



## Testbiotech Basis-Text 22-1-2015

# Synthetische Gentechnik und ihre Anwendung bei Pflanzen und Tieren in der Landwirtschaft

Christoph Then

### Zusammenfassung

In den letzten Jahren wurde verstärkt über den Einsatz neuer Verfahren bei der Züchtung von Pflanzen und Tieren diskutiert. Dabei handelt es sich u. a. um Markergestützte Selektion (MAS), Tilling, Protoplastenfusion, Cisgentechnik (Cisgenese), Oligonukleotidtechnik, die Verwendung von Nukleasen (Gen-Scheren) und Eingriffe in die Genregulierung (Epigenetik).

Ob diese neuen Verfahren der Gentechnikgesetzgebung unterliegen, ist zum Teil strittig:

- Es gibt gute Argumente, Markergestützte Selektion (MAS), Tilling und Protoplastenfusion ganz oder teilweise von der Regulierung auszunehmen. Hier wird DNA nicht technisch synthetisiert, aufbereitet, isoliert oder übertragen und somit die natürliche Genregulierung nicht außer Kraft gesetzt.
- Dagegen wird die Cisgentechnik (oder Cisgenetik), bei der isolierte oder synthetisierte DNA innerhalb der Artgrenzen übertragen wird, von der Europäischen Lebensmittelbehörde EFSA als gentechnisches Verfahren eingestuft.
- Die Einordnung der Oligonukleotidtechnik, also von Eingriffen in die Genregulierung unter Verwendung von Nukleasen, ist strittig. Hier fordern Industrie und verschiedene Experten, diese ganz oder teilweise von der Gentechnikgesetzgebung auszunehmen.

Nach dem Wortlaut der EU-Regelungen sind Methoden, bei denen Substanzen (wie DNA) im Labor aufbereitet und dann in Organismen eingeführt werden, um deren Genetik zu verändern, als Gentechnik anzusehen. Damit unterliegen auch die genannten Verfahren (Oligonukleotidtechnik,

die Verwendung von Nukleasen und Eingriffe in die Genregulierung) den Gentechnikvorschriften.

Diese Klassifizierung ist auch deshalb zwingend notwendig, weil das technische Potenzial dieser neuen Verfahren zum Teil weit über die Möglichkeiten der bisherigen Gentechnik hinausgeht. Ihre Risikobewertung erfordert daher zum Teil sogar höhere Standards und speziellere Anforderungen, als dies derzeit bei der Risikobewertung gentechnisch veränderter Pflanzen üblich ist.

Testbiotech schlägt vor, den Einsatz von Nukleasen, der Oligonukleotid-Technologie und der RNAi-Technologie unter dem Begriff „Synthetische Gentechnik“ zusammenzufassen. Dieser Begriff

- (1) verdeutlicht die Nähe zur Synthetischen Biologie;
- (2) grenzt von Verfahren wie Mutagenese, Smart-Breeding oder Protoplastenfusion ab, bei denen keine Substanzen außerhalb der Zellen aufbereitet und in diese eingeführt werden;
- (3) verdeutlicht den Einsatz von DNA, RNA oder Enzymen, die außerhalb der Zelle synthetisch hergestellt werden, um dann mit invasiven Methoden in die Zellen eingeführt zu werden.

Vor einer Einführung von Verfahren der Synthetischen Gentechnik in die Züchtung oder die Landwirtschaft wird gewarnt. Einige dieser Verfahren sind so neu, dass es noch keine ausreichenden Daten für eine umfassende Risikobewertung gibt. Andere Verfahren sind zwar seit Jahren bekannt, aber nie systematisch auf Risiken hin untersucht worden.

## **1. Wie ist Gentechnik definiert?**

Seit einigen Jahren wird, neben der bisherigen Gentechnik, über eine Reihe von weiteren Technologien diskutiert, die im Rahmen der Tier- und Pflanzenzüchtung eingesetzt werden könnten. Einige dieser Verfahren sind schon schon seit Jahren bekannt, andere befinden sich erst in der Erprobungsphase. Für die Verfahren werden u. a. Sammelbegriffe wie Genome Editing, Präzisionszüchtung, Smart-Breeding oder molekulare Züchtung verwendet, die aber nicht deckungsgleich sind. Einige der Verfahren sind eindeutig als Gentechnik im Sinne der EU-Regulierung anzusehen. Einen kurzen Überblick über einige derzeit diskutierte Verfahren und den Stand der Entwicklung bietet Tabelle 1.

**Tabelle 1: Überblick über einige neuere Verfahren für die Pflanzenzüchtung**

Stichwort	Verfahren	Regulierungspflicht nach Gentechnikrecht	Stand der Entwicklung
Markergestützte Selektion	Pflanzen oder Tiere werden aufgrund einer Gen-Diagnose ausgewählt.	Nein	Produkte sind auf dem Markt.
Tilling	Es werden nach dem Zufallsprinzip Mutationen ausgelöst, anschließend werden diejenigen Pflanzen selektiert, die eine bestimmte Mutation aufweisen.	Nein	Produkte sind wahrscheinlich auf dem Markt.
Protoplastenfusion	Zwischen einigen Pflanzenarten kann man durch Verschmelzung von Zellen im Labor auch deren Genome kombinieren.	Meist nicht	Produkte sind auf dem Markt.
Cisgentechnik (Cisgenese)	Hier werden isolierte DNA-Abschnitte übertragen, wobei im Unterschied zu transgenen Pflanzen keine DNA über die Artgrenzen übertragen wird.	Ja	Insbesondere Obstbäume werden versuchsweise erprobt. In der EU sind keine Produkte auf dem Markt.
Oligonukleotidtechnik (Oligonukleotid-gesteuerte Mutagenese, ODM)	Kurze, synthetisch hergestellte DNA-Abschnitte sollen die Zellen dazu bringen, die Struktur ihrer eigenen DNA zu verändern.	Ja (aber umstritten)	In der EU sind vermutlich noch keine Produkte auf dem Markt.
Nukleasen oder Gen-Scheren (CRISPR-Cas, TALEN, Zink-Finger-Nukleasen, Meganukleasen)	Die DNA wird an bestimmten Stellen mithilfe von Enzymen aufgetrennt, die mit Gen-Sonden gekoppelt sind. Nach der Reparatur der DNA durch die Zellen entstehen an den jeweiligen Stellen oft Mutationen. Es können an diesen Stellen auch zusätzliche DNA-Abschnitte eingebaut werden.	Ja (aber umstritten)	In der EU sind vermutlich noch keine Pflanzen auf dem Markt.
Eingriffe in Epigenetik/ Genregulierung (u. a. RNA-Interferenz, RNAi oder Veränderungen der Chromatinstruktur/ Methylierung)	Hier wird unter anderem der Botenstoff RNA genutzt, die Aktivität bestimmter Gene zu verändern. Die Effekte können vorübergehend sein (ohne Veränderung der DNA-Struktur), oft beruhen sie aber auf einer gentechnischen Veränderung.	Ja (aber nicht in allen Fällen geklärt)	Auf dem Markt sind u. a. gentechnisch veränderte Sojabohnen mit verändertem Ölgehalt.

Die Industrie und verschiedene Experten fordern, Methoden wie die Cisgentechnik, die Oligonukleotidtechnik, die Verwendung von Nukleasen (Gen-Scheren) und Eingriffe in die Epigenetik (Genregulierung) nicht als gentechnische Verfahren einzuordnen.

Aus dem Wortlaut bestehender EU-Regelungen lässt sich allerdings ableiten, dass Methoden, bei denen Substanzen (wie DNA, RNA oder Enzyme) im Labor aufbereitet und dann in Organismen eingeführt werden, um deren Genetik zu verändern, grundsätzlich als regulierungspflichtige Gentechnik anzusehen sind (siehe unten). Dies ist bei der Cisgentechnik, der Oligonukleotidtechnik,

der Verwendung von Nukleasen (Gen-Scheren) und meist auch Eingriffen in die Genregulierung der Fall. Damit sind diese Verfahren – im Sinne der EU-Richtlinie 2001/18 – als gentechnische Eingriffe anzusehen und müssen reguliert werden. Tatsächlich wurde die Cisgentechnik von der Europäischen Lebensmittelbehörde (EFSA) als gentechnisches Verfahren eingeordnet.<sup>1</sup>

### **Was unterliegt der EU-Gentechnikregulierung?**

Die EU-Gentechnik-Richtlinie 2001/18 definiert gentechnisch veränderte Organismus wie folgt:  
*„(...) ein Organismus (...) dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist.“* (Artikel 2)

Relevante Methoden sind nach dem Wortlaut der Richtlinie:

*„DNS-Rekombinationstechniken, bei denen durch die Insertion von Nukleinsäuremolekülen, die auf unterschiedliche Weise außerhalb eines Organismus erzeugt wurden, (...) neue Kombinationen von genetischem Material gebildet werden und diese in einen Wirtsorganismus eingebracht wurden, in dem sie unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommen.“*

Sowie:

*„Verfahren, bei denen in einen Organismus direkt Erbgut eingeführt wird, das außerhalb des Organismus zubereitet wurde.“*

Und:

*„Zellfusion (einschließlich Protoplastenfusion) oder Hybridisierungsverfahren, bei denen lebende Zellen mit neuen Kombinationen von genetischem Erbmateriale durch die Verschmelzung zweier oder mehrerer Zellen anhand von Methoden gebildet werden, die unter natürlichen Bedingungen nicht auftreten.“* (Anhang 1)

Dagegen sind u. a. Verfahren wie „Mutagenese“ sowie „Zellfusion (einschließlich Protoplastenfusion) von Pflanzenzellen von Organismen, die mittels herkömmlicher Züchtungstechniken genetisches Material austauschen können“, nach dem Wortlaut der EU-Richtlinie 2001/18 (Anhang 1) nicht als Gentechnik anzusehen. Diese Ausnahmen von der Zulassungspflicht sind wissenschaftlich begründbar, da beispielsweise Verfahren, bei denen Mutationen nach dem Zufallsprinzip ausgelöst werden, den Mechanismen der natürlichen

<sup>1</sup> <http://www.efsa.europa.eu/de/search/doc/2561.pdf>

Genregulation unterliegen. In die Zellen der Pflanzen werden keine isolierten, biologisch aktiven Stoffe wie DNA oder RNA eingeführt, um deren Genetik zu verändern und ihnen neue Stoffwechselwege aufzuzwingen, vielmehr steht die Nutzung des natürlichen Potenzials im Vordergrund. Dennoch kann es durchaus berechtigt sein, von Fall zu Fall einzelne Produkte, die zum Beispiel mithilfe von Mutagenese erzeugt wurden, auf ihre Risiken zu prüfen.

## **2. Eine Ära der Super-Gentechnik?**

Auf der Grundlage von Verfahren wie der Oligonukleotidtechnik, der Verwendung von Nukleasen (Gen-Scheren) und bei der Veränderung der Epigenetik proklamieren manche Experten eine neue Ära der Super-Gentechnik. Nachdem man drei Jahrzehnte lang in der Pflanzenzucht mit Schrotschussverfahren gearbeitet hat, bei denen nicht einmal der Ort des Einbaus der zusätzlichen DNA kontrolliert werden konnte und komplexere gentechnische Veränderungen oft scheiterten, glaubt man sich jetzt in der Lage, das Erbgut und die Genregulation zielgerichtet, nach Belieben und ohne erhebliche Nebenwirkungen manipulieren zu können. Wortschöpfungen wie „Genome Editing“, „Präzisionszüchtung“ oder „Molekulare Züchtung“ sollen deutlich machen, dass man die Ära der Gentechnik-Steinzeit verlassen hat.

Tatsächlich bieten insbesondere die sogenannten Gen-Scheren neue Möglichkeiten für den Eingriff in das Genom. Erste Studien an Pflanzen (wie Ackerschmalwand, Sorghum, Reis und Weizen), Fischen, Fruchtfliegen, Würmern, Mäusen, Ratten, Kaninchen, Fröschen, Affen und menschlichen Zellen (siehe z. B. Sander & Joung, 2014), und auch an Nutztieren wie Rindern (Tan et al., 2013), Schafen (Han et al., 2014) und Schweinen (Hai et al., 2014) zeigen, dass Gen-Scheren wie CRISPR und TALEN universell einsetzbar sind. Sie bieten die Möglichkeit, DNA gezielt und zum Teil an mehreren Orten im Erbgut gleichzeitig zu verändern (Bortesi & Fischer, 2014, Segal & Meckel, 2013, Baker, 2014).

Diese Technologien haben auch deswegen eine besondere Brisanz, weil in den letzten Jahren die Verfahren zur DNA-Synthese ständig weiterentwickelt wurden: Längst ist es nicht mehr nötig, DNA aus Lebewesen zu isolieren, um Gene zu übertragen. Es genügt die Kenntnis der DNA-Struktur, um diese im Labor künstlich zu synthetisieren. Dabei können auch künstliche Sequenzen kreiert werden, die keine natürliche Vorlage haben. Diese synthetische DNA kann mithilfe der neuen Technologien an jeder beliebigen Stelle der DNA eingebaut werden – im Ergebnis erhält man so Möglichkeiten zu einem radikalen Umbau des Erbguts.

## 2.1 CRISPR-Cas

Nukleasen sind Eiweiße (Enzyme), mit denen die DNA aufgetrennt werden kann – man nennt sie deswegen auch Gen-Scheren. Solche Gen-Scheren gibt es schon länger, allerdings konnte man die DNA damit nur an relativ wenigen Stellen „schneiden“. In den letzten Jahren wurden verschiedene neue Nukleasen entwickelt, die einen zielgerichteten Einbau oder Umbau von DNA an jeder beliebigen Stelle des Erbguts ermöglichen sollen. Der aktuelle Star unter den Nukleasen ist CRISPR-Cas. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ist eine Art Gen-Sonde, bestehend aus RNA, mit der eine bestimmte Stelle in der DNA angesteuert werden kann. RNA ist in der Lage, die Bausteine der DNA sozusagen spiegelbildlich abzubilden. Über die spezifische RNA-Sequenz kann das CRISPR-Cas-System auf ein Ziel „programmiert“ werden. Die eigentliche „Gen-Schere“ ist das Enzym Cas, das mit der RNA zu einem Komplex verbunden ist. Einer oder beide Stränge der DNA können „aufgeschnitten“ werden. Bei der Reparatur durch die zelleigenen Mechanismen entstehen an der fraglichen Stelle oft Mutationen. So können beispielsweise Gene stillgelegt werden. Mithilfe des CRISPR-Cas-Systems kann außerdem zusätzliche (im Labor synthetisierte) DNA in das Erbgut der Zellen eingebaut werden. Das Cas-Enzym kann auch die biologische Aktivität von Genen blockieren, ohne dass es zu einem „Schneiden“ der DNA kommt.

Das System ist überraschend einfach und effizient zu handhaben. Die Entdeckung der Anwendungsmöglichkeiten des CRISPR-Cas-Systems liegt erst etwa zwei bis drei Jahre zurück, die Zahl von Publikationen hat seither rasch zugenommen. Inzwischen gibt es bereits die ersten kommerziellen Anwendungen bei Versuchstieren. Auch andere Gen-Scheren wie TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) und Zink-Finger-Nukleasen funktionieren nach ähnlichen Prinzipien, sind aber schwieriger zu handhaben. Obwohl die Gen-Scheren bereits vielfach Anwendung finden, ist ihre genaue Funktionsweise im Detail noch nicht bekannt.

## 2.2 Oligonukleotidtechnik

Schon wesentlich länger verfügbar als das CRISPR-Verfahren ist die Oligonukleotidtechnik. Es ist unklar, ob entsprechende Produkte in der EU bereits auf dem Markt sind. Mit Oligonukleotiden veränderte Pflanzen können ohne Registrierung und Kennzeichnung kaum identifiziert werden. So könnte unter anderem der in Deutschland bereits angebaute herbizidresistente „Clearfield“-Raps der Firma BASF mit diesem Verfahren hergestellt worden sein. Nach Auskunft von BASF soll dies aber nicht der Fall sein.<sup>2</sup>

---

<sup>2</sup> Persönliche Mitteilung.

Bei dieser Methode arbeitet man mit sehr kurzen DNA-Abschnitten, die im Labor nach natürlichen Vorbildern hergestellt werden. Dabei wird die DNA aber an einer Stelle technisch verändert, um beispielsweise eine Resistenz gegen Unkrautvernichtungsmittel zu bewirken. Diese kurzen, synthetischen DNA-Abschnitte (Oligonukleotide) werden in die Zellen eingeschleust, damit sie sich dann an der Stelle der DNA anlagern, nach deren Vorbild sie synthetisiert wurden. Die Zelle kann so dazu veranlasst werden, die eigene DNA dem fremden Vorbild anzupassen, wodurch es zu einer Veränderung der pflanzlichen DNA an der gewünschten Stelle kommen soll. Dabei wird die künstliche DNA angeblich nicht direkt in das Erbgut der Zellen eingebaut. Die genauen Mechanismen für diese Genom-Veränderung sind nicht bekannt (siehe u. a. Lusser et al., 2011). Berücksichtigt werden muss, dass Verfahren unter Einbringung von Oligonukleotiden auch dazu verwendet werden können, längere Abschnitte der DNA zu verändern, wie das zum Beispiel beim Multiplex Automated Genome Engineering (MAGE) der Fall ist. Hierbei werden entweder nacheinander oder parallel mehrere Veränderungen am Erbgut einer Zelle vorgenommen (Carr et al., 2012). Nach Ansicht eines bekannten Protagonisten der Synthetischen Biologie, George Church, könnten derartige Technologien sogar dazu verwendet werden, das Erbgut einer Art in das einer anderen „umzuschreiben“ (Church & Regis, 2012).

### **2.3 RNAi-Anwendungen**

Auch die RNAi-Technik, die zur Manipulation der Genregulation eingesetzt wird, ist nicht wirklich neu; es werden allerdings auch hier immer neue Anwendungsgebiete entwickelt: Die erste gentechnisch veränderte Pflanze, die 1994 in den USA zugelassen wurde, war die sogenannte Anti-Matsch-Tomate. Die gentechnische Veränderung bestand darin, dass man ein pflanzeneigenes Enzym blockierte, das für den Abbau der Zellwände zuständig ist – die Tomate blieb länger „in Form“. Man hatte das Gen für das Enzym, das am Abbau der Zellwände beteiligt ist, so in das Erbgut der Tomaten eingebaut, dass es sozusagen rückwärts abgelesen werden musste („antisense“). Die daraus in den Zellen produzierte RNA führte dazu, dass die Genfunktion blockiert wurde. Derzeit angebaut werden in den USA u. a. nach diesem Prinzip hergestellte Sojabohnen der Firma Pioneer, deren Ölqualität verändert wurde (Soybean 305423).<sup>3</sup>

Wie man inzwischen weiß, sind die Mechanismen der RNA-Interferenz (RNAi) ein sehr komplexes Instrument der Genregulation, das gleichermaßen bei Wirbeltieren, Insekten, Pflanzen und anderen Lebewesen vorkommt. Die Möglichkeiten, sie zu instrumentalisieren, sind in den letzten Jahren

---

<sup>3</sup> [www.testbiotech.org/node/1013](http://www.testbiotech.org/node/1013)

stetig gewachsen. So arbeitet beispielsweise Monsanto an Maispflanzen mit einer speziellen RNA zur Schädlingsabwehr: Fressen Schadinsekten an den Pflanzen, sollen sie auch die RNA aufnehmen, die dann im Körper der Insekten lebenswichtige Gene abschalten sollen - ein Verfahren, das allerdings nicht immer den gewünschten Erfolg hat (Chu et al., 2014).

### **3. Weniger Kontrolle?**

Insgesamt ermöglichen diese Methoden die radikale Veränderung des Erbguts und der Genregulation jeglicher Lebensform. Die Grenzen der Machbarkeit haben sich deutlich verschoben. Testbiotech schlägt deshalb vor, den Einsatz von Nukleasen, der Oligonukleotidtechnologie und der RNAi-Technologie unter dem Begriff „Synthetische Gentechnik“ zusammenzufassen. Damit wird auf der einen Seite die Nähe zur Synthetischen Biologie verdeutlicht (die über die genannten Verfahren noch hinausgeht) und auf der anderen Seite eine klare Abgrenzung von üblichen Verfahren wie Mutagenese, Smart-Breeding oder Protoplastenfusion ermöglicht, bei denen keine Substanzen außerhalb der Zellen aufbereitet und in diese eingeführt werden. Zudem ist dieser Ausdruck zutreffend, weil diesen Anwendungen der Einsatz von DNA, RNA oder Enzymen gemeinsam ist, die außerhalb der Zelle synthetisch hergestellt beziehungsweise aufbereitet und dann mit invasiven Methoden in die Zellen eingeführt werden.

#### **3.1 Risiken der Oligonukleotidtechnologie**

Nach Meinung verschiedener Experten, wie sie zum Beispiel in einer Stellungnahme der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS, 2012) zum Ausdruck kommt, sollen Verfahren der Oligonukleotidtechnik nicht als Gentechnik, sondern als Mutationszüchtung eingestuft und von der Regulierung ausgenommen werden. Doch wie beschrieben handelt es sich bei der Oligonukleotidtechnik um ein Verfahren, das von der Mutationszüchtung grundlegend verschieden ist: Hier wird mit invasiven Verfahren in das Erbgut eingegriffen, um eine ganz bestimmte Veränderung zu erzwingen. Dabei kommt es auch zu ungewollten Effekten (sogenannten off-target effects): Durch den Eingriff in die Zellen kann das Erbgut auch unbeabsichtigt an anderen Stellen in seiner Struktur verändert oder die Genregulation gestört werden. (siehe z. B. Lusser et al., 2012, Vogel, 2012). Bisher gibt es noch keine systematischen Untersuchungen darüber, welche spezifischen Risiken mit diesen Veränderungen einhergehen.

#### **3.2 Risiken von Nukleasen (CRISPR-Cas)**

Auch beim CRISPR-Cas-System wurden bereits Nebeneffekte beobachtet: Unter anderem treten Verwechslungen der jeweiligen DNA-Zielregionen auf – die Nuklease zerschneidet das Erbgut dann



an der falschen Stelle (siehe z. B. Fu et al., 2013). Bei Pflanzen hängt die Zielgenauigkeit unter anderem von der Größe und Komplexität des Genoms ab: demnach können Ergebnisse, die an *Arabidopsis* (Ackerschmalwand) mit relativ kleinem Erbgut gewonnen wurden, nicht auf Arten wie Mais übertragen werden (Bortesi & Fischer, 2014). Zudem können die Ergebnisse des Eingriffs auch innerhalb einer Art je nach Zelltyp ganz unterschiedlich sein (Bortesi & Fischer, 2014).

Wichtige Details der Wirkungsmechanismen der Gen-Scheren sind noch unbekannt und geben Rätsel auf: So zeigte sich bei Versuchen an Pflanzen, dass die entsprechenden Mutationen nicht in der ersten Generation, sondern erst in der zweiten gefunden wurden (Feng et al., 2013). Gao & Zhao (2014) sprechen deswegen von einem fortschreitenden Prozess der Gen-Veränderung, der sich über mehrere Generationen erstrecken kann. Sie stellen auch fest, dass die genauen Bedingungen, unter denen CRISPR-Cas zur Wirkung kommt, nicht bekannt sind. Es sieht also so aus, als ob hier eine Veranlagung zur spezifischen Veränderung des Erbguts vererbt werden kann, die erst in der Folgegeneration zum Tragen kommt und deren biologische Aktivität mit vielen Unsicherheiten verbunden ist.

Für die Risikobewertung ist es auch erheblich, dass das CRISPR-System ursprünglich in Bakterien entdeckt wurde, die sich damit gegen bestimmte Viren wehren (siehe z. B. Baker, 2014). Durch die Anwendung bei Pflanzen und Tieren wird also ein System, das sich im Rahmen der Evolution innerhalb bestimmter Zusammenhänge entwickelt hat, jenseits der biologischen Grenzen übertragen. Die Zellen von Pflanzen und Tieren sind anders aufgebaut als diejenigen von Bakterien (oder das Erbgut von Viren) und verfügen über andere Regulationsmechanismen. Es ist somit naheliegend, dass es deswegen zu einer Reihe unbeabsichtigter Effekte und Wechselwirkungen kommen wird.

Die Nebenwirkungen sind möglicherweise schwer zu erfassen. Meist wird in den Untersuchungen bislang nur die Zielgenauigkeit des Verfahrens untersucht. Als „Erfolg“ gilt der Nachweis der intendierten Veränderung der DNA an einem bestimmten Ort, während die DNA in anderen Regionen möglichst unverändert bleiben soll. Über die Frage der Zielgenauigkeit hinaus gibt es aber eine ganze Reihe weiterer möglicher Folgen der Anwendung der Nukleasen, die aus Enzymen und Botenstoffmolekülen (RNA) bestehen: Beispielsweise kann CRISPR-Cas die Genregulierung auch verändern, ohne dass eine Veränderung der DNA erkennbar ist (Bortesi & Fischer, 2014). Es kann in der Zelle zu Abwehrreaktionen oder Abbauprozessen kommen. Dabei kann beispielsweise zusätzliche Mikro-RNA (miRNA) produziert werden, die als biologisch aktive Substanz nicht nur

die Genregulation der Pflanzen verändert, sondern möglicherweise auch über die Nahrungskette hinweg biologisch aktiv bleiben und u. a. in den Stoffwechsel von Säugetieren eingreifen kann (siehe beispielsweise Zhang et al., 2011).

Die Risikobewertung ist also schwierig, weil es viele Einflussfaktoren gibt, und muss deswegen fallspezifisch bei jeder Anwendung durchgeführt werden. Wie bereits erwähnt, können CRISPR-Cas-Systeme in unterschiedlichen Zelltypen der gleichen Spezies zu unterschiedlichen Reaktionen führen. Ihre Spezifität ist also nicht nur artabhängig, sondern auch vom jeweiligen Zelltyp und zudem von dem Ort, der das Ziel der Gen-Veränderung ist. Entsprechend vielfältig können von Fall zu Fall auch die Nebenwirkungen sein. Und manche der Nebenwirkungen zeigen sich möglicherweise erst in den nachfolgenden Generationen oder nur unter bestimmten Umweltbedingungen.

Zudem gibt es viele verschiedene Möglichkeiten, unterschiedliche Variationen von CRISPR-Cas-Systemen herzustellen. Die Nukleasen werden von Fall zu Fall erheblich verändert, um sie möglichst passgenau, effizient und einfach handhabbar zu machen. Für jedes dieser CRISPR-Cas-Systeme ist eine spezielle Risikobewertung nötig.

### **3.3 Risiken der RNAi-Technologie**

Vielfältig sind auch die offenen Fragen bei der RNAi-Technik. Zunächst hatte man deren Risiken eher als gering eingeschätzt, weil in diesen Pflanzen keine neuen Eiweißstoffe produziert werden. Doch 2011/2012 sorgte eine Publikation aus China für Aufsehen: Wie schon kurz erwähnt, glauben die Forscher nachgewiesen zu haben, dass Mikro-RNA (miRNA), die in den Pflanzen gebildet wird, von Mensch und Tier direkt aus der Nahrung aufgenommen wird (Zhang et al., 2011). Diese speziellen Varianten der RNA sind demnach biologisch aktive Substanzen, die über die Nahrungsaufnahme in den Stoffwechsel von Mensch und Tier eingreifen können. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch andere Untersuchungen, bei denen beispielsweise miRNA aus Pflanzen nach Verfütterung u. a. in der Milch von Tieren gefunden wurde (Lukaski & Zielenkiewicz, 2014).

Die Diskussion zeigt, dass die biologischen Mechanismen, die hinter der Wirkung von miRNA stehen, noch längst nicht ausreichend erforscht sind. Dies wurde auch bei Konferenzen bestätigt, die 2013/2014 von den Behörden in den USA und der EU veranstaltet wurden und sich erstmals eingehend mit den Risiken der RNAi befassten: Weder kann man eindeutige Aussagen darüber machen, in welchen Mengen miRNA aus dem Darm aufgenommen wird, noch darüber, welche

Folgen der Einsatz dieser gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mensch und Umwelt haben wird (siehe EFSA, 2014).

#### **4. Schlussfolgerungen und Empfehlungen**

Generell ist zu beachten, dass in der Landwirtschaft und Lebensmittelerzeugung eingesetzte gentechnisch veränderte Pflanzen und Tiere für alle Verbraucher sicher sein müssen und diese Sicherheit auch unter allen möglichen Umweltbedingungen und Wachstumsbedingungen gewahrt bleiben muss. Damit liegt die Hürde für die Risikobewertung hier deutlich höher als beispielsweise bei Produkten, die chemisch eindeutig definierbar sind, immer unter gleichen Umweltbedingungen hergestellt und nur unter speziellen Bedingungen verwendet werden.

Insgesamt wissen wir über die erwähnten Verfahren zu wenig, um über ihre Einführung in die Praxis zu entscheiden. Es gibt u. a. keine ausreichenden Daten über Art und Folgen ungewollter Effekte bei Pflanzen und Tieren. Auch über die Reaktion der Organismen auf Stressbedingungen und ihre möglichen Interaktionen mit den Ökosystemen liegen bislang keine Daten vor. Die bisherigen Publikationen zeigen zudem, dass die Effekte von Fall zu Fall sehr unterschiedlich sein können. Forderungen, bestimmte Verfahren von der Regulierung pauschal auszunehmen, sind auch aus dieser Perspektive wissenschaftlich nicht zu begründen.

Vor diesem Hintergrund sind folgende Punkte besonders wichtig:

- (1) Vor einer Einführung der Verfahren der Synthetischen Gentechnik in die Landwirtschaft muss gewarnt werden – einige dieser Verfahren sind so neu, dass wir noch keine ausreichenden Daten für eine Risikobewertung zur Verfügung haben. Andere Verfahren sind zwar seit Jahren bekannt, aber bislang nie systematisch auf Risiken untersucht worden.
- (2) Die Forderung, die Verfahren der Synthetischen Gentechnik von der Regulierung auszunehmen, muss zurückgewiesen werden. Eine Markteinführung ohne Risikoprüfung und systematische Erfassung/Kennzeichnung der Produkte wäre unverantwortlich. Betroffen von einer derartigen Freistellung wären nicht nur Pflanzen, sondern auch auf diese Weise manipulierte Nutztiere oder Insekten. Im Gegenteil muss man die Prüfverfahren zum Teil sogar verschärfen, um die neuen Technologien ausreichend und fallspezifisch auf Risiken untersuchen zu können.
- (3) Da sich die Grenzen des Machbaren bis hin zu einer radikalen Veränderung des Erbguts verschoben haben, stellen sich auch neue ethische Fragen. Es sollten daher gesetzliche Initiativen zum Schutz der Integrität des Erbguts geprüft werden.
- (4) Freisetzungen von Organismen, die mittels der neuen Technologien verändert wurden, müssen

unterbleiben, insbesondere wenn es zu einer unkontrollierten Ausbreitung kommen kann.

(5) Es muss darauf geachtet werden, dass geplante Handelsabkommen wie CETA und TTIP nicht dazu genutzt werden, Sonderregeln einzuführen, durch die entsprechende Technologien ohne ausreichende Prüfung auf den Markt gelangen könnten.

## Quellen

Baker, M. (2014), Gene editing at CRISPR speed, *Nature Biotechnology*, Vol. 32, 4: 309-312

Bortesi, L. & Fischer, R. (2014) The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond, *Biotechnol Adv* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.12.006>

Carr, P. A., Wang, H. H., Sterling, B., Isaacs, F. J., Lajoie, M. J., Xu, G., Church, G. M., Jacobson, J. M. (2012) Enhanced multiplex genome engineering through co-operative oligonucleotide co-selection, *Nucleic Acids Research*, 2012, Vol. 40, No. 17, doi:10.1093/nar/gks455

Chu, C. C., Sun, W., Spencer, J. L., Pittendrigh, B. R., Seufferheld, M. J., (2014) Differential effects of RNAi treatments on field populations of the western corn rootworm, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, online 27 February 2014

Church, G., Regis, E. (2012) *Regenesis, how synthetic biology will reinvent nature and ourselves*, Basis Books, New York

European Food Safety Authority (2014) International scientific workshop 'Risk assessment considerations for RNAi-based GM plants' (4–5 June 2014, Brussels, Belgium), EFSA supporting publication 2014:EN-705, <http://www.efsa.europa.eu/en/events/event/140604.htm>

Feng, Z., Mao, Y., Xu, N., Zhang, B., Wei, P., Yang, D.-L., Wang, Z., Zhang, Z., Zheng, R., Yang, L., Zeng, L., Liu, X., Zhu, J.-K. (2014) Multigeneration analysis reveals the inheritance, specificity, and patterns of CRISPR/Cas-induced gene modifications in Arabidopsis, [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1400822111](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1400822111)

Fu, Y., Foden, J. A., Khayter, C., Maeder, M. L., Reyon, D., Joung, J. K., Sander, J. D. (2013) High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells, *Nature Biotechnology*, Vol. 31, Nr. 9: 822-826

Gao, Y. & Zhao, Y. (2014) Specific and heritable gene editing in Arabidopsis, [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1402295111](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1402295111)

Hai, T., Teng, F., Guo, R., Li, W., Zhou, Q. (2014) One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system, *Cell Research*, advanced online publication 31 January 2014; doi:10.1038/cr.2014.11

Han, H., Ma, Y., Wang, T., Lian, L., Tian, X., Hu, R., Deng, S., Li, K., Wang, F., Li, N., Liu, G., Zhao, Y., Lian, Z. (2014) One-step generation of myostatin gene knockout sheep via the CRISPR/Cas9 system, *Cell Research* (2014) :1-4

Lukaski, A. & Zielenkiewicz, P. (2014) In silico identification of plant miRNAs in mammalian

breast milk exosomes – a small step forward? *PLoS ONE* 9; e99963

Lusser, M., Parisi, C., Plan, D. & Rodriguez-Cerezo, E. (2011) New plant breeding techniques: State-of-the-art and prospects for commercial development. European Commission, Joint Research Centre (JRC). *JRC Report*, EUR 24760 EN. <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC63971.pdf>

Sander, J. D. & Joung, K. (2014) CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes, *Nature Biotechnology*, Vol. 32, 4: 347-355

Segal, D. J. & Meckler, J. F. (2013) Genome Engineering at the Dawn of the Golden Age, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 14:135–58

Tan, W., Carlson, D. F., Lancto, C. A., Garbe, J. R., Webster, D. A., Hackett, P. B., Fahrenkrug, S. C. (2013) Efficient nonmeiotic allele introgression in livestock using custom endonucleases, *PNAS*, [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310478110](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310478110)

Vogel, B., (2012) Neue Pflanzenzuchtverfahren – Grundlagen für die Klärung offener Fragen bei der rechtlichen Regulierung neuer Pflanzenzuchtverfahren, Bundesamt für Umwelt (BAFU), Sektion Biotechnologie, Bern, Baudirektion des Kantons Zürich, Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft (AWEL), Sektion Biosicherheit (SBS), [www.awel.zh.ch/internet/baudirektion/awel/de/biosicherheit\\_neobiota/veroeffentlichungen/jcr\\_content/contentPar/publication\\_2/publicationitems/titel\\_wird\\_aus\\_dam\\_e\\_0/download.spooler.download.1372927394124.pdf/Schlussbericht\\_NeuePflanzenzuchtverfahren\\_DEZ2012.pdf](http://www.awel.zh.ch/internet/baudirektion/awel/de/biosicherheit_neobiota/veroeffentlichungen/jcr_content/contentPar/publication_2/publicationitems/titel_wird_aus_dam_e_0/download.spooler.download.1372927394124.pdf/Schlussbericht_NeuePflanzenzuchtverfahren_DEZ2012.pdf)

Zhang, L., Hou, D., Chen, X., Li, D., Zhu, L., Zhang, Y., Li, J., Bian, Z., Liang, X., Cai, X., Yin, Y., Wang, C., Zhang, T., Zhu, D., Zhang, D., Xu, J., Chen, Qu., Ba, Y., Liu, J., Wang, Q., Chen, J., Wang, J., Wang, M., Zhang, Q., Zhang, J., Zen, K., Zhang, C. Y. (2011) Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA, *Cell Research*: 1-10.

ZKBS, Zentrale Kommission für biologische Sicherheit (2012) Position statement of the ZKBS on new plant breeding techniques, [www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06\\_Gentechnik/ZKBS/02\\_Allgemeine\\_Stellungnahmen\\_englisch/05\\_plants/zkbs\\_plants\\_new\\_plant\\_breeding\\_techniques.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/02_Allgemeine_Stellungnahmen_englisch/05_plants/zkbs_plants_new_plant_breeding_techniques.pdf?__blob=publicationFile&v=2)