



## CRISPR/Cas

### Was?

Molekularbiologische Methode, mit der das Erbgut gezielt umgeschrieben und verändert werden kann.

### Kurzversion

Die Methode ermöglicht es, 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 (Genome Editing). Die Technologie erlaubt es, simpel und mit hoher Präzision, Erbinformation aus dem Genom zu schneiden, neue DNA einzufügen oder die Aktivität gewünschter Gene zu verändern. Ursprünglich ist CRISPR/Cas eine Art Immunsystem, mit dem sich Bakterien gegen für sie schädliche Viren wehren.

### Technik

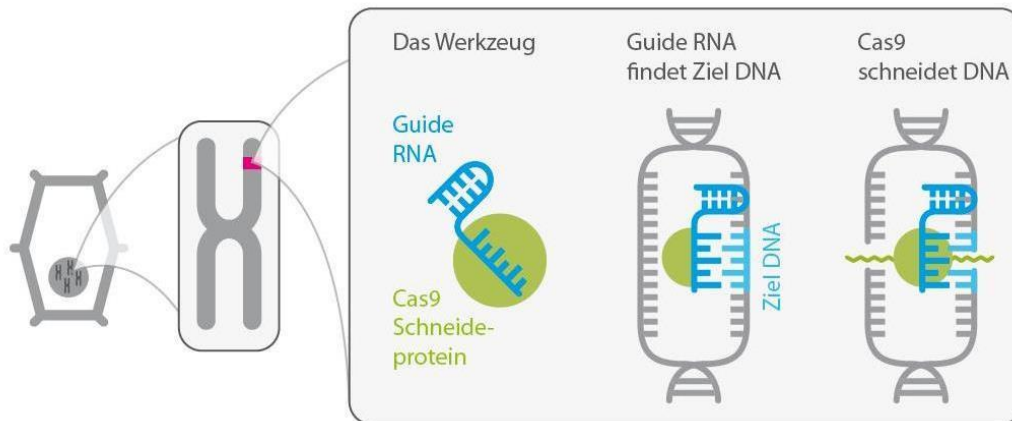
Der Name CRISPR/Cas steht für einen bestimmten Abschnitt auf der DNA (CRISPR) und einen begleitenden Eiweißkomplex, der die DNA schneiden kann (Cas).

Das CRISPR/Cas-System entstammt einem Mechanismus aus Bakterien, dem CRISPR, das der Virenabwehr dient. Es wird verwendet, um DNA an einer bestimmaren DNA-Sequenz zu schneiden. Dadurch können z. B. DNA-Sequenzen entfernt oder andere DNA-Sequenzen an dieser Stelle eingefügt werden.

Die Bezeichnung CRISPR steht für einen Teil des bakteriellen Immunsystems, das schon 1987 entdeckt, aber in seiner Bedeutung nicht erkannt wurde. Die Funktionsweise der Virenabwehr ist bei Bakterien allerdings ganz anders als beim Menschen. Bei einer Infektion entlässt das Virus ein Teil seiner DNA in die Bakterienzelle. Durch das CRISPR-Cas-System sind die Bakterien in der Lage, die Viren-DNA als fremd zu erkennen und erst nach der Erstinfektion ein gegen das Virus gerichtete Immunsystem aufzubauen. Somit verleiht es Bakterien die Fähigkeit, sich gegen Viren zu wehren, indem sie Teile der Viren-DNA ausschneiden, zerstückeln und als sogenannte Spacer in ihr Genom einbauen. Das Ergebnis ist ähnlich dem Abwehrsystem des Menschen, das durch Infektionen oder Impfungen dazu lernt.

Im Detail: Die Bezeichnung CRISPR steht für *kurze, gehäufte, regelmäßig unterbrochene palindromische Wiederholungen*, was im Englischen *clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)* heißt. Es handelt sich dabei um sich wiederholende Abfolgen von gleichen DNA-Bausteinen (Repeats), sogenannte Palindrome - Erbgutabschnitte, die sich vorwärts oder rückwärts lesen lassen, so wie „Anna“ oder „Otto“. Zwischen diesen Strukturen liegen Abschnitte ohne erkennbare Regelmäßigkeit, sogenannte Spacer (Distanzstücke), deren Länge sich zwischen einzelnen Bakterien unterscheiden kann, für einen bestimmten DNA-Strang aber immer dieselbe ist. Es handelt sich dabei um DNA-Sequenzen aus Viren. Das heißt, die Bakterien bauen bei einer Infektion einen Teil des viralen Erbmaterials in ihre

eigene DNA ein, genau zwischen zwei Palindrome. Das Bakterium generiert auf diese Weise Cas-Enzyme (Cas steht für **CRISPR associated** = begleitend/zugehörig und ist ein DNA-schneidendes Enzym, eine Nuklease) zur Zerstückelung der DNA angreifender Viren – vorausgesetzt, es kam mit diesem in der Vergangenheit bereits in Berührung und hat überlebt. Diese Sequenz funktioniert wie ein Steckbrief, der Informationen über einen bereits bekannten Virus beinhaltet, der zerstört werden soll. Die Arbeit der Virenbeseitigung erledigt dann das Cas-Enzym. Es erkennt die Virus-DNA anhand des Steckbriefes und zerschneidet sie.



Es wurde gezeigt, dass das CRISPR/Cas-System umprogrammiert werden kann, um jede beliebige DNA-Sequenz (z.B. auch von Pflanzen) zu schneiden. Die Schnitte durch das Cas-Enzym können entweder genutzt werden um ein Gen funktionsuntüchtig zu machen, oder um an dieser Stelle neue DNA einzufügen. Damit das Enzym weiß, wo genau es die DNA schneiden soll, benötigt es zusätzlich eine kurze Guide-RNA. Das ist ein rund 20 Buchstaben langer RNA-Abschnitt, der nur an der Stelle der Pflanzen-DNA binden kann, die zu seiner Sequenz passt. Die Guide-RNA führt das Enzym Cas9 zu der Stelle an der es schneiden soll. Durch Wahl der entsprechenden Guide-RNA kann man sich gezielt aussuchen, welches Gen verändert werden soll. Die zelleigenen Reparatursysteme fügen nun den durchtrennten DNA-Strang wieder zusammen. Dabei können sie DNA-Bausteine, die an der Schnittstelle zur Verfügung stehen, in den Strang einbauen. Auf diese Weise können einzelne DNA-Bausteine verändert oder kurze DNA-Sequenzen neu eingebaut werden.

Mit dem Cas-Protein kann man also sequenzspezifisch DNA schneiden, um an dieser Stelle neue Gene einzufügen, Gene zu entfernen oder auszuschalten. So wie sich Buchstaben in einem langen Text verändern lassen. Mit CRISPR/Cas durchgeführte Veränderungen unterscheiden sich nicht von natürlichen Mutationen oder solchen, die mittels konventioneller Methoden herbeigeführt werden. Sie sind dauerhaft und werden an nachfolgende Generationen der Pflanzen vererbt.

## **Anwendung**

Bisher wird CRISPR/Cas vor allem in der Grundlagenforschung angewandt, etwa um bisher wenig verstandene Genfunktionen aufzuklären. Wegen seiner besonderen Vorteile wird erwartet, dass das System in naher Zukunft auch in der praktischen Tier- und Pflanzenzüchtung eingesetzt wird. Marktfähige Produkte gibt es bisher jedoch noch nicht.

## **Weitere Informationen**

<http://www.pflanzenforschung.de/de/journal/journalbeitrage/wie-crisprcas-funktioniert-eine-einfache-technologie-ve-10496>

<http://www.transgen.de/lexikon/1845.crispr-cas.html>

<https://www.youtube.com/watch?v=SuAxDVBt7kQ>

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

<http://www.sciencemag.org/content/337/6096/816>

<http://www.sciencemag.org/content/343/6176/1247997>