https://mail.gen-ethisches-netzwerk.de/node/3747

Gen-ethischer Informationsdienst

CRISPR-Pflanzen weltweit

Auch neues Werkzeug erfüllt GentechnikerInnen nicht alle Wünsche

AutorIn
Benno Vogel



ForscherInnen erzeugen mit CRISPR beispielsweise Weizen mit weniger Gluten oder Kartoffeln mit mehr Ballaststoffen.

Quelle: pixabay.com / sl3p3r

Seit fünf Jahren kommt in der molekularen Pflanzenzüchtung die CRISPR-Technik zum Einsatz. Jetzt stehen in China, den USA und der EU Entscheidungen zur Regulierung der Technik an. Zeit, einen Blick auf die bisher erzeugten CRISPR-Pflanzen zu werfen.

Das Erbgut von Pflanzen an einem vorbestimmten Ort ändern zu können - das ist einer der großen Wünsche von ZüchterInnen, die für die Erzeugung neuer Sorten Gentechnik einsetzen. Bis vor fünf Jahren war die Erfüllung dieses Wunsches einer kleinen Schar von Fachleuten vorbehalten. Denn nur wer über spezielles Know-how und ein großes Budget verfügte, konnte die teuren und in ihrer Handhabung komplexen Designernukleasen einsetzen, die bis dahin für die „ortspezifische“, auch *Genome Editing* genannte Gentechnik zur Verfügung standen. 2013 zeigten Forschende erstmals, dass sich das *Genome Editing* bei Pflanzen auch mit der ein Jahr zuvor entdeckten, sehr einfach handhabbaren und kostengünstigen CRISPR-Technik [1] betreiben lässt. Seither hat sich die neue Technik mit dem komischen Namen rund um den Globus in den Laboren molekularbiologisch orientierter Züchtungseinrichtungen verbreitet; das führende Land ist dabei China, gefolgt von den USA und der EU. Es sind bereits mehr als 40 Pflanzenarten und über 150 ihrer Gene mit CRISPR bearbeitet worden und auch erste Freisetzungsversuche sind im Gange.
Während CRISPR zunehmend Verbreitung findet, laufen in den drei führenden Weltregionen Prozesse, die zu Entscheidungen oder Klärungen betreffend der rechtlichen Regulierung der neuen Technik führen sollen.[2] Um welche CRISPR-Pflanzen es bei diesen Entscheidungen geht und um welche nicht, zeigt ein Blick in die Genlabore Chinas, der USA und der EU.

Traits on demand

Eines dieser Labore gehört zur Universität von Minnesota. Hier arbeiten Forschende an CRISPR-Pflanzen, die von den laufenden regulatorischen Diskussionen nicht betroffen sind. Denn anders als in den meisten Laboren wird hier CRISPR nicht dafür verwendet, Änderungen im Erbgut von Pflanzen zu erzeugen. Was die Forschenden tun, ist Folgendes: Sie setzen die Anleitungen für die CRISPR-Reagenzien ins Erbgut von Pflanzen ein, so dass die resultierenden Pflanzen sich gegen Viren wehren können, indem sie mit CRISPR deren Erbgut zerschneiden. Noch wird dieses Konzept erst an Modellpflanzen erprobt. Klar ist aber auf jeden Fall jetzt schon, dass die resultierenden Virus-resistenten Pflanzen artfremde Gene enthalten, also transgen sind, und somit denselben rechtlichen Vorschriften unterliegen wie herkömmliche gentechnisch veränderte (gv) Pflanzen. Das Gleiche gilt auch für solche CRISPR-Pflanzen, bei denen mit der neuen Technik Gene an vorbestimmten Stellen ins Erbgut eingefügt worden sind. Da das Einfügen von Genen mit CRISPR sehr ineffizient ist, finden sich hierzu allerdings nur wenige Beispiele. Eine Ausnahme ist ein von *Dupont Pioneer* für Soja und Mais entwickeltes Verfahren für das Stapeln von Genen. Der US-Konzern will mit ihm die Herstellung von mehrfach-transgenen Pflanzen erleichtern, die Anzahl der in einem einzelnen Erbgut stapelbaren Fremdgene erhöhen und in den beiden *Cash Crops* letztendlich eine Art *Trait on Demand*-System etablieren, mit dem es möglich sein soll, je nach Bedarf Gene hinzuzufügen oder auch zu entfernen.
Während bei den beiden obigen Beispielen jeweils Pflanzen resultieren, die Fremdgene im Erbgut haben, können bei den im Folgenden beschriebenen CRISPR-Anwendungen Pflanzen entstehen, die ohne Fremdgene sind. Diese Transgen-freien Pflanzen sind denn auch diejenigen, um die es bei den kommenden Entscheidungen zur Regulierung des *Genome Editing* geht.

„Base Editing” statt „Genome Editing”

Wenn GentechnikerInnen mit CRISPR das Erbgut von Pflanzen an vorbestimmten Orten ändern, dann möchten sie dabei eigentlich vor allem eines gerne tun: In ausgewählten Pflanzengenen gezielt einzelne Buchstaben des genetischen Alphabets - die Nukleinbasen C, T, G und A - gegeneinander austauschen und auf diesem Wege in bereits etablierten Sorten „optimierte“ Genvarianten erzeugen. Diese aus züchterischer Sicht besonders interessante Variante des *Genome Editing* ist mit der gängigen CRISPR-Technik zwar möglich, aber bislang bloß mit sehr geringer Effizienz. Die wenigen Anwendungsbeispiele, die sich finden lassen, betreffen denn auch fast ausschließlich Herbizidresistenz - eine Eigenschaft, bei der die geringe Effizienz wegen der einfachen Selektierbarkeit keine Rolle spielt. So hat die US-Firma *Cibus* einen Glyphosat-resistenten Flachs hergestellt, *DuPont Pioneer* bei Soja und Mais Chlorsulfuron-resistente Varianten erzeugt und die Chinesische Akademie der Agrarwissenschaften einen Reis mit Resistenz gegen Bispyribac-Natrium fabriziert. Dupont Pioneer hat zudem einen Mais geschaffen, der resistent gegen die

Blattfleckkrankheit sein soll und für den Freisetzungsversuche geplant sind.
Eine Steigerung der Effizienz versprechen sich die AkteurInnen von einer neuen, abgewandelten Form der CRISPR-Technik, die nicht mehr *Genome Editing* sondern *Base Editing* genannt wird und mit der sich dereinst jede x-beliebige Nukleinbase gezielt austauschen lassen soll, ohne dass die DNA dazu entzweigeschnitten werden muss. Eine erste Version dieses *Base Editing*, die die Umwandlung eines C zu T erlauben soll, wird in Japan und China bei Reis, Mais, Weizen und Tomate erprobt.

Knockouts auf den Feldern

Wenn CRISPR zuweilen als effiziente Technik gepriesen wird, dann trifft dies bei Pflanzen bisher eigentlich fast nur auf die Anwendungen zu, bei denen es ums Ausschalten und Entfernen von Genen geht. Und was effizient geht, wird gerne gemacht: In mehr als 90 Prozent der Anwendungen an Pflanzen haben Forschende Gene ausgeschaltet oder entfernt und damit so genannte Knockout-Pflanzen geschaffen. Häufig erzeugen sie dabei Eigenschaften, die sie vor CRISPR und dem *Genome Editing* mit der RNAi-Technik angegangen sind. So zum Beispiel am Institut für nachhaltige Landwirtschaft in Cordoba (Spanien), wo die Herstellung von Gluten-armen Weizensorten verfolgt wird: Vor CRISPR haben die Forschenden hier RNAi-Genkonstrukte ins Erbgut von Weizen eingeführt, die die für die Glutenbildung verantwortlichen Gliadin-Gene blockieren sollen. Mit CRISPR arbeiten sie nun direkt an den Gliadin-Genen und verändern sie dabei so, dass die Bildung von Gluten unterbleibt. Ebenfalls auf CRISPR umsatteln wollen Forschende von der Schwedischen Universität für Agrarwissenschaften, die mit der RNAi-Technik eine Ballaststoff-reiche Kartoffel erzeugt haben. Da die Forschenden nicht erwarten, dass ihre gv-Kartoffel in Europa zugelassen wird, setzen sie nun auf CRISPR und die Hoffnung, dass Knockout-Pflanzen anders wahrgenommen und reguliert werden als herkömmliche gv-Pflanzen.
Während die einen Forschenden umsatteln, um ihr bisheriges Ziel zu erreichen, ahmen andere mit CRISPR nach, was dritte mit RNAi schon gemacht haben. So will die irische Firma *PLANTeDIT* mit CRISPR eine Sojasorte herstellen, die mehr Ölsäure als üblich enthält und somit die gleiche Eigenschaft aufweisen soll wie die seit 2009 in den USA vermarktete *Plenish*-Soja von Dupont Pioneer. Der schwedische Stärkehersteller *Lyckeby* wiederum finanziert die Entwicklung einer Amylose-freien CRISPR-Kartoffel und will damit ein Pendant zur *Amflora*-Kartoffel von *BASF Plant Scienc*e schaffen. Auch die Eigenschaft des Nicht-so-schnell-braun-Werdens, wie sie die in den USA vermarkteten *Arctic*-Äpfel aufweisen, wird heute statt mit RNAi mit CRISPR erzeugt - so zum Beispiel an der Universität Turin bei Auberginen oder an der Staatlichen Universität von Pennsylvania bei Champignons.
Von einigen der bisher mit CRISPR erzeugten Knockout-Pflanzen ist bekannt, dass Freisetzungsversuche im Gange oder geplant sind. In den USA betrifft dies Wachsmais von DuPont Pioneer, Leindotter mit verändertem Ölgehalt der Firma *Yield10 Bioscience* und trockenheitstolerante Soja des Forschungsdienstes des US-Landwirtschaftsministeriums. In China wiederum gab es Feldtests mit Reis-Varianten, die resistent gegen Reisbräune sind oder einen geringen Kadmium-Gehalt aufweisen. Versuche mit weiteren Pflanzen dürften folgen, sind doch in China jüngst etliche Knockout-Pflanzen erzeugt worden. Beispiele sind: pinkfarbene Tomaten, Soja mit späterer Blütezeit, Orangen mit Resistenz gegen Zitruskrebs, Weinrebe mit Resistenz gegen Edelfäule sowie Klebreis und Reis mit erhöhtem Gehalt an resistenter Stärke. Zudem gibt es bei Reis und Mais mit CRISPR erzeugte männlich sterile Knockout-Pflanzen, die für die Produktion von Hybridsaatgut in Frage kommen.
Auch in Europa gibt es Kandidaten für Freisetzungsversuche. Dazu gehören unter anderem ein an der Universität Kiel hergestellter Raps, dessen Schoten eine bessere Platzfestigkeit besitzen sollen, sowie eine Mehltau-resistente Tomate, die an der englischen Forschungsstätte *The Sainsbury Laboratory* mit Beteiligung des *Max-Planck-Instituts für Entwicklungsbiologie* hergestellt worden ist.
Nicht nur bei Kulturpflanzen ist das Ausschalten und Entfernen von Genen im vollen Gange, auch bei Wildpflanzen kommt CRISPR zum Einsatz. Im Visier haben Forschende dabei Arten, die ökonomisch interessante Eigenschaften aufweisen, deren Anbau bisher aber nicht rentabel ist. Drei Beispiele: An der Staatsuniversität von Ohio soll der Russische Löwenzahn mit CRISPR so verändert werden, dass er mehr Kautschuk bildet. Und die rentable Gewinnung von Pflanzenölen ist das Ziel, das an der Staatsuniversität von Illinois beim Acker-Hellerkraut und an der Schwedischen Universität für Agrarwissenschaften bei der

Feldkresse erreicht werden soll.

Multiplexing

Während es bei der Mehrheit der CRISPR-Projekte noch darum geht, Änderungen in einem einzelnen Gen oder in mehreren Genen der gleichen Genfamilie zu erzeugen, hat eine kleine Schar von Forschenden begonnen, die CRISPR-Technik so weiterzuentwickeln, dass umfassendere Änderungen im Erbgut von Pflanzen möglich werden. Gegenwärtig werden hierzu vor allem Methoden erprobt, die möglich machen sollen, was in der Fachsprache *Multiplexing* heißt: das gleichzeitige Ändern verschiedener Gene. Damit soll letztendlich die Erzeugung von Eigenschaften möglich werden, die - wie beispielsweise hoher Ertrag - von mehreren Genen beeinflusst sind und damit außerhalb der Reichweite der herkömmlichen Gentechnik liegen. Den Rekord halten bisher Forschende der Chinesischen Akademie der Agrarwissenschaften: Sie haben bei Reis mit CRISPR in einem Schritt acht verschiedene Gene verändert. Ihre KollegInnen von der Landwirtschaftlichen Universität in Peking wiederum haben in Tomaten gleichzeitig fünf Gene ausgeschaltet und damit den Gehalt an Gamma-Buttersäure erhöht - eine Substanz, die als gesundheitsfördernd gilt. Ebenfalls am Multiplexing arbeiten Forschende des *Karlsruher Instituts für Technologie*. Im Rahmen des von der EU finanzierten Projekts *CRISBREED* wollen sie Methoden entwickeln, mit denen sich innerhalb eines Erbguts ganze Abschnitte eines Chromosoms umkehren oder auf andere Chromosomen übertragen lassen sollen.

Ob das Multiplexing dereinst Sorten mit komplexen Eigenschaften bringen wird, ist unklar. Klar ist hingegen, dass CRISPR für die molekularbiologisch orientierten Züchtungsfirmen auch ohne Multiplexing von Interesse ist, soll sich doch die Sortenherstellung um zwei bis fünf Jahre verkürzen lassen, womit Kosteneinsparungen in Millionenhöhe in Aussicht stehen.[3] Eine zusätzliche Beschleunigung dürfte zudem möglich sein, wenn CRISPR mit dem jüngst entwickelten *Speedbreeding* kombiniert wird.[4]

Dass Züchtungsunternehmen und ihre Lobbyorganisationen bei Politik und Behörden dafür werben, CRISPR-Pflanzen aus der Gentechnikgesetzgebung herauszunehmen, erstaunt angesichts der monetären Vorteile nicht, die ihnen die neue Technik bringt. Doch ob es auch zum Wohle der Allgemeinheit wäre, wenn die Firmen ihre CRISPR-Produkte ohne staatliche Sicherheitsprüfung, ohne Kennzeichnung und ohne Information und Beteiligung der BürgerInnen auf die Felder und den Markt bringen dürften? Eine Teilnehmerin einer vom *Bundesinstitut für Risikobewertung* durchgeführten Fokusgruppen-Befragung sagte, als es darum ging, dass die Unternehmen eine Produkt-orientierte Regulierung fordern: „Ich komme mir veräppelt vor von allen. Das heißt, sie können sagen, es ist nicht genmanipuliert, obwohl es das eigentlich ist.“ [5]

- [1]Die CRISPR-Technik besteht in ihrer Grundform aus zwei Reagenzien: Einem DNA-Schneideenzym und einer gRNA. Forschende können dabei die gRNA so programmieren, dass diese das DNA-Schneideenzym an einen von ihnen vorbestimmten Ort im Erbgut bringt. Derzeit gibt es drei DNA-Schneideenzyme, die mit gRNA geleitet werden können: Cas9, Cpf1 und Cms1.
- [2]In China hat eine Arbeitsgruppe des Nationalen Biosicherheitskomitees die technischen Grundlagen für die Regulierung des Genome Editing vorbereitet. Darauf aufbauend entwirft das Ministerium für Landwirtschaft gegenwärtig die rechtlichen Vorschriften. In den USA sind das Landwirtschaftsministerium (USDA) und die Lebensmittelbehörde (FDA) daran, ihre Biotechnologieregeln zu überholen und an das Genome Editing anzupassen. In der EU wiederum könnte demnächst ein Urteil des Europäischen Gerichtshofs Klärungen zu offenen Fragen der Regulierung bringen (siehe auch in diesem Heft Seite 38).
- [3]Siehe dazu auch den Artikel von Eva Gelinsky im GID 243 Seite 7.
- [4]Speedbreeding ist eine neue Methode, bei der die Züchtung in spezielle Gewächshäuser verlegt wird, in denen pro Jahr mehrere Generationen heranwachsen - bei Erbse, Weizen und Gerste beispielsweise sollen jährlich sechs Generationen möglich sein, bei Raps vier.
- [5]Bundesinstitut für Risikobewertung, 2017, www.kurzlink.de/gid244_xy.

Informationen zur Veröffentlichung

Erschienen in:
GID Ausgabe 244 vom Februar 2018
Seite 25 - 27