Diskussion über CRISPR und Grundlagen der Biologie

Wie unterscheidet sich die CRISPR-Technologie von der konventionellen Züchtung?

18. Juni 2018 / Testbiotech hat jüngst in einer tabellerischen Übersicht einige Unterschiede zwischen konventioneller Züchtung und der CRISPR-Technologie zusammengefasst (www.testbiotech.org/Genome-editing-und-mutagenese [1]). Das hat zu kritischen Reaktionen, insbesondere auf Twitter geführt. Dabei wird die Argumentation von Testbiotech immer wieder als unwissenschaftlich angegriffen. So nimmt beispielsweise das Weigel Lab für sich absolute wissenschaftliche Autorität in Anspruch und versucht so, andere Argumente als falsche Meinungen abzutun.

Hintergrund der Debatte ist die Frage, ob die neuen Gentechnik-Verfahren auch nach dem Gentechnik-Gesetz reguliert werden sollen (die Position von Testbiotech) oder ob diese als normale „Züchtung" anzusehen sind und entsprechende Pflanzen und Tiere auch ohne eingehende Risikoprüfung freigesetzt und vermarktet werden dürfen (die Position der Kritiker von Testbiotech)

Doch wo liegen hier die wissenschaftlichen Streitpunkte? Kann man die neue Gentechnik von konventioneller Züchtung unterscheiden?

Tatsächlich gibt es eine Reihe von Unterschieden. Auf Twitter werden vor allem zwei diskutiert:
(1) CRISPR umgeht die Mechanismen der Gen-Regulation und natürlichen Vererbung und
(2) führt so in der Regel zu einem Muster der Gen-Veränderung (eine Art 'genomischer Fingerabdruck'), der sich deutlich von dem spontaner oder induzierter Mutationen unterscheidet.

Der zweite Punkt, der das Muster der Gen-Veränderung betrifft, wird zwar nicht immer verstanden, aber kaum bestritten: Auch die Anwender der Technologie weisen darauf hin, dass CRISPR-Cas in der Lage ist, die Information für ein bestimmtes Gen nicht nur an einer Stelle im Erbgut, sondern gleichzeitig an allen Stellen im Erbgut zu verändern, an denen das Gen vorkommt. In der Folge können – anders als bisher – genetische Informationen auch dann verändert werden, wenn diese auf mehreren Chromosomen sitzen (Andersson et al., 2017; Braatz et al., 2017) oder innerhalb von Chromsomen mehrfach vorhanden sind, z.B. in bestimmten Gen-Clustern (Jia et al., 2016; Li et al., 2013). Dabei kann CRISPR nicht so gesteuert werden, dass der Eingriff gestuft erfolgt: Es sind – bei einem erfolgreichen Einsatz der Gen-Schere – immer alle Gen-Orte betroffen, auf die die Gen-Schere programmiert wurde.

Da Nutzpflanzen oft ein sehr großes Genom mit mehr als einem Chromosomensatz aufweisen und auch Gen-Verdopplungen innerhalb der Chromosomen häufig sind, muss man aus diesem Sachverhalt ableiten, dass beim Einsatz der Gen-Schere CRISPR-Cas ein spezielles Muster der Gen-Veränderung entsteht: Genetische Informationen werden auch dann komplett gelöscht oder verändert, wenn sie in mehrfacher Kopie im Erbgut vorhanden waren. Mit konventioneller Mutationszüchtung und bisheriger Gentechnik waren derartige Effekte bisher kaum oder gar nicht erzielbar.

Für die Risikoprüfung ergibt sich daraus das Problem, dass herausgefunden werden muss, wie sich die Summe der Veränderungen eines bestimmten Gen-Ortes auf den Stoffwechsel der Pflanzen auswirkt. Werden dabei mehrere verschiedene Genorte gleichzeitig oder sukzessiv verändert (was bei CRISPR durchaus möglich ist) (Mao et al., 2013), wird die Anforderung an die Risikoprüfung entsprechend komplexer. Eine ausführliche Risikoprüfung ist unter diesen Bedingungen jedenfalls notwendig – unabhängig davon, ob neue Gene eingefügt werden oder ob die herbeigeführte Veränderung groß oder klein ist. Auch wenn die Methode präzise ist (was sie längst nicht immer ist), ist sie doch nicht per se als sicher anzusehen.

Mehr Streit gibt es um den ersten Punkt: Inwieweit unterscheidet sich die Methode CRISPR von den Verfahren der konventionellen Züchtung auf der Ebene der Genregulierung und Vererbung? Diese

Creative Commons:

Diskussion wurde ursprünglich durch ein Interview angestoßen, das Emanuelle Charpentier, eine der Erfinderinnen der CRISPR-Technologie, und zudem Inhaberin von Patentrechten und entsprechenden Firmenanteilen, 2017 der Süddeutschen Zeitung gegeben hat (http://sz.de/1.3502623 [2]). Darin lässt sie sich mit den Worten zitieren: „Man darf auch nicht vergessen, dass man in der konventionellen Pflanzenzüchtung viel weniger vorhersehen kann, was mit den Genen passiert. Man kreuzt die Pflanzen, und das Erbgut wird durcheinandergewirbelt."

Werden Gene bei der Züchtung tatsächlich durcheinander gewirbelt? Definitiv nein. Mechanismen der Gen-Regulation und der Vererbung sorgen dafür, dass in der Regel die Ordnung im Genom erhalten bleibt und sich oft nur bestimmte Mutationen durchsetzen. Kurz gesagt, sind die spontanen und induzierten Veränderung im Erbgut der Pflanzen im Rahmen der konventionellen Züchtung keineswegs rein zufällig, sie sind allerdings auch nicht vorhersagbar.

Nun bestreiten Weigel & Co auch gar nicht, dass es Mechanismen der Vererbung gibt, die spontane Mutationen in bestimmte Bahnen lenken. Sie behaupten allerdings, dass dieser Sachverhalt nur auf Populationen beziehungsweise Prozesse der Selektion zutreffen würde. So könne man sehr wohl besonders „konservierte" Regionen erkennen, also Abschnitte der DNA, die sich wesentlich seltener verändern als andere. Allerdings zeige sich dieser Effekt erst durch den Einfluss der Selektion: In Populationen setzen sich langfristig nur gesunde und fitte Pflanzen durch. Liegen Gen-Defekte vor, verschwinden diese durch den Prozess der Selektion wieder, insbesondere, wenn sie letal sind. Analysiert man dann das Erbgut der Pflanzen, sieht man nur aus diesem Grund auch ein spezielles Muster der Mutationen: Es finden sich nur noch diejenigen Gen-Veränderungen, die einer Selektion mittel- oder langfristig widerstehen können.

Das erscheint logisch, ist aber biologisch nicht zutreffend. Es ist richtig, dass sich auf der Ebene von Populationen und unter dem Einfluss der Selektion und längerer Zeiträume die Nicht-Zufälligkeit der spontanen Gen-Veränderungen sehr stark ausgeprägt ist (Cao et al., 2011). Das heißt aber nicht, dass diese Nicht-Zufälligkeit nicht auch schon auf der Ebene der Zelle und ohne den Einfluss der Selektion zu beobachten ist. Tatsächlich ist bekannt, dass bei Mutationen bzw. Rekombinationen, die bei einer Kreuzung von Pflanzen entstehen, die jeweiligen Veränderungen in bestimmten Hotspots liegen, während in anderen Regionen kaum Rekombinationen stattfinden (Rogozin & Pavlov, 2003; Choi et al., 2018; Si et al., 2015). Diese Vorgänge der Zellteilung, die unmittelbar nach der Befruchtung stattfinden, unterliegen noch keinem selektiven Einfluss von außen.

Aber auch ohne die Rekombination von Erbgut, die zwangsläufig bei jeder Kreuzung auftritt, kann man auf der Ebene somatischer Zellen bei deren Teilung beobachten, dass es Reparatur- und Steuerungsprozesse gibt, die das Muster der spontanen oder induzierten Mutationen beeinflussen. Beispielsweise werden bestimmte Gen-Orte häufiger repariert als andere (Belfield et al., 2018).

Auch das Chromatin hat Auswirkung auf die Entstehung von Mutationen, sie treten in Abhängigkeit von der strukturellen Beschaffenheit der DNA nicht rein zufällig auf (Makova & Hardison, 2015). Die unterschiedliche Effizienz, mit der CRISPR Veränderungen an unterschiedlichen Chromatinzuständen einführt, spiegelt dessen wichtige Rolle wider (Cho et al., 2017; Daer, Cutts, Brafman, & Haynes, 2017).

Weiterhin werden auch die häufig diskutierten, sogenannten springende Gene (Transposons) in bestimmten Bereichen des Erbguts häufiger eingebaut als in anderen. In der Folge können diese genetischen Elemente dort auch Mutationen hervorbringen (Wicker et al., 2016).

In der Summe gilt: Die Genregulation sorgt dafür, dass die induzierten oder spontanen Veränderungen der DNA nicht rein zufällig sind, obwohl sie im Einzelfall auch nicht vorhergesagt werden können. Die Gene werden also nicht einfach „durcheinander gewirbelt".

Die neue Gentechnik (Genome Editing) kann fast jeden Ort im Erbgut gleichermaßen verändern. Sie unterliegt nicht oder nur sehr eingeschränkt den Regeln der natürlichen Genregulation und Vererbung. Auch wenn sie präzise funktionieren würde, kann sie doch eine erhebliche Unordnung im Erbgut verursachen. Entsprechend müssen diese Pflanzen auch dann im Hinblick auf ihre biologischen Eigenschaften und Risiken geprüft werden, wenn keine Gene eingefügt wurden oder die Veränderungen im Erbgut nur kleine Abschnitte betreffen.

Creative Commons:

Das Weigel Lab und sein “Twitter-Chor” haben hier – trotz aller Expertise – die entscheidenden biologisch-wissenschaftlichen Argumente nicht auf ihrer Seite. Aber darum geht es wohl auch nicht wirklich : So ist beispielsweise Detlef Weigel an vielen Patentanmeldungen im Bereich Gentechnik beteiligt und – wie er selbst auf seiner Website angibt – berät auch die Gentechnik-Industrie („He sometimes consults for industry“).

Sicher agiert auch Testbiotech nicht im luftleeren Raum. Testbiotech ist aber unabhängig von den Interessen der Anwender und Entwickler der Gentechnologie. Unser übergeordnetes Ziel ist ein informierter gesellschaftlicher Diskurs, um den Schutz von Mensch und Umwelt zu verbessern und zu sichern. Unsere Argumente sind strikt wissenschaftsbasiert. Gerade als kleine Institution müssen wir in der Debatte auf gut begründete Argumente setzen.

Referenzen

Andersson, M., Turesson, H., Nicolia, A., Falt, A. S., Samuelsson, M., & Hofvander, P. (2017). Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (Solanum tuberosum) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. Plant Cell Rep, 36(1), 117-128. doi: 10.1007/s00299-016-2062-3

Belfield, E. J., Ding, Z. J., Jamieson, F. J. C., Visscher, A. M., Zheng, S. J., Mithani, A., & Harberd, N. P. (2018). DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. Genome Res, 28(1), 66-74. doi: 10.1101/gr.219303.116

Braatz, J., Harloff, H. J., Mascher, M., Stein, N., Himmelbach, A., & Jung, C. (2017). CRISPR-Cas9 Targeted Mutagenesis Leads to Simultaneous Modification of Different Homoeologous Gene Copies in Polyploid Oilseed Rape (Brassica napus). Plant Physiol, 174(2), 935-942. doi: 10.1104/pp.17.00426

Cao, J., Schneeberger, K., Ossowski, S., Gunther, T., Bender, S., Fitz, J., . . . Weigel, D. (2011). Whole-genome sequencing of multiple Arabidopsis thaliana populations. Nat Genet, 43(10), 956-963. doi: 10.1038/ng.911

Cho, S., Yu, S. I., Park, J., Mao, Y., Zhu, J. K., Yun, D. J., & Lee, B. H. (2017). Accession-Dependent CBF Gene Deletion by CRISPR/Cas System in Arabidopsis. Front Plant Sci, 8, 1910. doi: 10.3389/fpls.2017.01910

Choi, K., Zhao, X., Tock, A. J., Lambing, C., Underwood, C. J., Hardcastle, T. J., . . . Henderson, I. R. (2018). Nucleosomes and DNA methylation shape meiotic DSB frequency in Arabidopsis thaliana transposons and gene regulatory regions. Genome Res, 28(4), 532-546. doi: 10.1101/gr.225599.117

Daer, R. M., Cutts, J. P., Brafman, D. A., & Haynes, K. A. (2017). The Impact of Chromatin Dynamics on Cas9-Mediated Genome Editing in Human Cells. ACS Synth Biol, 6(3), 428-438. doi: 10.1021/acssynbio.5b00299

Jia, Y., Ding, Y., Shi, Y., Zhang, X., Gong, Z., & Yang, S. (2016). The cbfs triple mutants reveal the essential functions of CBFs in cold acclimation and allow the definition of CBF regulons in Arabidopsis. New Phytol, 212(2), 345-353. doi: 10.1111/nph.14088

Li, J. F., Norville, J. E., Aach, J., McCormack, M., Zhang, D., Bush, J., . . . Sheen, J. (2013). Multiplex and homologous recombination-mediated genome editing in Arabidopsis and Nicotiana benthamiana using guide RNA and Cas9. Nat Biotechnol, 31(8), 688-691. doi: 10.1038/nbt.2654

Makova, K. D., & Hardison, R. C. (2015). The effects of chromatin organization on variation in mutation rates in the genome. Nat Rev Genet, 16(4), 213-223. doi: 10.1038/nrg3890

Mao, Y., Zhang, H., Xu, N., Zhang, B., Gou, F., & Zhu, J. K. (2013). Application of the CRISPR-Cas system for efficient genome engineering in plants. Mol Plant, 6(6), 2008-2011. doi: 10.1093/mp/sst121

Creative Commons:

Rogozin, I. B., & Pavlov, Y. I. (2003). Theoretical analysis of mutation hotspots and their DNA sequence context specificity. Mutat Res, 544(1), 65-85.

Si, W., Yuan, Y., Huang, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., . . . Yang, S. (2015). Widely distributed hot and cold spots in meiotic recombination as shown by the sequencing of rice F2 plants. New Phytol, 206(4), 1491-1502. doi: 10.1111/nph.13319

Wicker, T., Yu, Y., Haberer, G., Mayer, K. F., Marri, P. R., Rounsley, S., . . . Roffler, S. (2016). DNA transposon activity is associated with increased mutation rates in genes of rice and other grasses. Nat Commun, 7, 12790. doi: 10.1038/ncomms12790

Impressum | Datenschutzerklärung

Quellen-URL:https://www.testbiotech.org/blog_crispr_grundlagen_der_biologie

Links
[1] http://www.testbiotech.org/Genome-editing-und-mutagenese [2] http://sz.de/1.3502623

Creative Commons: