

Synthetische Gentechnik

Christoph Then

In den letzten Jahren wurden eine ganze Reihe von neuen Technologien verfügbar, mit denen in das Erbgut eingegriffen werden kann. Am bekanntesten ist in diesem Zusammenhang die „Synthetische Biologie“. Unter diesem Oberbegriff werden eine ganze Reihe von Ansätzen verfolgt, Lebewesen mit neuen Eigenschaften zu schaffen, ja sogar Leben künstlich zu schaffen. Bisher ist es zwar nicht gelungen, tatsächlich völlig neues „künstliches Leben“ herzustellen. Das technische Potenzial der Synthetischen Biologie ist aber trotzdem beachtlich: Es ermöglicht die schnelle Analyse großer Mengen genetischer Daten: die Re-Synthese langer DNA-Abschnitte und weitgehende Veränderung der DNA.

2010 wurde zum ersten Mal ein Mikroorganismus präsentiert, dessen Erbgut im Labor vollständig nachgebaut wurde (Gibson et al., 2010). Das Erbgut dieses Organismus ist also nicht wirklich neu, die DNA wurde am Computer digitalisiert und im Labor resynthetisiert. Das Ergebnis ist sozusagen eine „naturidentische“ Kopie. Das Experiment wurde von Wissenschaftlern um Craig Venter, einem der bekanntesten Vertreter der Synthetischen Biologie, medienwirksam in Szene gesetzt. In der Pressemitteilung¹ des Craig Venter Instituts heißt es:

[This] „is the proof of principle that genomes can be designed in the computer, chemically made in the laboratory and transplanted into a recipient cell to produce a new self-replicating cell controlled only by the synthetic genome.“

Mit den derzeit verfügbaren Methoden verfügt die Synthetische Biologie über die Möglichkeit, das Erbgut bestehender Lebensformen nicht nur nachzubauen, sondern auch radikal zu verändern. Die neuen Methoden zur Manipulation der DNA, die hier als „Synthetic Genome Technologies“² oder auch als „Synthetische Gentechnik“ zusammengefasst werden, unterscheiden sich erheblich von dem, was bisher in der Öffentlichkeit als Gentechnik wahrgenommen wird:

- Die DNA muss nicht mehr aus Lebewesen isoliert werden, sondern kann im Labor künstlich synthetisiert werden.
- Die DNA ist nicht mehr abhängig von natürlichen Vorlagen, sondern kann am Computer umgeschrieben oder aus Vorlagen unterschiedlicher Arten zusammengesetzt werden.
- Zum Teil muss gar keine DNA übertragen werden, sondern das Erbgut kann direkt in der Zelle „umgeschrieben“ werden.
- Auch Versuche, die Regulierung der natürlichen Gene zu manipulieren, nehmen deutlich zu.

¹ Craig Venter Institute media release, 20 Mai 2010, Ref: Gibson, D. G. et al , (2010) „Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome“, Science, www.jcvi.org/cms/press/press-releases/full-text/article/first-self-replicating-synthetic-bacterial-cell-constructed-by-j-craig-venter-institute-researcher/

² Dieser Begriff ist hier präziser als Synthetische Biologie, bei der u.a. auch mit künstlichen Zellsystemen experimentiert wird

Mehrere Organismen befinden sich bereits in der Phase der Kommerzialisierung (bzw. kurz davor), bei denen derartige Technologien zum Einsatz kommen:

- Der Mais SmartStax enthält synthetische DNA zur Codierung eines künstlichen Toxins (Cry1A.105)³.
- Das Genom der Olivenfliege von Oxitec, das u.a. aus der DNA von Meerschwämmen, anderen Insekten, Bakterien und Viren zusammengesetzt ist, ist nur aufgrund von künstlicher Gen-Synthese realisierbar⁴.
- Die Firma Intrexon setzt auf die Methoden der Synthetischen Biologie, um das Erbgut von Säugetieren und anderen Lebewesen radikal zu verändern⁵.
- Der Raps „Clearfield“ des BASF Konzerns. Dieser Raps ist herbizidresistent und nach Auskunft von BASF durch traditionelle Züchtung entstanden. Es ist aber offensichtlich auch bereits gelungen, derartige Pflanzen mit sogenannten „Oligonukleotiden“ (s.u.) herzustellen.

Nachfolgend werden zwei Methoden der „Synthetic Genome Technologies“ vorgestellt, die zusätzlich zur DNA-Synthese zum Einsatz kommen, um weitreichende Eingriffe in das Erbgut zu ermöglichen: Der Einsatz von Gen-Scheren (Nukleasen) und die Verwendung von Oligonukleotiden.

- **Übertragung und gezielte Insertion von neuer DNA (Gen-Scheren)**

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 damit die DNA nur an bestimmten Stellen „schneiden“. In den letzten Jahren wurden verschiedene neue Nukleasen entwickelt, die einen Einbau oder Umbau von DNA an jeder beliebigen Stelle des Erbgutes ermöglichen. Diese neuen Gen-Scheren werden TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) und CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) genannt. Sie bestehen jeweils aus einer Erkennungsregion, mit der eine bestimmte Stelle in der DNA angesteuert werden kann und einem Enzym, das den DNA-Strang an der gewünschten Stelle aufbricht. Dabei können an dieser Stelle Gene stillgelegt, Mutationen ausgelöst oder neue DNA-Abschnitte eingefügt werden.

Dass diese Technologie auch in der Pflanzenzüchtung angewendet werden soll, zeigt u.a. ein Artikel in der FAZ vom 26. August 2012⁶. Dort heißt es bezüglich der TALEN-Technologie, dass multinationalen Saatgutkonzerne wie Syngenta, Monsanto, Bayer Crop Science und die KWS Saatzucht AG bereits entsprechende Lizenzen erworben haben. Nach diesem Artikel stehen entsprechende Pflanzen bei der KWS sogar schon im Gewächshaus.

- **Oligonukleotide**

Ein Verfahren, das ebenfalls in der Pflanzenzüchtung bereits angekommen ist, und bis zur Praxisreife entwickelt wurde, ist die Verwendung von sogenannten Oligonukleotiden. Das sind kurze DNA (oder auch RNA) Abschnitte, die im Labor nach natürlichen Vorbildern hergestellt werden. Dabei wird die DNA an einer Stelle technisch verändert, um beispielsweise eine Resistenz gegen Unkrautvernichtungsmittel zu bewirken. Diese kurzen, synthetischen DNA-Abschnitte (Oligonukleotide) werden in die Zellen eingeschleust, wodurch es zu einer Veränderung der pflanzeigenen DNA an einer definierten Stelle kommen soll. Die zusätzliche DNA wird bei diesem Verfahren angeblich nicht in die Zellen eingebaut. Die genauen Mechanismen für diese

³ www.testbiotech.de/node/514

⁴ www.testbiotech.org/node/874

⁵ www.testbiotech.org/node/722

⁶ Stollorz, Das Leben einmal neu redigiert, Frankfurter Allgemeine Sonntagszeitung, 26. August 2012, Nr. 34

Genom-Veränderung sind nicht bekannt, es wird angenommen, dass Mechanismen der Pflanzenzellen dafür sorgen, dass das Erbgut dem Vorbild aus dem Labor angepasst wird (Lusser et al., 2011).

Nach Stellungnahmen verschiedener Experten (siehe zum Beispiel ZKBS, 2012) sollen dieses Verfahren grundsätzlich nicht als Gentechnik angesehen werden, sondern als Mutationszüchtung gelten. Mit der Oligonukleotidszüchtung kann man tatsächlich ähnliche Ergebnisse wie mit der Mutationszüchtung erreichen. Diese basiert aber auf den Mechanismen der natürlichen Genregulation. Bei der Mutationszüchtung führt ein unspezifischer Reiz von außen dazu, dass zufällige Veränderungen in der DNA der Pflanzen ausgelöst werden, wobei das Endergebnis ganz wesentlich von der Genregulation in den Pflanzen abhängig ist.

Bei der Manipulation mit Oligonucleotiden handelt es sich dagegen um ein invasives Verfahren, bei dem in die Zelle mit technischen Tricks eingegriffen wird, um eine ganz bestimmte Veränderung herbeizuführen. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass auch die möglichen Nebenwirkungen unterschiedlich sein können. Tatsächlich kommt es beim Einsatz dieser Technologie zu ungewollten Effekten (sogenannten off-target effects): Es ist möglich, dass es durch den Eingriff in die Zellen auch an anderen Stellen die Struktur des Erbguts oder die Aktivität von Gene verändert wird (siehe z.B. Vogel, 2012; Pauwels et al., 2013). Bisher gibt es keine systematische Untersuchungen um festzustellen, ob diese Effekte im Vergleich zu den Effekten, die bei natürlichen Mutationen auftreten, unterschiedlich sind.

Berücksichtigt werden muss, dass Verfahren unter Einbringung von Oligonucleotiden auch dazu verwendet werden können, längere Abschnitte der DNA zu verändern, wie das das zum Beispiel beim Multiplex automated genome engineering (MAGE, siehe z.B. Carr et al., 2012) der Fall ist. Dieses Verfahren kann man sich wie eine Fließbandproduktion vorstellen, bei der das Fließband im Kreis läuft und viele Arbeiter parallel jedes Mal dann eine kleine Veränderung durchführen, wenn das Werkstück bei ihnen vorbei kommt. Je öfter der Zyklus wiederholt wird, desto größer die Veränderungen insgesamt. Auf diese Weise wollen manche Protagonisten das Erbgut einer Art in das einer anderen umwandeln, in vielen Einzelschritten, die an mehreren Stellen des Genoms gleichzeitig ausgeführt werden. Nach Ansicht eines bekannten Protagonisten der Synthetischen Biologie, George Church, könnte die Technologie dazu verwendet werden, das Erbgut des Homo sapiens so umzuschreiben, dass daraus das Erbgut eines Neandertalers würde (Church & Regis, 2010).

- **Fragen an die Risikoabschätzung**

Ob sich die Veränderungen durch Oligonukleotide in ihrem Muster und ihren Auswirkungen von dem natürlicher Mutationen unterscheidet, wurde bisher nicht systematisch untersucht. Dass die neuen Technologien, wie der Einsatz von Nukleasen und Oligonukleotiden, tatsächlich mit erheblichen Risiken verbunden sein können, zeigt eine Untersuchung an menschlichen Zellen (Fu et al., 2013): Demnach kann der Einsatz der CRISPR Technologie, die ähnlich wie TALEN und Oligonukleotide dazu verwendet wird, das Erbgut an einer bestimmten Stelle zu verändern, dazu führen, dass im Erbgut viele zusätzliche ungewollte Mutationen entstehen.

Ob Effekte, wie sie von Fu et al. (2013) beschrieben werden, auch in Pflanzen auftreten und welche Risiken damit verbunden sein könnten, lässt sich erst bei einer detaillierten Prüfung der Pflanzen feststellen. Dazu müssten u.a. Untersuchungen zu folgenden Fragen durchgeführt werden:

- ungewollte Veränderungen der Genaktivität in den Pflanzen,
- ungewollte Veränderungen in den Inhaltsstoffen,
- ungewollte Veränderungen im Stoffwechsel der Pflanzen in Zusammenhang mit der eingeführten Veränderung (wie Herbizidbehandlung)
- genetische Stabilität der Pflanzen unter Stressbedingungen

- ungewollte phänotypische Eigenschaften in der Umwelt
- ungewollte Effekte auf Arten und Ökosysteme im Freiland.

Um es unabhängigen Experten zu ermöglichen, die Sicherheit dieser Pflanzen zu beurteilen, müssten zunächst entsprechende Daten im Rahmen eines EU-Zulassungsverfahrens vorgelegt werden. Ohne eine aussagekräftige Datengrundlage lässt sich die Sicherheit dieser Pflanzen nicht beurteilen. Zu berücksichtigen ist insbesondere, dass die genauen Mechanismen, die zur Veränderung der DNA führen, nicht bekannt sind.

Diese „neuen Techniken“ von der Regulierung durch das Gentechnikgesetz generell freizustellen, ist nicht vertretbar und würde zu erheblichen Risiken für Mensch und Umwelt führen. Betroffen von einer derartigen Freistellung wären nicht nur Pflanzen, sondern auch auf diese Weise manipulierte Nutztiere oder Insekten, die bereits im Versuchsstadium sind. Auch diese könnten damit ohne Risikoprüfung und Kennzeichnung Einzug in die Landwirtschaft halten.

Quellen:

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

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

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

Gibson, D. G., Glass, J. I., Lartigue, C., Noskov, V. N., Chuang, R. Y., Algire, M. A., Benders, G. A., Montague, M. G., Ma, L., Moodie, M. M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Garcia, N. A., Pfannkoch, C. A., Denisova, E. A., Young, L., Qi, Z. Q., Segall-Shapiro, T. H., Calvey, C. H., Parmar, P. P., Hutchison, C. A., Smith, H. O., Venter, J. C. (2010). Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome, *Science* DOI: 10.1126/science.1190719, Published Online May 20, 2010

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>

Pauwels, K., Podevin, N., Breyer, D., Carroll D., Herman P., (2013): Engineering nucleases for gene targeting: safety and regulatory considerations, *New Biotechnology* Volume 00, Number 00 August 2013

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/audirektion/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

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