein ebenfalls seit einigen Jahren aufkommender Trend ist das Sammeln von Referenzsequenzen für jegliche Art von lebenden Spezies in öffentlichen Datenbanken (z.B. Consortium for the Barcode of Life, www.barcodeoflife.org). Diese Barcode-Sequenzen bestehen aus DNA-Abschnitten mit bis zu zirka 650 Basen. Die Sammlung einer oder mehrerer Barcodes für einen Organismus sollen dessen eindeutige Identifizierung ermöglichen (Barcode of Life). Für tierische Lebewesen ist als Barcode beispielsweise ein Sequenzabschnitt aus der mitochondrialen Cytochrom-C-Oxidase-Untereinheit I (COI) vorgeschlagen. Auch für Pflanzen werden entsprechende Sequenzabschnitte diskutiert.^{18,19)}

DNA-Isolierung

◆ Die wichtigste Voraussetzung für eine zuverlässige DNA-basierte Analyse ist eine Extraktionsmethode, die DNA in ausreichender Qualität und Menge zur Verfügung stellt. Das europäische Netzwerk der Laboratorien, die gentechnisch veränderte Organismen nachweisen (European

Network of GMO Laboratories, ENGL), definiert die Qualität einer isolierten DNA über den Fragmentierungsgrad und die chemische Reinheit und empfiehlt, Ausbeute, Fragmentierung und Reinheit der DNA-Isolate zu bestimmen.²⁰⁾

Im Gegensatz zu klinischen und mikrobiologischen Proben sind Lebensmittelmatrizes komplex und für jedes Lebensmittel anders. Viele Lebensmittel enthalten Verbindungen, die als enzymatische Inhibitoren wirken und so enzymatische Verfahren wie die Polymerasekettenreaktion (PCR) stören.²¹⁾ Bei der Herstellung eines Lebensmittels werden häufig Prozesse eingesetzt, welche die Struktur der DNA schädigen.²²⁾ Hohe Temperaturen, Fermentationsprozesse, saure oder basische pH-Werte, aber auch mechanische Scherkräfte bei der Lebensmittelverarbeitung fragmentieren die DNA.

Noch empfindlicher ist die RNA, so dass RNA-Isolierung nur aus frischen, unverarbeiteten Produkten möglich ist. Die RNA-Isolierung aus verarbeiteten Produkten wird nur dazu eingesetzt, noch lebende mikrobielle Lebensmittelkontaminanten nachzuweisen.

So vielfältig die Lebensmittelmatrizes sind, so umfangreich ist mittlerweile das Angebot an kommerziellen Kits für die DNA-Isolierung aus Lebensmitteln. Prinzipiell nutzt die DNA-Isolierung zwei Eigenschaften der DNA: Zum einen lässt sich die DNA mit verschiedenen chemischen Verbindungen (z.B. Cetyltrimethylammoniumbromid, CTAB, oder Isopropanol) reversibel fällen und so von anderen Bestandteilen der Matrix abtrennen. Zum anderen bindet die DNA unter Hochsalzbedingungen reversibel an Silica-Materialien. Chromatographiesäulen mit Silica-Material oder mit Silica beschichtet magnetische Partikel kommen hier am häufigsten zum Einsatz. Die „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch“ (LFGB) beschreibt nach wie vor die DNA-Isolierung mit CTAB als Referenzmethode.

Die DNA-Ausbeute lässt sich sowohl photometrisch als auch fluorimetrisch überprüfen. Andere UV-aktive Substanzen beeinflussen leicht die photometrische Konzentrationsbestimmung über die UV-Absorption bei 260 nm. Die fluorimetrische Konzentrationsbestimmung mit Fluorophoren, die spezifisch mit DNA wechselwirken, liefert hingegen zuverlässigere Ergebnisse. Voraussetzung ist die Kalibrierung mit einem DNA-Standard bekannter Konzentration.

Die DNA-Ausbeute ist stark abhängig von der Lebensmittelmatrix; die Konzentration (in $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) muss ausreichend hoch sein für die anschließende Analytik. Werden zum Beispiel für die anschließende PCR-Analytik $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ gebraucht, so sollte die Konzentration der isolierten DNA mindestens genauso hoch sein.

Die DNA-Reinheit wird photometrisch über die Absorptionsquotienten $A_{260 \text{ nm}}/A_{280 \text{ nm}}$ und $A_{260 \text{ nm}}/A_{230 \text{ nm}}$ bestimmt. Soll die extrahierte DNA für quantitative PCR-Bestimmungen eingesetzt werden, empfiehlt sich zudem ein Inhibitionstest mit Real-Time-PCR durchzuführen.^{23,24)} Hierzu wird die isolierte DNA seriell verdünnt (mindestens vier Verdünnungen), und die jeweiligen Ct-Werte der Verdünnungen und der unverdünnten DNA werden bestimmt. Die Kalibriergerade wird durch Auftragen der Ct-Werte der Verdünnungen gegen den Logarithmus des Verdünnungsfaktors erstellt, und der Ordinatenabschnitt wird mit dem ermittelten Ct-Wert der unverdünnten DNA verglichen. Diese Abweichung sollte weniger als 0,5 betragen. Zudem sollte die Steigung der Kalibriergeraden zwischen $-3,6$ und $-3,1$ liegen.

Der Fragmentierungsgrad der isolierten DNA lässt sich über Agarosegelelektrophorese mit DNA-Markern bestimmen. Für eine erfolgreiche PCR-Analytik müssen die isolierten DNA-Fragmente mindestens so groß sein wie die erwartete Amplikongröße.

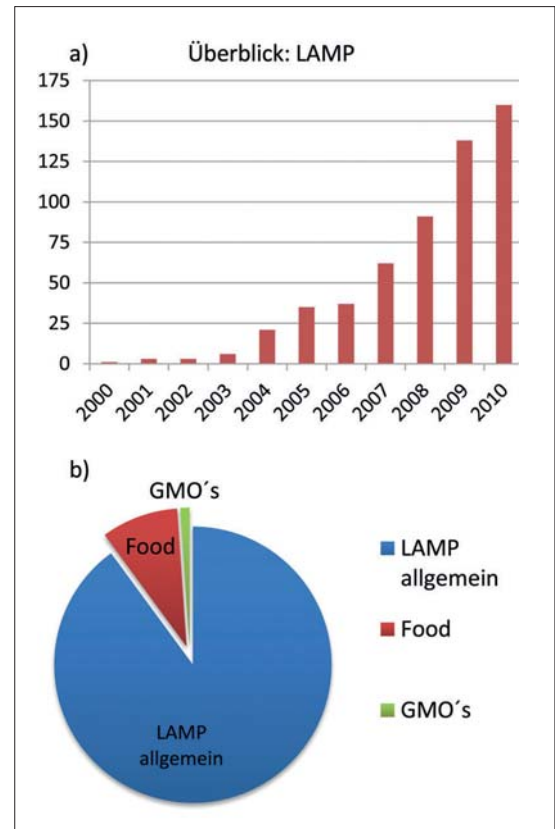


Abb. 1. a) Ergebnis der Scifinder-Datenbank-Recherche mit dem Schlagwort „loop mediated isothermal amplification“, eingegrenzt auf deutsche oder englische Publikationen; b) prozentualer Anteil der Publikationen mit dem Schlagwort „Food“ bzw. „GMO“ in den Jahren 2000 bis 2010. (scifinder.cas.org, Stand 29.11.2011)

Real-Time-PCR

◆ Die Real-Time-PCR ist mittlerweile eine gängige Methode in der Lebensmittelanalytik. Authentizitäts- und Qualitätskontrollen, aber auch Allergen- und GVO-Analytik werden unter anderem mit Real-Time-PCR durchgeführt. Neben qualitativen Aussagen ist es auch möglich, über verschiedene Auswertestrategien zu quantifizieren. Aufgrund der exponentiellen Vervielfältigung der DNA detektiert und quantifiziert diese Methode auch kleinste Mengen (unterer ppm-Bereich). Diese hohe Empfindlichkeit nutzt besonders die Allergenanalytik. Je nach Frage hat man die Wahl zwischen verschiedenen Detektionssystemen (unspezifisch mit Interkalationsfluorophoren oder spezifisch mit Sondensystemen) und Auswertestrategien (absolut gegen eine Kalibriergerade oder relativ gegen ein Standardgen oder eine Standardprobe). ➔

Immer zu berücksichtigen in der Lebensmittelanalytik ist der Einfluss der Matrix. Es empfiehlt sich, bei der Methodenentwicklung auf die Kriterien des ENGL zurück zu greifen.²⁰⁾ Wird ein gesetzlicher Grenzwert betrachtet, so sollte der lineare Arbeitsbereich von einem Zehntel des Grenzwerts bis zum fünffachen des Grenzwerts reichen. Die Effizienz der Reaktion sollte zwischen 89,57 % und 110,12 % (Steigung zwischen –3,6 und –3,1) liegen und die Linearität, ausgedrückt durch das Bestimmtheitsmaß $R^2 > 0,98$ sein.

Aufgrund eines Urteils des Europäischen Gerichtshofs vom September 2011 sind in Honig Pollen aus gentechnisch veränderten Organismen (GVO) mit Real-Time-PCR zu

überwachen.^{25,26)} Durch die Definition von Pollen als Zutat durch den Gesetzgeber gelten für Honige mit GVO-Pollen die Regelungen der Verordnung (EC)1829/2003. Das heißt für Pollen aus GVO, die nicht in der EU zugelassen sind, gilt die Nulltoleranz, für Pollen aus zugelassenen GVO die 0,9-%-Regelung.

High Resolution Melting Analysis

◆ Schmelzkurvenanalysen dienen bei klassischen Real-Time-PCR-Methoden mit SYBR-Green-I-Detektion dazu, Amplifikate zu überprüfen und Primer-Dimere zu detektieren. Weiterentwicklungen in der optischen und thermischen Präzision (high resolution) der Geräte ermöglichen neuerdings die

Detektion von minimalen Schmelztemperaturunterschieden zweier Amplifikate. SNPs, Mutationen und Methylierungsgraden sind mit der High Resolution Melting Analysis (HRM-Analytik) ebenfalls zu identifizieren. Ursprünglich eingesetzt in der medizinischen Diagnostik, gibt es mittlerweile auch Anwendungen in der Lebensmittelanalytik, beispielsweise die Authentizitätskontrolle von Basmati-reis oder süßen Kirschen, aber auch GVO-Analytik.^{27–29)}

Loop Mediated Isothermal Amplification

◆ Die Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ist im Gegensatz zur PCR eine junge Methode. Erstmals veröffentlichten Notomi et al. sie im Jahr 2000.³⁰⁾ Seitdem ist die Zahl der Publikationen, die den Einsatz der LAMP beschreiben, nahezu exponentiell gestiegen (Abbildung 1a).

LAMP ist eine Amplifikationsmethode, die im Gegensatz zur PCR keine zyklischen Temperaturverläufe benötigt. Durch den Einsatz von Polymerasen mit Strangverdrängungsaktivität ist es nicht erforderlich, die DNA thermisch zu denaturieren. Die gesamte Reaktion kann isothermal im Temperaturoptimum der Polymerase durchgeführt werden. Dadurch ist kein Thermocycler notwendig, ein Wasserbad reicht aus. Diese Eigenschaft macht LAMP zu einem hervorragenden Werkzeug für die Vor-Ort-Analytik ohne aufwendige apparative Ausstattung.

Voraussetzung für eine LAMP ist ein kompliziertes Primerdesign (Abbildung 2): Für jeden zu detektierenden Organismus sind zwei Primerpaare erforderlich. Diese Primerpaare decken insgesamt sechs Bindungsstellen ab. Das Design der Primer führt dazu, dass sich eine Schleife (Loop) während der Reaktion bildet. In der Schleife befindet sich eine der Bindungsstellen. Nach Hybridisierung des Primers ist diese Position der Angriffspunkt der Polymerase für die erneute Amplifikation. Der genaue

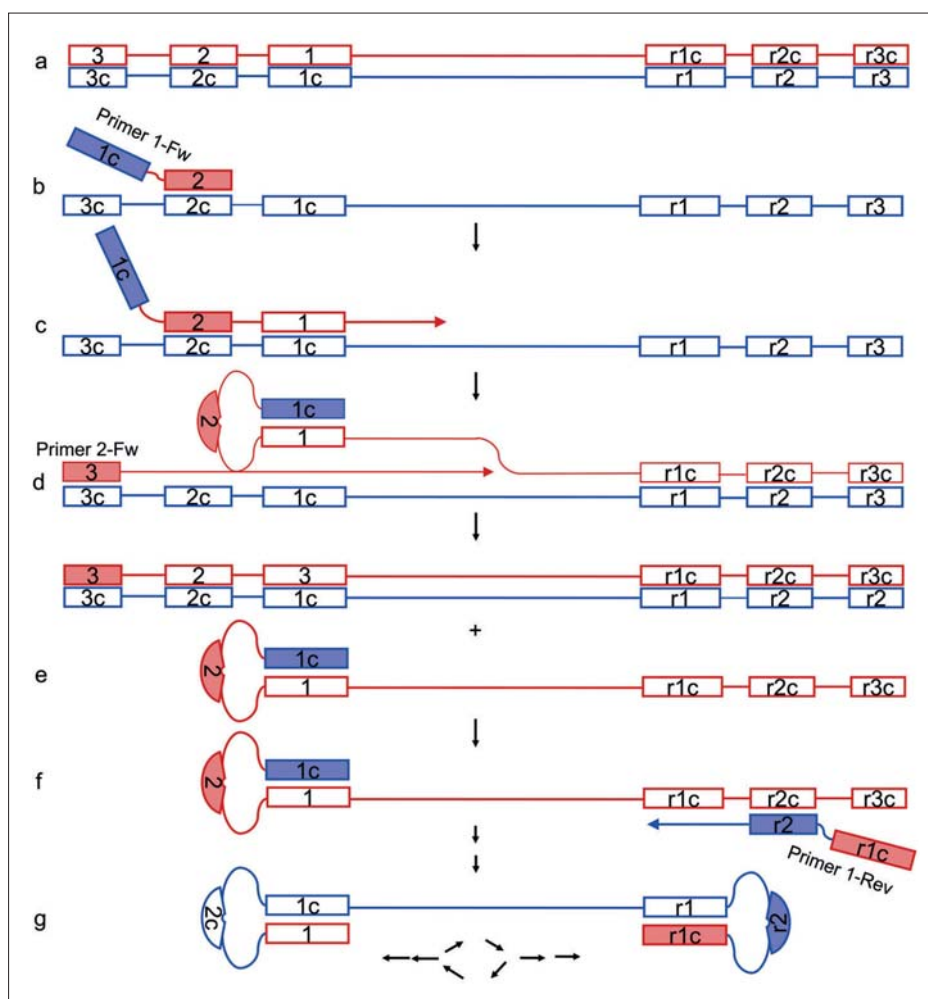


Abb. 2. Erste Reaktionsschritte einer LAMP: a) Lage der Bindungsstellen; b) und c) Anlagerung Primers 1-Fw an den Einzelstrang nach initialer Denaturierung und Beginn der Elongation; d) Anlagerung und Elongation des Primers 2-Fw und Bildung der ersten Schleife; e) Zwischenprodukt mit Hantelstruktur (einseitig); f) Anlagerung und Elongation von Primer 1-Rev; g) Hantelstruktur (zweiseitig), Ausgangsmolekül für die Bildung von Reaktionsprodukten höherer Ordnung (modifiziert nach Lit.³⁵⁾).

Reaktionsablauf ist komplex und ergibt eine Menge Reaktionsprodukte.^{30,31)} Diese enorme Produktbildung liefert zusätzlich als Reaktionsnebenprodukt eine hohe Konzentration an Pyrophosphat, das mit den im Reaktionsansatz vorhandenen Magnesiumionen ausfällt. Positive Reaktionen sind anhand dieses Niederschlages mit dem bloßen Auge sichtbar oder können mit einem Turbidimeter detektiert werden.³²⁾

LAMP wird bislang überwiegend zur Detektion von pathogenen Mikroorganismen³³⁾ und zum GVO-Nachweis³⁴⁾ eingesetzt. Betrachtet man die Gesamtzahl der Publikationen zu LAMP, so machen lebensmittelanalytische Fragen einen sehr kleinen Teil aus (Abbildung 1b). Jedoch ist davon auszugehen, dass sich in Zukunft ein breites Anwendungsfeld ergibt.³⁵⁾

Ligation-Dependent Probe Amplification

◆ Klassischen Restriktionsanalysen wie PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) detektieren Einzelbasenaustausche (single nucleotide polymorphisms, SNPs) zwischen zwei Individuen nur dann, wenn der SNP zur Entstehung oder Entfernung der Erkennungssequenz einer Endonuklease führt.

Eine neue Methode, die SNPs generell detektiert, ist die ligation-dependent probe amplification, LPA.³⁶⁾ Seit der Erstbeschreibung im Jahr 2002 ist, wie bei der LAMP, auch bei der LPA die Zahl der Publikationen stark gestiegen (Abbildung 3a). Ausgangspunkt für diese Methode sind zwei speziell konstruierte Oligonukleotide. Diese bestehen jeweils aus einem Sequenzabschnitt, der als Bindungsstelle für einen Standardprimer dient, und aus einem Zielsequenz(Target)-spezifischen Abschnitt. Die Hybridisierung der Oligonukleotide findet auf der Targetsequenz direkt nebeneinander statt. Auf dem SNP hybridisiert dabei entweder die letzte Ba-

se (3'-Ende) des ersten Oligonukleotides oder die erste Base (5'-Ende) des zweiten Oligonukleotids. Nur bei vollständiger Hybridisierung verknüpft die Ligase im darauffolgenden Schritt die beiden Oligonukleotide. Die so entstandene Sonde dient als Matrize für eine PCR mit den Standardprimern. Die Unterscheidung zwischen zwei Organismen erfolgt in diesem Fall durch einen positiven PCR-Nachweis.

Durch geschicktes Oligonukleotid-Design und den Einbau von Stuffer-Sequenzen (Sequenzen unterschiedlicher Länge) in eines der beiden Oligonukleotide lassen sich mehrere Organismen oder Sequenzen gleichzeitig detektieren (multiplex-LPA, MLPA).

LPA und MLPA haben ihren Ursprung in der medizinischen Diagnostik von genetisch bedingten Krankheiten, finden aber mittlerweile auch immer häufiger Anwendung in der Lebensmittelanalytik, beispielsweise beim qualitativen, aber auch quantitativen Nachweis von Allergenen^{37,38)} und von GVO (Abbildung 3b).^{39,40)}

Denaturierende HPLC

◆ Die Denaturierende HPLC (DHPLC) ist eine Weiterentwicklung der Ionenpaar-HPLC mit hydrophobem Material als stationäre Phase, Triethylammoniumacetat als Ionenpaarreagenz und Acetonitril/Wasser als Fließmittel. Unter diesen Versuchsbedingungen interagieren Nukleinsäuren mit ihrem negativ geladenen Rückgrat über das Triethylammoniumion mit der hydrophoben Phase. Bei Raumtemperatur trennt die klassische Ionenpaar-Chromatographie doppelsträngige DNA-Fragmente abhängig von ihrer Größe durch einen Acetonitrilgradienten (DNA-Sizing). Die Auflösung ist allerdings deutlich besser als bei konventionellen Methoden wie der Agarosegelelektrophorese.

Die Besonderheit der DHPLC besteht darin, dass sich die Säule in einem temperierbaren Ofen befindet. Durch geschicktes Einstellen

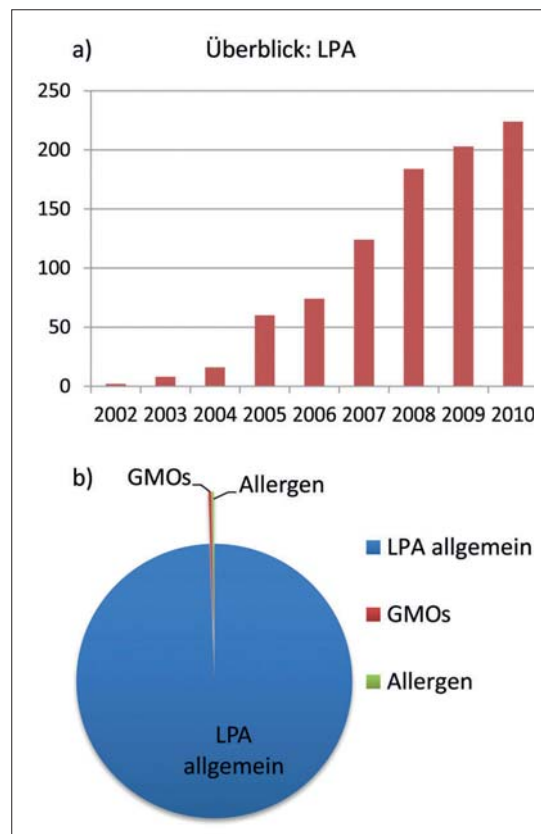


Abb. 3. a) Ergebnis der Scifinder-Datenbank-Recherche mit dem Schlagwort „ligation-dependent probe amplification“, eingegrenzt auf deutsche oder englische Publikationen; b) prozentualer Anteil der Publikationen mit dem Schlagwort „Allergen“ bzw. „GMO“ in den Jahren 2002 bis 2010. (scifinder.cas.org, Stand 29.11.2011)

der Temperatur erreicht man so, dass doppelsträngige DNA abhängig vom GC-Gehalt teilweise aufschmilzt (denaturiert). Je nach Stärke der partiellen Denaturierung retardiert die Säule die DNA-Fragmente unterschiedlich stark. PCR-Produkte gleicher Größe mit unterschiedlichem GC-Gehalt lassen sich so trennen und anhand der Retentionszeit identifizieren (Analyse von Homoduplexen).

Aber auch Heteroduplexe können detektiert werden (Abbildung 4). Bei Heteroduplexen erfolgt die partielle Denaturierung aufgrund der nichtvollständigen Hybridisierung der Einzelstränge schneller als bei Homoduplexen. Bei einem Gemisch aus Hetero- und Homoduplexen gleicher Fragmentlänge eluieren zuerst die Heteroduplexe und später die Homoduplexe. Diese Eigenschaft dient dazu, Punktmutationen oder SNPs zwischen zwei Individuen/Allelen

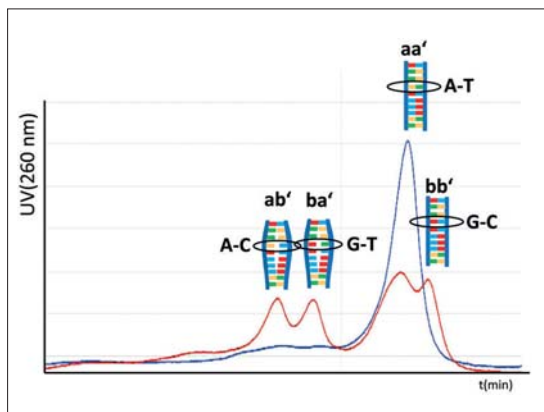


Abb. 4. Chromatogramme zur Analyse von Punktmutationen. Blau: Chromatogramm des Wildtyps (AA'). Rot: Detektion einer Mutante (BB') durch Mischen mit Wildtyp und anschließender De- und Renaturierung. Neben den beiden Homoduplexen werden die Heteroduplexe AB' und A'B detektiert.

zu analysieren. Dazu wird aus den beiden zu untersuchenden Individuen der entsprechende Sequenzabschnitt mit PCR vervielfältigt. Die PCR-Produkte werden anschließend im äquimolaren Verhältnis gemischt und komplett thermisch denaturiert. Kühlt das Gemisch wieder ab, entstehen bei der Rehybridisierung bei Sequenzunterschieden zwischen den Individuen auch Heteroduplexe.

Wird bei der DHPLC der Säulenofen auf über 70°C eingestellt, so lassen sich unter komplett denaturierenden Bedingungen auch DNA/RNA-Einzelstränge analysieren.

Hauptanwendungsbereich der DHPLC liegt in der Medizin bei der Detektion von genetischen Mutationen (im Vergleich zu einem Wildtyp) über die Heteroduplexe oder bei der Analyse von Bakterienpopulationen (Homoduplex-Trennung). In der Lebensmittelanalytik eignet sich die DHPLC beispielsweise für die Speziesidentifizierung in zusammengesetzten Lebensmitteln.⁴¹⁾

DNA als Werkzeug für die Lebensmittelanalytik

◆ Die Aptamer-Technik verwendet nicht die Sequenz einer DNA oder RNA, um ein Individuum zu identifizieren, vielmehr nutzt sie die dreidimensionale Struktur synthetisch hergestellter einzelsträngiger

DNA- bzw. RNA-Sequenzen und deren Bindungseigenschaft gegenüber Zielstrukturen. Aptamere werden in vitro in einem speziellen Selektionsverfahren, dem SELEX-Prozess (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) gewonnen.⁴²⁾

Als Ausgangsmaterial dient eine Nukleinsäure-Bibliothek aus bis zu 10^{15} verschiedenen Molekülen. Die äußeren Sequenzbereiche jedes Moleküls sind definierte Sequenzen für Primer-Bindungsstellen. In der Mitte befindet sich eine randomisierte Sequenz von etwa 20 bis 80 Nukleotiden. Dieser Ausgangspool wird mit dem Targetmolekül in Kontakt gebracht, und die nichtbindenden werden von den bindenden Aptameren getrennt. Diese Selektion wird im SELEX-Prozess mehrfach wiederholt. Am Ende erhält man eine Mischung aus Aptameren mit spezifischen Bindungseigenschaften gegenüber dem Target. Durch Sequenzanalyse und Bindungsstudien können die besten Aptamere ausgewählt werden.

Die Aptamere können analog zu Antikörpern für Bioaffinitätsanreicherungen oder für die spezifische Detektion von Targets verwendet werden. Aptamere sind wesentlich unempfindlicher gegenüber Temperatur-, Puffer- und pH-Wert-Einflüssen als proteinogene Antikörper. Ein weiterer Vorteil ist die In-vitro-Synthese, die den Einsatz von biologischen Systemen (z.B. Tieren), wie er bei der Antikörpergewinnung notwendig ist, ersetzt. Dies schließt Schwankungen der Bindungsaffinität von Charge zu Charge, wie sie bei der Antikörpergewinnung vorkommen, aus. Durch die chemische Vollsynthese sind die Aptamere zusätzlich derivatisierbar, etwa mit Fluoreszenzmarkern.

Aptamere dienen zur Detektion von pathogenen Mikroorganismen, von bestimmten Zellen, Proteinen oder kleineren Targets.⁴³⁾ Im Lebensmittelbereich finden Aptamere Anwendung in der Analytik von lebensmittelpathogenen Mikroorganismen und in der Mykotoxinanalytik.^{44,45)}

Literatur

- 1) X. Argout, J. Salse, J.-M. Aury et al., Nat. Genet. 2011, 43, 101–108.
- 2) S. Huang R. Li, Z. Zhang et al., Nat. Genet. 2009, 41, 1275–1281.
- 3) A. H. Paterson, J. E. Bowers, R. Bruggmann et al., Nature 2009, 457, 551–556.
- 4) R. Velasco, A. Zharkikh, J. Affourtit et al., Nat. Genet. 2010, 42, 833–839.
- 5) S. A. Goff, D. Ricke, T.-H. Lan et al., Science 2002, 296, 92–100.
- 6) R. Ming, S. Hou, Y. Feng et al., Nature 2008, 452, 991–996.
- 7) P. S. Schnable, D. Ware, R. S. Fulton et al., Science 2009, 326, 1112–1115.
- 8) X. Xu, S. Pan, S. Cheng et al., Nature 2011, 475, 189–195.
- 9) J. Yu, S. Hu, J. Wang et al., Science 2002, 296, 79–92.
- 10) O. Jaillon, J. M. Aury, B. Noel et al., Nature 2007, 449, 463–467.
- 11) V. Shulaev, D. J. Sargent, R. N. Crowhurst et al., Nat. Genet. 2011, 43, 109–116.
- 12) X. Wang, H. Wang, J. Wang et al., Nat. Genet. 2011, 43, 1035–1039.
- 13) International Chicken Genome Sequencing Consortium, Nature 2004, 432, 695–716.
- 14) B. Star, A. J. Nederbragt, S. Jentoft et al., Nature 2011, 477, 207–210.
- 15) A. V. Zimin, A. L. Delcher, L. Florea, D. R. Kelley, M. C. Schatz, Genome Biol. 2009, 10, R42.
- 16) E. Brzuszkiewicz, A. Thürmer, J. Schuldes et al., Arch. Microbiol. 2011, 193, 883–891.

Ilka Haase ist staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin und hat 2002 ihre Promotion in Biochemie abgeschlossen. Seit September 2006 leitet sie die Arbeitsgruppe DNA-basierte Lebensmittelanalytik am Institut für Lebensmittelchemie der Universität Hamburg.



ilka.haase@chemie.uni-hamburg.de

Franziska Vaagt ist staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin und hat an der Universität Hamburg studiert. In ihrer Promotion am Institut für Lebensmittelchemie der Universität Hamburg beschäftigt sie sich mit molekularbiologischen Methoden für die Lebensmittelanalytik. Sie ist Stipendiatin der Stockmeyer-Stiftung.



vaagt@chemie.uni-hamburg.de

Markus Fischer ist staatlich geprüfter Lebensmittelchemiker und seit 2006 Direktor des Instituts für Lebensmittelchemie der Universität Hamburg. 2011 hat er an der Universität Hamburg die Hamburg School of Food Science gegründet.



markus.fischer@hsfs.uni-hamburg.de

- 17) A. Mellmann, D. Harmsen, D. Cummings et al., PLoS One 2011, 6, e22751.
- 18) P. M. Hollingsworth; S. W. Graham; D. P. Little, PLoS ONE 2011, 6, e19254.
- 19) P. M. Hollingsworth, PNAS 2011, 108 (49), 19451–19452.
- 20) ENGL, European Network of GMO Laboratories. Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing, 2008.
- 21) F. Focke; I. Haase; M. Fischer, J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 513–520.
- 22) P. Bruening; I. Haase; R. Matissek, M. Fischer, J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 11910–11917.
- 23) H.-U. Waibliger, B. Ernst, N. Graf, K. Pietsch, J. Verbr. Lebensm. 2006, 1, 113–115.
- 24) European Commission: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/statusofdo.htm>, 1–23.
- 25) K.-D. Jany, E. Höfer, Deutsche Lebensmittelrundschau 2011, Oktoberausgabe, 483–487.
- 26) E. Waltz, Natur Biotechnol. 2011, 29, 958.
- 27) I. Ganopoulos, A. Argiriou, A. Tsaftaris, Food Chem. 2011, 129, 652–659.
- 28) I. Ganopoulos, A. Argiriou, A. Tsaftaris, Food Control 2011, 22, 532–541.
- 29) H. Akiyama, F. Nakamura, C. Yamada et al., Biol. Pharm. Bull. 2009, 32, 1824–1829.
- 30) T. Notomi, H. Okayama, H. Masubuchi et al., Nucleic Acids Res. 2000, 28, E63.
- 31) I. Haase, M. Fischer, P. Brünig, F. Focke, GIT Labor-Fachzeitschr. 3/2010, 235–238.
- 32) Y. Mori; M. Kitao; N. Tomita; T. Notomi, J Biochem Biophys Methods 2004, 59, 145–57.
- 33) S. Fu, G. Qu, S. Guo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 2011, 163, 845–850.
- 34) D. Morisset, D. Stebih, K. Cankar, J. Zel, K. Gruden, Eur. Food Res. Technol. 2008, 227, 1287–1297.
- 35) F. Focke; I. Haase; M. Fischer, Nachr. Chem. 2009, 57, 1015–1018.
- 36) J. P. Schouten, C. J. McElgunn, R. Waaijer et al., Nucleic Acids Res. 2002, 30, e57.
- 37) A. Ehlert, A. Demmel, C. Hupfer, U. Busch, K. H. Engel, Food Addit. Contam. Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess 2009, 26, 409–418.
- 38) S. L. Mustorp, S. M. Dromtorp, A. L. Holck, J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 5231–9.
- 39) A. L. Holck, S. M. Dromtorp, E. Heir, Eur. Food Res. Technol. 2009, 230, 185–194.
- 40) F. Moreano, A. Ehlert, U. Busch, K.-H. Engel, Eur. Food Res. Technol. 2006, 222, 479–485.
- 41) S. Le Fresne, M. Popova, F. Le Vacon, T. Carton, J. Agric. Food Chem. 2011, 59 (23), 12302–8.
- 42) C. Tuerk, L. Gold, Science 1990, 249, 505–510.
- 43) L. Yang, X. Zhang, M. Ye et al., Adv. Drug Del. Rev. 2011, 63 (14–15), 1361–1370.
- 44) J. A. Cruz-Aguado, G. Penner, J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 10456–61.
- 45) S. H. Ohk, O. K. Koo, T. Sen, C. M. Yamamoto, A. K. Bhunia, J. Appl. Microbiol. 2010, 109, 808–17.



GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

Mitglied in einem lebendigen Netzwerk werden!



**Kompetenz
Kontakte
Kooperationen**

Über 28.000 Mitglieder machen aus der Gesellschaft Deutscher Chemiker eine starke und dynamische Wissenschaftsorganisation.

Werden Sie Mitglied und profitieren Sie von einer Fachgesellschaft, die sich durch umfassende Leistungen, hohe Netzwerkaktivitäten und beständiges Wachstum auszeichnet!

Kontakt:

Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V.
 Mitgliederservice Telefon: +49 69 7917-334/-335/-372
 Postfach 90 04 40 Fax: +49 69 7917-374
 60444 Frankfurt am Main E-Mail: ms@gdch.de

www.gdch.de