

TEST
BIOTECH

Testbiotech e. V.
Institut für unabhängige
Folgenabschätzung in
der Biotechnologie

Warum die *Neue Gentechnik* strikt reguliert werden muss

Fragen, Antworten und wissenschaftliche Hintergründe zu CRISPR & Co

Warum die *Neue Gentechnik* strikt reguliert werden muss

Fragen und Antworten und wissenschaftliche Hintergründe zu CRISPR & Co

Ein Reader von Testbiotech, Oktober 2020

Abbildungen 2-6: Fachstelle Gentechnik und Umwelt / Timo Zett

Alle weiteren Abbildungen: Testbiotech / Timo Zett

Impressum

Testbiotech e.V.

Institut für unabhängige Folgenabschätzung
in der Biotechnologie

Frohschammerstr. 14

D-80807 München

Tel.: +49 (0) 89 358 992 76

info@testbiotech.org

www.testbiotech.org

Geschäftsführer: Dr. Christoph Then

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	4
Über Testbiotech	6
Wieso dieser Reader?	7
Hintergründe zur Neuen Gentechnik	8
1. Wie CRISPR & Co funktionieren	8
2. Die Gen-Schere umgeht die natürlichen Mechanismen der Genregulierung und Genomorganisation	9
3. Technische Potentiale	11
4. Kombination von alter und neuer Gentechnik	13
5. Unerwünschte Effekte	14
Infokasten: ‚Flexible Leitplanken‘ im Erbgut	16
Vier zentrale Fragen zur Regulierung der Neuen Gentechnik	18
Erste Frage: Was sind die Unterschiede zwischen NGT und herkömmlicher Züchtung?	18
Zweite Frage: Ist die NGT mit spezifischen Risiken verbunden?	19
Dritte Frage: Wie sollen NGT-Organismen im Rahmen der Zulassungsverfahren untersucht werden?	20
Vierte Frage: Wie können NGT-Organismen identifiziert werden?	21
Ein Blick über den Tellerrand: „Eingriff in die Evolution“	22
Anhang	24
Ausgewählte Beispiele	24
Ausgewählte Quellen	26
Glossar	27

Zusammenfassung

Dieser Reader bietet einen Überblick über wissenschaftliche Informationen, die für die gesetzliche Regulierung der ‚Neuen Gentechnik‘ entscheidend sind.

‚Neue Gentechnik‘ (NGT) – auch als ‚Genome Editing‘ oder ‚neue genomische Techniken‘ bezeichnet – eröffnet Möglichkeiten, die über die herkömmliche Züchtung und die ‚alte‘ Gentechnik hinausgehen. Wichtigstes Werkzeug der NGT ist die ‚Gen-Schere‘ (Nuklease) CRISPR/Cas. Die für spezifische Zielregionen im Erbgut designten Gen-Scheren werden im Labor synthetisiert und dann mit unterschiedlichen Verfahren in die Zellen von Pflanzen und Tieren eingebracht.

Nukleasen (Gen-Scheren) können, anders als physikalisch-chemische Mutagene, direkt in die biologischen Mechanismen der Vererbung eingreifen: Im Laufe der Evolution haben sich Mechanismen entwickelt, die bestimmte Regionen im Erbgut vor zu häufigen Mutationen schützen können. Sie sind sozusagen flexible Leitplanken der Evolution. Dies scheint insbesondere relevant für Gene, die für das Überleben einer Art besonders wichtig sind. Die Neue Gentechnik ist dazu gemacht, diese Schutzmechanismen zu umgehen. Insbesondere die Gen-Schere CRISPR/Cas macht so erstmals das gesamte Erbgut für technische Eingriffe und Veränderungen verfügbar. Auch Erbanlagen, die bisher durch Züchtung kaum beeinflussbar waren, können jetzt verändert werden. Organismen, die mit NGT entwickelt wurden, können auch dann tiefgreifende Veränderungen und neue Eigenschaften aufweisen, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt werden.

Aufgrund ihres technischen Potentials kann die NGT genetische Veränderungen (Genotypen) und biologische Eigenschaften (Phänotypen) herbeiführen, die sich von denen, die Evolution und herkömmliche Züchtung hervorgebracht haben, deutlich unterscheiden. Deswegen müssen die Risiken, die mit der Freisetzung und der Verwendung dieser Gentechnik-Organismen in Lebensmitteln einhergehen, in jedem Fall genau geprüft werden.

Mit Hilfe der NGT sollen – unter anderem in der Land- und Forstwirtschaft – innerhalb kurzer Zeiträume viele Pflanzen und Tiere mit neuen biologischen Eigenschaften in die Ökosysteme eingeführt werden. Beispiele sind Pflanzen, deren Inhaltsstoffe verändert sind, was oft auch ihre Wechselwirkungen mit der Umwelt (u.a. Bestäuber, Wildtiere und Bodenorganismen) beeinflusst. Manche Organismen sind so verändert, dass sie eine erhöhte ‚Fitness‘ aufweisen und sich deswegen schneller ausbreiten und andere Arten verdrängen können. Andere Projekte betreffen Honigbienen, die in ihrem Bestäubungsverhalten verändert und gegen Pestizide resistent gemacht werden. Die Erhöhung des Ertrags von Bäumen für die Forstwirtschaft ist ein weiteres Ziel der NGT-Anwendung. Zudem wird auch die gentechnische Veränderung von wildlebenden (nicht domestizierten) Organismen wie Korallen, Nagetieren, Fliegen oder auch Wildpflanzen erprobt. Würde eine große Anzahl derartiger NGT-Organismen innerhalb kurzer Zeiträume freigesetzt, könnten die Ökosysteme rasch überfordert und die biologische Vielfalt erheblich gefährdet werden.

Neben den beabsichtigten neuen Eigenschaften gibt es weitere Risiken, die mit der Einführung von NGT-Organismen in die Ökosysteme und Landwirtschaft einhergehen: Beim Einsatz der Gen-Scheren tritt ein breites Spektrum von spezifischen unbeabsichtigten Effekten auf. Diese werden u.a. durch die mehrstufigen Verfahren des Genome Editing verursacht, das oft auch mit Methoden der ‚alten‘ Gentechnik kombiniert wird. Weitere Ursache sind unbeabsichtigte Veränderungen im Erbgut, die durch die eingesetzten Werkzeuge wie der Gen-Schere CRISPR/Cas ausgelöst werden können. Es kann dadurch zu Umstrukturierungen des Genoms kommen, einschließlich des ungewollten Einbaus von zusätzlichen Gensequenzen. Häufig wird das Erbgut auch an Stellen verändert, die Ähnlichkeiten mit der eigentlichen Zielsequenz aufweisen und deswegen von der Gen-Schere ebenfalls geschnitten werden. Diese unbeabsichtigten Effekte können sich deutlich von

den genetischen Veränderungen unterscheiden, die durch die herkömmliche Züchtung entstehen und gehen daher mit spezifischen Risiken einher. Deswegen müssen alle Effekte, die durch das mehrstufige Verfahren der NGT verursacht werden, auch bei der Risikoprüfung einbezogen werden.

Gibt es keine ausreichende Regulierung der NGT, drohen Probleme wie in den USA: Dort wurden bis Oktober 2020 bereits etwa 80 NGT-Organismen von der Regulation ausgenommen. Es gibt aber keinen Zugang zu Daten und Informationen über die genaue Art der gentechnischen Veränderungen. Damit fehlen die Grundlagen für die notwendige Überwachung und Kontrolle und für eine unabhängige Überprüfung der Risiken.

Ohne eine ausreichende Regulierung der Neuen Gentechnik

- › sind erhebliche Schäden an der biologischen Vielfalt wahrscheinlich;
- › können sich bei der Produktion von Lebensmitteln unbemerkt Risiken einschleichen;
- › gibt es keine Möglichkeit, ausreichende Daten zur Überprüfung der Risiken durch unabhängige ExpertInnen zu bekommen;
- › können keine Maßnahmen gegen eine unkontrollierte Ausbreitung der Organismen ergriffen werden;
- › gibt es kaum Möglichkeiten zur Identifizierung und Rückverfolgung der Organismen sowie der aus ihnen hergestellten Produkte;
- › kann die gentechnikfreie Landwirtschaft und Lebensmittelproduktion nicht geschützt werden.

Fazit: Alle Organismen, deren Erbgut mit den Verfahren der Neuen Gentechnik in irgendeiner Weise verändert wurde, müssen einer Zulassungsprüfung unterzogen werden, wobei das jeweilige Verfahren der Ausgangspunkt der Prüfung ist. Die Notwendigkeit hierfür kann nicht auf die Organismen begrenzt werden, in deren Erbgut zusätzliche Gene eingefügt wurden. Wird die NGT nicht strikt reguliert, droht eine schnelle, unkontrollierte und massenhafte Freisetzung von Organismen mit Eigenschaften, die nicht durch die Evolution angepasst wurden. Das stellt eine erhebliche Gefahr für die Ökosysteme, die Land- und Forstwirtschaft und die Lebensmittelherstellung dar.



Über Testbiotech

Testbiotech ist ein unabhängiges Institut für die Folgenabschätzung im Bereich der Gentechnologie. Unsere Arbeit basiert strikt auf wissenschaftlichen Grundlagen und bewertet die verfügbaren Informationen aus der Perspektive des Schutzes von Mensch, Umwelt und Natur. Testbiotech ist frei von jeglichen Interessen an der Entwicklung, Anwendung und Vermarktung von gentechnisch veränderten Produkten. Wir haben langjährige Erfahrung mit der Risikoprüfung gentechnisch veränderter Organismen in der EU. Weitere Informationen finden sich in unseren Veröffentlichungen (www.testbiotech.org/en/publikationen).

Seit mehreren Jahren hat Testbiotech einen Schwerpunkt bei der Neuen Gentechnik. Wir waren an einem mit öffentlichen Geldern finanzierten Forschungsprojekt zu sogenannten Gene Drives beteiligt (www.genetip.de) und führen derzeit ein Projekt mit dem Titel ‚Horizon Scanning Biotechnologie‘ durch, das vom Bundesamt für Naturschutz (BfN) finanziert wird und sich mit ‚Synthetischer Biologie‘ und ‚Genome Editing‘ befasst (www.fachstelle-gentechnik-umwelt.de).

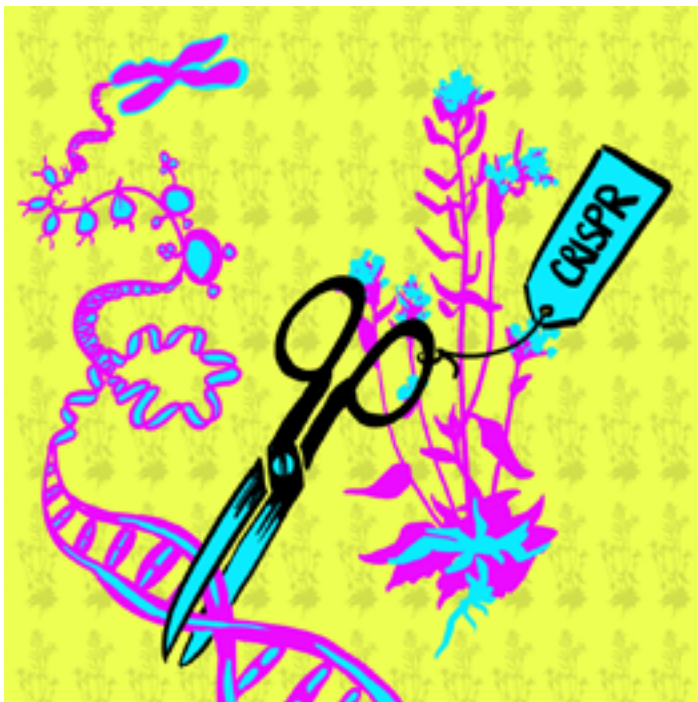


Abb. 1. An der Modellpflanze *Arabidopsis* (Ackerschmalwand) wurden viele Versuche zu Grundlagen der Vererbung, zu Genregulation, Genomorganisation und Veränderungen im Erbgut gemacht. Dabei zeigte sich: Es gibt mehrere natürliche Mechanismen, die wichtige Genregionen vor zu häufigen Mutationen schützen (siehe Kasten: ‚Flexible Leitplanken‘). Die Gen-Schere CRISPR/Cas ermöglicht es, diese Schutzmechanismen zu umgehen (Kawall, 2019).

Wieso dieser Reader?

Die Debatte um die Neue Gentechnik (NGT) – bekannt auch als Genome Editing oder ‚neue genomische Techniken‘, um die offizielle Sprachregelung der EU-Kommission zu verwenden – und ihre Regulierung nimmt in der EU an Fahrt auf. Die politischen EntscheidungsträgerInnen müssen sich sowohl mit deren Potentialen als auch ihren Risiken für Natur, Mensch und Umwelt befassen.

2012 führte die Entdeckung der CRISPR/Cas-Technologie zu einem Entwicklungsschub in der Gentechnik. CRISPR/Cas ist das wirkungsvollste Instrument einer ganzen Reihe von neuen gentechnischen Verfahren, die tiefgreifende Eingriffe in das Erbgut ermöglichen, auch wenn keine neuen Gene eingefügt werden (Testbiotech, 2020a).

Nach einem Urteil des Europäischen Gerichtshofes von 2018 unterliegen alle Organismen, die mit der Neuen Gentechnik verändert werden, der EU-Gentechnikgesetzgebung. Das Urteil stellt fest, dass die Risiken, die mit den neuen Techniken verbunden sind, denen ähnlich sind, die mit der Freisetzung von transgenen Organismen und der ‚alten‘ Gentechnik einhergehen. Daher können NGT-Organismen nur zugelassen werden, nachdem die Risiken für Mensch und Umwelt bewertet wurden.

Viele Akteure, die an der Entwicklung von NGT-Organismen beteiligt und oft auch an deren Vermarktung interessiert sind, bestreiten aber die Notwendigkeit für eine Zulassungsprüfung.

Dieser Reader gibt in zehn kurzen Kapiteln einen Überblick über Potentiale und Risiken der NGT, basierend auf der aktuellen wissenschaftlichen Literatur. Zum Teil wurden, wie z.B. bei den Infografiken 2–6, Inhalte der Fachstelle Gentechnik und Umwelt (<https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/>) übernommen. Um den Text besser lesbar zu machen, verweisen wir nicht auf jede einzelne Publikation. Diese können aber den genannten Quellen entnommen werden. Eine Ausnahme machen wir beim Thema Genomorganisation und Genregulierung: Hier gibt es viele aktuelle Publikationen, weswegen wir im Kasten ‚Flexible Leitplanken‘ relativ viele Quellen speziell zu diesem Thema angeben. Zudem gibt es am Ende ein Glossar, in dem hervorgehobene Fachbegriffe erklärt werden. Wiederholungen sind zum Teil unvermeidbar, da die vermittelten Inhalte aufeinander Bezug nehmen müssen. Darüber hinaus ist der Text strikt auf die zugrundeliegenden Fragestellungen ausgerichtet. Lediglich im Kapitel 10 wird die Perspektive etwas erweitert.

Im ersten Abschnitt (Kapitel 1–5) erklären wir einige grundlegende technische Hintergründe. Der zweite Teil (Kapitel 6–9) gibt Antworten auf Fragen, die im Hinblick auf die gesetzliche Regulierung der Neuen Gentechnik entscheidend sind, nämlich:

- › Was sind die Unterschiede zwischen NGT und herkömmlicher Züchtung?
- › Ist die NGT mit spezifischen Risiken verbunden?
- › Wie sollen NGT-Organismen im Rahmen der Zulassungsverfahren auf Risiken untersucht werden?
- › Wie können NGT-Organismen identifiziert werden?

Wir hoffen, dass dieser Text den LeserInnen hilft, sich in der kontroversen Debatte ein eigenes, sachlich fundiertes und differenziertes Urteil bilden zu können.

Hintergründe zur Neuen Gentechnik

1. Wie CRISPR & Co funktionieren

Die Neue Gentechnik verwendet Werkzeuge wie CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR associated), TALENs (Transcription activator-like effector nucleases) oder Zinkfinger-Nukleasen, um möglichst gezielt Veränderungen im Erbgut auszulösen. Diese Gen-Scheren oder Nukleasen können u.a. bei Zellen von Pflanzen, Tieren oder Menschen angewandt werden (Doudna & Sternberg, 2017).

Anders als beim Einsatz von physikalisch-chemischen Mutagenen (wie Bestrahlung oder chemische Substanzen) können die Nukleasen direkt in die biologischen Mechanismen der Zellen eingreifen und die im Laufe der Evolution entwickelten Mechanismen der Genregulation und Genomorganisation umgehen. Die Gen-Scheren (Nukleasen) sind Enzyme, das heißt Eiweißstoffe (Proteine), die die DNA schneiden können. Sie werden an eine Gen-Sonde gekoppelt, die sich an eine bestimmte Zielregion der DNA anlagern soll, bevor der eigentliche ‚Schnitt‘ erfolgt.

Auch die Gen-Schere CRISPR/Cas ist so aufgebaut: Sie besteht aus zwei Elementen, einer Schneide- und einer Erkennungskomponente (siehe Abb. 2). Durch die Erkennungskomponente, die Gen-Sonde (Guide RNA), wird die Schneidekomponente, die Gen-Schere Cas (Cas steht für CRISPR-assoziierte Nuklease), an die Zielsequenz im Erbgut gebracht und führt dort einen Bruch in der DNA-Struktur ein. Für diesen Zweck wird ein Teil der Gen-Sonde (die aus RNA besteht) spiegelbildlich zur Zielregion synthetisiert, so dass sie genau an diese binden kann.

Wenn die Nukleasen einmal in die Zellen eingeführt wurden, können sie Gene und deren Funktionen ausschalten (Knock-out) oder auch neue Genfunktionen einfügen. Es gibt auch Anwendungen, die nicht die DNA bzw. Gene selbst verändern, sondern ihre Expression (Aktivität) durch Eingriffe in die Epigenetik beeinflussen (Kawall et al., 2020).

Seit der Entdeckung und Beschreibung der Gen-Schere CRISPR/Cas in 2012 hat sich die Zahl der Anwendungen von Nukleasen deutlich erhöht (Modrzejewski et al., 2019), denn CRISPR/Cas ist deutlich flexibler und leichter anwendbar als andere Nukleasen wie TALENs oder Zinkfinger.

Die Anwendungen, bei denen die Gen-Scheren eingesetzt werden, können in unterschiedliche Kategorien eingeteilt werden: (1) Wenn keine zusätzliche DNA eingeführt wird, spricht man von zielgerichteten Nukleasen (bzw. site-directed nucleases, SDN) vom Typ 1 (SDN-1). Zu dieser Kategorie gehören die meisten der bisherigen Anwendungen an Pflanzen und Tieren. (2) Von SDN-2 spricht man, wenn kurze Genbausteine (Basenpaare) eingefügt werden, um die Funktion des ursprünglichen Gens zu verändern. (3) Wenn zusätzliche Gene eingefügt werden, spricht man von SDN-3-Verfahren.

Insbesondere SDN-1-Verfahren werden so angewandt, dass gleichzeitig oder auch in serieller Abfolge mehrere Gene in Kombination verändert werden (u.a. Multiplexing, siehe Testbiotech, 2020a und Abb. 4).

Aus der Anwendung von Werkzeugen wie CRISPR/Cas resultieren Muster der Genveränderung (siehe Abb. 4) und neue Genkombinationen (Genotypen), die bisher nicht möglich waren. Im Ergebnis weisen Organismen, die aus diesen Verfahren hervorgehen, auch dann tiefgreifende genetische Veränderungen auf, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden.

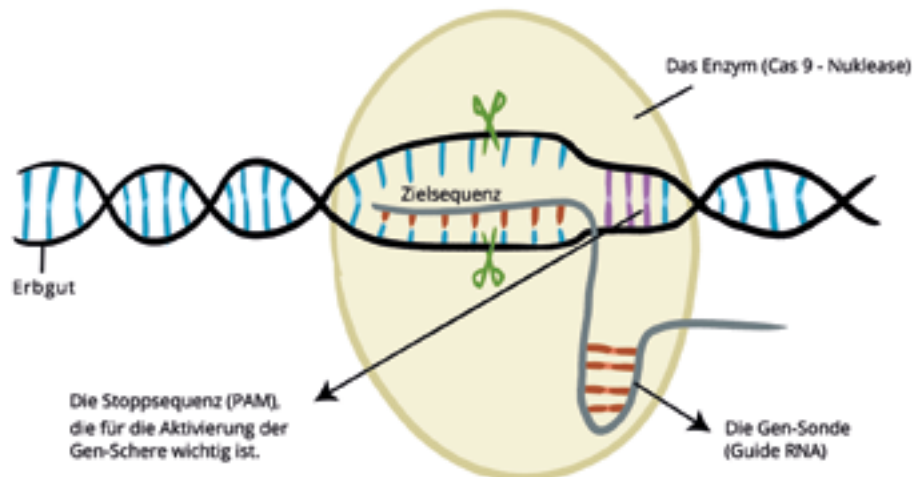


Abb. 2: Die Gen-Schere CRISPR/Cas bei der Arbeit. Cas9 wird durch eine spezifische Gen-Sonde (guide RNA) an die Zielsequenzen geführt und kann dort beide Stränge der DNA durchschneiden. Dabei fungiert die PAM (Protospacer Adjacent Motif)-Sequenz als anfängliche Erkennungsregion für das CRISPR/Cas-System. Passt die davor liegende Sequenz zur Gen-Sonde, wird Cas9 aktiv und schneidet dort.

2. Die Gen-Schere umgeht die natürlichen Mechanismen der Genregulierung und Genomorganisation

Um die Zielsequenz im Erbgut zu finden, durchsucht die Nuklease das gesamte Genom. Gelangt sie dabei an Stellen, für die sie durch die Gen-Sonde ‚programmiert‘ ist, lagert sie sich an und kann die DNA durchtrennen. Nun kommen Reparaturmechanismen der Zelle ins Spiel, mit denen diese Schäden an ihrer DNA reparieren kann. Oft wird dabei der ursprüngliche Zustand wiederhergestellt und eine dauerhafte Mutation vermieden. Diese Mechanismen samt Reparatur werden auch durch einen Schnitt der DNA durch die Gen-Schere ausgelöst, allerdings mit dem Unterschied, dass die Herstellung des ursprünglichen Zustands erschwert bzw. verhindert wird, weil die wiederhergestellte Gensequenz von der Gen-Sonde erneut ‚erkannt‘ und dann von der Nuklease erneut ‚geschnitten‘ werden kann.

Der Kreislauf aus Erkennen, Schneiden und Reparieren endet im Prinzip erst dann, wenn die DNA so verändert ist, dass sie nicht mehr als Zielsequenz erkannt wird. Typischerweise ist die DNA-Sequenz dann so verändert, dass ihre ursprüngliche biologische Funktion ‚ausgeschaltet‘ wurde (Knock-out). Die Gen-Scheren bewirken also, dass es für die Zellen kaum möglich ist, die ursprüngliche Funktion der Gene wiederherzustellen – anders als das natürlicherweise der Fall sein kann.

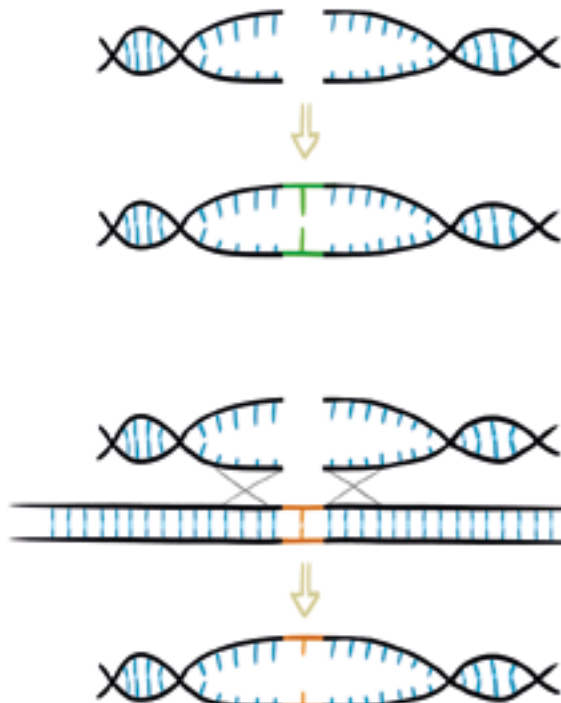
Es gibt weitere Unterschiede im Vergleich zu den natürlichen Mechanismen: Wie verschiedene Forschungsergebnisse zeigen, erfolgt das Auftreten von Mutationen im Erbgut nicht völlig zufällig (siehe Kasten: ‚Flexible Leitplanken‘). Mutationen, d.h. dauerhafte Veränderungen an der DNA-Sequenz, können sich spontan ereignen oder auch bei Pflanzen durch Hilfsmittel (Chemie oder Bestrahlung) ausgelöst werden. Dabei mutieren einige Gene aber viel häufiger als andere. Mechanismen, die das Auftreten von Mutation beeinflussen, sind unter anderem Reparaturprozesse: Bestimmte Gene werden (in Abhängigkeit von epigenetischen Markierungen) häufiger repariert als andere (Kawall, 2019). Und es zeigt sich, dass im Genom oft größere Abstände zwischen den Bereichen mit wichtigen Genfunktionen liegen. Diese Abstände und die Anordnung der Gene im Erbgut können die Häufigkeit von Mutationen beeinflussen (siehe Kasten: ‚Flexible Leitplanken‘), so dass diese nicht gleichmäßig

über das Genom verteilt bzw. nicht gänzlich zufällig sind. Auch die besonders bei Pflanzen sehr oft vorhandenen mehrfachen Genkopien tragen zur Stabilität des Erbguts bei: Geht eine Kopie verloren, kann eine andere die jeweilige Funktion weiter erfüllen.

Es wird angenommen, dass durch diese verschiedenen Mechanismen diejenigen Genregionen vor zu häufigen Mutationen geschützt werden, die für das Überleben ihrer Art besonders wichtig sind (siehe Kasten: ‚Flexible Leitplanken‘). NGT ist dazu gemacht, diese Regeln zu durchbrechen. Die Gen-Schere CRISPR/Cas macht das gesamte Erbgut gleichermaßen für gentechnische Veränderungen verfügbar (Kawall, 2019). Organismen, die aus diesen Verfahren hervorgehen, können daher auch dann tiefgreifende genetische Veränderungen aufweisen, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt werden.

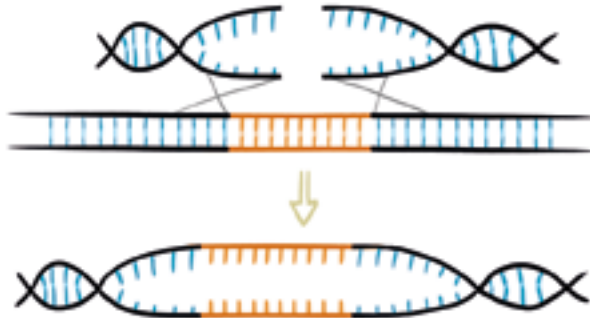
CRISPR/Cas kann natürliche Mechanismen der Genregulation und Genomorganisation bei Pflanzen und Tieren (inkl. Menschen), durch die besonders wichtige Gene vor zu häufigen Mutationen geschützt werden, umgehen. Zum ersten Mal wird das ganze Erbgut gleichermaßen für gentechnische Veränderungen verfügbar. Das unterscheidet die neuen gentechnischen Verfahren von ‚alter‘ Gentechnik und herkömmlicher Züchtung.

Abb. 3: Drei Varianten des Einsatzes der Gen-Scheren (site directed nucleases, SDN) für das zielgerichtete Schneiden von DNA



SDN-1: Schneiden der DNA ohne Einfügung von zusätzlicher DNA. Die Zellen reparieren die durchtrennten DNA-Stränge, dabei verhindert die Gen-Schere in der Regel, dass der ursprüngliche Zustand der Gene wieder hergestellt wird. Schafft es die Zelle, das Gen vollständig zu reparieren, wird die Gensequenz von der Gen-Sonde erneut ‚erkannt‘ und ‚geschnitten‘. Die Genfunktion kann so verloren gehen, das Gen wird ‚ausgeschaltet‘ (Knock-out). In der NGT wird diese Methode am häufigsten angewandt (siehe Beispiele ‚Scherenschnittmuster im Weizen‘, ‚CRISPR-Pilze‘ und ‚CRISPR-Leindotter‘).

SDN-2: Schneiden der DNA mit Funktionsänderung der Gene: Dabei werden einige ‚Buchstaben‘ der DNA gezielt ausgetauscht. Die betroffenen Gene haben dann eine neue Funktion (siehe Beispiel ‚Monarch-Fliege‘).



SDN-3: Schneiden der DNA mit Einfügung zusätzlicher Gene: Mit Hilfe der Gen-Schere können zusätzliche DNA-Sequenzen in das Erbgut eingefügt werden, die auch von anderen Arten stammen können.

3. Technische Potentiale

Deutlich werden die Potentiale der NGT unter anderem beim Einsatz an Nutzpflanzen: Viele Pflanzenarten haben ein sehr komplexes Erbgut mit mehrfachen Chromosomensätzen, vielen Genkopien und Genen, die für Züchter unerwünscht sind, aber stets gekoppelt, d.h. zusammen, mit den erwünschten Erbanlagen vererbt werden.

Zum Beispiel sind Nutzpflanzen wie Raps, Weizen, Kartoffeln, Baumwolle und Zuckerrohr polyploid, das heißt, sie weisen mehr als einen zweifachen Chromosomensatz auf. Zudem enthalten die Gene von Pflanzen oftmals viele kurze, sich wiederholende DNA-Sequenzen. Dadurch ist das Erbgut bei vielen Pflanzenarten insgesamt sehr groß. Diese Komplexität stellt eine besondere Herausforderung dar, wenn verschiedene Gene oder mehrere Genkopien in Kombination verändert werden sollen. In dieser Hinsicht sind Verfahren der herkömmlichen Züchtung, die unter Umständen auch Bestrahlung oder Chemie zur Mutagenese nutzen, deutliche Grenzen gesetzt: Die physikalisch-chemischen Mutagene rufen zwar viele genetische Veränderungen hervor, bewirken aber nicht die spezifischen Muster der genetischen Veränderung, die dann zu den erwünschten neuen Genkombinationen (Genotypen) führen.

Mit Werkzeugen wie CRISPR/Cas können jetzt auch komplexe Eingriffe vorgenommen werden, bei denen neue Kombinationen und Muster von genetischen Veränderungen erzielt werden, die bislang nicht möglich waren. Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer Erbanlagen) oder auch serielle Veränderungen (wiederholte Veränderung von Erbanlagen) ermöglichen ein Ausschalten von ganzen Gruppen von Genen. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn diese zu einer Genfamilie gehören, das Ziel können aber auch mehrere Gene mit unterschiedlichen Funktionen sein. Diese Verfahren wurden bereits bei mehreren Nutzpflanzen erprobt (Eckerstorfer et al., 2019).

Ein Beispiel: Im Weizen wurden mit CRISPR/Cas gleich 35 Varianten einer Genfamilie ‚ausgeschaltet‘ (Knock-out), die bestimmte Eiweiße (Gliadine) produzieren (siehe das Beispiel „Scherenschnittmuster im Weizen“ und Sanchez-Leon et al., 2018). Obwohl dabei keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden, stellt das Ausschalten von 35 Genen eine tiefgreifende Veränderung des Weizenerbgutes dar.

NGT kann auch die Probleme einer unerwünschten Koppelung genetischer Anlagen überwinden. Wenn beispielsweise Eigenschaften wie eine nicht erwünschte Form von Früchten mit der Anzahl der Früchte (dem Ertrag) gekoppelt ist, kann NGT verwendet werden, um diese Koppelung aufzubrechen, indem das nicht erwünschte Gen ‚ausgeschaltet‘ wird (Kawall, 2019).

Die spezifisch von CRISPR/Cas bewirkten komplexen und kombinierten Veränderungen des Erbguts können mit herkömmlicher Züchtung nicht erzielt werden. Deswegen fehlen auch Erfahrungen bei der Risikobewertung der entsprechenden Pflanzen und Tiere. Geeignete Methoden zur Risikobewertung der neuen Phänotypen, wie komplexe Veränderungen von Stoffwechselwegen und Inhaltsstoffen, müssen jetzt entwickelt werden.

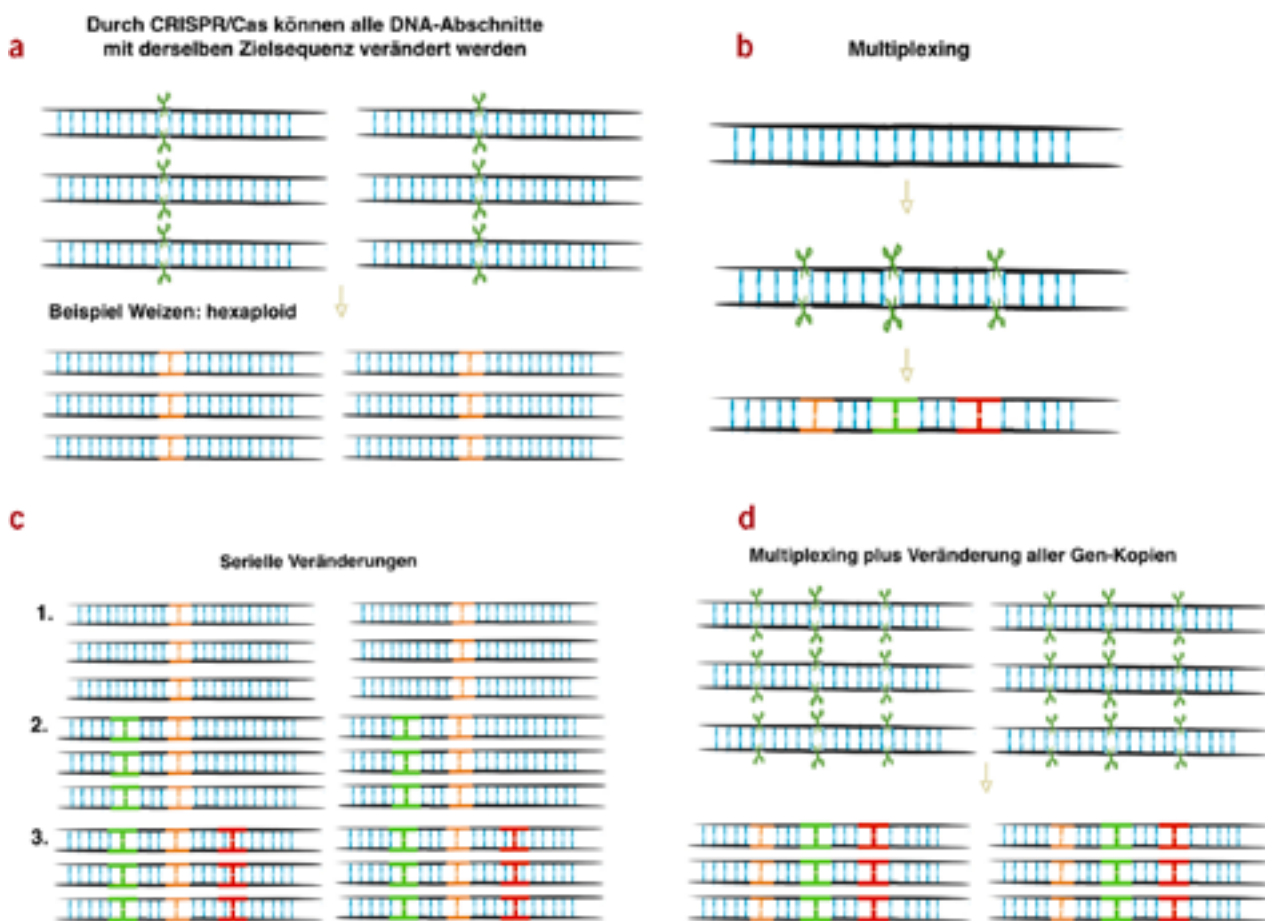


Abb. 4. Die Muster der gentechnischen Veränderungen durch Genom Editierung unterscheiden sich von denen, die aus der herkömmlichen Züchtung resultieren: (a) Mit der Gen-Schere CRISPR/Cas werden meistens mehrere spezifische Gen-Orte in Kombination verändert, denn in der Regel sollen alle Kopien eines Gens verändert werden. Genkopien sind vor allem in Pflanzen oft in größerer Anzahl vorhanden (siehe Beispiele ‚Scherenschnittmuster im Weizen‘ und auch ‚CRISPR-Pilze‘). (b) Die Gen-Schere lässt sich auch mit verschiedenen Gen-Sonden kombinieren, das heißt es können mehrere Zielorte und unterschiedliche Gene im Erbgut angesteuert werden (Multiplexing), siehe die Beispiele ‚Scherenschnittmuster im Weizen‘ und ‚CRISPR-Leindotter‘. (c) Zudem können Veränderungen auch in mehrfacher Folge (seriell) durchgeführt oder (d) gleichzeitig in einer Pflanze kombiniert werden (siehe Beispiel ‚CRISPR-Leindotter‘). Das Ergebnis sind oft Muster der genetischen Veränderung und neue Gen-Kombinationen (Genotypen), die durch herkömmliche Züchtungen nicht zu erreichen sind. Daraus resultieren neue biologische Eigenschaften (Phänotypen), deren Risiken im Detail untersucht werden müssen.

4. Kombination von alter und neuer Gentechnik

Die Anwendung von Nukleasen wie CRISPR/Cas ist insbesondere bei Pflanzen ein mehrstufiges Verfahren. Der technische Prozess kann in folgende Schritte unterteilt werden: (1) Das Einschleusen der Komponenten der Gen-Schere in die Zellen; (2) die Veränderung der Gene durch die Aktivierung der Gen-Schere; (3) die Regenerierung der Pflanze aus einzelnen Zellen (4) weitere Züchtungsschritte mit den Pflanzen, um transgenes Erbgut oder ungewollte Veränderungen wieder zu entfernen (Testbiotech, 2020a).

Vor allem die ersten beiden Schritte des Verfahrens müssen als mögliche Ursachen für Risiken angesehen werden. Der vierte Schritt versucht dagegen mögliche negative Folgen zu vermindern. Daher müssen alle Stufen des Verfahrens bei der Risikobewertung berücksichtigt werden.

Wie aus einer Liste von NGT-Pflanzen ersichtlich ist, die in den USA für eine mögliche Freisetzung beziehungsweise sogar Anbau zugelassen sind, wird in der Regel die ‚alte‘ Gentechnik eingesetzt (beispielsweise mittels ‚Genkanone‘, d.h. biolistischer Verfahren, oder dem *Agrobacterium tumefaciens*), um die Komponenten der Gen-Schere in die Zelle einzuschleusen (Testbiotech, 2020a). Dabei wird die DNA zur Produktion der Nuklease und der spezifischen Gen-Sonden sowie weitere Hilfssequenzen in das Erbgut der Pflanzen eingefügt, was – anders als bei der eigentlichen Veränderung der DNA – nicht gezielt erfolgt. Der Einbau dieser transgenen DNA ist notwendig, damit die Pflanzenzelle die Nuklease herstellt, die dann erst in einem nächsten Schritt die eigentlich gewünschten Veränderungen in der Zielregion herbeiführen kann. Das Ergebnis dieser ersten Verfahrensstufe ist eine transgene Pflanze, in deren Erbgut sich u.a. die DNA von Bakterien befindet, die für die Synthese der Gen-Schere notwendig ist.

Die Methoden der ‚alten‘ Gentechnik, bei denen u.a. die ‚Genkanone‘ oder das *Agrobacterium tumefaciens* zum Einsatz kommen, können komplexe ungewollte Veränderungen im Erbgut verursachen: den Einbau mehrerer Kopien (oder auch Fragmente) der Transgene, Umlagerungen von Genabschnitten und Veränderungen der Genregulierung (Kawall et al., 2020). Auch wenn die eigentlichen Transgene durch weitere Züchtung wieder aus den Zellen entfernt werden, können unbeabsichtigte Veränderungen in den Pflanzen überdauern. Falls die Transgene an verschiedenen Stellen im Erbgut eingebaut werden (was häufig der Fall ist), kann deren Entfernung durch weitere Züchtung besonders schwierig werden (Michno et al., 2020).

Es gibt Versuche, die Verfahren zur Einführung der Gen-Schere abzukürzen, um die Entstehung von transgenen Pflanzen auf der ersten Stufe des Verfahrens zu vermeiden. Bisher werden diese Verfahren aber nur selten eingesetzt. So können Vorstufen und einzelne Komponenten der Nukleasen auch außerhalb der Zelle produziert werden. Gelingt es, diese vorgefertigten Bestandteile in die Zellen einzuschleusen, werden sie aber relativ rasch abgebaut, noch bevor sie ihre Aufgabe erledigt haben. Anders ist die Situation in dem zuvor beschriebenen Fall, in dem die transgene Pflanzenzelle dazu gebracht wird, die Nuklease selbst und kontinuierlich zu produzieren.

Die Risikoprüfung muss den gesamten Prozess der Anwendung von NGT einbeziehen, um auch die Effekte und Risiken zu erfassen, die nicht auf die eigentlichen Aktivitäten der Gen-Schere zurückzuführen sind.

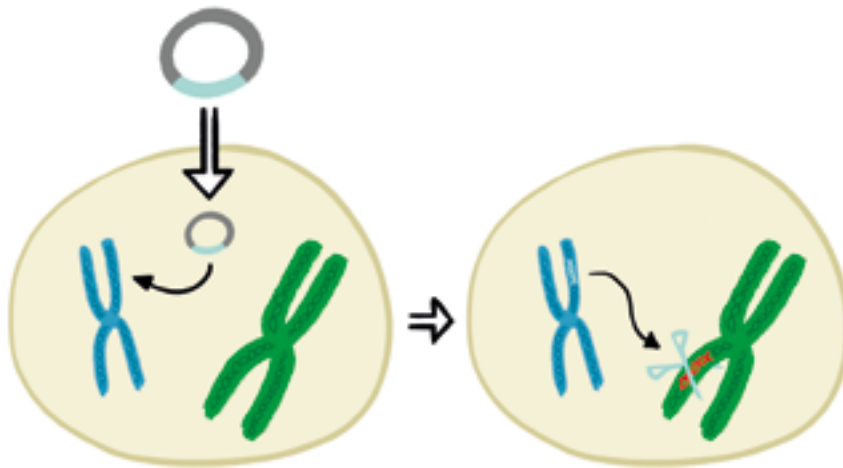


Abb. 5: Wie kommt die Gen-Schere in die Zellen? Die Gen-Schere wird bei Pflanzen häufig mit den Methoden der ‚alten‘ Gentechnik in die Zellen eingeführt: Zum Einsatz kommen biolistische Verfahren („Gen-Kanone“) oder auch das *Agrobacterium tumefaciens*. Die Genkonstrukte mit der Bauanleitung für die Nuklease werden dann oft in mehrfachen Kopien in das Erbgut der Pflanzen eingefügt, wobei man den genauen Ort der Insertion(en) nicht vorhersagen kann. Das Ergebnis ist eine transgene Pflanze. Danach wird die Gen-Schere von der Zelle produziert und kann in der eigentlichen Zielregion das Erbgut der Pflanze gezielt verändern (siehe Beispiele ‚Scherenschnittmuster im Weizen‘ und ‚CRISPR-Leindotter‘).

5. Unerwünschte Effekte

Der Einsatz der Gen-Schere führt oft zu unbeabsichtigten genetischen Veränderungen in der definierten Zielregion (on-target). Zudem treten aber auch an anderen Stellen im Erbgut nicht beabsichtigte und unerwünschte Effekte auf (off-target).

Ungewollte Effekte, die in der Zielregion der Gen-Scheren liegen (on-target) werden bei CRISPR/Cas sehr oft beobachtet. Unter anderem kommt es zu großen, strukturellen Umlagerungen der DNA und dem unbeabsichtigten Einbau von zusätzlichen DNA-Sequenzen (Kawall et al., 2020). Dabei können sowohl die Gene zur Bildung der Gen-Schere eingebaut werden (ohne dass dies beabsichtigt wäre) als auch Gene anderer Herkunft.

Veränderungen im Erbgut, die nicht in der Zielregion der Gen-Schere liegen (off-target) sind ebenfalls sehr häufig. Die Nukleasen können beispielsweise andere Stellen im Genom mit der eigentlichen Zielregion verwechseln. Off-Target-Effekte wurden bereits bei verschiedenen Nutzpflanzen wie Reis, Soja, Mais und Gerste und bei Tieren wie Schweinen, Mäusen und Ratten nachgewiesen (Kawall et al., 2020). Dadurch können beispielsweise ungewollte Eiweißstoffe produziert oder die Genregulation gestört werden, was dann zu Störungen im Stoffwechsel der Pflanzen und Tiere führen kann.

Zudem müssen auch unbeabsichtigte Effekte berücksichtigt werden, die durch die Anwendung von Verfahren der ‚alten‘ Gentechnik zur Einführung der Bestandteile der Nukleasen in die Zellen verursacht werden (siehe oben).

Zwei Beispiele: Im Fall von Sojabohnen wurde die DNA zur Produktion der Nuklease ungewollt in der Region eingefügt, in der die Nuklease schneiden sollte. Die Nuklease hat also nicht nur ein natürliches Gen stillgelegt, sondern bewirkt dabei auch, dass ihr eigenes Erbgut eingefügt wird. Dieses Erbgut fand sich zudem auch an anderen Stellen im Erbgut (Li et al., 2015). Bei Reis wurden große Umstrukturierungen des Genoms, einschließlich Deletionen oder unbeabsichtigte Insertionen von Genen in der Nähe der Zielsequenz beobachtet.

Außerdem wurden Off-Target-Effekte gefunden, die wahrscheinlich durch die Gen-Schere CRISPR/Cas verursacht wurden, weil es Ähnlichkeiten mit der eigentlichen Zielsequenz gab. Zudem fanden sich auch Teile des transgenen Genkonstrukts wieder, das als Hilfsmittel zur Einführung der eigentlichen Gen-Schere diente (Biswas et al., 2020).

Um die unerwünschten Effekte aufzuspüren, müssen spezielle Verfahren eingesetzt werden, mit denen das gesamte Erbgut und auch der Stoffwechsel der NGT-Organismen untersucht werden können: Mit den Verfahren des Whole Genome Sequencing werden nicht nur die Zielregionen, sondern auch andere Regionen des Erbgutes untersucht. Mit den Omics-Verfahren (u.a. Transcriptomics, Proteomics und Metabolomics) können ungewollte Veränderungen bei Genexpression oder Stoffwechsel erfasst werden.



„Flexible Leitplanken“ im Erbgut

Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen, dass das Auftreten von Mutationen nicht rein zufällig ist, sondern von Genregulation und Genomorganisation beeinflusst wird. Die Mutationshäufigkeit wird u.a. von der Zusammensetzung der Basenpaare (Weng et al., 2019), Histonmodifikationen (Lujan et al., 2015; Frigola et al., 2017; Belfield et al., 2018; Huang & Li, 2018) sowie dem Zustand des Chromatins (Gibcus & Dekker, 2013; Luo et al., 2014; Guo & Fang, 2014; Gonzalez-Perez et al., 2019) beeinflusst. Größere Abstände zwischen Genregionen führen dazu, dass Gene, die für den Erhalt der Art besonders wichtig sein können, seltener mutieren als andere (Fang et al., 2008; Boukas et al., 2020; Halstead et al., 2020; Monroe et al., 2020). Genregulation und Genomorganisation haben auch einen erheblichen Einfluss auf die Häufigkeit von Reparaturprozessen an der DNA (Belfield et al., 2018; Frigola et al., 2017; He et al., 2017; Kawall, 2019; Boukas et al., 2020; Monroe et al., 2020). Es zeigt sich also, dass das Auftreten von Mutationen nicht nur von Zufall und Selektion abhängt.

Weiterhin spielen insbesondere in der Genomorganisation von Pflanzen sogenannte Genduplikationen (Wendel et al., 2016; Gaines et al., 2019) eine wichtige Rolle. Dabei können einzelne Genabschnitte, größere Genabschnitte oder auch ganze Chromosomen dupliziert werden (Otto, 2007): So können biologische Eigenschaften wie Herbizidresistenzen verstärkt (Gaines et al., 2019) oder auch Backup-Funktionen etabliert werden (Jones et al., 2018).

Genregulation und Genomorganisation können auf diese Weise zwei wesentliche Funktionen erfüllen: Steter Wandel und (unter Umständen rasche) Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen auf der einen, Stabilität der Vererbung als Voraussetzung für das Überdauern der Arten auf der anderen Seite. Die Evolution erfordert einen Balanceakt zwischen Chaos und Ordnung, Veränderung und Stabilität. Mit Hilfe von Genregulation und Genomorganisation werden Mutationen „flexible Leitplanken“ gesetzt. Die Neue Gentechnik ist dazu gemacht, diese Leitplanken zu umgehen.

Belfield, E.J., Ding, Z.J., Jamieson, F.J.C., Visscher, A.M., Zheng, S.J., Mithani, A., Harberd, N.P. (2018)

DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. *Genome Research*, 28(1): 66-74.

<http://genome.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gr.219303.116>

Boukas, L., Bjornsson, H.T., Hansen, K.D. (2020) Purifying selection acts on germline methylation to modify the CpG mutation rate at promoters. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.04.187880> (version posted July 4, 2020)

Fang, G., Rocha, E.P.C., Danchin, A. (2008) Persistence drives gene clustering in bacterial genomes. *BMC Genomics* 9(1): 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-4>

Frigola J., Sabarinathan, R., Mularoni, L., Muiños, F., Gonzalez-Perez, A., López-Bigas, N. (2017) Reduced mutation rate in exons due to differential mismatch repair. *Nature Genetics*, 49: 1684-1692

<https://doi.org/10.1038/ng.3991>

Gaines, T.A., Patterson, E.L., Neve, P. (2019) Molecular mechanisms of adaptive evolution revealed by global selection for glyphosate resistance. *New Phytologist*, 223(4): 1770-1775. <https://doi.org/10.1111/nph.15858>

Gibcus, J.H. & Dekker, J. (2013) The hierarchy of the 3D genome. *Molecular Cell*, 49(5): 773-782.

<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.02.011>

- Gonzalez-Perez, A., Sabarinathan R., Lopez-Bigas N.** (2019) Local Determinants of the Mutational Landscape of the Human Genome. *Cell* 177(1): 101-114. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.051>
- Guo, T. & Fang, Y.** (2014) Functional organization and dynamics of the cell nucleus. *Frontiers in Plant Sciences*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00378>
- Halstead, M.M., Kern, C., Saelao, P., Wang, Y., Chanthavixay, G., Medrano, J.F., Van Eenennaam, A.L., Korf, I., Tuggle, C.K., Ernst, C.W., Zhou, H., Ross, P.J.** (2020) A comparative analysis of chromatin accessibility in cattle, pig, and mouse tissues, bioRxiv preprint (posted August 14, 2020). <https://doi.org/10.1101/2020.08.13.249870>
- He, Y., Wang, M., Dukowic-Schulze, S., Zhou, A., Tiang, C-L., Shilo, S., Sidhu, G.K., Eichten, S., Bradbury, P., Springer, N.M., Buckler, E.S., Levy, A.A., Sun, Q., Pillardy, J., Kianian, P., Kianian, S.F., Chen, C., Pawlowski, W.P.** (2017) Genomic features shaping the landscape of meiotic double-strand-break hotspots in maize. *PNAS*, 114(46): 12231-12236. <https://doi.org/10.1073/pnas.1713225114>
- Huang, Y. & Li, G.-M.** (2018) DNA mismatch repair preferentially safeguards actively transcribed genes. *DNA Repair*, 71: 82-86. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.08.010>
- Jones, D.M., Wells, R., Pullen, N., Trick, M., Irwin, J.A., Morris, R.J.** (2018) Spatio-temporal expression dynamics differ between homologues of flowering time genes in the allopolyploid *Brassica napus*. *The Plant Journal*, 96: 103-118. <https://doi.org/10.1111/tpj.14020>
- Kawall, K.** (2019) New possibilities on the horizon: genome editing makes the whole genome accessible for changes. *Frontiers in Plant Sciences*, 10: 525. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00525>
- Lujan, S.A., Clark, A.B., Kunkel, T.A.,** (2015) Differences in genome-wide repeat sequence instability conferred by proofreading and mismatch repair defects. *Nucleic Acids Research*, 43(8): 4067-4074. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv271>
- Luo, C., Dong, J., Zhang, Y., Lam, E.** (2014) Decoding the role of chromatin architecture in development: coming closer to the end of the tunnel. *Frontiers in Plant Sciences*, 5: 73. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00374>
- Monroe, J.G., Srikant, T., Carbonell-Bejerano, P., Exposito-Alonso, M., Weng, M.-L., Rutter, M.T., et al.** (2020) Mutation bias shapes gene evolution in *Arabidopsis thaliana*. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156752> (posted June 18, 2020)
- Otto, S.** (2007) The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell*, 131: 452-462. <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156752>
- Wendel, J.F., Jackson, S.A., Meyers, B.C., Wing, R.A.** (2016) Evolution of plant genome architecture. *Genome Biology*:17: 37. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0908-1>
- Weng, M.L., Becker, C., Hildebrandt, J., Neumann, M., Rutter, M.T., Shaw, R.G., et al.** (2019). Fine-grained analysis of spontaneous mutation spectrum and frequency in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 211(2): 703-714. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.301721>

Vier zentrale Fragen zur Regulierung der Neuen Gentechnik

Erste Frage: Was sind die Unterschiede zwischen NGT und herkömmlicher Züchtung?

Oft wird behauptet, der wesentliche Unterschied zwischen NGT und herkömmlicher Züchtung bestehe darin, dass NGT ganz gezielt das Genom verändere. Insbesondere im Vergleich zur herkömmlichen Mutagenese sei die Anzahl der Veränderungen im Erbgut höher als bei NGT. Dies führe dazu, dass NGT sicherer als herkömmliche Züchtung sei.

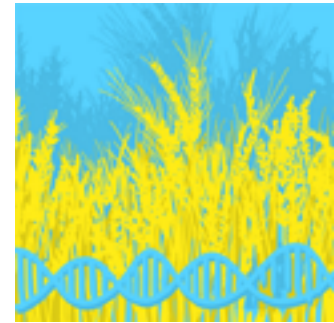
Doch diese Argumentation ist irreführend: Die Verfahren der physikalisch-chemischen Mutagenese, die schon seit fast 100 Jahren bekannt sind, werden eingesetzt, um die genetische Vielfalt in den Zellen zu erhöhen. Die gewünschten Eigenschaften werden dann durch weitere Kreuzung und Selektion durch den Züchter erzielt.

Eine große Vielfalt an genetischen Variationen als Ausgangspunkt ist notwendig und erwünscht, damit die Züchtung erfolgreich sein kann. Im Gegensatz dazu versucht die NGT möglichst gezielt, im Erbgut nur bestimmte Änderungen zu bewirken. Zusätzliche Veränderungen sind hier also grundsätzlich unerwünscht. Ausgelöst durch die technischen Verfahren, die bei NGT eingesetzt werden, können diese unerwünschten Effekte sehr spezifisch und daher auch für die Risikoabschätzung wichtig sein, während dies für die herkömmliche Mutagenese in der Regel nicht gilt.

Kurz gesagt, die reine Anzahl von genetischen Veränderungen ist kein geeignetes Kriterium, um konventionelle Züchtung und NGT miteinander zu vergleichen. Es geht vielmehr um die spezifische Qualität der Veränderungen:

Werkzeuge wie CRISPR/Cas sind biotechnologische Mutagene, die, anders als physikalisch-chemische Mutagene, direkt in die biologischen Mechanismen der Zellen eingreifen. Sie ermöglichen es, die natürlichen Schutzmechanismen der Zellen, der Genregulierung und Genomorganisation zu umgehen und machen das gesamte Erbgut für Veränderungen verfügbar (Kawall, 2019). Auch genetische Anlagen, die durch herkömmliche Züchtung oder ‚alte‘ Gentechnik kaum beeinflussbar waren, können jetzt gentechnisch verändert werden. Im Ergebnis entsteht ein spezifisches Muster der genetischen Veränderung wie bspw. beim CRISPR-Weizen, bei dem 35 Gene gleichzeitig und in Kombination verändert wurden (Sanchez-Leon et al., 2018): Selbst wenn durch herkömmliche Mutagenese Tausende von Genen im Weizen verändert werden, würde diese spezielle Kombination der Genveränderung in einer Pflanze nicht erreicht werden.

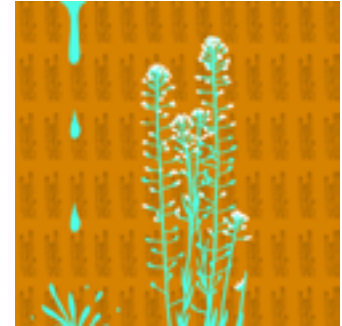
Der Einsatz von NGT führt typischerweise zu Mustern der genetischen Veränderung (Genotyp) und neuen biologischen Eigenschaften (Phänotypen), die über das hinausgehen, was bisher mittels Züchtung bei Pflanzen und Tieren möglich war bzw. in der Natur zu finden ist. Damit gehen auch neue Risiken einher.



Zweite Frage: Ist die NGT mit spezifischen Risiken verbunden?

Grundsätzlich müssen bei der Risikobewertung von NGT sowohl die technischen Verfahren als auch die resultierenden Organismen berücksichtigt werden (Kawall et al., 2020):

1. Um die Komponenten der Nukleasen (wie CRISPR/Cas) in die Zellen einzuschleusen, werden in vielen Fällen zunächst die Verfahren der ‚alten‘ Gentechnik eingesetzt. Erst auf einer zweiten Stufe wird die Gen-Schere von den Zellen produziert und kann in der eigentlichen Zielregion ‚schneiden‘. Dabei kann es zu vielen ungewollten Veränderungen des Erbgutes und der Genregulation kommen.
2. Der eigentliche Einsatz der Gen-Schere kann zu ungewollten On-Target- und Off-Target-Effekten führen, die für die jeweiligen Verfahren spezifisch sind. Diese werden ganz wesentlich von den technischen Details beeinflusst wie (i) der Nuklease und ihrer Gen-Sonde, (ii) dem jeweiligen Organismus, (iii) den ausgewählten Zielsequenzen (iv), der Art und Weise, wie die Nuklease in die Zellen eingeschleust wird, (v) der Menge der Enzyme (Nukleasen) in den Zellen und (vi) der Dauer der Einwirkung der Nuklease. Diese technischen Details der Verfahren müssen bei der Risikoprüfung berücksichtigt werden.
3. Die durch den Einsatz der Gen-Schere beabsichtigten genetischen Veränderungen weisen in der Regel ein besonderes Muster auf und bewirken eine neue Kombination von Erbanlagen. Diese unterscheiden sich typischerweise deutlich von den Ergebnissen der herkömmlichen Züchtung, auch wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden. Die dadurch bedingten biologischen Eigenschaften können mit erheblichen Risiken für Mensch, Umwelt und die Natur einhergehen.



Die Risiken sind vielfältig und betreffen die Ökosysteme, die Landwirtschaft und die Herstellung von Lebensmitteln. Einige Beispiele: Veränderungen in den Inhaltsstoffen von Pflanzen können Auswirkungen auf Wildtiere wie Säugetiere, Vögel oder Insekten und deren Nahrungsnetze haben. Veränderungen in den Inhaltsstoffen der Pflanzen können sich auch auf deren Interaktionen und Kommunikation mit der Umwelt auswirken. Diese Risiken betreffen beispielsweise Insekten (Bestäuber oder Nützlinge), Symbionten (wie assoziierte Mikroorganismen) oder auch ‚Schädlinge‘. Besondere Risiken sind mit Gentechnik-Organismen verbunden, die sich in der Umwelt ausbreiten können. Durch die vielfältigen und komplexen Wechselwirkungen mit der Umwelt können in den nächsten Generationen Risiken wie invasive Eigenschaften auftreten, die ursprünglich nicht zu erwarten waren. Deswegen sind in jedem Fall effektive Maßnahmen gegen eine unkontrollierte Ausbreitung zu ergreifen.

Die Notwendigkeit für eine Risikoprüfung nach dem EU-Gentechnikrecht ist bei NGT-Organismen auch dann gegeben, wenn in deren Erbgut keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden. Dabei muss der jeweilige technische Prozess als Ausgangspunkt der Risikoprüfung dienen.

Dritte Frage: Wie sollen NGT-Organismen im Rahmen der Zulassungsverfahren untersucht werden?

Um unerwünschte Effekte zu finden und Risiken zu bewerten, sind Daten über das eingesetzte Verfahren unverzichtbar. Deswegen schreibt das EU-Gentechnikrecht vor, dass die jeweiligen Prozesse zur gentechnischen Veränderung der Ausgangspunkt der Risikoprüfung sein müssen. Das Beispiel der „hornlosen Rinder“ illustriert das: Bedingt durch das eingesetzte Verfahren wurde unabsichtlich ein Antibiotikaresistenzgen in das Genom der Rinder übertragen (Norris et al., 2020). Dies wurde mehrere Jahre lang übersehen, während die Rinder bereits Nachkommen hatten und in den USA mehrfach als positives Beispiel für eine präzise Geneditierung präsentiert wurden.



Auch im Hinblick auf die beabsichtigten Veränderungen müssen geeignete Methoden zur Risikoprüfung angewandt werden, um die komplexen biologischen Auswirkungen zu bewerten. Deswegen sollten bei der Prüfung der Risiken u.a. folgende Bereiche berücksichtigt werden:

- › In Bezug auf die beabsichtigten Veränderungen müssen neue Methoden entwickelt werden, um neue Herausforderungen zu bewältigen. NGT zielt in vielen Fällen darauf ab, die Biologie von Pflanzen und Tieren grundlegend zu verändern. Es kann deswegen schwer oder unmöglich sein, geeignete Organismen zu finden, die eine Tradition der sicheren Nutzung haben, um sie mit den NGT-Organismen zu vergleichen. Für die Europäische Lebensmittelbehörde EFSA sind diese Vergleiche bisher aber die wichtigste Grundlage ihrer Risikoabschätzung („vergleichende Risikobewertung“).
- › Unter anderem sind Omics-Verfahren notwendig, um die ungewollten Veränderungen im Genom, im Transkriptom (Gesamtheit aller RNA-Moleküle), Proteom (Gesamtheit aller Eiweiße/Proteine) und Metabolom (alle Stoffwechselprodukte) abschätzen zu können.
- › Bewertet werden müssen alle gewollten und ungewollten Veränderungen im Erbgut, wie sie beispielsweise durch Verfahren der ‚alten‘ Gentechnik oder die Nukleasen selbst verursacht wurden. Dafür sollte das gesamte Genom durchsucht werden (Whole Genome Sequencing).
- › Falls in einzelnen Fällen angenommen wird, dass sich die Ergebnisse der NGT nicht von denen der herkömmlichen Züchtung unterscheiden lassen, sollten als Beleg entsprechende Vergleichsdaten vorgelegt werden, einschließlich der Ergebnisse des Whole Genome Sequencing.
- › Die gentechnisch veränderten Organismen sollten gezielten Stresstests unterzogen werden, um insbesondere ihre Reaktionen auf Umweltstress (z. B. Klimawandel) und Krankheitserreger zu testen.
- › Die Anwendung der NGT an Pflanzen und Tieren kann auch Veränderungen in der Zusammensetzung der mit ihnen eng verbundenen Mikroorganismen (assoziierte Mikrobiome wie bspw. Pilze und Bodenbakterien) auslösen. Dies kann erheblichen Einfluss auf die Gesundheit der Böden, Pflanzen, Tiere und Menschen haben und muss deswegen im Detail untersucht werden.
- › Bei Freisetzungen von Pflanzen sind die Auswirkungen auf die Nahrungsnetze einzubeziehen, ebenso auf Bestäuber, Nützlinge und geschützte Arten.
- › Es müssen wirksame Maßnahmen eingeleitet und Verbote erlassen werden, um einer unkontrollierten Ausbreitung der Organismen in der Umwelt vorzubeugen.

Zudem sollten

- › alle relevanten Genom-Daten, die Aufschluss über die genaue Veränderung geben, öffentlich zugänglich in Datenbanken gesammelt werden;
- › Kennzeichnung vorgeschrieben und Maßnahmen zum Schutz der herkömmlichen Produktion ergriffen werden, um die Wahlfreiheit für Züchtung, Landwirtschaft, Lebensmittelherstellung, Lebensmittelhandel und VerbraucherInnen zu sichern. Letzteres [etwas unklar, was mit Letzteres gemeint ist] ist bereits jetzt Bestandteil des EU-Gentechnikrechts.

Es ist wissenschaftlich unmöglich, Risiken von NGT-Organismen zu untersuchen, ohne vom jeweiligen Verfahren auszugehen. Zudem müssen neue Methoden zur Risikoprüfung entwickelt werden, um die beabsichtigten und die unbeabsichtigten biologischen Veränderungen bewerten zu können.

Vierte Frage: Wie können NGT-Organismen identifiziert werden?

Da die Anwendung von Nukleasen wie CRISPR/Cas in den meisten Fällen typische Muster im Erbgut hinterlässt, können diese auch für die Identifizierung und Rückverfolgung entsprechender Organismen genutzt werden.

Auf diesen Sachverhalt weist auch eine Publikation hin, die gemeinsam vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) und dem US-Konzern DowDuPont (Duensing et al., 2018) verfasst wurde. Hier heißt es: „*Genome Editing kann dazu verwendet werden, ein bestimmtes Gen zu verändern. Jedoch liegen bei Pflanzen nur wenige Gene nur in einer Kopie vor. (...) Genome Editing ist dazu in der Lage, Gene auszuschalten, die in mehreren Kopien vorliegen. Immer dann, wenn in einer Pflanze mehrere Kopien eines Gens auf dieselbe Weise ausgeschaltet wurden, ist es also fast sicher, dass Genome Editing verwendet wurde.*“



Dadurch lassen sich in der Regel die entsprechenden Pflanzen eindeutig identifizieren: „*Für die meisten Produkte, die aus Genome Editing hervorgegangen sind, gibt es eine klare Signatur in der DNA, zum Beispiel die genaue Länge der entfernten Gensequenzen. Wenn diese Signatur vom Entwickler angegeben wird, kann die gleiche PCR-Technologie, die bisher zum Nachweis von gentechnisch veränderten Pflanzen verwendet wurde, in den meisten Fällen auch zum Aufspüren und Monitoring von genomeditierten Produkten verwendet werden.*“

Die Identifizierbarkeit der NGT-Organismen wird auch am Beispiel des sogenannten ‚nicht bräunenden Pilzes‘ deutlich (Waltz, 2016): In diesem Fall wurden mehrere Kopien eines Gens ausgeschaltet, die an der Produktion eines Enzyms beteiligt sind. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass so ein Pilz nie zuvor gezüchtet wurde.

Auch dann, wenn durch die NGT nur punktförmige Veränderungen in der DNA-Sequenz hervorgerufen werden, können diese zur Identifizierung genutzt werden (Chhalliyil et al., 2020). Es ist aber bekannt, dass alleine auf der Grundlage von DNA-Analysen von Pflanzen aus ‚alter‘ und neuer Gentechnik oft nicht zu erkennen ist, mit welchem Verfahren sie genau bearbeitet wurden. Deswegen sieht das EU-Recht für alle Gentechnik-Organismen verpflichtend vor, dass im Rahmen des Zulassungsverfahrens auch geeignete Methoden zur Identifizierung der Organismen zur Verfügung zu stellen sind.

Das spezifische Muster der genetischen Veränderung als auch einzelne DNA-Sequenzen können zur Identifizierung der NGT-Organismen genutzt werden. Daher muss sichergestellt werden, dass entsprechende Daten im Rahmen der Zulassungsprüfung von den Firmen zugänglich gemacht werden.

Ein Blick über den Tellerrand: „Eingriff in die Evolution“

Ein Blick über den Tellerrand: „Eingriff in die Evolution“

CRISPR/Cas wurde ursprünglich in Bakterien entdeckt, es dient dort als natürlicher Abwehrmechanismus gegenüber Viren und wurde dann für biotechnologische Anwendungen im Labor angepasst. Dabei wurde das CRISPR/Cas-System aus ihrer ursprünglichen Funktion in Bakterien herausgelöst, um damit das Erbgut von Pflanzen, Tieren oder auch Menschen zu verändern. In der Form, in der CRISPR/Cas in der Gentechnik eingesetzt wird, kommt es also natürlicherweise nicht vor.

Die Anwendungen der NGT beschränken sich nicht auf die Landwirtschaft oder das Labor. Stattdessen zielen immer mehr Projekte auch auf wildlebende Populationen wie Insekten, Nagetiere und Bäume ab, die Teil von komplexen Ökosystemen sind. Wie Jennifer Doudna, Mitentwicklerin von CRISPR/Cas, in ihrem Buch „Eingriff in die Evolution“ (2019) schreibt, können die Verfahren der NGT und insbesondere das Werkzeug CRISPR/Cas den natürlichen Prozessen der Evolution, wie sie sich über Milliarden Jahren ereignet haben, ein Ende setzen: *„Die Zeiten, in denen das Leben ausschließlich durch die schwerfälligen Kräfte der Evolution geprägt wurde, sind vorüber. Wir stehen an der Schwelle zu einem neuen Zeitalter, in dem wir die Herren über die genetische Ausstattung allen Lebens und all ihre vielfältigen, lebensprühenden Folgen sind. Schon jetzt ersetzen wir das taube, dumme, blinde System, das über die Erdzeitalter hinweg das genetische Material auf unserem Planeten geformt hat, durch ein System der bewussten, absichtsvollen, von Menschen gelenkten Evolution.“*

Ähnlich spricht George Church (Church & Regis, 2012), ein anderer führender Experte im Bereich Neue Gentechnik davon, dass *„das Ende vom Anfang“* gekommen sei. Tatsächlich stammen bisher alle Lebensformen von natürlichen Vorfahren ab (der ‚Urzelle‘) und wurden nicht vom Menschen technisch designt. Die natürlichen Mechanismen der Genregulation, Genomorganisation und Fortpflanzung, so wie sie während der Evolution als flexible Leitplanken entwickelt wurden, gelten daher für alle Arten, unabhängig davon, ob sie domestiziert wurden oder nicht. Erst durch den Einzug der Gentechnik werden diese Regeln grundlegend verändert.

Werden jetzt ‚Eingriffe in die Evolution‘ per Gentechnik propagiert, ist das Kriterium der ‚Natürlichkeit‘ für die Frage ihrer Regulierung wichtiger denn je. Die Menschheit hat die Natur bereits erheblich geschädigt: Große Teile der biologischen Vielfalt wurden vernichtet, Arten und ihre Lebensräume gehen verloren. Jetzt greift der Mensch noch zusätzlich in die biologischen Grundlagen der Vererbung ein und verändert das, was man die ‚Natur des Lebens‘ nennen könnte (Testbiotech, 2020b).

Auch die nachfolgenden Generationen haben ein Recht darauf, den natürlichen Artenreichtum und die biologische Vielfalt zu erleben und zu nutzen. So heißt es beispielsweise im deutschen Naturschutzgesetz (Artikel 1):

„Natur und Landschaft sind auf Grund ihres eigenen Wertes und als Grundlage für Leben und Gesundheit des Menschen auch in Verantwortung für die künftigen Generationen (...) so zu schützen, dass (1) die biologische Vielfalt (...), (3) die Vielfalt, Eigenart und Schönheit sowie der Erholungswert von Natur und Landschaft auf Dauer gesichert sind (...).“

Dieses Recht zukünftiger Generationen bedeutet auch, dass die natürlichen Populationen vor der unkontrollierten Ausbreitung gentechnisch veränderter Organismen geschützt werden müssen.

Besonders problematisch sind hierbei sogenannte Gene Drives, die ebenfalls mit Hilfe der NGT konstruiert werden (siehe Abb. 6). Mit deren Hilfe können sich gentechnische Veränderungen noch schneller in natürlichen Populationen ausbreiten, als das natürlicherweise zu erwarten wäre. Diese Genkonstrukte sollen u.a. bei Insekten (wie Fliegen und Mücken) oder Nagetieren (Ratten oder Mäuse) eingesetzt werden. Das Ziel ist, die jeweilige Art zu verändern oder sogar auszurotten. Einmal in Gang gesetzt, lässt sich der Vorgang nicht mehr verlässlich kontrollieren oder zurücknehmen. Die Schäden für Mensch, Umwelt und Natur können erheblich sein.

Die EU schreibt vor, dass Freisetzungen von gentechnisch veränderten Organismen nur dann erfolgen dürfen, wenn deren Sicherheit nachgewiesen ist und sie im Notfall wieder aus der Umwelt entfernt werden können. Beides ist z.B. im Falle von gentechnisch veränderten Gene-Drive-Mücken nicht gegeben. Generell können Freisetzungen von NGT-Organismen, deren Ausbreitung nicht ausreichend kontrollierbar ist, nicht genehmigt werden.

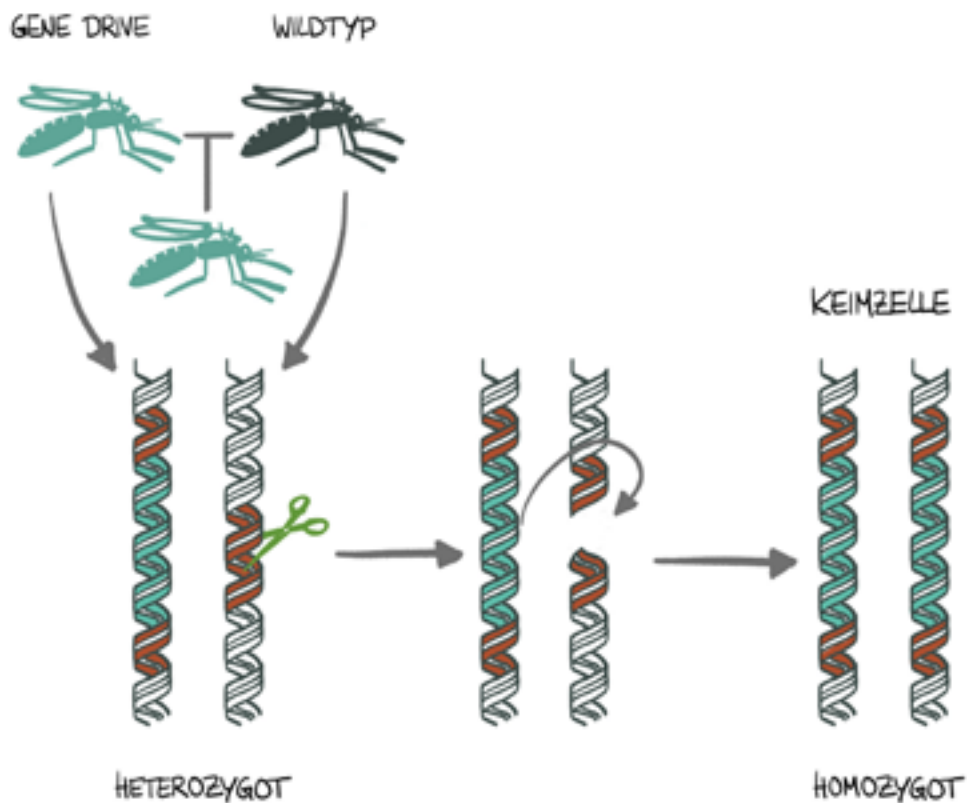


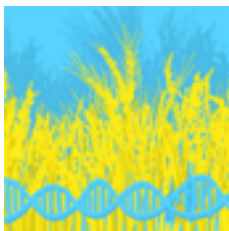
Abb. 6: Bei Gene Drives wird die DNA für die Gen-Schere CRISPR/Cas an die nächste Generation vererbt. Die Gen-Schere soll in jeder Generation erneut aktiv werden und so dafür sorgen, dass sich die gewünschten genetischen Veränderungen bei allen Nachkommen wiederholen und im Ergebnis reinerbig (homozygot) vorliegen. Dadurch wird die Ausbreitung der zusätzlichen Gene in Populationen wildlebender Tiere (u.a. Insekten und Nagetiere) erheblich beschleunigt. Das Ziel ist die Dezimierung, Ausrottung oder genetische Veränderung der betroffenen Art.

Anhang

Ausgewählte Beispiele

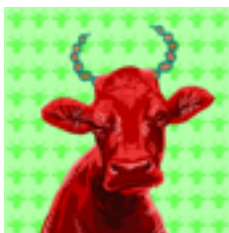
Testbiotech hat eine ganze Reihe von Beispielen aufbereitet, die die Potentiale und Risiken von NGT veranschaulichen. Sie zeigen: In jedem Fall müssen die genetischen und biologischen Eigenschaften von NGT-Organismen eingehend und unter Einbeziehung der jeweiligen Verfahren untersucht werden. Auch kleinste Eingriffe ins Erbgut können erhebliche Auswirkungen haben. Hier folgt eine kleine Auswahl. Weitere Informationen finden Sie unter www.testbiotech.org/gentechnik-grenzen.

Scherenschnittmuster im Weizen



GentechnikerInnen unter Beteiligung der US-Firma Calyxt (USA) haben im Weizen eine Gruppe von Gluten-Eiweißstoffen (Gliadine) ins Fadenkreuz genommen, die im Verdacht stehen, entzündliche Darmkrankheiten auszulösen (Zöliakie). Diese Gene kommen in einer großen Genfamilie vor, die oft in sogenannten Gen-Clustern (das heißt in vielen Kopien) an verschiedenen Orten im Genom vorliegen. Bisher war es mit herkömmlicher Züchtung nicht möglich, diese große Anzahl an Genen und Genkopien in einer bestimmten Sorte gleichzeitig zu verringern. Mit Hilfe der Gen-Schere CRISPR/Cas gelang es 2018 erstmals, einen großen Teil dieser Gene auszuschalten: 35 von 45 Genen, die Gliadine produzieren, wurden so ‚ausgeknipst‘. In der Folge entsteht ein einzigartiges Muster der genetischen Veränderung im Weizen. Dieses kann auch unbeabsichtigt die Zusammensetzung weiterer Inhaltsstoffe beeinflussen.

Hornlose Rinder



Rinder wurden 2015/2016 mit NGT so verändert, dass ihnen keine Hörner mehr wachsen. Wie man erst 2019 feststellte, gelangte dabei aber auch DNA von Bakterien, die im Rahmen des Verfahrens eingesetzt wurden, in das Rindererbgut: Dabei wurden sogenannte Plasmide verwendet (ringförmig angeordnete DNA), die ursprünglich in Bakterien vorkommen. Aus ihnen werden im Labor Hilfsmittel zum Gentransfer (Vektoren) synthetisiert. Nachdem man die Kühe schon mehrere Jahre gehalten und als perfekte Beispiele für Anwendungen der neuen Gentechnik präsentiert hatte, fand man im Erbgut der Rinder vollständige Gensequenzen, die eine bakterielle Resistenz gegen Antibiotika vermitteln können. Wären diese Gentechnik-Rinder wie geplant zur Zucht eingesetzt worden, hätten sich die unerwünschten Gene rasch in Milchkuh-Herden verbreiten können, mit schwer abschätzbaren Folgen für die kommenden Generationen. Um derartige Risiken aufzuspüren, muss stets das Verfahren der gentechnischen Veränderung in die Prüfung einbezogen werden.

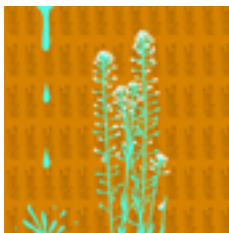
CRISPR-Pilze



In den USA wurden unter Einsatz neuer Gentechnikverfahren (CRISPR/Cas) Speisepilze so manipuliert, dass ihre Schnittflächen erst später braun werden und sie somit länger gelagert werden können. Dafür wird die Struktur eines bestimmten Gens in den Pilzen zerstört, das in mehreren Kopien vorliegt. Ein derartiges Muster von Genveränderungen würde spontan nicht auftreten. Für die zuständige US-Behörde APHIS reichte es für eine Freigabe im April 2016 aus, dass die EntwicklerInnen des

Pilzes behaupteten, dass sie keine zusätzliche DNA eingebaut hätten. Bis heute gibt es keine wissenschaftliche Publikation oder andere öffentlich verfügbare Informationen darüber, wie genau die Pilze in ihren Eigenschaften gewollt oder ungewollt verändert wurden. Ohne gesetzlich vorgeschriebene Zulassungsverfahren sind keine ausreichenden Daten verfügbar, um die Risiken des Verzehrs solcher gentechnisch veränderter Organismen abschätzen zu können.

CRISPR-Leindotter



Ein Fokus der NGT liegt auf der Produktion von Agro-Sprit. In den USA sind entsprechende Leindotterpflanzen, bei denen mit Hilfe der Gen-Schere CRISPR/Cas 18 Gen-Orte verändert wurden, bereits zur Freisetzung oder sogar zum Anbau freigegeben. Im Ergebnis zeigen diese Pflanzen ein Muster der genetischen Veränderung und Veränderungen der Ölqualität, die mit herkömmlicher Züchtung nicht oder allenfalls nur sehr schwer erreichbar wären – und das obwohl keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden. Leindotter gehört zu den ältesten Kulturpflanzen in Europa. Die Pflanzen können in der Umwelt überleben, sich vermehren und sich auch mit natürlichen Populationen kreuzen. Eine gesetzlich verpflichtende Zulassungsprüfung ist notwendig, um genaue Angaben über die gentechnischen Veränderungen zu erhalten. Ohne diese kann eine große Zahl von Organismen in die Umwelt gelangen und sich dort unbemerkt ausbreiten.

Die Monarch-Fliege



Ein Gen der Taufliege *Drosophila melanogaster* wurde mit der Gen-Schere CRISPR/Cas an ein ähnliches Gen des Monarchfalters *Danaus plexippus* angepasst. Durch die Veränderung von insgesamt nur vier Basenpaaren wurden die Taufliegen gegenüber Giften resistent, die von bestimmten Pflanzen gebildet werden. Dadurch können die Fliegen das Gift selbst unbeschadet aufnehmen, aber für ihre Fressfeinde giftig werden. Eine massenhafte Freisetzung solcher Fliegen könnte schwerwiegende Konsequenzen für die Nahrungsnetze und die Ökosysteme haben. Geringfügige Veränderungen an einem einzelnen Gen können also erhebliche Auswirkungen auf die Natur haben, auch wenn keine zusätzlichen Gene in das Erbgut eingefügt wurden.

Gene-Drive-Mücken



Mit NGT sollen auch wildlebende Populationen verändert werden. Dafür wurden sogenannte ‚Gene Drives‘ entwickelt, die es ermöglichen sollen, natürliche Populationen, z.B. ‚Schädlinge‘, auszutauschen, zu dezimieren oder auch auszurotten. Wesentliches Merkmal der Gene Drives: Sie können die Regeln der Vererbung nach Mendel umgehen. Die zusätzlich eingefügten Gene breiten sich dann schneller in der Population aus, als es natürlicherweise der Fall wäre. Eingesetzt werden soll die Technologie unter anderem an Fruchtfliegen, Mücken oder auch bei Nagetieren. Das Problem: Einmal freigesetzt, kann das Experiment kaum noch gestoppt werden. Freisetzungen von gentechnisch veränderten Organismen, deren Ausbreitung nicht kontrolliert werden kann, dürfen nach EU-Recht nicht zugelassen werden.

Ausgewählte Quellen

- Biswas, S., Tian, J., Li, R., Chen, X., Luo, Z., Chen, M., Zhao, X., Zhang, D., Persson, S., Yuan, Z., Shi, J.** (2020) Investigation of CRISPR/Cas9-induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. *Journal of Genetics and Genomics*, 47(5): 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.04.004>
- Chhalliyil, P., Ilves, H., Kazakov, S. A., Howard, S. J., Johnston, B. H., Fagan, J.** (2020) A real-time quantitative PCR method specific for detection and quantification of the first commercialized genome-edited plant. *Foods*, 9(9): 1245. <https://doi.org/10.3390/foods9091245>
- Church, G., Regis, E.** (2012) *Regenesis: How synthetic biology will reinvent nature and ourselves*. Basis Books, New York
- Doudna, J. & Sternberg S.H.** (2017) *A Crack in Creation: Gene editing and the unthinkable power to control evolution*. Houghton Mifflin, Boston, New York.
- Duensing, N., Sprink, T., Parrott, W.A., Fedorova, M., Lema, M.A., Wolt, J.D., Bartsch, D.** (2018) Novel features and Considerations for ERA and Regulation of Crops Produced by Genome Editing. *Front Bioeng Biotechnol*, 6: 79., <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00079>
- Eckerstorfer, M.F., Dolezel, M., Heissenberger, A., Miklau, M., Reichenbecher, W., Steinbrecher, R.A., Wassmann, F.** (2019) An EU perspective on biosafety considerations for plants developed by genome editing and other new genetic modification techniques (nGMs). *Front Bioeng Biotechnol*, 7: 31. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00031>
- Li, Z., Liu, Z.B., Xing, A., Moon, B.P., Koellhoffer, J.P., Huang, L., Ward, R.T., Clifton, E., Falco, S.C., Cigan, A.M.** (2015) Cas9-guide RNA directed genome editing in soybean. *Plant Physiol*, 169(2): 960-970. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00783>
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Krause, D., Kohl, C., Wilhelm, R.** (2019) What is the available evidence for the range of applications of genome-editing as a new tool for plant trait modification and the potential occurrence of associated off-target effects: a systematic map. *Environ Evid* 8(1): 27. <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5>
- Kannan, B., Jung, J. H., Moxley, G. W., Lee, S. M., Altpeter, F.** (2018) TALEN-mediated targeted mutagenesis of more than 100 COMT copies/alleles in highly polyploid sugarcane improves saccharification efficiency without compromising biomass yield. *Plant Biotechnol J*, 16(4): 856-866. <https://doi.org/10.1111/pbi.12833>
- Karageorgi, M., Groen, S.C., Sumbul, F., Pelaez, J.N., Verster, K.I., Aguilar, J.M., Hastings, A.P., Bernstein, S.L., Matsunaga, T., Astourian, M., Guerra, G., Rico, F., Dobler, S., Agrawal, A.A., Whiteman, N.K.** (2019) Genome editing retraces the evolution of toxin resistance in the monarch butterfly. *Nature*, 574(7778): 409-412. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1610-8>
- Kawall, K.** (2019) New possibilities on the horizon: genome editing makes the whole genome accessible for changes. *Front Plant Sci*, 10: 525. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00525>
- Kawall, K., Cotter, J., Then, C.** (2020) Broadening the EU GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in Agriculture. *Environ Sci Eur*, 32(1): 1-24. <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00361-2>
- Michno, J.M., Viridi, K., Stec, A.O., Liu, J., Wang, X., Xiong, Y., Stupar, R.M.** (2020) Integration, abundance, and transmission of mutations and transgenes in a series of CRISPR/Cas9 soybean lines. *BMC Biotechnol* 20:10, doi: [10.1186/s12896-020-00604-3](https://doi.org/10.1186/s12896-020-00604-3)
- Norris, A.L., Lee, S.S., Greenlees, K.J., Tadesse, D.A., Miller, M.F., Lombardi, H.A.** (2020) Template plasmid integration in germline genome-edited cattle. *Nat Biotechnol* 38 (2): 163-164. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0394-6>

Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C.V., Gimenez, M.J., Sousa, C., Voytas, D.F., Barro, F. (2018)

Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J* (2018) 16: 902-910.

<https://doi.org/10.1111/pbi.12837>

Testbiotech (2020a) Overview of genome editing applications using SDN-1 and SDN-2 in regard to EU regulatory issues.

www.testbiotech.org/node/2569

Testbiotech (2020b) Gentechnik gefährdet den Artenschutz. Warum die Ausbreitung gentechnisch veränderter

Organismen in den natürlichen Populationen verhindert werden muss. <https://www.testbiotech.org/node/2436>

Waltz, E. (2016) Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. *Nature*, 532: 293.

doi:10.1038/nature.2016.19754

Wilson, A.K., Latham, J.R., Steinbrecher, R.A. (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: Analysis and biosafety implications. *Biotech Gen Engineering Rev*, 23: 209-234.

<https://doi.org/10.1080/02648725.2006.10648085>

Glossar

Erstellt mit Unterstützung der Fachstelle Gentechnik und Umwelt

Agrobacterium tumefaciens

Das *Agrobacterium* ist ein Bodenbakterium, welches natürlicherweise Pflanzen infizieren und tumorartige Wucherungen bewirken kann. Das *Agrobacterium* wird von GentechnikerInnen als molekulares Werkzeug verwendet, um gentechnisch veränderte Pflanzen zu erzeugen. Die Anlage für die Wucherungen befindet sich auf einem Stück Extra-DNA, die ringförmig angeordnet ist (Plasmid). Diese wird bei der Infektion der Pflanze durch das Bakterium in die Zelle übertragen. Die sogenannte T-DNA (mit der Erbanlage für die Wucherungen) wird dann an einer beliebigen Stelle des Erbgutes eingebaut. WissenschaftlerInnen nutzen das Bakterium als Transportmittel, um fremde Gene, die sie in der T-DNA einbauen, in Pflanzen einzuschleusen. Die Erbanlagen für die Wucherungen werden ersetzt durch Gene, die in die pflanzlichen Zellen eingeschleust werden sollen.

„Alte“ Gentechnik

Der Begriff „alte“ Gentechnik bezieht sich auf bisherige Anwendungen der Gentechnik an Pflanzen. Er umfasst verschiedene Methoden (z.B. biolistische Verfahren oder Verwendung des *Agrobacterium tumefaciens*), mit denen es möglich ist, (Fremd-)DNA in Organismen bzw. Zellen einzuschleusen und in deren Erbgut einzubauen. Die Verfahren der „alten“ Gentechnik werden häufig eingesetzt, um die Werkzeuge der Neuen Gentechnik (Genome Editing) in die Zellen einzuschleusen.

Basenpaare

Basen sind organische Moleküle und die elementaren Komponenten der DNA und RNA. Sie werden häufig als die Buchstaben der DNA bezeichnet. Die Abfolge der Basen legt die Sequenz (den genetischen Code) der DNA fest. In der DNA werden die vier Nukleinbasen Adenin (A), Guanin (G), Cytosin (C), Thymin (T) verwendet. Als Basenpaare werden die jeweils gegenüberliegenden (komplementären) Basen (A und T sowie G und C) auf dem Doppelstrang der DNA bezeichnet.

Biolistische Verfahren

Biolistische Verfahren zählen zu den Methoden der alten Gentechnik. Dabei werden DNA-Teile auf kleine Kügelchen (meist Gold) aufgebracht und direkt in die Zelle beziehungsweise in den Zellkern geschossen. Die synthetischen DNA-Teile werden dann ungezielt und oft in mehreren Kopien (oder Fragmenten) im Erbgut eingebaut.

Biotechnologische Mutagene

Mit biotechnologischen Mutagenen kann gezielt in biologische Prozesse innerhalb einer Zelle, auf der Ebene des Erbguts oder der Genregulation eingegriffen werden. Das können insbesondere Nukleasen (Gen-Scheren) sein, die gezielt Veränderungen am Erbgut bewirken können.

Chromosomen

Stark verdichtete Form der DNA.

Chromosomensätze

Im Zellkern einer Zelle können die Chromosomen in mehreren Ausführungen vorliegen. Der Mensch hat beispielsweise einen doppelten Chromosomensatz mit 23 Chromosomen von der Mutter und 23 vom Vater.

CRISPR/Cas

CRISPR/Cas ist die Abkürzung für *Clustered regularly interspaced palindromic repeats/CRISPR associated*. CRISPR sind kleine Bereiche bakterieller DNA, die bei der Immunabwehr gegen eindringende Viren helfen. Cas ist die Schneidekomponente des CRISPR/Cas-Systems, die an der Zielregion der DNA den Doppelstrang schneidet. Das CRISPR/Cas-System wurde als molekularbiologische Technik aus den Bakterien übernommen und so verändert, dass damit im Labor auch das Erbgut von anderen Organismen wie Pflanzen und Tieren möglichst gezielt verändert werden kann.

DNA

DNA steht für Desoxyribonukleinsäure (**d**eoxyribo**n**ucleic **a**cid). Die DNA ist ein Makromolekül, das in der Abfolge der Basen genetische Information trägt. Sie besteht aus Nukleotiden. Die DNA liegt als Doppelstrang vor, der wie eine Helix gewunden ist.

Domestizierung

Pflanzen und Tiere wurden über viele Jahrhunderte hinweg vom Menschen gezüchtet, um sie insbesondere den Zwecken der menschlichen Ernährung anzupassen. Man spricht hier von Domestizierung.

Enzyme

Enzyme sind Proteine, die chemische Reaktionen in Zellen spezifisch beschleunigen. Sie werden deswegen auch als Bio-Katalysatoren bezeichnet.

Epigenetik

Die Epigenetik beschreibt Mechanismen und zum Teil auch vererbare Veränderungen am Erbgut, die nicht auf Veränderungen der DNA-Sequenz (Basenabfolge) beruhen. Durch die Epigenetik wird die Aktivität von Genen während der Prozesse der embryonalen Entwicklung in der Entwicklung von Lebewesen oder auch in Reaktion auf die Umwelt reguliert.

Epigenetische Markierungen

Epigenetische Markierungen bezeichnen kleine Anhängsel an der DNA selbst und auch an Proteinen, die an die DNA angelagert sind. Dadurch wird die Aktivität der Gene reguliert.

Gen

Als Gen wird ein Abschnitt der DNA bezeichnet, der Informationen für die Entwicklung von Eigenschaften eines Organismus trägt und zur Bildung von RNA dient, welche dann in ein Protein übersetzt wird.

Gen-Cluster

Als Gen-Cluster werden DNA-Bereiche zusammengefasst, in denen Gene in erhöhter Kopienzahl, oft zusammen an einem Gen-Ort, vorliegen

Gene Drives

Diese Technik sorgt dafür, dass sich Gene schnell innerhalb einer wilden Population ausbreiten. Dabei werden die genetischen Anlagen mit größerer Häufigkeit vererbt als dies sonst, gemäß der natürlichen Vererbungsregeln nach Mendel, der Fall ist. Gentechnisch konstruierte Gene Drives können die Vererblichkeit zur nächsten Generation auf bis zu 100 Prozent erhöhen.

Genexpression

Als Genexpression (Genexprimierung) wird das Ablesen von Genen bezeichnet (als Voraussetzung für Genaktivität).

Genfamilie

Gene, die sich in ihrer DNA-Sequenz und Funktion sehr ähnlich sind.

Genregulierung

Die Genregulation bezeichnet die Regulation des An- und Abschaltens von Genen, also die Steuerung der Genexpression insbesondere während der Entwicklung des Embryos und in Reaktion auf Umwelteinflüsse. Auch die Reparatur von Gensequenzen und andere Mechanismen der Genomorganisation werden über die Genregulierung beeinflusst.

Genkopien

Mehrere, identische DNA-Sequenzen eines Gens im Erbgut werden als Genkopien bezeichnet.

Genom

Das Erbgut oder Genom bezeichnet die Gesamtheit der DNA eines Individuums, die bei Pflanzen und Tieren im Zellkern zu finden ist. Zusätzlich zum Genom im Zellkern gibt es auch DNA in den Chloroplasten der Pflanzen und den Mitochondrien der Tiere.

Genome Editing

Genome Editing ist ein Synonym für Neue Gentechnik. Darunter werden molekularbiologische Techniken zusammengefasst, die zielgerichtet das Erbgut eines Organismus (u.a. Menschen, Tiere, Pflanzen) verändern sollen. Dazu zählen unter anderen die zielgerichteten Nukleasen (Gen-Scheren). Anders als bei transgenen Organismen müssen dafür nicht unbedingt Gene über die Artgrenzen übertragen werden. Wichtigstes Werkzeug ist die Gen-Schere Crispr/Cas.

Genkonstrukt

Im Labor synthetisierte DNA, enthält die genetische Information für die Ausprägung neuer biologischer Eigenschaften (oft Proteine, Enzyme). Zudem besteht sie typischerweise aus regulatorischen Sequenzen (Start und Stopp Signalen), sowie aus Elementen, die die Genaktivität verstärken (Promotoren). Oft werden Genkonstrukte in Plasmiden (sog. Vektoren) synthetisiert, die dann auch für den Transfer der Gene eingesetzt werden können.

Genomorganisation

Die Genomorganisation und die daran beteiligten Faktoren und Mechanismen beeinflussen die räumliche Anordnung der Gene und die Art und Weise, wie die DNA in den Zellen verpackt und in ihrer Gesamtheit strukturiert ist. Diese Strukturen, Mechanismen und Faktoren beeinflussen wiederum die Aktivität der einzelnen Gene und die Häufigkeit von neu auftretenden Mutationen. Zum Beispiel sind Genregionen, die für das Überleben der Art besonders wichtig sind, oft in räumlicher Distanz zu sogenannten ‚Hotspots‘, an denen Mutationen besonders häufig ausgelöst werden können, zu finden. Größere Abstände können diese Genregionen vor zu häufigen Veränderungen bewahren. Zusätzliche Genkopien schützen zusätzlich vor dem Verlust wichtiger biologischer Funktionen. Obwohl das Erbgut über die Generationen hinweg beständigen Veränderungen ausgesetzt ist, helfen diese Mechanismen, biologische Funktionen zu stabilisieren, die für die Erhaltung einer Art besonders wichtig sind.

Genotyp

Als Genotyp bezeichnet man das Zusammenwirken mehrerer Gene im Erbgut, die in ihrer Gesamtheit einen bestimmten Phänotyp hervorbringen.

Gen-Schere

Gen-Scheren sind Enzyme (Nukleasen). Der Begriff Gen-Schere wird häufig für die Nuklease CRISPR/Cas9 verwendet, um mit einem einfachen Wort deren Funktionsweise zu vermitteln. Andere Nukleasen sind TALENs oder Zinkfinger-Nukleasen. Die Gen-Schere schneidet an bestimmten Stellen des Erbgutes und bewirkt häufig eine Veränderung innerhalb einer Zielregion.

Gen-Sonde

Als Gen-Sonde wird auch die Guide-RNA bezeichnet, die das CRISPR/Cas-System an die zu verändernde Zielregion im Erbgut führt.

Gentechnik

Gentechnische Verfahren beruhen auf der Anwendung von im Labor hergestellten Molekülen (biotechnologischen Mutagenen). In der Regel bestehen diese Moleküle aus Nukleinsäuren (DNA oder RNA). Manchmal werden auch direkt Proteine (u.a. Nukleasen) verwendet. Diese Moleküle werden in Zellen eingeführt, um die biologischen Eigenschaften der daraus entstehenden Organismen, möglichst gezielt zu verändern. Um das Ziel zu erreichen, wird die DNA-Sequenz der Organismen oder auch deren Genexpression manipuliert.

Gliadine

Gliadine sind Proteine und Bestandteile von Gluten in Weizen und Roggen, die oft mit einer guten Backqualität in Verbindung gebracht werden. Sie sind verantwortlich für die Zöliakie (eine entzündliche Darmkrankheit) beim Menschen.

Guide-RNA

Die Guide-RNA ist ein kurzes RNA-Molekül, das das CRISPR/Cas-System an die zu verändernde Zielregion im Erbgut führt. Sie ist in der Lage, den Zielbereich auf der DNA zu erkennen, zu binden und die Gen-Schere in die richtige Position zum Schneiden zu bringen (siehe Gen-Sonde).

Herkömmliche/klassische Mutagenese

Bei der herkömmlichen Mutagenese werden in der Pflanzenzüchtung ionisierende Strahlen oder chemische Stoffe (physikalische und chemische Mutagene) verwendet, um Mutationen zu erzeugen. Dabei wird die spontane Mutationsrate im Erbgut und die genetische Vielfalt erhöht, die dann der Ausgangspunkt für die weitere Züchtung ist.

Herkömmliche Züchtung

Ziel der herkömmlichen (auch ‚konventionellen‘) Pflanzenzüchtung ist es, Eigenschaften von Pflanzen zu verändern bzw. zu verbessern. Dabei werden Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften ausgewählt, miteinander gekreuzt und die Tochterpflanzen dann mit den gewünschten Eigenschaften ausgelesen. Diese Tochterpflanzen können dann wiederum für den nächsten Züchtungszyklus verwendet werden. Um die genetische Vielfalt am Anfang des Auswahlprozesses zu erhöhen, werden oft physikalische oder chemische Mutagene eingesetzt.

Homologe Chromosomen

In den Zellen von höheren Pflanzen und Tieren liegen die Chromosomen in mehrfacher Ausführung vor. In der Regel in doppelter Form (diploid) und bei einigen Pflanzen in mehrfacher Ausführung (polyploid). Die homologen, gleichartigen Chromosomen passen in Form, Struktur und Genabfolge zueinander.

Knock-out

Bei einem Gen-Knock-out wird die Gensequenz im Erbgut eines Organismus verändert und damit das Abschalten des Gens bewirkt, so dass es nicht mehr exprimiert wird. Das entsprechende Protein kann dann nicht mehr gebildet werden.

Koppelung genetischer Anlagen

Wenn Gene räumlich nahe beieinander auf einem Chromosom liegen, werden sie oft gemeinsam vererbt, die genetischen Anlagen sind also miteinander gekoppelt.

Metabolomics

Bei den Verfahren der Metabolomics wird die Zusammensetzung aller Komponenten im Stoffwechsel (Stoffwechselprodukte) von Zellen und Geweben untersucht.

Mikrobiom

Das Mikrobiom von vielzelligen Organismen (Mensch, Tiere, Pflanzen) umfasst die Gesamtheit aller Mikroorganismen, die solch einen Organismus natürlicherweise besiedeln. Beim Menschen ist die Zahl der Mikroorganismen im Darm höher als die Zahl der Zellen des eigenen Körpers. Mikrobiome und ihre ‚Wirt‘ tauschen Nährstoffe und biologisch aktive Moleküle untereinander aus und können sich auch gegenseitig in ihrer Genregulierung beeinflussen.

Multiplexing

Durch die Verwendung von mehreren Guide-RNAs sind Eingriffe an mehreren verschiedenen Bereichen der DNA gleichzeitig möglich. Aber auch, wenn nur eine Guide-RNA verwendet wird, werden oft mehrere Gene auf einmal verändert, da Gene oft in mehreren Kopien im Erbgut vorhanden sind.

Mutagene

Substanzen, mit denen man das Auftreten von Mutationen im Erbgut verstärken kann. Dabei handelt es sich in der Regel um unspezifische Reize (Stressfaktoren) wie chemische Substanzen oder physikalische Strahlung. Dabei unterliegen die Veränderungen der DNA den Mechanismen der natürlichen Genregulation und Genomorganisation und können im Detail nicht vorhergesagt werden. Bei CRISPR/Cas spricht man auch von biologischen oder biotechnologischen Mutagenen, allerdings unterscheiden sich Werkzeuge in ihrer spezifischen Wirkung und Wirkungsweise deutlich von den herkömmlichen physikalisch-chemischen Mutagenen.

Mutagenese

Mutagenese beschreibt die Erzeugung von Mutationen am Erbgut von Lebewesen, wobei es jedoch wichtig ist zu unterscheiden, wie diese Mutationen entstanden sind: Auf der einen Seite treten Mutationen spontan auf; auf der anderen Seite werden Mutationen für Forschungs- oder Züchtungszwecke bspw. durch die Behandlung mit chemischen Substanzen oder physikalischer Strahlung herbeigeführt. Auch beim Einsatz von CRISPR/Cas spricht man manchmal von Mutagenese, allerdings unterscheiden sich diese biotechnologischen Verfahren in ihrer spezifischen Wirkung und Wirkungsweise deutlich von den herkömmlichen Mutagenese-Verfahren. Hier können auch Gene gezielt verändert werden, die sonst durch Genomorganisation und speziellen Reparaturmechanismen vor häufigen Veränderungen geschützt sind.

Neue Gentechnik (NGT)

Unter dem Begriff der Neuen Gentechnik werden Verfahren des Genome Editings (zum Beispiel CRISPR/Cas9, TALENs oder Zinkfinger-Nukleasen) zusammengefasst, mit denen zielgerichtet das Erbgut eines Organismus (u.a. Menschen, Tiere, Pflanzen) verändert werden soll.

Nukleasen

Nukleasen sind eine Gruppe von Enzymen, die Nukleinsäuren durchtrennen. Häufig zerschneiden sie beide Stränge der DNA und führen so einen Doppelstrangbruch herbei. Man spricht auch von Gen-Scheren.

Nukleotid

Ein Nukleotid ist aus drei Bestandteilen aufgebaut:

- Base – eine der fünf Basen, Adenin (A), Guanin (G), Cytosin (C), Thymin (T) (bei der DNA) oder Uracil (U) statt Thymin (bei RNA);
- Zucker – in diesem Fall ringförmig angeordnete C-Atome, klassifiziert als Ribose oder Desoxyribose;
- eine Phosphatgruppe.

Omics-Verfahren

Omics-Verfahren untersuchen die Gesamtheit bestimmter Komponenten der Zelle. In der Genomik wird beispielsweise die Gesamtheit der DNA untersucht, in der Proteomik die Gesamtheit aller Proteine innerhalb der Zelle.

On-target

On-target bezeichnet die Zielregion auf der DNA, welche durch zielgerichtete Nukleasen verändert werden soll.

Off-target

Als Off-target werden Bereiche des Erbgutes bezeichnet, die nicht an oder in direkter Nähe zur Zielregion der Nuklease liegen.

PCR-Technologie

Die PCR (Polymerase-Kettenreaktion) ist ein analytisches Verfahren im Labor, mit dem sich in relativ kurzer Zeit bekannte DNA-Sequenzen nachweisen lassen.

Phänotyp

Äußere Merkmal bzw. biologische Eigenschaften eines Organismus.

Physikalisch-chemische Mutagene

Physikalisch-chemische Mutagene sind äußere Einwirkungen, mit denen man das Auftreten von Mutationen im Erbgut verstärken kann. Dabei wird zwischen chemischen (bestimmte chemische Substanzen) und physikalischen (z.B. Strahlung) Mutagenen unterschieden.

Plasmid

Plasmide können zwischen den Bakterien zum Austausch genetischer Information verwendet werden. Es sind kleine, in der Regel ringförmige, sich selbst vervielfältigende doppelsträngige DNA-Moleküle, die insbesondere in Bakterien vorkommen, aber nicht in deren Chromosomen integriert sind. Plasmide können verschiedene Gene enthalten, z.B. solche, die eine Resistenz gegenüber Antibiotika vermitteln können. Diese Resistenzen können zusammen mit den Plasmiden zwischen Bakterien ausgetauscht werden. Eine besondere Art von Plasmiden stellen die sog. Ti-Plasmide (Tumor inducing) dar, die oft ein Bestandteil von bestimmten Bakterien (wie *Agrobacterium tumefaciens* oder *A. rhizogenes*) sind und von diesen in Pflanzen übertragen werden können. Plasmide sind wichtige Werkzeuge der Gentechnik. Sie werden in der Gentechnik auch als Vektoren bezeichnet und dazu benutzt, um Gene zu vervielfältigen oder auch zu übertragen. Das Ti-Plasmid wird dafür verwendet, um Gene in pflanzliche Zellen einzuschleusen. Ein Beispiel ist die Einführung des Bauplans für eine Gen-Schere in eine Zelle.

Polyplloidie

Polyplloidie bedeutet, dass in einem Organismus mehr als zwei Chromosomensätze im Zellkern vorhanden sind. Polyplloidie tritt häufig bei Pflanzen auf, wie zum Beispiel bei Weizen, der sechs Chromosomensätze besitzt und hexaploid ist.

Proteomics

Bei den Verfahren der Proteomics wird die Zusammensetzung aller Proteine in Zellen und Gewebe untersucht.

RNA

RNA steht für Ribonukleinsäure. Sie besteht ebenfalls aus Nukleotiden, allerdings enthält sie die Base Uracil anstelle von Thymin (Baustein der DNA). Bestandteil der RNA ist auch ein anderer Zucker als bei der DNA, nämlich Ribose statt Desoxyribose. RNA hat wichtige Funktionen als Bindeglied bei der Übersetzung von Genen in Proteine und besitzt zudem wichtige regulatorische Funktionen in der Zelle.

SDN

SDN steht für zielgerichtete Nuklease (engl.: *site directed nucleases*) und fasst damit Verfahren wie CRISPR/Cas9, TALENs und Zinkfinger-Nukleasen zusammen, die innerhalb einer Zielregion des Erbguts Veränderungen bewirken sollen.

SDN-1

Site directed Nuclease-1 (SDN-1) umschreibt molekulare Techniken, bei denen Nukleasen in eine Zelle eingeführt werden, welche einen Doppelstrangbruch an einer Zielsequenz der DNA bewirken. Durch diese Doppelstrangbrüche werden Reparaturmechanismen der Zelle aktiviert und es können Veränderungen in der Zielsequenz eingeführt werden. Es wird keine Vorlage für die Reparatur dieses Bruches mit in die Zelle eingebracht.

SDN-2

Im Unterschied zu SDN-1 werden bei der *Site directed Nuclease-2* (SDN-2)-Technik kleine DNA-Stücke (wenige Basenpaare), die im Labor hergestellt werden, mit in die Zelle eingeführt. Die DNA-Stücke dienen als Reparaturvorlagen für den Bereich des DNA-Bruchs. Damit ist es möglich, gezielte Veränderungen an der Zielsequenz einzuführen.

SDN-3

Es können auch große DNA-Stücke (z.B. ganze Genabschnitte) mit dem CRISPR/Cas-System in die Zelle eingeschleust und im Bereich des Bruches in der Zielsequenz gezielt eingebaut werden. Diese Art der Veränderung wird unter *Site directed Nuclease-3* (SDN-3) zusammengefasst.

Stoffwechsel

Der Stoffwechsel umfasst chemische Reaktionen in einem Organismus, die an Auf-, Ab- und Umbauprozessen der Zellen und Organe beteiligt sind.

Strang der DNA

Das Erbgut von Menschen, Tieren und Pflanzen ist aus zwei langen, fadenförmigen DNA-Molekülen (DNA-Stränge) aufgebaut, die miteinander durch Querverbindungen (Basenpaarung durch Wasserstoffbrückenbindungen) verbunden sind.

TALENs

TALENs sind Nukleasen (engl.: *Transcription activator-like effector nucleases*), welche zu den Verfahren der zielgerichteten Nukleasen und damit zum Genome Editing gezählt werden.

Transgene

Als Transgene werden Gene bezeichnet, die per Gentechnik und über die Artgrenzen hinweg übertragen werden.

Transgener Organismus

Als transgene Organismen werden Organismen bezeichnet, in deren Erbgut mit Hilfe der Gentechnik ein oder mehrere Gene eingefügt wurden, die nicht aus ihrer Art stammen.

Transgene Pflanze

Transgene Pflanzen tragen artfremde Gene in ihrem Erbgut, die durch gentechnische Methoden eingeschleust wurden.

Transkriptom

Die Gesamtheit aller RNA-Moleküle innerhalb einer Zelle bzw. in einem Gewebe.

Whole Genome Sequencing

Whole-Genome-Sequencing-Verfahren sind moderne DNA-Sequenzierungsverfahren, die das Entschlüsseln des gesamten Erbgutes mit der genauen Abfolge der Basen ermöglichen.

Zielregion

Die DNA-Sequenz, die durch zielgerichtete Nukleasen verändert werden soll, wird als Zielregion oder Zielort (target) bezeichnet. Sie wird beispielsweise im CRISPR/Cas-Verfahren durch die Gen-Sonde erkannt und anschließend durch die Gen-Schere geschnitten.

Zinkfinger-Nukleasen

Zinkfinger-Nukleasen werden zu den zielgerichteten Nukleasen gezählt. Der Zinkfinger bindet an eine bestimmte Zielregion der DNA, wo die Nuklease dann schneidet.

Zytogenetische Faktoren

Zytogenetische Faktoren beruhen auf Mechanismen und Prozessen der Epigenetik, der Genregulation und der Genomorganisation. Aufgrund verschiedener Forschungsergebnisse wird angenommen, dass diese Faktoren die Wahrscheinlichkeit für das spontane Auftreten von Mutationen beeinflussen können, so dass deren Häufigkeit nicht als rein zufällig angesehen werden kann.

