



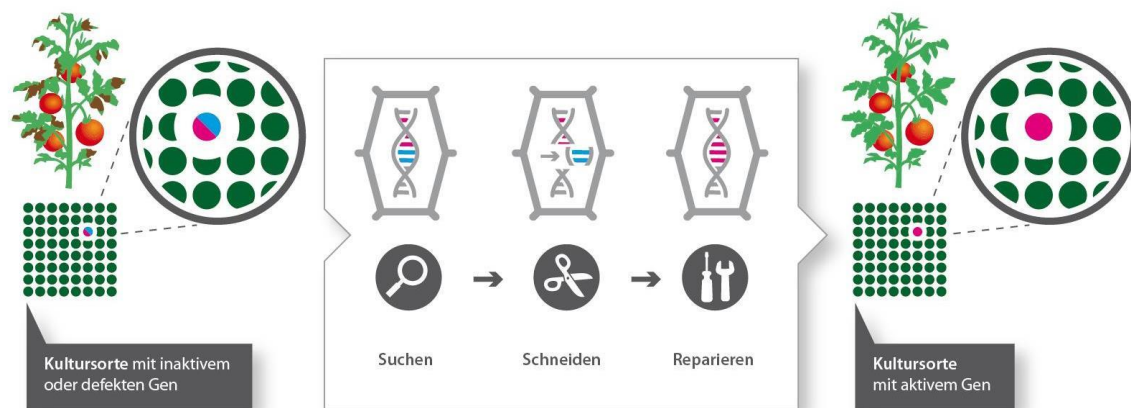
## Genome Editing

### Was?

Molekularbiologische Methoden, mit denen das Erbgut gezielt umgeschrieben und verändert werden kann.

### Kurzbeschreibung

Mit dem Verfahren des Genome Editing ist es möglich, punktgenaue Veränderungen (Mutationen) im Erbgut zu erzeugen. Gene können an- oder ausgeschaltet, eingefügt oder entfernt werden. Die Erbinformation wird so präzise bearbeitet, als wäre sie ein Text in einem Schreibprogramm – Buchstabe für Buchstabe. Diese vielfältigen Arten der genetischen Bearbeitung werden als Editing zusammengefasst, als Redigatur. Die Methoden sind sehr effizient und äußerst vielversprechend für die Pflanzenzüchtung.



### Technik

Im Kern handelt es sich bei dem Verfahren des Genome Editing um ausgesprochen präzise Schneidewerkzeuge. Ihnen gemeinsam ist ein geniales Prinzip: Sie funktionieren wie ferngesteuerte Scheren fürs Genom. Das älteste dieser Instrumente, die sogenannte Zinkfinger-nuklease, wurde in den späten 1990er-Jahren entwickelt. Zehn Jahre später kamen die sogenannten TALEN-Gen-Scheren hinzu. An der Spitze der methodischen Evolution steht gegenwärtig CRISPR/Cas, die jüngste und am einfachsten anzuwendende Methode.

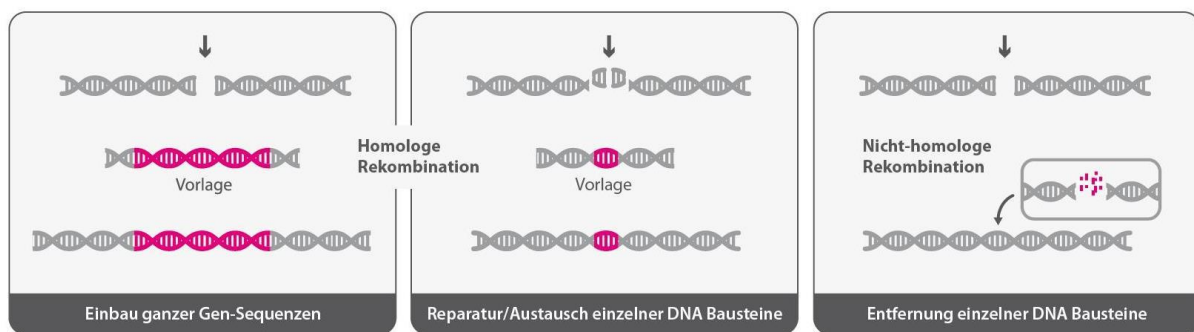
Prinzipiell verlaufen die Verfahren in zwei Schritten:

(1) Durch Restriktionsenzyme (Enzyme, die DNA an bestimmten Positionen erkennen und schneiden können) wird die DNA an genau definierten Stellen geschnitten. Durch das gezielte Schneiden der DNA werden hier Brüche in der DNA herbeigeführt.

(2) Mit Hilfe natürlicher Reparaturmechanismen wie homologer und nicht-homologer Rekombination können nun gezielte Veränderungen des Erbguts vorgenommen werden. (Ho-

homologe Rekombination: der Bruch wird repariert, indem ein Stück im Erbgut zunächst kopiert wird und dann in die Bruchstelle eingesetzt wird. Nicht-homologe Rekombination: die Bruchstellen werden direkt miteinander verknüpft, ohne dass Erbmaterial dazwischen eingesetzt wird). Diese Reparaturmechanismen können für die gezielte Veränderung des Erbguts genutzt werden.

Bei dem Verfahren des Genome Editings wird also der natürliche Reparationsmechanismus der homologen Rekombination genutzt, um bestimmte Gene in die Bruchstelle einzusetzen. Aber auch der nicht-homologe Reparaturmechanismus kommt zum Einsatz (auch Nonhomologous end joining – NHEJ genannt): Hierbei werden die DNA-Enden direkt miteinander verbunden. Da diese End-zu-End-Verknüpfung natürlicherweise fehleranfällig ist, wird dieser Mechanismus benutzt, um kleine Veränderungen (Mutationen) zu erzeugen. Ziel ist dann nicht das Einfügen neuer Gene in die Bruchstelle, sondern eben Mutationen in bereits vorhandenen Genen der Pflanze, so dass diese funktionsunfähig werden.



Der Schlüssel zum Erfolg der Genome Editing-Technik ist also die Verbindung von perfekter Orientierung und scharfer Klinge. Alle drei Methoden sind in der Lage, exakt definierte Stellen im Erbgut anzusteuern und die DNA an genau dieser Position vollständig zu durchtrennen. An diesen Positionen können Gene an- oder ausgeschaltet, eingefügt oder entfernt werden.

Zinkfinger-nukleasen, die ältesten Werkzeuge des Genome Editing, verteilen die Arbeit auf zwei Bereiche. Der Zinkfingeranteil lässt sich so zusammensetzen, dass er direkt an das gewünschte Gen im Erbgut bindet. Der zweite Bereich, die Nuklease, schneidet dann genau an dieser Stelle.

Eine Transcription-Activator Like Effector-Nuclease (TALEN) arbeitet nach dem gleichen Arbeitsteilungs-Prinzip. Allerdings ist der Teil, der die Schnittstelle im Erbgut erkennt, leichter nach Wunsch zu gestalten als im Zinkfinger.

Am einfachsten, schnellsten und kostengünstigsten lässt sich DNA mit einer Kombination aus Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeats -CRISPR und der Schere - Cas9

verändern. Der Unterschied: Das System erkennt mithilfe einer Nukleinsäure, der guide RNA, wo es im Erbgut schneiden soll. Diese guide RNA lässt sich beliebig gestalten.

Bei Zinkfinger Nukleasen und TALEN sind es Proteine, die die Sequenz erkennen, an der geschnitten werden soll. Für jede neue Zielsequenz muss ein neues Proteine hergestellt werden. Das ist vergleichsweise komplex. Nukleasen, wie die Guide RNA bei der CRISPR/Cas9-Technologie sind dagegen sehr einfach und kostengünstig zu erzeugen, können allerdings nicht so flexibel wie TALEN jede beliebige Sequenz ansteuern. Bleibt man auf der Zeitachse ihrer Entdeckung - also seit den 1990er Jahren bis heute - und vergleicht den Stand mit dem der im jeweiligen Zeitraum gängigen PC-Technologie, dann kann man sich ein Bild von deren jeweiligen Entwicklungsstand machen: Zinkfingernukleasen stehen für den sperrigen PC, TALEN schon für den Laptop und Crispr/Cas für das federleichte Tablet.

### **Anwendung**

Die möglichen Anwendungen sind enorm vielfältig. Durch die Einführung gezielter Mutationen lässt sich die Ausprägung von Genen (Genexpression) oder die Gene selbst durch Veränderung der Gensequenz verändern. Dadurch können Gene ein- oder ausgeschaltet oder die Eigenschaften der aus ihnen resultierenden Proteinen verändert werden. Es lassen sich aber auch DNA-Sequenzen bis zu ganzen Genen einfügen, im Unterschied zur „klassischen“ Gentechnik aber an gezielter Stelle und ohne zusätzliche Fremdsequenzen.

Erste neue Sorten, die mit Genome Editing entwickelt wurden, sind bereits auf dem Markt. Da sie erheblich schneller und kostengünstiger sind als gentechnische Verfahren, können es sich auch kleine Unternehmen und Forschungseinrichtungen leisten, Genome Editing in der praktischen Pflanzenforschung einzusetzen. Damit kann es wieder interessant werden, auch eher regionale Kulturarten und Merkmale biotechnologisch zu bearbeiten, nicht nur die großen global angebauten wie Mais, Soja oder Baumwolle.

### **Wissenschaftliche Ansprechpartner**

Prof. Dr. Jens Boch, Hannover

[boch@genetik.uni-hannover.de](mailto:boch@genetik.uni-hannover.de)

Dr. Frank Hartung, JKI Braunschweig

[Frank.hartung@jki.bund.de](mailto:Frank.hartung@jki.bund.de)

### **Weitere Informationen**

<https://www.youtube.com/watch?v=2pp17E4E-O8>

<https://www.youtube.com/watch?v=7uQkQG3RfpE&feature=youtu.be>

<http://www.daserste.de/information/wissen-kultur/w-wie-wissen/querbeet-166.html>

<https://vimeo.com/112757040>

<http://www.transgen.de/forschung/1544.genome-editing.html>

<http://www.pflanzenforschung.de/de/themen/lexikon/genome-editing-10133>

<http://www.laborwelt.de/spezialthemen/funktionsgenomik/mit-nukleasen-gene-modifizieren.html>