



Zinkfingernukleasen (ZFN)

Was?

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

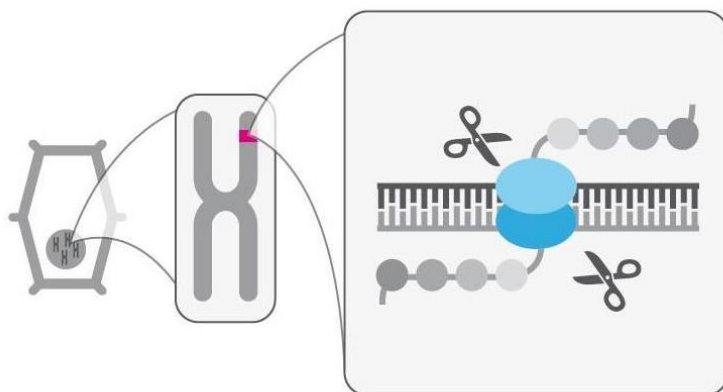
Kurzbeschreibung

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).

Zinkfinger-Nukleasen sind nach Vorlage aus der Natur neu zusammengesetzte Proteine, die bestimmte DNA-Abschnitte aufspüren und schneiden können. Gene können ganz gezielt korrigiert, ausgeschaltet oder neu an einen vorbestimmten Ort eingefügt werden.

Technik

Zinkfinger-Nukleasen (ZFN) sind neu zusammengesetzte Proteine, welche die DNA an einer gewünschten Stelle schneiden können, um das Genom hier zu verändern. Sie bestehen aus zwei funktionellen Bereichen: Der Zinkfingeranteil des Proteins bindet sich an das gewünschte Gen im Erbgut der Pflanze an. Man findet viele Zinkfingerproteine natürlicherweise in den Organismen z.B. als Steuerproteine für die Expression. Der Nukleaseanteil ist dafür zuständig, die DNA präzise zu schneiden. Solche Nukleasen findet man ebenfalls in allen Organismen natürlicherweise vorkommend. Die Kombination aus beiden wird auch als Designer-Nuklease oder molekulare Schere bezeichnet.



Die Zinkfinger-Nukleasen (ZFN) kombinieren zwei Funktionen:

- Um die richtige Stelle im Erbgut anzuvisieren, sind die Zinkfinger notwendig. Das sind besonders zielsichere Eiweiße, die mit ihren fingerähnlichen Ausstülpungen die DNA an einer bestimmten Stelle „anpacken“ können.

- An die Zinkfinger gekoppelt sind Genschere, die sogenannten Nuklease-Enzyme. Werden beide Instrumente kombiniert, erhält man ZFN-Genschere. Diese arbeiten wie programmierbare Roboter, die selbständig eine fehlerhafte DNA-Position ansteuern und reparieren können.

Es gibt verschiedene Varianten der ZFN-Technik. Daran beteiligt sind immer die zelleigenen DNA-Reparaturenzyme. Durch Zinkfinger-Nuklease-1 (ZFN-1) wird ein Doppelstrangbruch der DNA erzeugt. Das zelleigene Reparatursystem wird dadurch nicht beeinflusst. Beim Reparaturvorgang dieses Bruches entstehen Mutationen. Mitunter werden am Ort des Doppelstrangbruchs auch kurze DNA-Stücke neu eingefügt (Insertion) oder entfernt (Deletion). So können mit der ZFN 1-Technik gezielt ortsspezifisch Punktmutationen erzeugt werden, kurze Genomabschnitte verändert oder ausgeschaltet werden.

Zinkfinger-Nuklease-2 (ZFN-2): Es werden zusätzlich kurze DNA-Abschnitte eingeführt, die zu den Schnittstellen im DNA-Strang passen. Sie dienen als „Vorlage“ für das Reparatursystem. Durch natürliche Reparaturmechanismen (homologe Rekombination) wird anhand der eingeführten DNA die Veränderung ins Genom der Zelle eingebracht. Auf diese Weise können Gene ausgeschaltet oder repariert werden.

Zinkfinger-Nuklease-3 (ZFN-3): In die Zelle wird mit den ZFN ein langes DNA-Stück eingebracht. Dieses enthält ein fremdes Stück DNA, das von zwei Sequenzen flankiert ist, die mit den beiden DNA-Enden am Doppelstrangbruch identisch sind. Durch natürliche Reparaturmechanismen (homologe Rekombination) wird anhand der eingeführten DNA die Veränderung ins Genom der Zelle eingebracht. Auf diese Weise können Gene ausgeschaltet oder repariert werden.

Die verschiedenen ZFN-Techniken dienen der Gen-Inaktivierung, der Einführung von bestimmten Mutationen oder dem Einbau von neuen Genen bis hin zur Erzeugung definierter großer Deletionen (Verlust eines Teils der DNA-Sequenz). Der Einbau von fremder oder eigener DNA ins Genom kann gezielt und ohne negative Auswirkung auf vorhandene Gene erfolgen.

Mit ZFN-1/ZFN-2 gezüchtete Pflanze sind nicht von anderen natürlichen oder herkömmlich gezüchteten Pflanzen unterscheidbar. Ein verfahrensspezifischer Nachweis ist daher nicht möglich. Werden mit Hilfe der ZFN-3-Technik neue Gene eingeführt, sind diese Pflanzen von anderen unterscheidbar.

Weitere Informationen:

http://www.biospektrum.de/blatt/d_bs_pdf&_id=1121629

<http://www.pflanzenforschung.de/de/journal/journalbeitrage/zinkfinger-nukleasen-molekulare-werkzeuge-fuer-die-pfla-1486/>

<http://www.transgen.de/lexikon/1848.zinkfinger-nukleasen.html>

<http://www.zeit.de/wissen/gesundheit/2012-11/gen-knockouts-molekularbiologie>

http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/01_allgemeine_Themen/ZFN_1_Technologie.pdf?_blob=publicationFile