

„Genome Editing“ in der Pflanzenzüchtung

Grundlagen, Potenzial, Konsequenzen



Alexandra Ribarits

Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen

7. Konferenz der Gentechnikfreien Regionen am Bodensee, 10.-11.11.2016

St. Arbogast, Götzis, 10.11.2016

Inhalt



- Einführung
- Genome Editing-Werkzeuge
- Grundlagen: die Techniken und die Mechanismen
- Genome Editing in der Pflanzenzüchtung
- Konsequenzen: Nachweis, Risiken
- Schlussfolgerungen

DNA, Gene, Proteine....



- Die **DNA-Sequenz** ist die Abfolge von Buchstaben
- Je drei Buchstaben ergeben einen **Baustein** (Aminosäure)
- **Eiweiße (Proteine)** sind aus diesen Bausteinen aufgebaut
- Ein **Gen** ist ein Eiweiß-Bauplan
 - Die Gene werden in Proteine übersetzt:
 - $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{Protein}$
- Ein **Genom** ist die Gesamtheit aller Gene eines Lebewesens



Genome Editing, die „Genschere“



- Gezielte Veränderung an einer vorbestimmten Stelle im Genom
- Erkennungselemente (Proteine, RNA) binden an die gewünschten DNA-Abschnitte (Zielsequenzen)
- Ein Enzym schneidet den DNA-Doppelstrang
- Einschleusen mit gentechnischen Methoden
- Pflanzeneigene Mechanismen reparieren

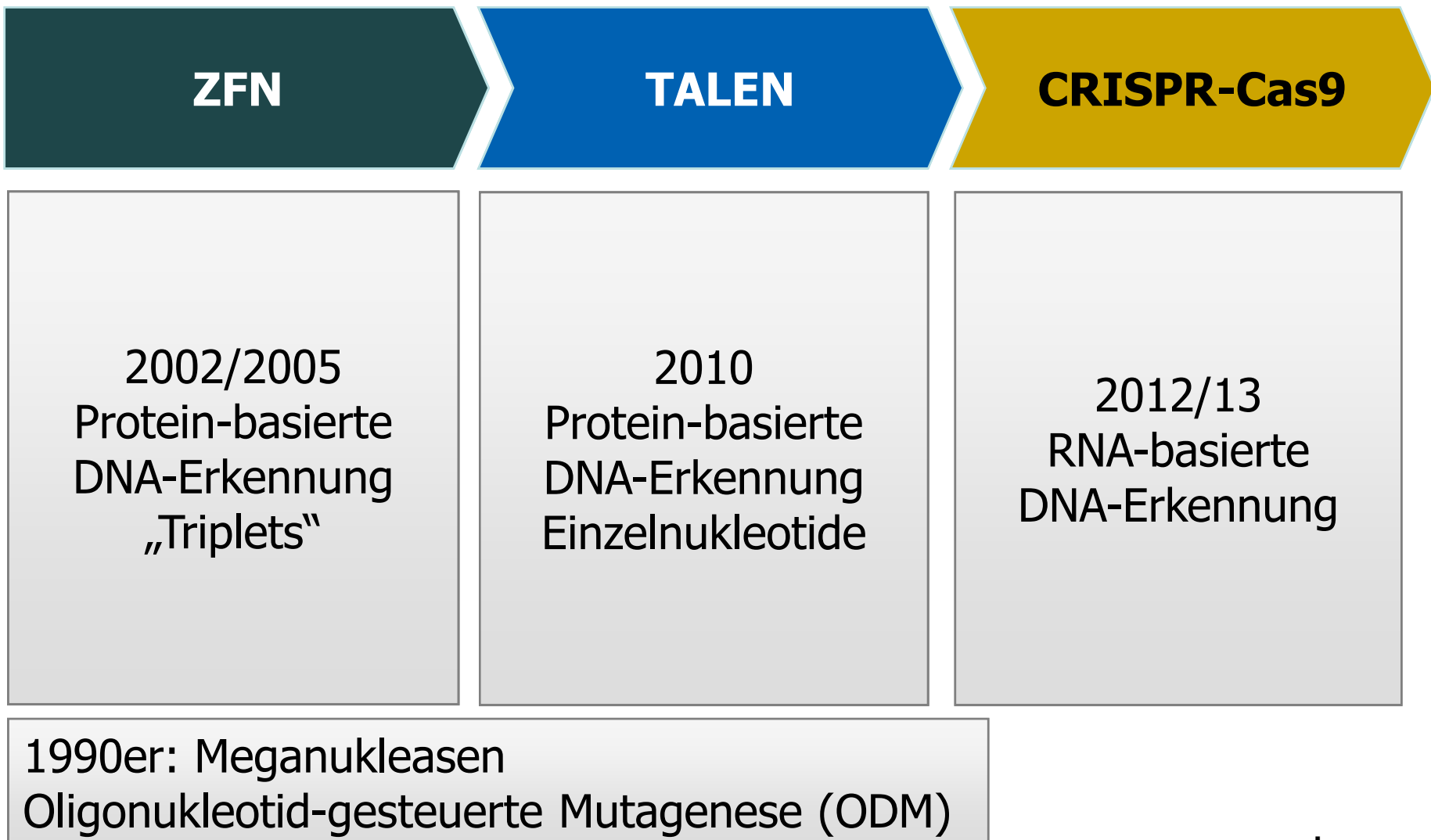
Warum Genome Editing?



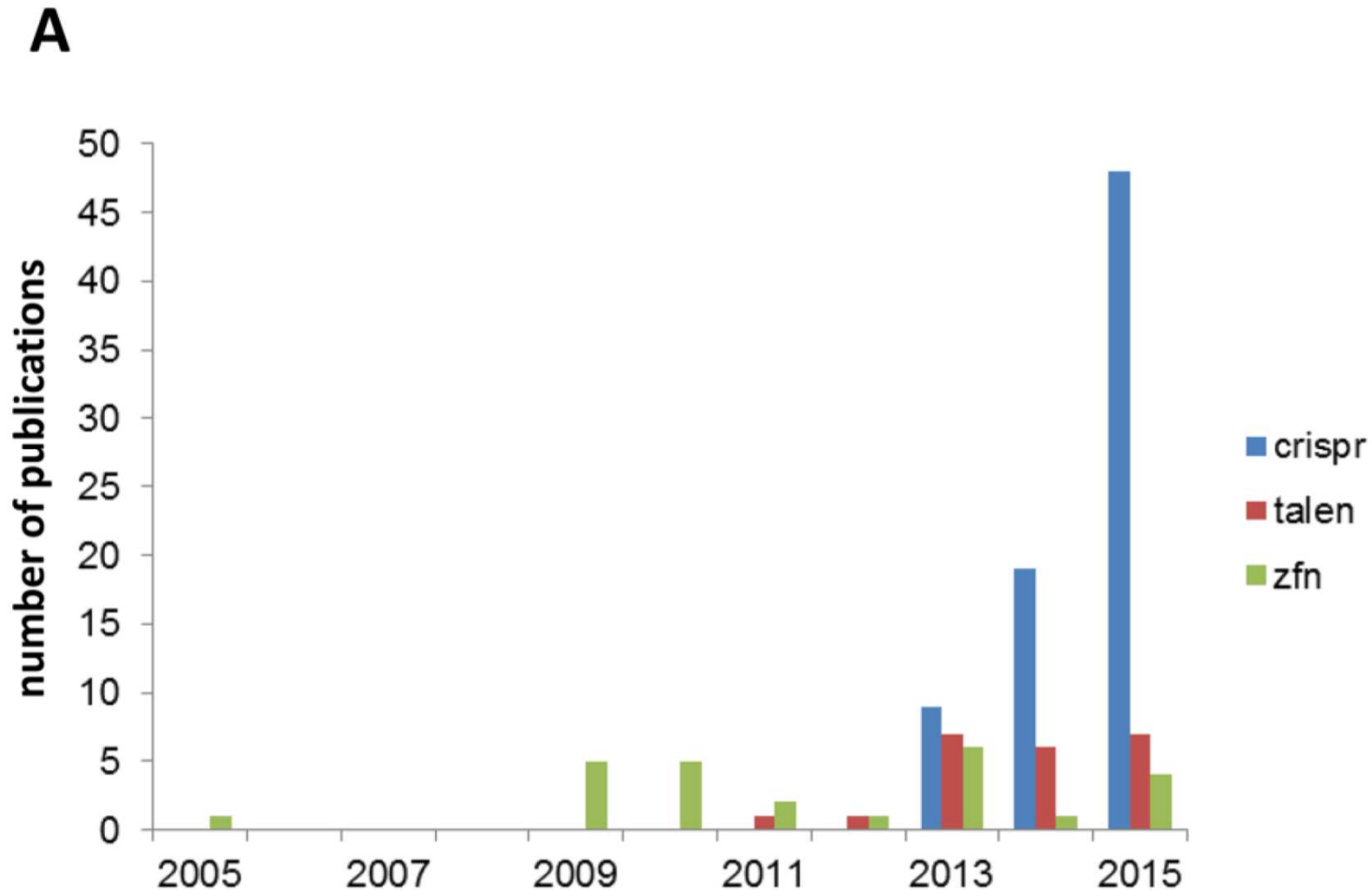
- Schnell
- Preiswert
- Einfach
- Genauigkeit
- In allen Lebewesen einsetzbar

- Großes Potenzial in Wissenschaft und Anwendung

Genome Editing-Werkzeuge

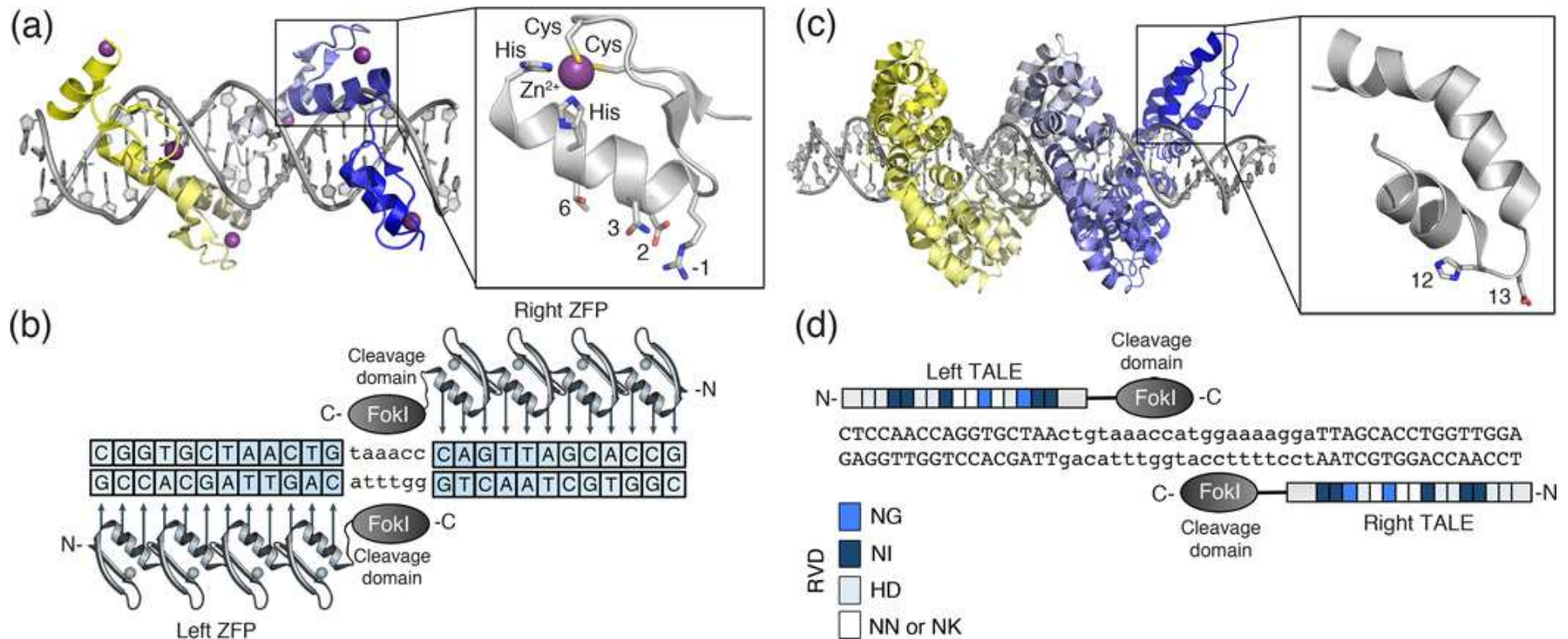


CRISPR: Eine Erfolgsgeschichte



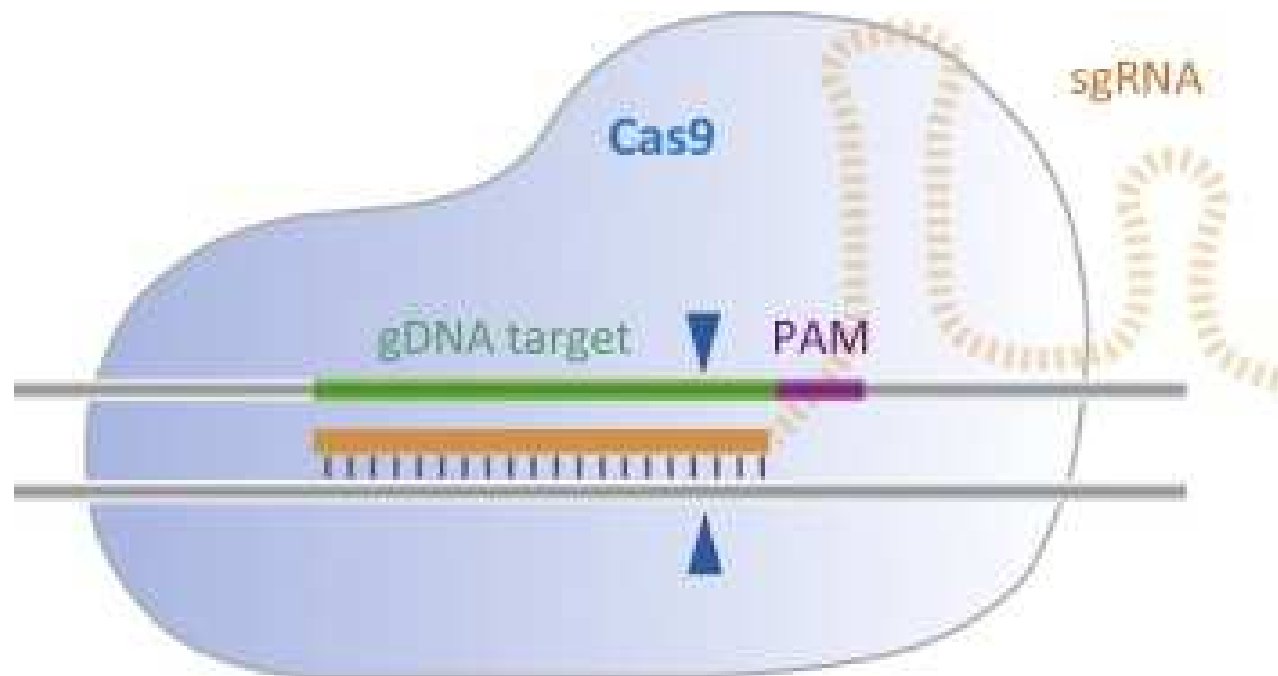
Aus: Hilscher et al. (2016) Biotechn J 11, doi:10.1002/biot.201600173

Zinkfinger und TALENs



Aus: Gaj et al. (2013) Trends in Biotechnol 31(7): 397-405

CRISPR-Cas9



Trends in Molecular Medicine

Aus: Dow (2015) Trends in Molecular Medicine 21 (10), 609–621

Forschung: Datenbanken? Sequenzen?
Genfunktionen? Auswirkungen einer Veränderung?
Erkennungselemente + „Schere“ bauen
Einschleusen
Suchen – Erkennen – Schneiden
Verändern – Reparieren
Gewünschtes Ergebnis

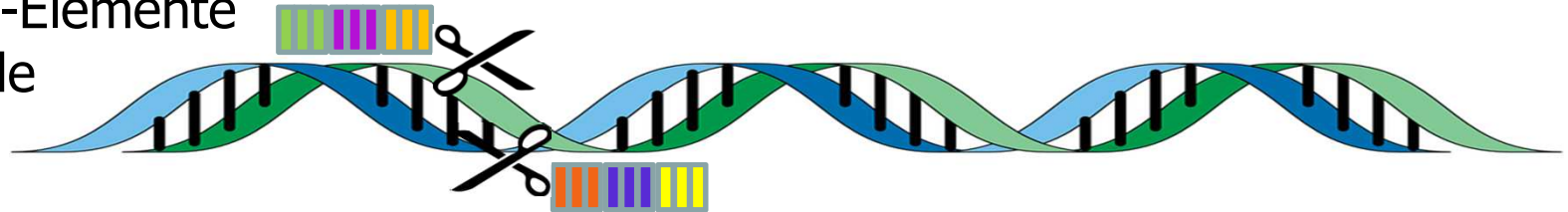


AGES



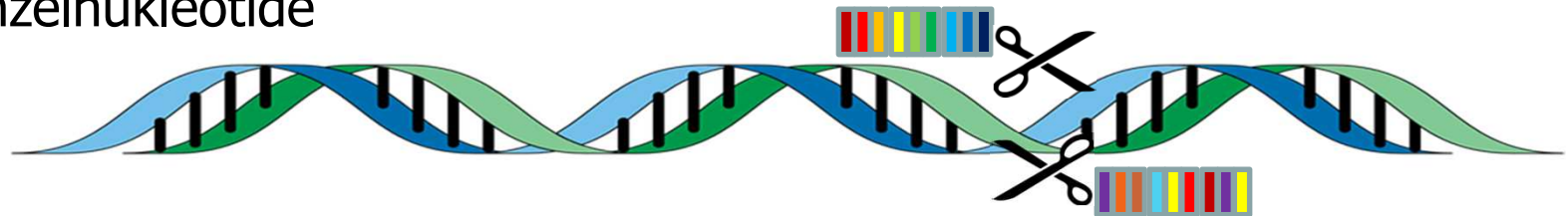
Zinkfinger

Aminosäuren-Elemente
3-4 Nukleotide



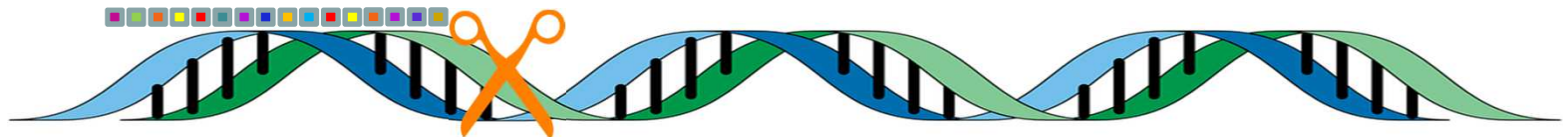
TALEN

Aminosäuren-Elemente
Erkennen Einzelnukleotide



CRISPR-Cas9

guideRNA
Standardbasenpaarung



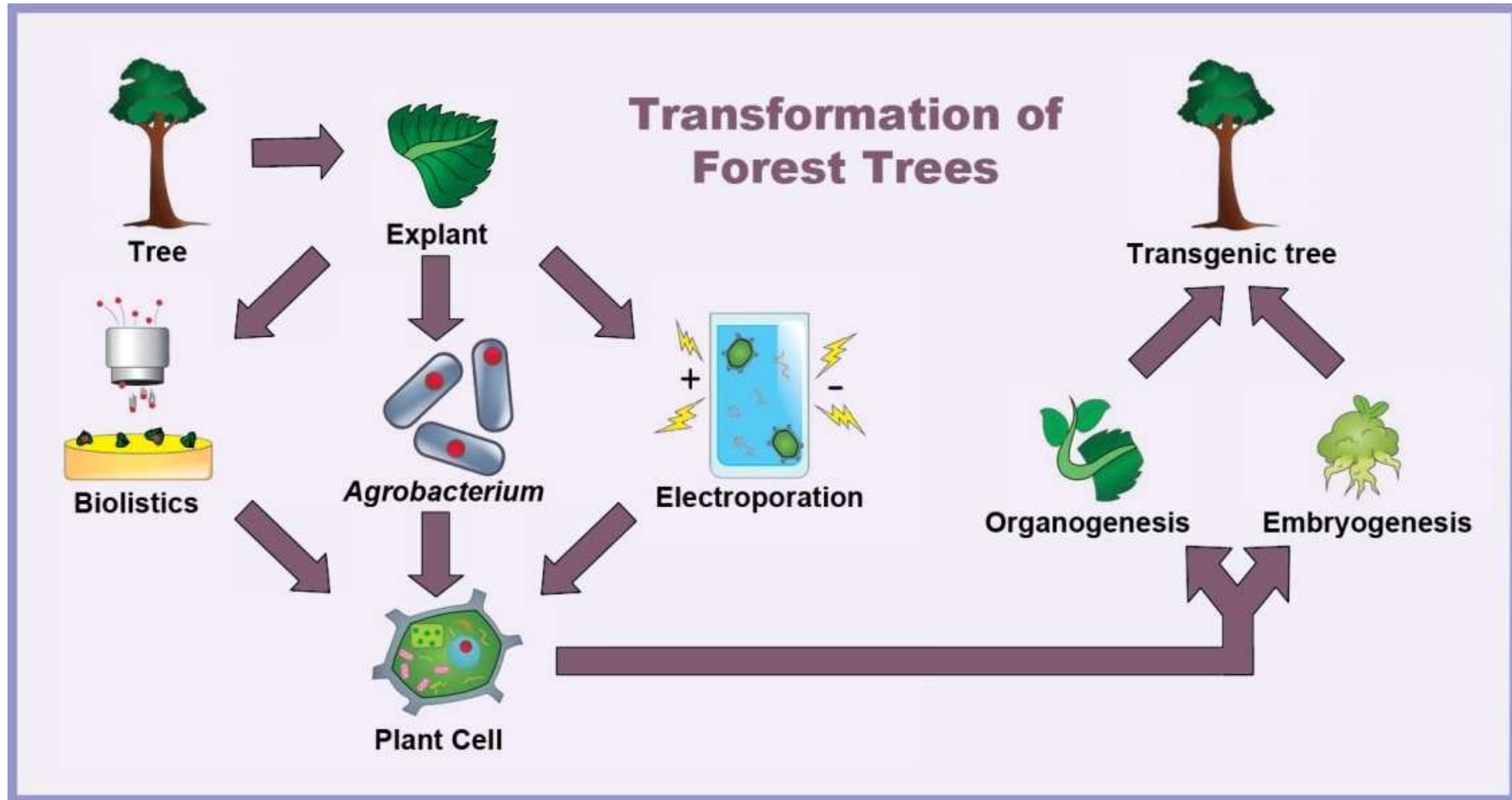
Einschleusen von Fremd-DNA



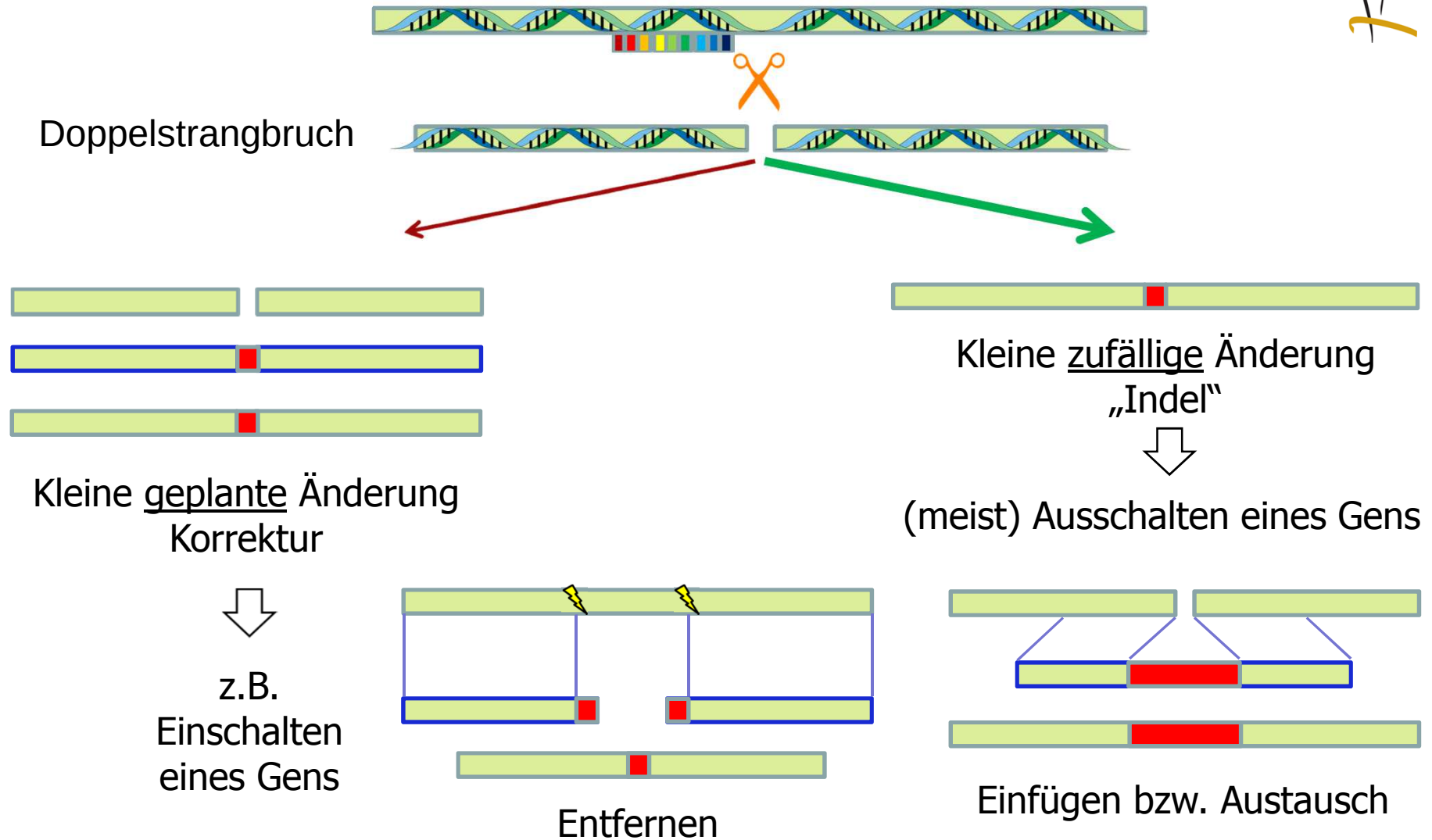
- „Stabil“: Einbau zufällig und nicht zielgerichtet
- „Transient“: vorübergehend in der Pflanze
 - kann eine bleibende Veränderung bewirken
- Große Anzahl an Zellen und Pflanzen erforderlich
- Nicht jede Methode für jede Pflanze geeignet
- Regeneration ganzer Pflanzen
- Auslese notwendig

Einschleusen

- Genkanone, Agrobakterien, Protoplasten



Aus: Castellanos-Hernández et al. (2011) InTech, DOI: 10.5772/24354
www.ages.at



Großes Interesse in Pflanzenzüchtung und Forschung



- Mehr Ertrag, höhere Leistung
- Robustere Pflanzen (Resistenzen)
 - Wetterbedingungen, Krankheiten, Schädlinge, Herbizide
- Inhaltsstoffe einbringen oder entfernen:
 - Gesundheit (unerwünschte und erwünschte Stoffe)
 - Verträglichkeit (Allergien und Unverträglichkeiten)
 - Verbesserte Rohstoffe (Ausbeute, Verarbeitung)
 - Aussehen, Geruch, Geschmack
 - Verbesserte Lagerung

Bei gleichbleibenden sonstigen Sorteneigenschaften!

- Aufklärung von Genfunktionen

Welche Eigenschaften gibt es schon?

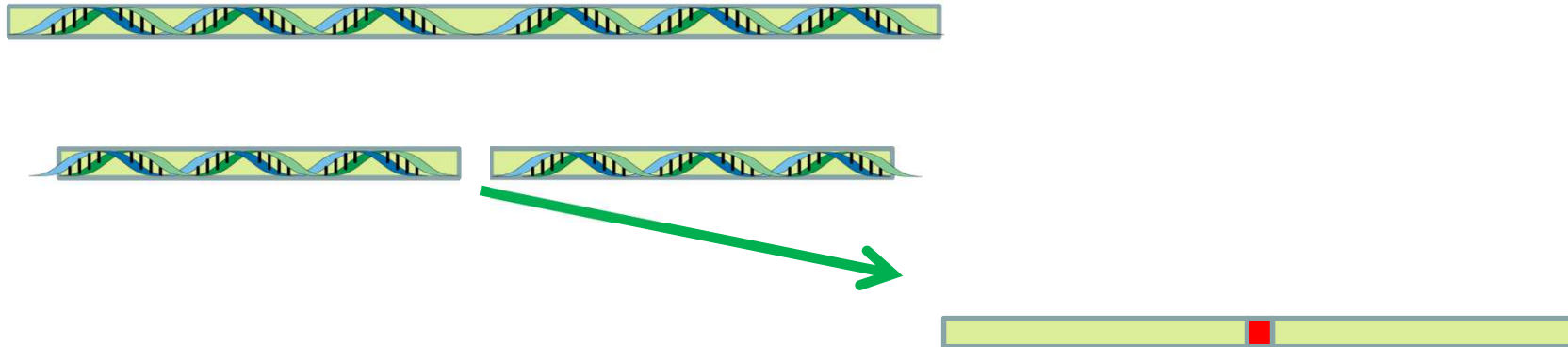


- **CRISPR**: hoher Amylopektin-Gehalt (Wachsmais), keine Bräunung (Champignons)
- **TALEN**: Mehлтаuresistenz (Weizen), Resistenz gegen Bakterienbrand (Reis), hoher Ölsäuregehalt (Sojabohne), niedriger Acrylamidgehalt (Kartoffel)
- **Meganukleasen**: Stärkegehalt (Mais), erhöhte Photosyntheseleistung (Mais)
- **ODM**: Herbizidtoleranz (Raps)

Anfragen bei USDA/APHIS, Stand Sommer 2016

Aus: Hilscher et al. (2016) Biotechn J 11, doi:10.1002/biot.201600173

www.ages.at



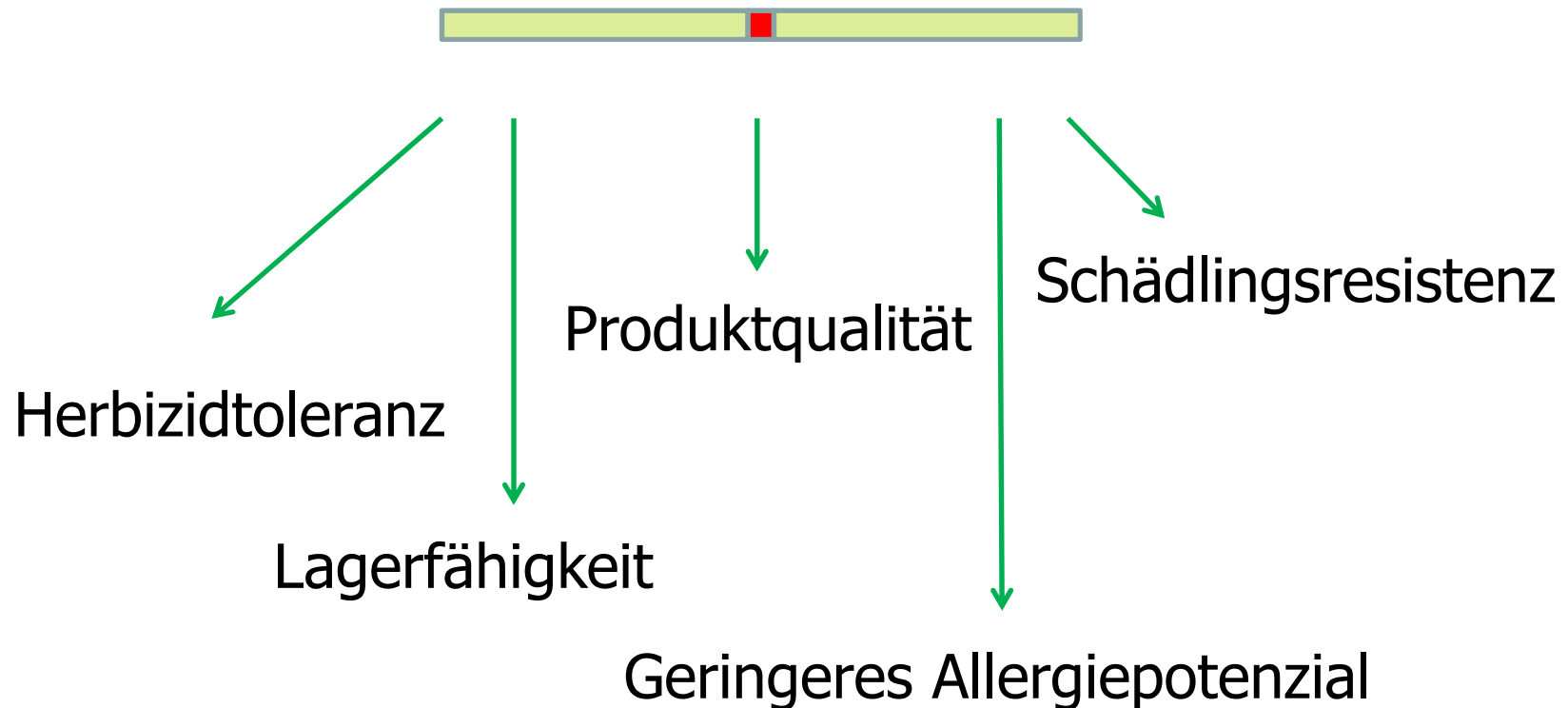
- Genome Editing ist nicht nur Punktmutation!
- Mutationen haben viele Ursachen!

Es gibt viele Ursachen für kleine Veränderungen im Genom



- Spontanmutationen: kommen ständig vor (z.B. durch Fehler beim Kopieren der DNA)
- Induzierte Mutationen: durch natürliche oder künstliche Einflüsse ausgelöst
 - Stressfaktoren (Sonne/UV, Schädlinge, Hitze/Trockenheit)
 - Strahlung (elektromagnetisch, radioaktiv, ionisierend)
 - chemische Substanzen
 -
- Genome Editing
 - Zinkfinger-Nukleasen, TALENs, Meganukleasen, Oligos, CRISPRs... etc.

Kleine Veränderung – große Wirkung



Ursache der Mutation unbekannt!

Nachweis möglich? Ja und nein!



- Spezifischer Nachweis einer Mutation ist möglich!
- Die Ursachenforschung nach heutigem Wissensstand nicht!
- Standard-Nachweismethode: PCR
 - Wissen über die Stelle im Genom
- Noch keine Standard-Nachweismethode: Sequenzieren
 - Referenzdatenbank



AGES



Genome Editing ist diskussionswürdig AGES

"Die Genom-Editierung und insbesondere die CRISPR-Cas9-Technologie bieten effektive und kostengünstige neue Möglichkeiten, DNA in lebenden Organismen zu verändern, zu löschen oder einzufügen. Die Technik findet breite Anwendung in vielen Forschungsgebieten. Die sich daraus ergebenden ethischen Fragestellungen werden [...] als wichtig erachtet."

Peter Dabrock (Deutscher Ethikrat), Jean-Claude Ameisen (Comité Consultatif National d'Éthique) und Jonathan Montgomery (Nuffield Council on Bioethics)

Deutscher Ethikrat,
Pressemitteilung vom
24. Oktober 2016

Zur Diskussion



- „CRISPR ist einfach und kostengünstig.“
 - Ja, verglichen mit anderen Techniken ist CRISPR einfach und kostengünstig.
- „CRISPR kann jeder anwenden.“
 - Jein. Ist die Zielsequenz bekannt, können die nötigen Plasmide bei Firmen bestellt werden. Aber: Es braucht Wissen über die Genfunktionen, und für die jeweilige Pflanzenart müssen geeignete Methoden verfügbar sein.
- „CRISPR ist eine große Chance für die Landwirtschaft.“
 - Ja: Die Technik ist genauer als bisherige Methoden. Züchtung wird oft vereinfacht und beschleunigt. Viele positive Merkmale können erzeugt werden und charakteristische Sortenmerkmale bleiben unverändert.
 - Aber: Die Merkmale können Risiken mit sich bringen.

Gentechnik ja oder nein?



- „Die neuen Verfahren sollen als Gentechnik eingestuft werden. Nur so findet eine umfassende Risikobewertung statt. Durch die Kennzeichnung wird die Wahlfreiheit gesichert.“
 - Ja, mögliche Risiken müssen jedenfalls und unabhängig von der Zuordnung berücksichtigt werden.
 - Bezüglich der Einstufung – und somit auch der Kennzeichnung – muss zunächst die Empfehlung der Europäischen Kommission abgewartet werden.
 - Züchterinnen und Züchter sehen die möglicherweise einfachere Patentierbarkeit im Fall der Einordnung unter „GVO“ kritisch. Viele Fragen, beispielsweise bezüglich einer Neuausrichtung des Sortenzulassungsverfahrens, sind offen.



alexandra.ribarits@ages.at