

DAS NEUE LIEBLINGSWERKZEUG DER BIOTECHNOLOGIE

Über die wissenschaftlichen Grundlagen der neuen Gentechnikverfahren

In den letzten Jahren sind neue molekularbiologische Verfahren entwickelt worden, die es WissenschaftlerInnen erlauben, das Erbgut von Organismen (Pflanzen, Tieren, menschlichen Zellen) weitreichender als mit bisherigen Gentechnikverfahren zu verändern. Diese neuen Gentechnikverfahren werden unter dem Sammelbegriff Genome Editing zusammengefasst und schließen molekularbiologische Verfahren ein, die gezielte Veränderungen im Erbgut von Zielorganismen ermöglichen. Dabei bricht Genome Editing bisherige Grenzen der Pflanzenzucht auf und ermöglicht die Herstellung von genetischen Kombinationen, die sowohl durch spontan auftretende Mutationen als auch mit bisherigen Mutagenese-Verfahren nur sehr unwahrscheinlich umsetzbar wären. Gekoppelt an die rasante Weiterentwicklung dieser Verfahren sollten solche Organismen auf eventuell auftretende, ungewollte Nebeneffekte untersucht werden.

DIESE GENOME Editing-Verfahren finden Anwendung in der Grundlagenforschung, in der medizinischen Forschung und in der Tier- und Pflanzenzucht. Sie schließen unter anderem die sogenannten ortsgerichteten Nuklease-Verfahren (SDN) ein. Das jüngste dieser SDN-Verfahren, das CRISPR/Cas-System, wird von WissenschaftlerInnen in einem rasanten Tempo weiterentwickelt und ist als Standardverfahren in den Laboren der Welt längst angekommen. Seit der ersten Beschreibung der CRISPR/Cas-Methode im Jahre 2012 ist die Zahl der Veröffentlichungen, in denen die Anwendung und Weiterentwicklung dieser neuen Technik beschrieben wird, enorm angestiegen.

CRISPR/Cas – präzise Schnitte im Erbgut

Ursprünglich stammt das CRISPR/Cas-System aus Bakterien und dient diesen als Immunsystem gegen Virusinfektionen. Die Bakterien „speichern“ nach einer viralen Infektion kleine DNA-Stücke des Virus in ihrem eigenen Erbgut und können bei einer erneuten Infektion diese nutzen, um das eingedrungene virale Erbgut zu erkennen und mit einem Enzym (der Genschere Cas) zu zerschneiden. Die einzelnen Komponenten wurden von WissenschaftlerInnen aus ihrem na-

türlichen Kontext herausgelöst und für die biotechnologische Anwendung in menschlichen, tierischen und pflanzlichen Zellen angepasst.

Das neue Lieblingswerkzeug der Biotechnologie CRISPR/Cas besteht aus einer Erkennungskomponente (ein kleines Stück RNA, die sogenannte ‚Guide RNA‘), die einen Bereich des Erbgutes gezielt erkennt und bindet, sowie einer Schneidekomponente, die eigentliche Genschere Cas, die innerhalb der Zielsequenz der DNA schneidet. Die Erkennungskomponente wird von WissenschaftlerInnen am Computer entworfen und dann synthetisch hergestellt. Gemeinsam mit der Genschere wird die Guide RNA in den Zielorganismus eingeschleust und spürt den Zielbe-

reich auf dem Erbgut auf. Die Guide RNA geht eine Wechselwirkung mit diesem Bereich ein und bringt damit die Genschere an der gewünschten DNA-Sequenz zum Schneiden. Bei diesem Vorgang entsteht ein Bruch im DNA-Doppelstrang, der von der Zelle als Schaden erkannt wird und zur Aktivierung von zelleigenen Reparaturmechanismen führt.

Dieser DNA-Doppelstrangbruch kann dabei über 2 verschiedene Reparaturmechanismen repariert werden: entweder durch die sogenannte ‚Non-homologous-end-joining‘-Reparatur (NHEJ) oder die ‚Homology-directed‘-Reparatur (HDR). Das bietet den WissenschaftlerInnen 2 unterschiedliche Möglichkeiten, das Erbgut ihrer Zielorganismen umzuschreiben. Die NHEJ-Reparatur wird unmittelbar nach dem Auftreten des DNA-Schadens aktiv, um den DNA-Bruch schnellstmöglich wieder zu schließen. Die Reparaturproteine arbeiten nicht immer ganz genau und sind fehleranfällig: Sie können zum einen den Ursprungszustand wiederherstellen oder kleine Veränderungen in die DNA-Sequenz einbauen. So können einzelne Basenpaare, die Buchstaben der DNA, an der Zielsequenz ausgetauscht, eingefügt oder entfernt werden. Die Art der herbeigeführten Veränderungen kann auf die-



© NASA (BY-NC 2.0)

Technische Entwicklungen sind oft schneller als politische Rahmgebung. Eine angemessene Vorsorge und Risikoprüfung ist jedoch zwingend notwendig.

sem Wege nicht vom Wissenschaftler oder der Wissenschaftlerin vorher festgelegt werden, er oder sie muss sich die gewünschten Veränderungen nach dem Experiment aus den behandelten Zellen herausuchen. Über die Aktivierung der HDR-Reparatur können größere oder kleinere DNA-Sequenzen gezielt in die Zielsequenz eingebaut werden. Hierfür werden im Labor kurze DNA-Stücke hergestellt, die als Reparatur-Vorlagen dienen. Die DNA-Stücke werden zusammen mit dem CRISPR/Cas-System in die Zelle eingeschleust und stimmen mit dem Zielbereich der DNA bis auf die gewünschte Veränderung überein. Die HDR-Reparatur erkennt die Übereinstimmung der Reparatur-Vorlage mit der Zielsequenz und baut diese in das Erbgut ein.

Weitreichende Veränderungen im Erbgut

Mit der CRISPR/Cas-Technik vervielfältigen sich die Möglichkeiten, Veränderungen am Erbgut von Pflanzen und Tieren vorzunehmen. Damit können Gene an- oder ausgeschaltet, in ihrer Wirkung verändert, entfernt, anders abgelesen oder ganz neue Gene in das Erbgut eingefügt werden. All das lässt sich mit Hilfe dieser neuen Gentechnik schnell, effektiv und relativ kostengünstig umsetzen. Dabei kann mit CRISPR/Cas die Umgestaltung des Erbguts viel präziser und zielgerichteter durchgeführt werden, als es mit anderen Biotechnologien bisher möglich war.

Dass CRISPR/Cas ein so mächtiges Instrument darstellt, ist auf seine Wirkungsweise zurückzuführen: Mit Hilfe der Guide RNA kann die Genschere jede zu ihr passende Zielsequenz auffinden. Das ist besonders relevant in Organismen wie Pflanzen, die ein redundantes Erbgut besitzen. Das bedeutet, dass sie häufig mit einem vervielfachten Chromosomensatz und einer hohen Anzahl an Genkopien ausgestattet sind.

Hier bringt CRISPR/Cas einen großen Vorteil mit sich: Der Komplex der Genschere unterscheidet nicht, welche Gen-Kopien geschnitten werden. Ist die Zielsequenz zugänglich, bindet und schneidet der CRISPR/Cas-Komplex diese und sucht anschließend weiter. Wird der herbeigeführte DNA-Schaden korrekt repariert, also der Ausgangszustand wiederhergestellt, dann kann erneut gebunden und geschnitten werden.

Das bedeutet, dass mit einer einzigen Guide RNA alle Bereiche des Erbguts verändert werden können, die zu dieser einen Guide RNA passen. Nach einer gewissen Zeit werden die Guide RNA und die Genschere von der Zelle abgebaut und der Wissenschaftler/die Wissenschaftlerin kann sich die eine Zelle herausuchen, bei der die gewünschte Anzahl an Gen-Kopien verändert wurde.

Der flexible Aufbau des CRISPR/Cas-Systems kann noch weitreichender eingesetzt werden: Zusammen mit der Genschere können mehrere verschiedene Guide RNAs mit in die Zelle eingebracht werden und damit dann unterschiedliche Bereiche des Erbguts verändert werden. Bei diesem als ‚Multiplexing‘ bezeichneten Einsatz von CRISPR können wiederum auch alle Gen-Kopien auf einmal verändert werden.

Züchterische Grenzen aufbrechen

Es zeigt sich immer mehr und mehr, dass WissenschaftlerInnen mit CRISPR/Cas neue genetische Kombinationen im Erbgut von Pflanzen und Tieren bewirken können, die in dieser Form auf natürlichem Wege nur sehr unwahrscheinlich entstehen¹. So können etwa natürliche Reparaturprozesse innerhalb der Zelle umgangen werden, die unter normalen Umständen aktiv werden, um DNA-Schäden in bestimmten Bereichen zu reparieren und das dortige Auftreten von Mutationen zu verhindern. Mit seiner charakteristischen, wiederholbaren ‚Suchen-Schneiden‘-Funktion kann CRISPR/Cas diese Schutzfunktion der Zellen torpedieren und auch an solchen Stellen im Erbgut Veränderungen bewirken.

Ein häufiges Problem in der Pflanzenzucht stellen genetisch gekoppelte Gene dar. Diese Gene werden nur sehr selten getrennt voneinander vererbt und gemeinsam an die nächsten Generationen weitergegeben. Gene im Erbgut der Tomate werden beispielsweise zu einem großen Anteil genetisch gekoppelt vererbt. Die Gerste ist ein weiteres Beispiel für dieses genetische Phänomen, das auch ‚Linkage Drag‘ genannt wird. So kann es passieren, dass die Entkopplung bestimmter Gene einen positiven Effekt auf die Züchtung haben kann. Der Einsatz von CRISPR/Cas in der Pflanzenzucht macht nun auch dies schnell und einfach möglich. In der Summe stehen den WissenschaftlerInnen und ZüchterInnen mit

CRISPR/Cas nun Möglichkeiten zur Verfügung, das Erbgut von Zielorganismen nach Belieben umzugestalten und in der Summe neue genetische Kombinationen zu erschaffen.

Risikoprüfung muss Pflicht sein

So wurde bereits ein Weizen entwickelt, der einen reduzierten Gluten-Gehalt besitzt, was durch den Einsatz von 2 Guide RNAs und das damit gezielte, gleichzeitige Ausschalten von 35 aus 45 Gliadin-Genkopien umgesetzt wurde. Ein weiteres Beispiel kommt aus der Tomate, bei der durch den Einsatz von mehreren Guide RNAs die Anzahl, die Größe und die Form der Früchte, die Inhaltsstoffe und die Wuchsform der Pflanze verändert wurden.²

Auch einem Laien wird an diesen Beispielen bewusst, dass solche genomeditierten Pflanzen einer ausreichenden Risikoprüfung unterzogen werden müssen, bevor sie für den menschlichen Verzehr und das Ausbringen in die Natur zugelassen werden. Die Risikobewertung sollte zum einen den gentechnischen Eingriff mit eventuell auftretenden, ungewollten Nebeneffekten überprüfen und zum anderen die neu geschaffenen genetischen Eigenschaften bzw. Kombinationen mehrerer neuer Eigenschaften untersuchen. Dabei sollten ökologische Fragestellungen unbedingt berücksichtigt werden.³



Dr. Katharina Kawall

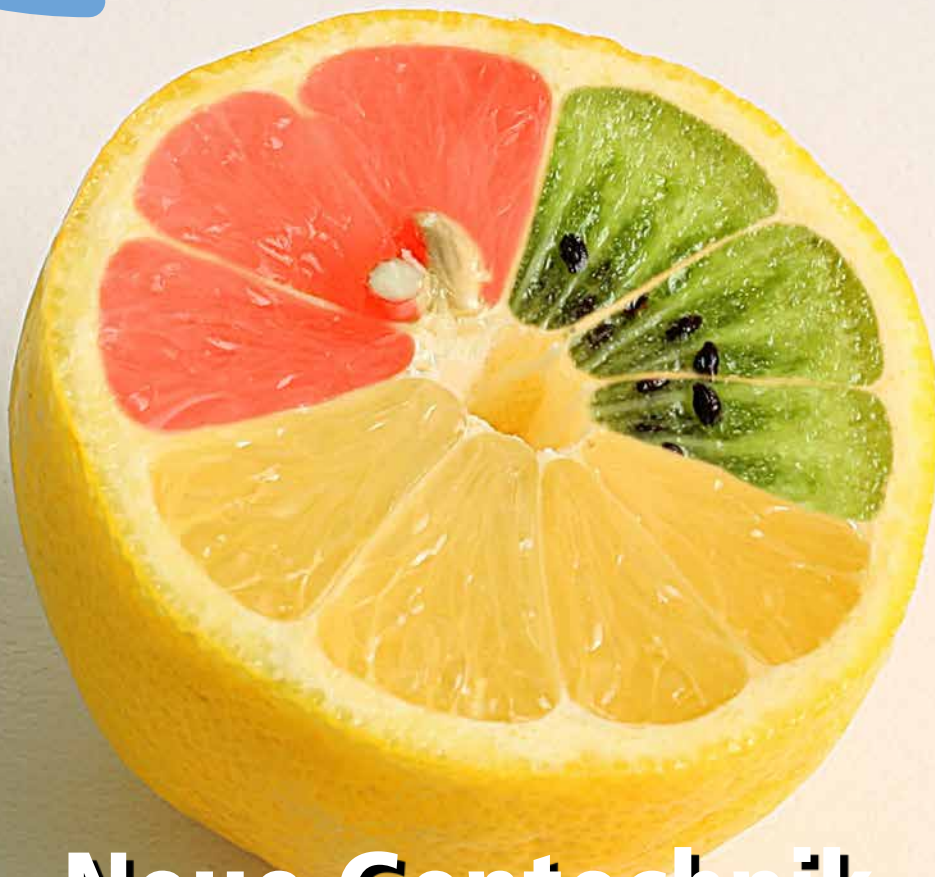
Die Autorin ist promovierte Molekularbiologin und besetzt seit November 2017 die Fachstelle Gentechnik und Umwelt.

- 1 Katharina Kawall (2019): New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes. *Front. Plant Sci.* 10:525.
- 2 Agustin Zsögön/Tomás Cermak/ Emmanuel Rezende Naves/Marcela Morato Notini/Kai H. Edel/Stefan Weinel/Lázaro Eustáquio Pereira Peres/Luciano Freschi/Daniel F. Voytas/Jörg Kudla (2018): De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nature Biotechnology* 36, S. 1211-1216.
- 3 Dieser Artikel basiert auf den Hintergrundpapieren der Fachstelle Gentechnik und Umwelt. <https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/informationen>.

2/2019

RUNDBRIEF

Forum Umwelt & Entwicklung



Neue Gentechnik

Zwischen Labor, Konzernmacht und
bäuerlicher Zukunft

Seite 4

**Das neue Lieblingswerkzeug
der Biotechnologie:
Grundlagen neuer
Gentechnik**

Seite 10

**Neue Gentechnikverfahren
und Pflanzenzucht: Patente-
Kartell für Großkonzerne**

Seite 18

**Gefährliche Scheinlösung:
Mit neuer Gentechnik die
Welternährung sichern?**

Seite 20

**Kolonialherrschaft im
neuen Gewand: Afrika
als Versuchsfeld für neue
Gentechnik**