



# CRISPR/CAS9

Erbgut auf dem Schneidetisch

## Verfahren

Gezielter Eingriff  
ins Erbgut

## Gesetzgebung

Gentechnik  
ohne Gene?

## Ausblick

Was wir von CRISPR  
erwarten können



Antje Findekleer  
E-Mail: [findekleer@spektrum.de](mailto:findekleer@spektrum.de)

Liebe Leserin, lieber Leser,  
unser Erbgut verändert sich – ständig und meist unbemerkt. Diese Veränderungen macht sich der Mensch selbst schon lange zu Nutze: Jede Züchtung ist letztlich eine gezielte Manipulation des Genpools einer Population. Aber natürlich suchen Forscher nach möglichst gezielten Methoden, um schnell ans Ziel zu gelangen und Fehlschläge zu vermeiden.

Mit CRISPR/Cas9 ist die Gentechnik um ein erstaunlich günstiges und leicht anzuwendendes Werkzeug reicher, und entsprechend groß ist die Begeisterung unter Wissenschaftlern weltweit. Da das Verfahren zudem offenbar sehr exakt ist, könnte es vielleicht auch Kritiker besänftigen, die in derart direkt auf die Erbsubstanz wirkenden Methoden zu große Risiken sehen. Allerdings stellt es Gesellschaft und Gesetzgeber aber auch vor die große Frage, wie genau ein gentechnisch veränderter Organismus zu definieren ist – denn die Anwendung von CRISPR/Cas9 ist im Nachhinein nicht mehr nachzuweisen. Neben wissenschaftlicher Euphorie bleibt der ethische Aspekt daher noch ein großes Fragezeichen.

Eine spannende Lektüre wünscht Ihnen

Erscheinungsdatum dieser Ausgabe: 23.05.2016

Folgen Sie uns:



**CHEFREDAKTEURE:** Prof. Dr. Carsten Könneker (v.i.S.d.P.), Dr. Uwe Reichert  
**REDAKTIONSLEITER:** Christiane Gelitz, Dr. Hartwig Hanser, Dr. Daniel Lingenhöhl  
**ART DIRECTOR DIGITAL:** Marc Grove  
**LAYOUT:** Oliver Gabriel  
**SCHLUSSREDAKTION:** Christina Meyberg (Ltg.), Sigrid Spies, Katharina Werle  
**BILDREDAKTION:** Alice Krüßmann (Ltg.), Anke Lingg, Gabriela Rabe  
**PRODUKTMANAGERIN DIGITAL:** Antje Findekleer  
**VERLAG:** Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Tiergartenstr. 15-17, 69121 Heidelberg, Tel. 06221 9126-600, Fax 06221 9126-751; Amtsgericht Mannheim, HRB 338114, UStd-Id-Nr. DE147514638  
**GESCHÄFTSLEITUNG:** Markus Bossle, Thomas Bleck  
**MARKETING UND VERTRIEB:** Annette Baumbusch (Ltg.)  
**LESER- UND BESTELLSERVICE:** Helga Emmerich, Sabine Häusser, Ute Park, Tel. 06221 9126-743, E-Mail: [service@spektrum.de](mailto:service@spektrum.de)

Die Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH ist Kooperationspartner der Nationales Institut für Wissenschaftskommunikation gGmbH (NaWik).

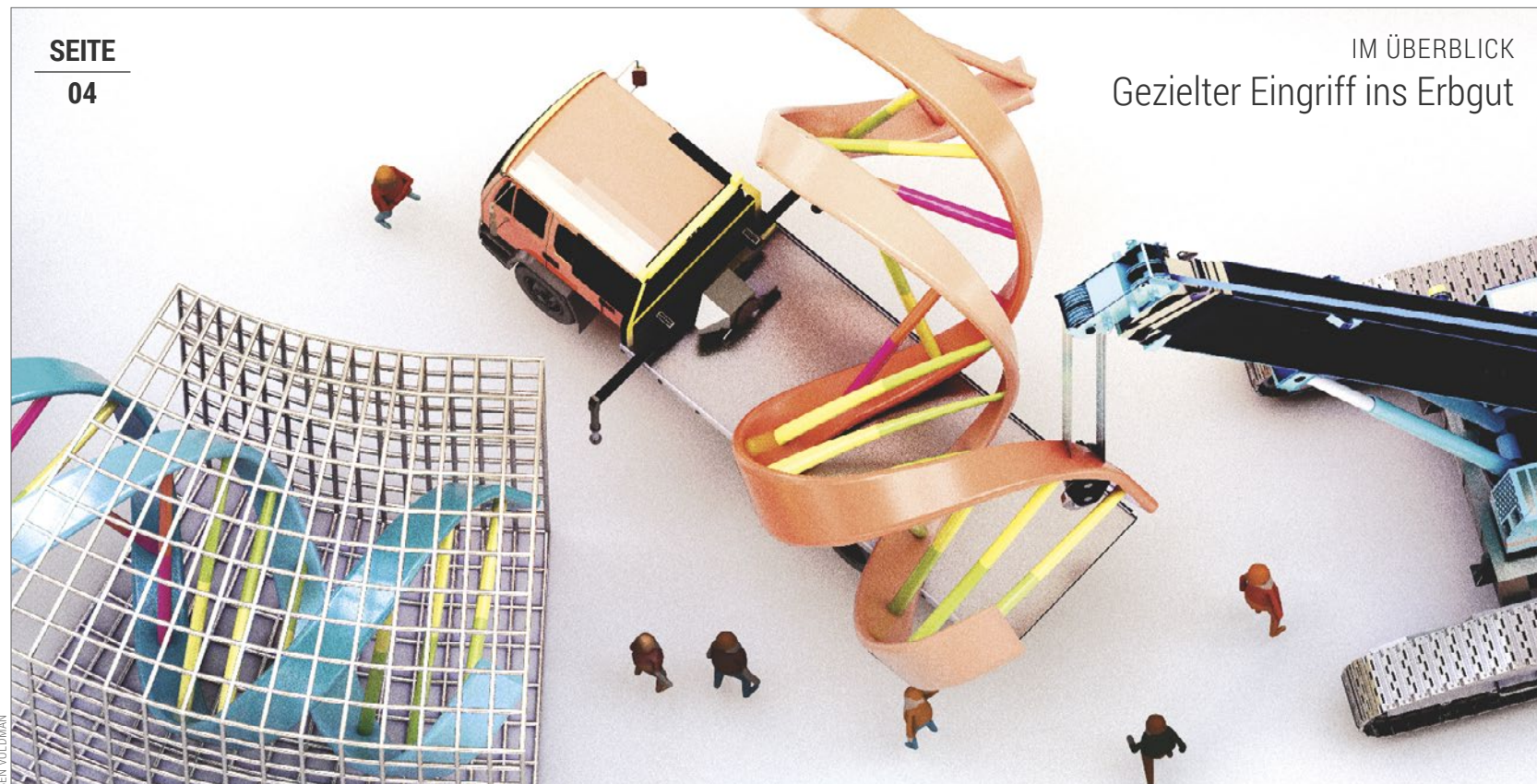
**BEZUGSPREIS:** Einzelausgabe € 4,99 inkl. Umsatzsteuer  
**ANZEIGEN:** Wenn Sie an Anzeigen in unseren Digitalpublikationen interessiert sind, schreiben Sie bitte eine E-Mail an [anzeigen@spektrum.de](mailto:anzeigen@spektrum.de).

Sämtliche Nutzungsrechte an dem vorliegenden Werk liegen bei der Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH. Jegliche Nutzung des Werks, insbesondere die Vervielfältigung, Verbreitung, öffentliche Wiedergabe oder öffentliche Zugänglichmachung, ist ohne die vorherige schriftliche Einwilligung des Verlags unzulässig. Jegliche unautorisierte Nutzung des Werks berechtigt den Verlag zum Schadensersatz gegen den oder die jeweiligen Nutzer. Bei jeder autorisierten (oder gesetzlich gestatteten) Nutzung des Werks ist die folgende Quellenangabe an branchenüblicher Stelle vorzunehmen: © 2016 (Autor), Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg. Jegliche Nutzung ohne die Quellenangabe in der vorstehenden Form berechtigt die Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH zum Schadensersatz gegen den oder die jeweiligen Nutzer. Bildnachweise: Wir haben uns bemüht, sämtliche Rechteinhaber von Abbildungen zu ermitteln. Sollte dem Verlag gegenüber der Nachweis der Rechteinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar nachträglich gezahlt. Für unaufgefordert eingesandte Manuskripte und Bücher übernimmt die Redaktion keine Haftung; sie behält sich vor, Leserbriefe zu kürzen.



SEITE  
04

IM ÜBERBLICK  
Gezielter Eingriff ins Erbgut



BEN VOLDMAN

SEITE  
59

MEDIZIN  
Umstrittener Eingriff ins  
embryonale Erbgut



ISTOCK / LUISMOLINA

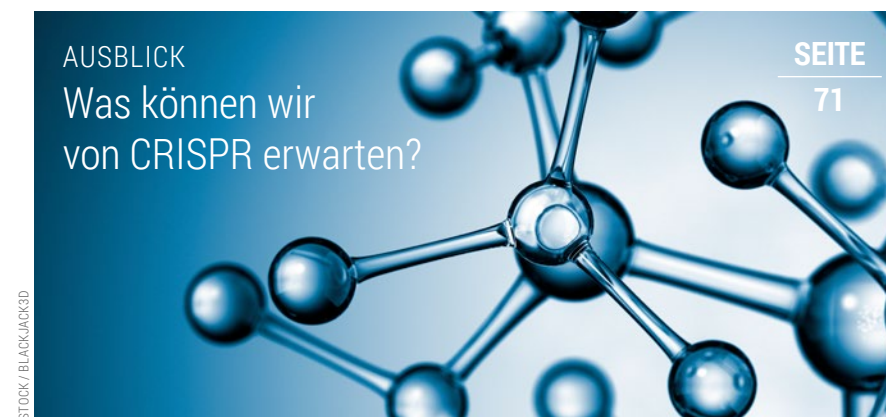
GENTHERAPIE-EXPERIMENT  
Forscher manipulieren Genom  
menschlicher Embryonen



FOTOLIA / INGENIUM-DESIGN.DE

SEITE  
63

AUSBLICK  
Was können wir  
von CRISPR erwarten?



ISTOCK / BLACKJACK3D

SEITE  
71

- 12 NEUE WERKZEUGE  
CRISPR verändert alles
- 23 GESETZGEBUNG  
Gentechnik ohne Gene?
- 28 ZELLANALYSE  
Die CRISPR-Welle
- 39 GRÜNE GENTECHNIK  
Gentechnik-Innovation auch  
für die Landwirtschaft
- 40 NAHRUNGSMITTEL  
CRISPR-Pilz darf ohne Auflagen  
in die Supermarktreale
- 42 MEINUNG  
Was wollen wir wirklich?
- 44 TRANSPLANTATION  
Spenderorgane aus dem Schwein
- 54 TROPENKRANKHEIT  
Gentechnisch manipulierte Mücken  
gegen Malaria
- 56 GENTECHNIK  
Werkzeug mit Selbstzerstörung
- 68 MEINUNG  
Wer hat Angst vorm CRISPR/Cas9-Baby?





IM ÜBERBLICK

# Gezielter Eingriff ins Erbgut

von Margaret Knox

Eine neue Methode, um DNA-Moleküle zu verändern, könnte die Medizin revolutionieren. Doch manche Wissenschaftler befürchten unkontrollierbare Entwicklungen.



**I**m Jahr 1973 zeigten der Genetiker Stanley Cohen und der Biochemiker Herbert Wayne Boyer, wie sich das Genom eines Lebewesens verändern lässt. Mit Hilfe von Restriktionsenzymen gelang es den beiden, Frosch-DNA in Bakterien einzuschleusen und dort ablesen zu lassen. Ende der 1970er Jahre produzierte Boyers Unternehmen Genentech bereits Insulin für Diabetiker, und zwar mit Hilfe gentechnisch veränderter *Escherichia-coli*-Bakterien, die künstlich hergestellte Sequenzen aus dem menschlichen Genom enthielten. Wenig später schufen Forscher am Salk Institute for Biological Studies im kalifornischen La Jolla die erste »transgene« Maus mit eingefügten artfremden Erbgutstücken.

Schon diese frühen Erfolge der Gentechnik hatten großen Einfluss auf die moderne Medizin. Allerdings unterlagen die damaligen gentechnischen Methoden zwei wichtigen Beschränkungen: Sie waren erstens ungenau und ließen sich zweitens nur schwer in großem Maßstab medizinisch anwenden. Das erste Problem überwandene Wissenschaftler in den 1990er Jahren, indem sie Enzyme mit gezielt angepassten Eigenschaften erzeugten, die DNA-Moleküle an

ganz bestimmten Stellen schneiden. Dazu mussten sie aber immer noch für jede DNA-Sequenz, die sie ins Visier nahmen, ein dazu passendes Enzym herstellen – eine Zeit raubende, mühsame Arbeit.

Das zweite Problem scheint nun ebenfalls vor einer Lösung zu stehen. 2012 stellten Wissenschaftler um Emmanuelle Charpentier (damals an der Universität Umeå, Schweden) und Jennifer Doudna von der University of California in Berkeley (USA) einen zelleigenen genetischen Mechanismus vor, der es ermöglicht, Genome so einfach und schnell wie noch nie zu verändern. Kurz darauf zeigten andere Forscher, dass man damit mehrere Veränderungen gleichzeitig im Genom einer Zelle vornehmen kann. Bereits jetzt hat diese Entwicklung den gentechnischen Fortschritt massiv beschleunigt, und sie wird sich wohl auch tiefgreifend auf die Medizin auswirken.

Bezeichnet wird die Technik meist als CRISPR/Cas9, wobei der Ausdruck CRISPR für »clustered regularly interspaced, short palindromic repeats« steht (deutsch: gehäuft auftretende, mit regelmäßigen Zwischenräumen angeordnete, kurze palindromische Wiederholungen). Das sind kurze, sich wiederholende DNA-Sequenzen im

AUF EINEN BLICK

## Revolution in der Gentechnik

- 1 Schon seit den 1970er Jahren verfügen Forscher über Werkzeuge, um die Genome von Lebewesen zu verändern. Doch die Methoden waren lange Zeit aufwändig, kostspielig und ungenau.
- 2 Ein neues Verfahren namens CRISPR/Cas9 erweist sich in der Gentechnik als revolutionär. Es basiert auf einem Immunabwehrmechanismus bei Bakterien und ist schneller, billiger und weniger kompliziert als frühere Techniken.
- 3 Unternehmen entwickeln bereits kommerzielle Anwendungen für CRISPR/Cas9, etwa neue Therapieverfahren für so unterschiedliche Krankheiten wie Aids und Schizophrenie. Die Methode macht es derart einfach, Genome zu verändern, dass Ethiker schon jetzt unkontrollierbare Folgen befürchten.



Erbgut von Bakterien und Archeen. Sie wechseln sich ab mit ebenfalls kurzen Zwischensequenzen, die ihrerseits übereinstimmen mit DNA-Bauplänen Bakterien infizierender Viren (Bakteriophagen). Mit Hilfe dieses Apparats »erinnern« sich Bakterien an Viren, von denen sie schon einmal attackiert wurden. Wissenschaftler untersuchen CRISPR-Sequenzen, seit japanische Forscher diese in den späten 1980er Jahren entdeckten. Doch welches machtvolles Werkzeug der Gentechnik darin schlummert, zeigte sich erst, als die Teams um Charpentier und Doudna auf ein Protein namens Cas9 stießen.

Charpentier, die heute am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig arbeitet, und Doudna lernten sich 2011 auf einer Konferenz in San Juan (Puerto Rico) kennen. Sie hatten viele Gemeinsamkeiten: Beide leiteten Arbeitsgruppen, die sich mit der Frage beschäftigten, wie Bakterien sich gegen Viren verteidigen. Und beide hatten herausgefunden, dass Bakterien angreifende Viren mit Hilfe eines molekularen »Gedächtnisses« identifizieren: Wenn die Mikroben ihr erstes Zusammentreffen mit einem Bakteriophagen überleben, bauen sie kurze Fragmente

aus seiner DNA in ihr Erbgut ein, und zwar zwischen ihre CRISPR-Sequenzen. Auf diese Weise legen Bakterien ein Archiv viraler DNA von früheren Eindringlingen an – und das hilft ihnen, die infektiösen Partikel wiederzuerkennen, sobald diese erneut auftauchen. Allerdings reicht das allein für eine erfolgreiche Virenabwehr nicht aus, die Bakterien benötigen weitere Komponenten hierfür. Und genau darum dreht sich die folgenden Studien Charpentiers und Doudnas.

Kurz nach der Tagung in San Juan entschlossen sich die beiden Forscherinnen, künftig zusammenzuarbeiten. Charpentier und ihre Mitarbeiter überprüften Hinweise, wonach Streptokokken (Bakterien der Gattung *Streptococcus*) ein Protein namens Cas9 benutzen, um eindringende Viren zu eliminieren. Doudnas Team hingegen widmete sich der Frage, wie Cas9 funktioniert.

### **Zerschnitten und wieder zusammengeflickt**

Es stellte sich heraus, dass Krzysztof Chylinski, ein Mitarbeiter Charpentiers, und Martin Jinek, damals in Doudnas Team, in benachbarten Städten aufgewachsen waren und denselben polnischen Dialekt

sprachen. »Sie konferierten über Skype, verstanden sich gut und tauschten von da an Daten und Ideen aus«, erzählt Doudna. »Die Zusammenarbeit unserer Gruppen nahm hierdurch deutlich an Fahrt auf.«

Den Wissenschaftlern beider Teams wurde schon bald klar: Cas9 könnte sich als nützliches Instrument zum Manipulieren des Genoms erweisen. Zwar gab es bereits gentechnische Werkzeuge in Form von Enzymen namens Nukleasen, die den DNA-Doppelstrang an bestimmten Stellen schneiden, worauf die zelluläre Maschinerie den Schnitt repariert und dabei manchmal genetisches Material einbaut, das zuvor in den Zellkern eingeschleust wurde. Doch als Doudna und Charpentier ihre Zusammenarbeit begannen, bestand der am weitesten entwickelte Ansatz darin, maßgeschneiderte Enzyme herzustellen, die den jeweils interessierenden DNA-Abschnitt selektiv durchtrennten. Jede genetische Modifikation benötigte also ein eigenes Enzym.

Das Streptokokken-Enzym Cas9 hingegen funktioniert anders, wie Doudna und Charpentier erkannten: Es begibt sich nicht von selbst zum jeweiligen Zielort auf der DNA, sondern wird von RNA-Molekülen



# So funktioniert CRISPR/Cas9

Streptokokken nutzen ein DNA-Archiv, um eindringende Viren zu zerstören. Ihr Genom enthält kurze, sich wiederholende Abschnitte, so genannte CRISPR. Dazwischen liegen DNA-Sequenzen, die mit denen von Viren übereinstimmen. Diese dienen als Vorlage für kurze RNA-Stücke, die eine Endonuklease namens Cas9 an die DNA eindrin-

gender Viren heranzuführen. Passt die Sequenz der Viren-DNA zu jener der RNA-Stücke, schneidet Cas9 an der entsprechenden Stelle und zerlegt damit die virale DNA. Dieses natürliche System kann man zweckentfremden, um beliebige Sequenzen aus beliebigen DNA-Molekülen zu schneiden. Man muss hierfür eine passende Leit-RNA

herstellen, die Cas9 an die gewünschte Stelle führt, was heute relativ einfach umzusetzen ist. Cas9 selbst als DNA-manipulierendes Enzym bleibt dabei unverändert – ein großer Vorteil gegenüber früheren Verfahren, die für jeden Eingriff die Herstellung eines spezifischen Enzyms erforderten.

1

Herstellung einer Leit-RNA mit Sequenzanteilen, die zur Zielsequenz passen (rot).

2

Bildung eines Komplexes aus Leit-RNA und der Endonuklease Cas9

Zielsequenz in der Zell-DNA

komplementäre Sequenz in der Leit-RNA

3

Einschleusen des CRISPR/Cas9-Werkzeugs in die zu manipulierende Zelle. Die Leit-RNA führt den Komplex an den Zielort im Genom heran.

4

Cas9 schneidet den DNA-Doppelstrang an der entsprechenden Stelle. Wenn der Zellapparat den Schnitt anschließend repariert, fügt er manchmal genetisches Material ein, das zuvor in den Zellkern eingebracht wurde.

künstlich eingebrachte DNA

DNA-Spaltung

CRISPR/Cas9-Werkzeug

maßgeschneiderte Sequenz

Cas9 (DNA-schneidendes Enzym)



dorthin geleitet – solchen RNAs nämlich, die durch Ablesen der CRISPR-Sequenzen und ihrer Zwischensequenzen entstehen. Der Komplex aus Cas9 und RNA gleitet dabei auf dem DNA-Strang (etwa dem eines eindringenden Virus) entlang. Jedes Mal, wenn er eine kurze Signalsequenz aus drei Nukleotiden erkennt, stoppt er kurz. Passt die Basenabfolge in der Umgebung dieser Stelle zu jener der RNA des Komplexes, schneidet Cas9 den DNA-Strang – falls nicht, wandert der Komplex weiter.

Würde man sich diese natürliche Maschinerie zu Nutze machen, überlegten Charpentier und Doudna, könnte man allein über die Sequenz der RNA vorgeben, wo der Komplex den DNA-Strang kappt. Man müsste also nicht mehr für jeden Ort, an dem man schneiden will, ein eigenes Enzym konstruieren. Dies würde gentechnische Eingriffe viel einfacher, billiger und schneller machen.

Nach monatelangen Forschungsarbeiten schafften die Wissenschaftlerinnen den Durchbruch. Doudna hat den Moment noch lebhaft in Erinnerung. Jinek, damals Postdoc, hatte eine Testreihe mit Cas9 abgeschlossen und kam in Doudnas Büro, um mit ihr über die Ergebnisse zu sprechen.

Dabei streiften sie ein Thema, das er bereits mit Chylinski erörtert hatte: Unter natürlichen Bedingungen nutzen Streptokokken nicht nur eine RNA, um Cas9 zur gewünschten Stelle auf der DNA zu dirigieren, sondern zwei davon. Wie wäre es, überlegten die Forscher, wenn man beide zu einem einzigen, künstlich hergestellten Strang zusammenfasste, einer so genannten Leit-RNA? Das hätte den Vorteil, dass man nur noch mit einem Zweikomponentensystem aus Leit-RNA und Cas9 umgehen würde – und dass man lediglich die Leit-RNA verändern müsste, um den Komplex, den sie mit Cas9 bildet, zu einem anderen Ort auf der DNA zu lenken.

»Es war einer dieser Momente, da sieht man die Daten, und irgendwas macht klick!«, sagt Doudna. »Uns wurde klar, dass wir die Leitsequenzen in einem Molekül vereinen konnten. Ein einziges Protein und ein einziges Leitmolekül ergäben zusammen ein äußerst leistungsfähiges gentechnisches Werkzeug. Mir lief es kalt den Rücken herunter, und ich dachte: Du liebe Güte, wenn das klappt ...«

Es klappte. Und zwar so gut, wie es sich Doudna bei aller Begeisterung nicht hatte träumen lassen. Als Charpentier und sie

am 17. August 2012 gemeinsam die Ergebnisse ihrer CRISPR/Cas9-Forschungen veröffentlichten, erkannten Fachkollegen sofort, welches Potenzial darin steckte. Ein globaler Wettlauf kam in Gang, um die neue Methode in verschiedenen Anwendungen zu testen.

Bereits 2013 hatten die Wissenschaftler so große Fortschritte gemacht, dass sie CRISPR/Cas9 nicht nur an Bakterien einsetzen konnten, sondern auch an den viel komplexeren Zellen von Pflanzen und Tieren. Man spekulierte sogar darüber, Neandertaler und Wollhaarmammuts gentechnisch zu rekonstruieren. An der Harvard University machte sich ein Team unter Leitung des Genetikers George Church daran, mittels CRISPR/Cas9 die Erbanlagen in menschlichen Zellen zu verändern, womit sich neue therapeutische Möglichkeiten eröffneten.

## **Flotten Schritts zur Kommerzialisierung**

Wie nicht anders zu erwarten, floss nun immer mehr Geld in die CRISPR/Cas9-Forschung. Ende 2013 tat sich Doudna mit George Church, Feng Zhang vom MIT (Massachusetts, USA) und anderen Wissenschaftlern zusammen, um das Unterneh-



men Editas Medicine zu gründen. Die Firma verfolgt das Ziel, auf der Basis der CRISPR/Cas9-Methode neue Medikamente gegen ein breites Spektrum genetisch bedingter Erkrankungen zu entwickeln. Im April 2014 ging das Unternehmen CRISPR Therapeutics in Basel und London an den Start, das ähnliche Ziele wie Editas Medicine hat. Bis diese Firmen neue Therapieverfahren entwickelt haben, werden noch Jahre vergehen. Laborzulieferer bieten aber bereits injektionsfertige CRISPR/Cas9-Sets an und liefern auf Bestellung auch CRISPR/Cas9-modifizierte Mäuse, Ratten und Kaninchen.

Im Jahr 2014 besuchte ich die SAGE Labs in St. Louis, eines der ersten Unternehmen, welche die CRISPR/Cas9-Technologie in Lizenz einsetzen, um Nagetiere gentechnisch zu manipulieren (es wurde inzwischen von der englischen Horizon Discovery Group übernommen). Die Wissenschaftler, die dort arbeiten, erhalten Onlinebestellungen, beispielsweise von einem Labor im kalifornischen Sacramento, das 20 Pink1-Knockout-Ratten ordert, um an den Tieren verschiedene Aspekte der Parkinsonkrankheit zu erforschen. In einem Nebengebäude sind Ratten mit die-

sem Gendefekt untergebracht – ebenso wie andere Nager, die per CRISPR/Cas9-Technik gentechnisch manipuliert wurden, um sie zu Modellorganismen für Schizophrenie oder Schmerzerkrankungen zu machen. Nach Eingang der Bestellung suchen die Mitarbeiter die gewünschte Anzahl Ratten der richtigen Sorte heraus und verschicken sie per Luftfracht.

Manchmal benötigt ein Kunde jedoch gentechnisch veränderte Nager, die nicht vorrätig sind. Möchte er etwa einen bisher unbeachteten Zusammenhang zwischen der Parkinsonkrankheit und einem bestimmten Gen beziehungsweise einer spezifischen Mutation untersuchen, hat er bei der Bestellung diverse Möglichkeiten. Die SAGE-Wissenschaftler können mit CRISPR/Cas9 das Gen zum Beispiel abschalten, gezielt eine Mutation in ihm erzeugen oder es durch ein menschliches Allel ersetzen. Bei etlichen Krankheiten, von Parkinson über Mukoviszidose bis hin zu Aids, ist eine Vielzahl genetischer Varianten beteiligt, und all diese komplexen Mutationen nacheinander in lebenden Tieren zu erzeugen, dauerte früher bis zu einem Jahr. CRISPR/Cas9 hingegen erlaubt es den Wissenschaftlern, multiple genetische Verände-

rungen auf einen Schlag vorzunehmen, indem sie zeitgleich mehrere solcher Komplexe mit verschiedenen Leit-RNAs injizieren. Das reduziert die Zeitspanne auf wenige Wochen.

Zunächst stellen die Wissenschaftler maßgeschneiderte Leit-RNA(s) her. Dann fügen sie diese und Cas9 zu einem molekularen Komplex zusammen: dem CRISPR/Cas9-Werkzeug. Dieses Konstrukt testen die Forscher ungefähr eine Woche lang, indem sie es mit Hilfe kurzer, starker Spannungspulse in tierische Zellen einschleusen. Dort schneidet der Komplex die zelluläre DNA. Wenn die Zelle den Schnitt repariert, werden zusätzliche Nukleotide ins Erbmolekül eingebaut oder Teile der DNA-Sequenz entfernt.

CRISPR/Cas9 erzeugt allerdings nicht in allen behandelten Zellen solche Mutationen. Um festzustellen, wie effizient der Komplex gearbeitet hat, extrahieren die Wissenschaftler die DNA-Moleküle aus den Zellen und untersuchen diese mit molekularbiologischen Methoden. Am Ende der Prozedur steht ein Signal auf einem Computermonitor, das umso heller leuchtet, je mehr DNA-Moleküle CRISPR/Cas9 verändert hat.



Mit dem in vitro getesteten Werkzeug erzeugen die Wissenschaftler nun genetisch abgewandelte Embryonen. Hierfür injizieren sie CRISPR/Cas9-Komplexe in einen der beiden Vorkerne einer befruchteten Eizelle. Die Mutationen, die das Werkzeug dort erzeugt, betreffen somit den gesamten Embryo, der aus der befruchteten Eizelle entsteht.

### **Gentechnik für die Massen**

Die Embryonen wachsen zunächst in temperierten Brutschränken heran, bevor die SAGE-Mitarbeiter sie Rattenweibchen einpflanzen. Jede dieser »Leihmütter« bekommt 30 bis 40 Embryonen eingesetzt, von denen sie 20 Tage später 5 bis 20 als Jungtiere zur Welt bringt. Wenn diese zehn Tage alt sind, entnehmen ihnen die Wissenschaftler diesen Gewebeproben, um zu ermitteln, welche davon die beabsichtigte Genmutation tragen. »Das ist der spannende Teil«, sagt Brown. »Manchmal weisen wir nur in einem von 20 Tieren die Veränderung nach.« Doch angesichts der enorm großen Zahl von Embryonen, deren Erbgut man auf diese Weise verändern kann, handelt es sich in der Tat um eine Gentechnikmethode »für die Massen«, wie David

Smoller, Geschäftsführer bei SAGE, es formuliert. Nachdem die CRISPR/Cas9-Technik in zunehmendem Maß kommerziell eingesetzt wird, spekulieren Wissenschaftler und Unternehmer über immer neue Anwendungsgebiete, und manche davon erscheinen wie Hybris. So besteht theoretisch die Möglichkeit, krank machende Mutationen, die auf den Embryo vererbt wurden, in der frühen Schwangerschaft zu korrigieren. Auch erlaubt die Methode im Prinzip, resistente Unkräuter anfällig für Herbizide zu machen oder gar ausgestorbene Tierarten wieder zum Leben zu erwecken. Solche Gedankenspiele wirken auf viele beängstigend. Mediens Schlagzeilen wie »Eine großartige Möglichkeit, Gott zu spielen« künden von der Furcht davor, Wissenschaftler könnten in ihrem Bemühen, etwa die Welt von Malaria-Mücken zu befreien oder die Huntington-Krankheit zu heilen, jede Menge Erbanlagen mit brandgefährlichen Mutationen in die Welt setzen.

Die Idee, Malaria-Moskitos auszurotten, verfolgen mehrere Forschergruppen. Ihr Ansatz: eine schädliche Mutation auf einem Chromosom im Erbgut der Insekten verursachen und dann das Schwester-

chromosom an der entsprechenden Stelle schneiden, so dass das zelluläre Reparatursystem die Mutation auf dieses kopiert. Infolgedessen erben praktisch alle Nachkommen die genetische Veränderung, die sich nun extrem schnell in der Population verbreitet. Auf diese Weise könnte man die Mückenpopulation rasch ausrotten und mit ihr die Malaria-Parasiten. Doch Todd Kuiken, Experte für biologische Sicherheit am Woodrow Wilson International Center for Scholars in Washington, warnt vor diesem Ansatz. Man müsse Sorge tragen, mit dem Verfahren nicht zehn neue Probleme zu schaffen, meint er. Die Veränderung oder gar Ausrottung einer ganzen Population könnte drastische, unvorhersehbare Konsequenzen für das betroffene Ökosystem haben, zumal sie wohl nicht umkehrbar sei.

Viele Wissenschaftler haben diese potenziellen Gefahren bereits erkannt. Als Forscher der Harvard University (USA) im Juli 2014 einen Artikel veröffentlichten, in dem es darum ging, mit Hilfe der CRISPR/Cas9-Technik Malaria-Mücken auszurotten, initiierten sie auch eine öffentliche Diskussion darüber und schlugen technische und juristische Maßnahmen für den Fall vor,

dass die gentechnischen Eingriffe unkontrollierbare Konsequenzen haben. »Die CRISPR-Technik stößt eine unglaublich schnelle Entwicklung an«, sagt Jeantine Lunshof, Bioethikerin an der Harvard University. »Viele Menschen haben noch nicht davon gehört, aber es wird schon in großem Maßstab genutzt.« In Berkeley hat sich auf Betreiben Doudnas ein Team zusammengefunden, das gezielt die ethischen Konsequenzen von CRISPR/Cas9-Anwendungen diskutiert.

Trotz alledem überwiegt die Begeisterung ob der therapeutischen Möglichkeiten der neuen Technik. Mitte 2014 berichteten Wissenschaftler vom MIT, sie hätten Mäuse von der Tyrosinämie geheilt – einer seltenen Stoffwechselerkrankung –, indem sie ihnen das CRISPR/Cas9-Werkzeug einfach in den Schwanz injizierten. Sie verabreichten drei verschiedene Leit-RNAs zusammen mit Cas9 sowie der intakten Version des in den Tieren mutierten Gens. Damit gelang es ihnen, die funktionsfähige DNA in das Erbgut etwa einer von 250 Zellen der Leber einzuschleusen. Im darauffolgenden Monat vermehrten sich diese gesunden Leberzellen, bis sie im Gewebeverband schließlich ein Drittel der kranken

ersetzt hatten – genug, um die Mäuse von den Symptomen zu befreien. Wenig später berichteten Wissenschaftler der Temple University (Pennsylvania, USA), sie hätten die Sequenz des Aidserregers HIV mit Hilfe von CRISPR/Cas9 aus dem Genom mehrerer menschlicher Zelllinien herausgeschnitten. Für den Virologen Kamel Khalili, der diese Arbeiten leitete und seit den 1980er Jahren nach Ansätzen gegen HIV und Aids sucht, ist die CRISPR/Cas9-Technik geradezu revolutionär. Obwohl man in der Aidsbehandlung große Fortschritte gemacht hat, kann man HIV-Infektionen mit den heutigen Mitteln nur unter Kontrolle halten, aber nicht heilen. Das CRISPR/Cas9-Verfahren hingegen erlaubte es Khalili und seinem Team, die HIV-DNA, die sich ins Erbgut der Zellen integriert hatte, vollständig daraus zu entfernen und somit infizierte Zellen in gesunde umzuwandeln.

Zudem, so der Virologe, könne man auch gesunde Zellen vor einer Infektion mit dem Virus schützen. Hierfür müsse man die Zellen immunisieren, indem man kurze Sequenzen aus dem Genom des angreifenden Virus in sie einbaut, ähnlich wie das bei Bakterien zu beobachten ist, die sich mit viralen DNA-Fragmenten vor an-

greifenden Viren schützen. Man könne von einer Art genetischem Impfstoff sprechen. »Das wäre die ultimative Heilung«. ↩

(Spektrum der Wissenschaft, 9/2015)

Barrangou, R.: RNA Events. Cas9 Targeting and the CRISPR Revolution. In: Science 344, S. 707-708, 2014

Jinek, M. et al.: RNA-Programmed Genome Editing in Human Cells. In: eLife, 00471, 2013

Mali, P. et al.: Cas9 as a Versatile Tool for Engineering Biology. In: Nature Methods 10, S. 957-963, 2013





NEUE WERKZEUGE

# CRISPR

## verändert alles

von Heidi Ledford

Die neue Technologie zum Gene Editing führte zur größten Revolution in der Biologie seit der PCR. Ihrem Potenzial stehen aber auch ernste Risiken gegenüber.

**V**or etwa drei Jahren hörte Bruce Conklin von einer Methode, die alles in seinem Labor verändern sollte. Der Genetiker von den Gladstone Institutes in San Francisco untersuchte seit Jahren den Zusammenhang von DNA-Veränderungen und Erkrankungen des Menschen, doch seine Werkzeuge, die Tools, machten ihm einfach zu schaffen. Er arbeitete mit Zellen aus Patienten, wusste aber nicht, welche DNA-Sequenzen für deren Erkrankung wirklich entscheidend waren und welche nicht. Damals war das experimentelle Einführen von Mutationen in die DNA auch nicht nur teuer, sondern vor allem sehr arbeitsintensiv: »Allein die Veränderung eines Gens war schon eine ganze Diplomarbeit«, erzählt er.

Im Jahr 2012 las er dann [von einer neuen Technik namens CRISPR](#), mit deren Hilfe die DNA fast jedes Organismus, einschließlich des Menschen, schnell und einfach manipuliert werden könne. Conklins

Labor legte schon bald seinen bisherigen Ansatz ad acta, begann mit der neuen Methode und arbeitet seitdem mit Hochdruck daran, alle möglichen Gene im Zusammenhang mit Herzerkrankungen zu verändern. »CRISPR stellt einfach alles auf den Kopf«, sagt er.

Dieses Gefühl haben viele, denn CRISPR mischt die biomedizinische Forschung richtig auf. Im Gegensatz zu anderen Gene-Editing-Methoden ist sie billig, schnell und einfach – nicht ohne Grund hat sie inzwischen in vielen Labors rund um die Welt Einzug gehalten. Forscher wollen damit Gene verändern, um Krankheiten zu heilen, widerstandsfähigere Pflanzen zu züchten, Pathogene auszurotten und vieles mehr. »Seit ich in der Wissenschaft tätig bin, gab es zwei große Meilensteine: die Entwicklung der PCR und die von CRISPR«, sagt der Genetiker John Schimenti von der Cornell University in Ithaca in New York. Die PCR als Methode zur DNA-Amplifikation hat seit ihrer Erfindung im Jahr 1985 die

Gentechnologie revolutioniert – »nun mischt CRISPR die Biowissenschaften ganz gehörig auf«, sagt Schimenti.

Aber bei all den neuen Möglichkeiten macht manchen Wissenschaftlern das halsbrecherische Tempo der Entwicklung Sorgen, das kaum Zeit für ethische und sicherheitstechnische Bedenken einräumt. Dabei wurden diese urplötzlich sehr konkret, als im April die Nachricht vom Einsatz des CRISPR-Systems in der Embryonenforschung kam. Die hierbei genutzten Embryonen konnten zwar nicht zu lebensfähigen Organismen heranwachsen, [die Publikation](#) heizte aber die Debatte darüber an, ob und wie weit CRISPR zur Einführung vererbbarer Veränderungen im menschlichen Genom eingesetzt werden darf. Manche Wissenschaftler fordern mehr Untersuchungen, ob die Methode aberrante und potenziell riskante Genome hervorbringt; andere sorgen sich über mögliche fatale Konsequenzen für ganze Ökosysteme. »Die neue Technologie kann problemlos in je-



dem Labor genutzt werden, und das ohne extrem teure Ausstattung und jahrelange Einarbeitung der Mitarbeiter«, sagt der Systembiologe Stanley Qi von der Stanford University in Kalifornien. »Wir sollten daher immer gut über die Anwendung und ihre Auswirkungen nachdenken.«

### **Revolution in der Forschung**

Biologen können schon lange das Genom mit molekularen Werkzeugen manipulieren. Vor etwa zehn Jahren waren alle ganz begeistert von so genannten Zinkfinger-nukleasen, die besonders genau und effizient DNA-Sequenzen verändern sollten. Die Enzyme fanden aber letztlich doch keine breite Anwendung, weil sie schwierig herzustellen und mit etwa 5000 Dollar sehr teuer sind, erklärt der Molekularbiologe James Haber von der Brandeis University in Waltham in Massachusetts. CRISPR funktioniert ganz anders als die bisher bekannten Systeme. Die Grundlage ist ein Enzym namens Cas9, das mit Hilfe eines kurzen RNA-Schnipsels, der so genannten guide RNA, an seine Ziel-DNA geleitet wird. Dort schneidet es die DNA, wobei Gene zerstört oder gewünschte Sequenzen eingefügt werden können. Bei der Methode müssen

die Forscher oftmals nur das entsprechende RNA-Fragment bestellen, ansonsten werden Standardreagenzien benötigt, und die Gesamtkosten liegen damit bei etwa 30 Dollar. »So ist die Technik jedem zugänglich, und jeder kann sie nutzen«, sagt Haber dazu. »Das ist eine echte Revolution.«

CRISPR drängte die anderen Gene-Editing-Technologien wie Zinkfinger-nukleasen schnell in den Hintergrund. Mancher Forscher ließ dafür sogar Methoden fallen, die er in seinem Labor über Jahre hinweg perfektioniert hatte. »Das deprimiert mich zwar etwas«, sagt der Genetiker Bill Skarnes vom Wellcome Trust Sanger Institute in Hinxton in Großbritannien, »aber ich bin auch fasziniert von den neuen Möglichkeiten.« Skarnes hatte viele Jahre seiner Karriere mit einer Technik gearbeitet, die Mitte der 1980er Jahre entwickelt wurde: der Herstellung gentechnisch veränderter Mäuse mit Hilfe embryonaler Stammzellen, in die zuvor DNA des gewünschten Gens eingebracht wird. Die Methode wurde irgendwann zur Routine, aber sie ist langwierig und teuer – mit CRISPR dauert das Ganze nur einen Bruchteil der Zeit, und Skarnes arbeitet nun schon seit zwei Jahren damit in seinem Labor.

---

»CRISPR  
stellt einfach alles  
auf den Kopf«

[Bruce Conklin]

---

Forscher haben schon immer viel mit Modellorganismen wie Mäusen und Taufliegen gearbeitet, schon allein weil es für diese gute Tools zur genetischen Manipulation gab. Mit CRISPR lassen sich nun Gene in noch ganz anderen Organismen verändern. So berichteten im April beispielsweise Forscher aus dem Whitehead Institute for Biomedical Research in Cambridge in Massachusetts von ihren Erfahrungen mit dem neuen System beim Pilz *Candida albicans*, der für Menschen mit einem geschwächten Immunsystem besonders gefährlich ist und sich bisher nur schlecht im Labor modifizieren ließ. Jennifer Doudna von der University of California in Berkeley ist Pionierin in Sachen CRISPR und hat

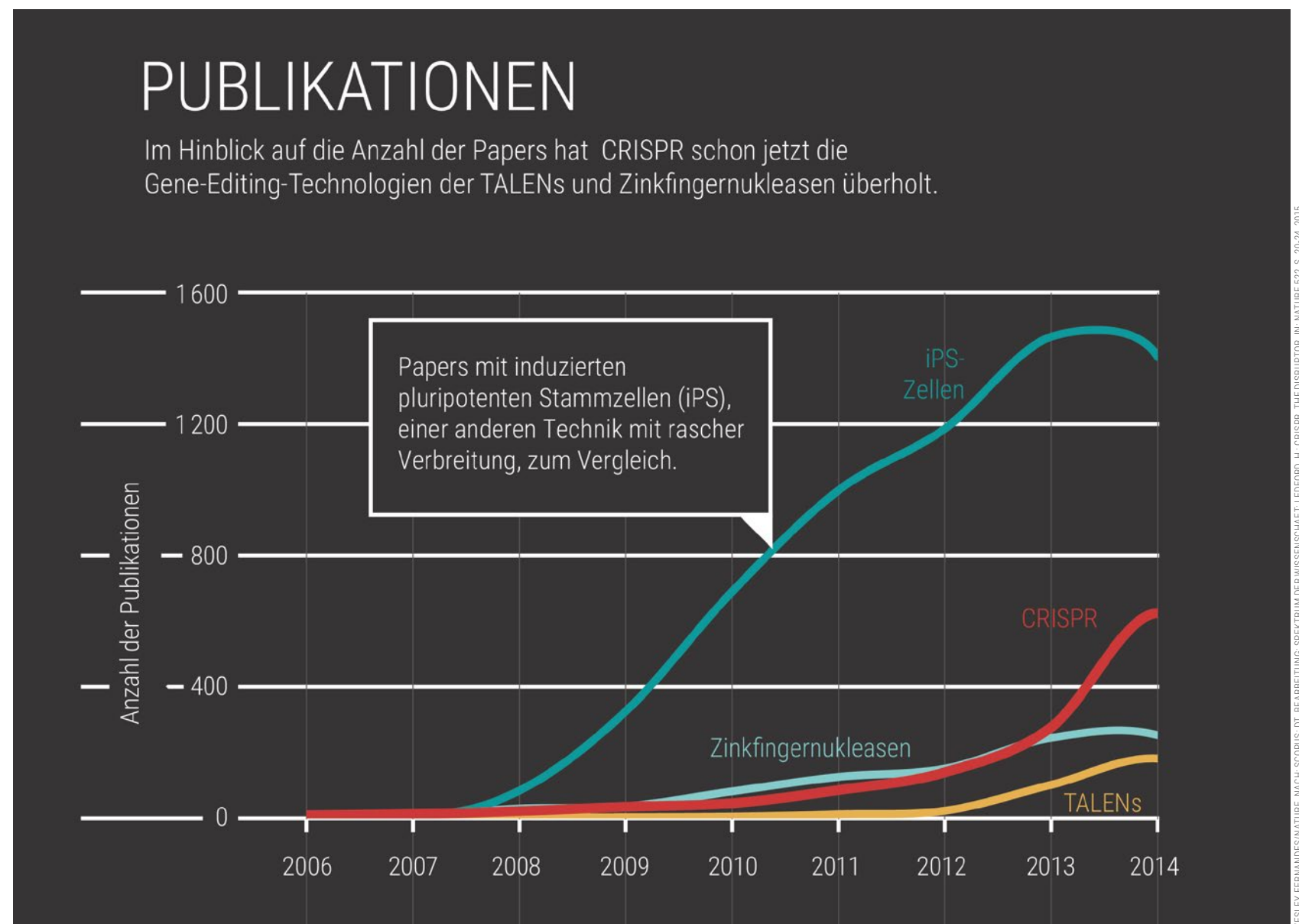
### ZUNEHMEND ERFOLGREICH: CRISPR

Die DNA-Sequenzen namens CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) sind Teil eines bakteriellen Abwehrsystems. Seitdem Wissenschaftler im Jahr 2012 zeigen konnten, wie das CRISPR-System zum Genome Editing genutzt werden kann, hat sich die Methode schnell verbreitet, was sich am steilen Anstieg von Publikationen, Patenten und Finanzmitteln erkennen lässt.

eine ganze Liste von modifizierten Organismen. Unter den drei Dutzend Einträgen finden sich krankheitserregende Parasiten wie *Trypanosoma* sowie Hefe zur Produktion von Biokraftstoffen.

Der rasche Fortschritt hat aber auch seine Tücken. »Keiner hat Zeit, das System erst einmal ganz basal zu charakterisieren«,

kritisiert Bo Huang, der als Biophysiker an der University of California in San Francisco arbeitet. »Solange alles funktioniert, interessiert es keinen, wie und warum.« Deshalb laufen Forscher auch zuweilen gegen die Wand, wie Huang, der mit seinem Labor zwei Monate brauchte, um das CRISPR-System erst einmal für Imaging-Untersu-





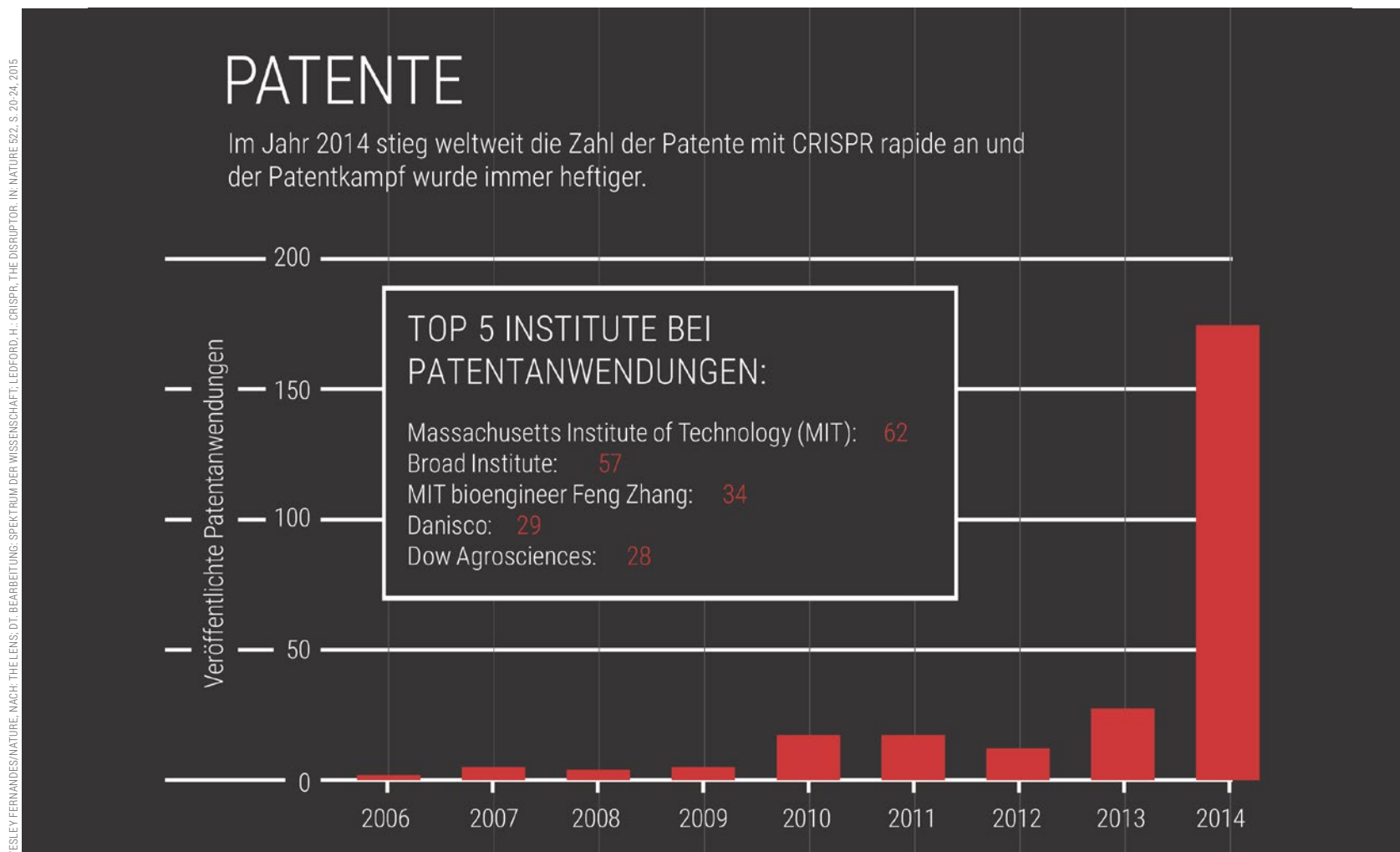
chungen entsprechend anzupassen. Seiner Meinung nach hätte es nicht so lange gedauert, wenn er mehr über die Optimierungsmöglichkeiten beim Design der guide RNAs gewusst hätte. Diese sind die Grundlage des ganzen Systems, und kleinste Unterschiede in der Sequenz können für das Gelingen der Experimente entscheidend sein.

Die meisten Wissenschaftler sehen diese Etablierungsarbeiten nur als klei-

nes Übel beim Einsatz der sehr potenten Technik. Doudna macht sich dagegen seit einer Konferenz im Jahr 2014 eher wegen der Sicherheit ernste Sorgen. Ein Postdoc zeigte dort Daten zu einem Viruskonstrukt, mit dem die Komponenten des CRISPR-Systems durch Inhalation in Mäuse eingebracht werden konnten, woraufhin das CRISPR-System Mutationen in die DNA einführen und die Forscher damit ein Modell für Lungenkrebs aufbauen

konnten. Während der Präsentation lief es Doudna eiskalt den Rücken hinunter: Bei einem kleinsten Fehler im Design der guide RNA könnte durchaus ein CRISPR-Molekül entstehen, das auch in der Lunge des Menschen aktiv ist. »Es hat mich extrem beunruhigt, dass möglicherweise Studenten mit diesem Tool arbeiten, ohne zu wissen, was sie damit anstellen können«, sagt sie besorgt. »Die Leute müssen endlich kapieren, wozu die Technik im Stande ist.«

Andrea Ventura ist Krebsforscher am Memorial Sloan Kettering Cancer Center in New York und Hauptautor der Arbeit. In seinem Labor würden die Sicherheitsbestimmungen gewissenhaft beachtet, kontert er. Die Sequenzen der guide RNA waren gegen mausspezifische Zielregionen im Genom gerichtet, und das Virus wurde inaktiviert, so dass es nicht mehr replikationsfähig war. Trotzdem müsste man natürlich jegliche noch so unwahrscheinlichen Risiken bedenken. »Die guides sollten zwar theoretisch im humanen Genom nicht schneiden, aber man weiß ja nie«, fügt er hinzu. »Auch wenn das nicht sehr wahrscheinlich ist, muss man es immer im Hinterkopf behalten.«



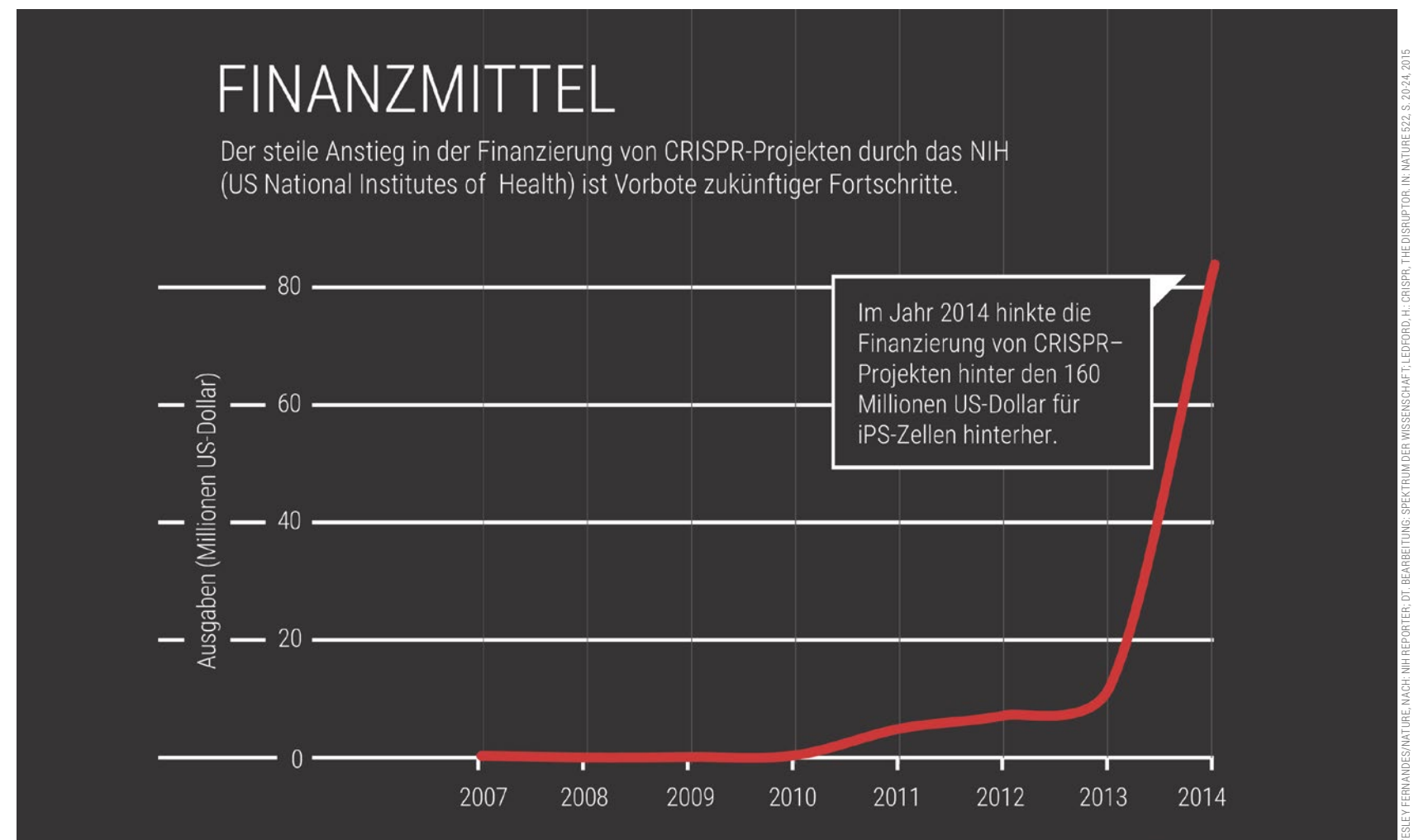
## Krankheiten genetisch ausradieren

Der Biotechnologe Daniel Anderson und seine Mitarbeiter vom Massachusetts Institute of Technology in Cambridge zeigten 2014, wie sie mit Hilfe des CRISPR-Systems in der Maus eine Mutation korrigieren konnten, die mit der beim Menschen bekannten Stoffwechselerkrankung Tyrosinämie assoziiert ist. Dies war die erste Korrektur einer krankheitsverursachenden Mutation in erwachsenen Tieren mit Hilfe des CRISPR-Systems – ein wichtiger Schritt in Richtung des Einsatzes der Technologie in der Gentherapie beim Menschen.

Für große Aufregung unter Wissenschaftlern und Biotechnologen sorgte zuletzt die Vorstellung, CRISPR könne die Entwicklung in der Gentherapie beschleunigen. Aber neben dem Potenzial der Methode verdeutlicht Andersons Paper auch, wie immens der Aufwand sein kann. Um das Cas9-Enzym und seine guide RNA in die Leber als Zielorgan im Versuchstier einbringen zu können, mussten die Forscher große Mengen Flüssigkeit in die Blutgefäße injizieren, was beim Menschen schlichtweg undenkbar wäre. Außerdem wurde die Mutation nur in 0,4 Prozent der Zellen korrigiert, was sicherlich bei vielen

Krankheiten gar nicht ausreichen würde. In den letzten zwei Jahren sind ein paar Firmen auf den Zug aufgesprungen und wollen CRISPR für die Entwicklung einer Gentherapie nutzen. Nicht nur Anderson erwartet die ersten klinischen Studien schon in den kommenden ein bis zwei Jahren. Anfangs werden CRISPR-Komponenten vielleicht erst einmal direkt ins Gewebe gespritzt, beispielsweise ins Auge. Oder Zellen werden dem Patienten entnommen,

im Labor modifiziert und dann in den Körper zurückgegeben. So könnten zum Beispiel Blutstammzellen manipuliert werden, um Erkrankungen wie Sichelzellenanämie oder Beta-Thalassämie zu behandeln. Schwieriger wird es mit dem Transfer von Enzym und guide RNAs in andere Organe, doch die Forscher hoffen trotzdem, eines Tages eine ganze Bandbreite von Erbkrankheiten angehen zu können. Viele Wissenschaftler geben aber auch zu bedenken, wie





viel noch zu tun sei, bevor CRISPR sicher und wirksam eingesetzt werden könne. So muss erst noch die Effizienz des Editings gesteigert werden, aber natürlich ohne gleichzeitig Änderungen an anderer Stelle im Genom einzuführen und die Gesundheit des Patienten hierdurch zu gefährden. »Die Enzyme schneiden nicht nur an der vorgesehenen Stelle, was eine Menge Folgen haben kann«, weiß Haber. »Wenn man das Sichelzellgen in einer Stammzelle ersetzen möchte, müsste man sich erst einmal fragen, welchen Schaden man damit an anderer Stelle im Genom anrichten könnte.«

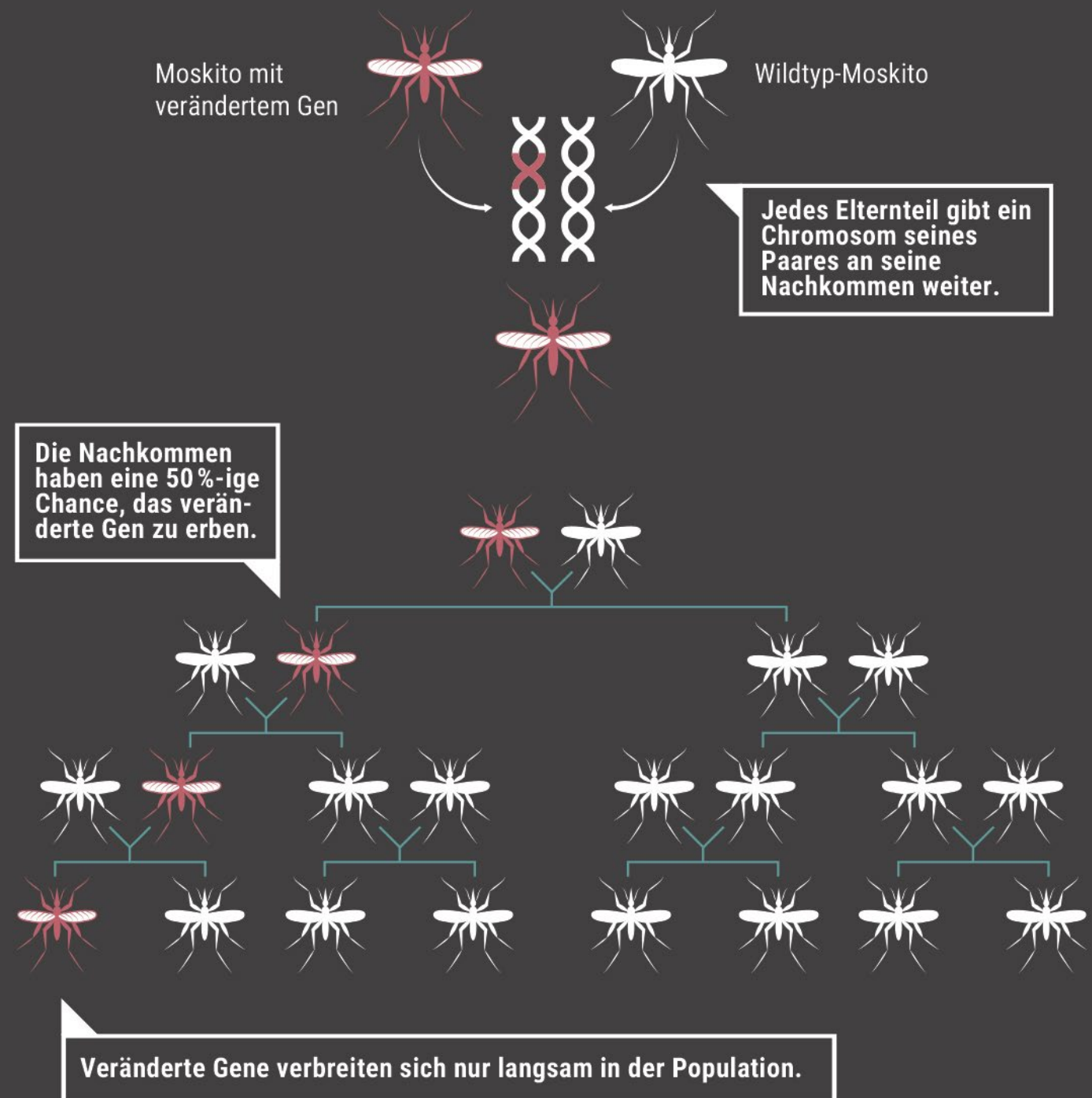
Keith Joung forscht am Massachusetts General Hospital in Boston am Gene Editing und fand heraus, wie sich so genannte off-target cuts des Cas9-Enzyms, sprich fehlerhaft platzierte Schnitte in der DNA, erkennen lassen. Deren Frequenz scheint von Zel-

## DER »GENE DRIVE«

**Mit Hilfe des CRISPR Gene Editing lassen sich genetische Veränderungen schnell von Generation zu Generation verbreiten. Hiermit könnte eine ganze Population von Krankheitserreger übertragenden Moskitos ausgerottet werden.**

WESLEY FERNANDES/NATURE, DT. BEARBETUNG: SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT, LEDFORD, H.: CRISPR, THE DISRUPTOR, IN NATURE 522, S. 20-24, 2015

## KLASSISCHE VERERBUNG



le zu Zelle und von Sequenz zu Sequenz stark zu schwanken. Nicht nur sein Labor hat solche off-target sites mit Mutationsfrequenzen von 0,1 bis über 60 Prozent gefunden. Auch weniger häufige, unvorhersehbare cuts könnten gefährlich werden, wenn sie das Wachstum einer Zelle beschleunigen und zu Krebs führen, sagt er.

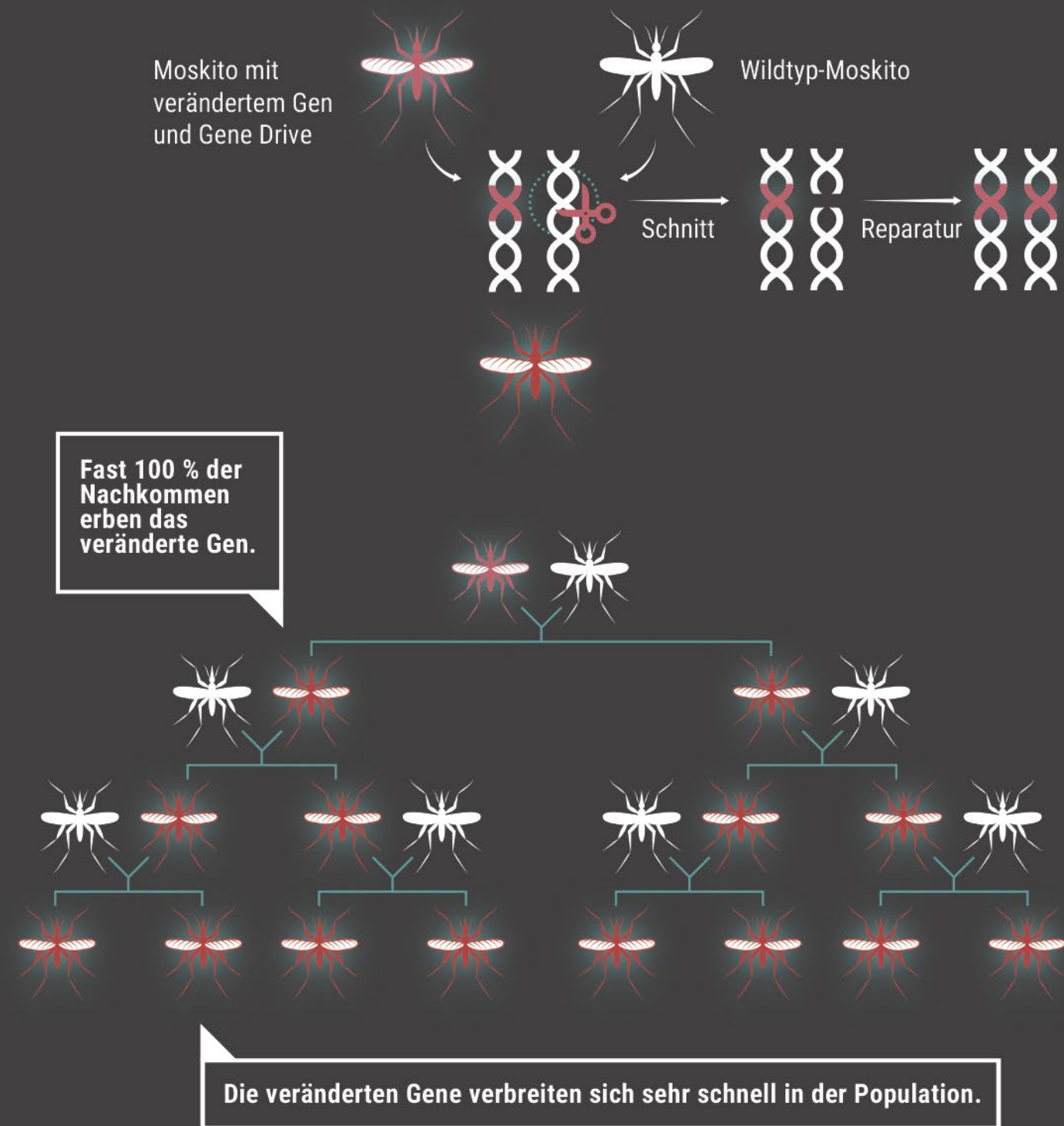
Bei so vielen noch unbeantworteten Fragen sollte man unbedingt die Erwartungen an CRISPR etwas bremsen, meint Katrine Bosley, die Geschäftsführerin des Unternehmens Editas in Cambridge in Massachusetts, das derzeit an der Entwicklung einer CRISPR-basierten Gentherapie arbeitet. Bosley gilt als alter Hase in der Markteinführung neuer Technologien und weiß, wie schwer die Leute von einer neuen Methode zu überzeugen sind. »Bei CRISPR ist es komplett das Gegenteil«, stellt sie fest. »Alle sind so begeistert und positiv – aber wir müssen unbedingt realistisch bleiben und uns den Preis dafür vor Augen halten.«

## CRISPR und die Landwirtschaft

Während Anderson und viele seiner Kollegen die DNA in menschlichen Zellen verändern wollen, gibt es auch Ansätze im Bereich Ackerbau und Viehzucht. Bevor die

## VERERBUNG DURCH GENE DRIVE

Das Gene-Drive-System schneidet das Partner –Chromosom, und das Reparatursystem der Zelle kopiert die Veränderung des ersten Chromosoms auf das zweite.





Techniken zum Gene Editing auf den Markt kamen, wurden hier die gewünschten Gene meist an zufälliger Position ins Genom integriert, zusammen mit Sequenzen aus Bakterien, Viren oder anderen Spezies als Vehikel. Diese Methoden waren aber sehr ineffizient und standen immer in der Kritik, weil DNA verschiedener Spezies gemischt wurde oder andere Gene durch die Insertion eventuell zerstört wurden. Außerdem ist das Genehmigungsverfahren für genmanipulierte Nutzpflanzen so kompliziert und teuer, dass bisher fast nur an Massenprodukten wie Mais und Sojabohnen gearbeitet wurde.

Mit CRISPR könnte sich das ändern, weil das einfache und kostengünstige System auch für weniger häufige und speziellere Ackerpflanzen und Nutztiere interessant sein könnte. In den letzten Jahren haben Forscher mit der neuen Technik Minischweine sowie krankheitsresistenten Weizen und Reis hergestellt. Fortschritte gab es auch in Richtung enthornte Rinder, weniger krankheitsanfällige Ziegen und mit Vitaminen angereicherte süße Orangen. Doudna sieht ihre Liste von CRISPR-basierten modifizierten Organismen schon wachsen. »Das ist eine gute Möglichkeit für

Experimente oder Manipulationen an Pflanzen, die aus kommerzieller Sicht nicht so attraktiv, für die Wissenschaft aber umso interessanter sind – oder vielleicht einfach für den Gemüsegarten«, meint sie.

Weil sich mit CRISPR DNA-Sequenzen sehr gezielt und exakt editieren lassen, wird es für die Behörden und Landwirte noch schwieriger, genveränderte Organismen nach der Freigabe überhaupt noch zu erkennen. »Beim Einsatz von Gene Editing lassen sich die manipulierten Produkte nicht mehr nachverfolgen«, weiß Jennifer Kuzma, die Wissenschaftspolitik an der North Carolina State University in Raleigh studiert. »Da lässt sich nur schwer erkennen, ob es sich um eine natürliche Mutante handelt oder um einen gentechnisch veränderten Organismus.«

Das lässt nun die Alarmglocken bei Gegnern von gentechnisch veränderten Lebensmitteln läuten, und auch für die Länder stellen sich schwierige Fragen hinsichtlich der Vorschriften für geditierte Pflanzen und Tiere. In den USA muss bisher erst die Gesundheitsbehörde FDA jedes gentechnisch veränderte Tier für den Verzehr durch den Menschen zulassen; bis jetzt hat die Behörde aber noch nicht ange-

kündigt, wie sie mit den neuen geditierten Tieren verfahren wird.

Nach den bisherigen Regeln unterliegen nicht alle durch Gene Editing geschaffenen Kulturpflanzen den Vorschriften des US-Landwirtschaftsministeriums. Die Behörde arbeitet aber seit Mai an Verbesserungen der Vorschriften für genetisch veränderte Kulturpflanzen, was erste Anzeichen einer Neubewertung der Richtlinien mit Blick auf Technologien wie CRISPR sein könnten. »Die Tür ist offen«, nennt es Kuzma. »Was passiert, werden wir sehen. Aber dass es überhaupt so weit kam, ist schon gut.«

## **Veränderte Ökosysteme**

Neben einem Einsatz in der Landwirtschaft wird auch schon darüber nachgedacht, ob CRISPR an Lebewesen in der freien Wildbahn eingesetzt werden könnte – oder vor allem sollte. Besonders intensiv wird diskutiert, ob sich ein manipuliertes Gen rasch durch eine »Gene Drive« genannte Technik in einer ganzen Population durchsetzen kann. Die Arbeiten hierzu stehen erst am Anfang, denkbar wäre aber, dass dies genutzt werden könnte, um Krankheitsüberträger wie Moskitos oder Zecken auszurot-

ten, invasive Pflanzen zu eliminieren oder die Herbizidresistenz des Weidenröschens auszulöschen, gegen die so mancher Farmer in den USA zu kämpfen hat.

Normalerweise brauchen DNA-Veränderungen eines Organismus sehr lange, bis sie sich in einer ganzen Population ausgebreitet haben. Das liegt daran, dass eine Mutation in der Regel nur auf einem der zwei Chromosomen auftritt und somit nur an die Hälfte der Nachkommen weitergegeben wird. Beim Gene Drive kopiert sich aber die auf einem der Chromosomen eingeführte Mutation selbstständig auf das Schwesterchromosom, so dass von Generation zu Generation letztendlich alle Nachkommen die Veränderung erben. Damit verbreitet sie sich exponentiell und schneller als sonst, und beispielsweise die in eine Stechmücke eingeführte Mutation könnte sich innerhalb einer Saison in einer großen Population ausbreiten. Wenn diese Mutation nun die Menge an Nachkommen reduziert, könnte damit relativ schnell die Population ausgerottet werden, zusammen mit all den Malariaparasiten, welche die Moskitos in sich tragen. Viele Forscher sorgen sich aber eher darüber,

dass die Veränderung oder gar Ausrottung einer ganzen Population drastische und unvorhersehbare Konsequenzen für das betroffene Ökosystem haben kann. Statt der einen Plage könnten dann andere aufkommen oder die Fressfeinde weiter oben in der Nahrungskette darunter leiden. Die Forscher warnen auch davor, dass die guide RNAs selbst im Lauf der Zeit mutieren könnten und dann auch ganz andere Teile des Genoms verändern würden. Diese Mutationen würden sich dann wieder rasend schnell in der Population ausbreiten – mit nicht kalkulierbaren Folgen.

»Solche Ansätze müssen sich wirklich lohnen, weil sie möglicherweise nicht umkehrbar sind – dazu vielleicht auch nicht gewollt und mit schwer einschätzbaren Auswirkungen auf andere Spezies«, sagt der Biotechnologe George Church von der Harvard Medical School in Boston. Im April 2014 veröffentlichte »Science« einen Kommentar von Church und einigen anderen Wissenschaftlern und Politikexperten, in dem sie die Forschergemeinde vor den Risiken warnen und neue Möglichkeiten zum Schutz vor unbeabsichtigter Freisetzung von experimentellen Gene Drives vorschlugen. Damals schien es alles noch sehr weit weg

---

»Regulierungsbehörden  
und Organisationen  
müssen die Lage in den  
Griff bekommen«

[Kenneth Oye]

---

zu sein, doch weniger als ein Jahr später berichtete der Entwicklungsbiologe Ethan Bier von der University of California in San Diego mit seinem Studenten Valentino Gantz [von der Etablierung des CRISPR-Systems in Taufliegen](#). Bier und Gantz hielten ihre Fliegen in drei ineinandergestellten Kästen und passten die Sicherheitsmaßnahmen im Labor denen für das Arbeiten mit malariainfizierten Moskitos an. Aber sie befolgten nicht alle von den Autoren des Kommentars geforderten Maßnahmen, wie beispielsweise eine Art Notbremse, um die Änderungen wieder zunichtezumachen. Laut Bier seien die bisherigen Experimente auch lediglich als Nachweis der generellen Funktion des Systems gedacht, bevor die Forscher komplexere Fragen angehen.

Nicht nur für Church ist das eine klare Warnung, wie die allgemeine Zugänglichkeit des Genom Editings mittels CRISPR unerwartete und unerwünschte Folgen haben kann. »Nun müssen sich die nationalen Regulierungsbehörden und internationalen Organisationen darum kümmern und die Lage wirklich in den Griff bekommen«, meint der Politikwissenschaftler Kenneth Oye vom Massachusetts Institute

of Technology, Erstautor des Kommentars in »Science«. »Da muss einfach mehr passieren.« Der nationale Forschungsrat der USA hat einen Ausschuss zum Thema Gene Drive gebildet, und langsam beginnen auch die Diskussionen auf höchster Ebene. Aber Oye sorgt sich wegen der rasanten Entwicklung und fürchtet, dass Änderungen der Vorschriften erst dann kommen werden, wenn Gene-Drive-Organismen schon unkontrolliert ins Freiland gelangt sind.

Doch alles hat zwei Seiten. Der Insektenökologe Micky Eubanks arbeitet an der Texas A&M University in College Station in Texas und war anfangs vom Gene Drive entsetzt. »Mein erstes Bauchgefühl war: Oh mein Gott, ist das schrecklich und unheimlich«, erinnert er sich. »Wenn man sich aber etwas damit beschäftigt und es gegen all die Umweltveränderungen aufwiegt, die wir eh schon verursacht haben und auch noch weiter tun, dann fällt das neue System schon kaum noch ins Gewicht.«

Im Rückblick betrachtet gab es bei der Einführung neuer Methoden oft euphorische Begeisterungstürme, die dann nach und nach im Zuge der ersten Prob-

leme in Bedenken und schließlich sogar Enttäuschung umschlugen. Wie so mancher Forscher weiß das auch James Wilson von der University of Pennsylvania in Philadelphia, der in den 1990er Jahren ganz enthusiastisch bei den ersten Ansätzen zur Gentherapie dabei war – allerdings auch beim Absturz, als bei einer klinischen Studie ein junger Mann verstarb. Das ganze Forschungsfeld geriet damals ins Trudeln und hat lange gebraucht, um sich wieder zu erholen. CRISPR ist noch ganz neu, sagt Wilson, und sein wirkliches Potenzial wird sich erst in vielen Jahren zeigen. »CRISPR ist noch in der Erkundungsphase, und die Ideen müssen erst noch reifen.«

Wilson ist schon jetzt von CRISPR überzeugt. Natürlich sei er anfangs skeptisch gewesen bei all den großspurigen Versprechungen, bis sein eigenes Labor auf einmal damit herumspielte. Am Ende wird CRISPR im Therapiebereich einmal seine Anwendung finden, prophezeit er: »Es ist schlicht ziemlich großartig.« ↩

(Spektrum.de, 24. Juni 2015)





GESETZGEBUNG

# GENTECHNIK ohne Gene?

von Juliette Irmer



Ein neues gentechnisches Werkzeug wird Acker und Stall revolutionieren.

Das Problem: Es ist von natürlicher Mutation nicht zu unterscheiden.

Wie kann man es da regulieren?

Von einer solchen Technik hätten Molekularbiologen vor wenigen Jahren nicht zu träumen gewagt: einfach, schnell, hochpräzise und dazu noch unverschämt preiswert. Mit dem CRISPR/Cas-System lässt sich das Erbgut verändern, so einfach wie noch mit keiner Technik zuvor. Wissenschaftler schwärmen vom enormen Potenzial, Unternehmen wittern ein Riesengeschäft. Und bei Gentechnikgegnern läuten die Alarmglocken.

Die Gesetzgebung hinkt der Forschung derzeit deutlich hinterher. Das so genannte Genome Editing, also das gezielte Eingreifen in und das Umschreiben von Abschnitten des Genoms, wie es das erst vor Kurzem entdeckte Werkzeug CRISPR/Cas erlaubt, stellt die Behörden vor Probleme. Haben wir es aus rechtlicher Sicht mit einer Variante klassischer Gentechnik zu tun oder mit einem gänzlich neuen Phänomen? Anders gesagt: Sind die derartig ver-

änderten Nutzpflanzen und -tiere im Sinne des Gesetzes gentechnisch veränderte Organismen (GVO)?

»Die herkömmliche Gentechnik bei Pflanzen kann man mit einer Herzoperation unter Öffnung des gesamten Brustkorbs vergleichen, während das Genome Editing einem minimalinvasiven Eingriff entspricht«, sagt Detlef Weigel, Direktor des Max-Planck-Instituts (MPI) für Entwicklungsbiologie in Tübingen. Weigel hat gemeinsam mit Kollegen aus China und den USA einen regulatorischen Rahmen für das Genome Editing bei Pflanzen erarbeitet. Die Wissenschaftler sprechen sich darin dagegen aus, solche veränderten Pflanzen als GVO einzuordnen.

Gentechnikkritiker hingegen sprechen von »Gentechnik durch die Hintertür«: Mit Hilfe solcher Methoden könnten Lebensmittel in den Handel gelangen, die zwar gentechnisch verändert wurden, aber nicht entsprechend gekennzeichnet werden

müssten. Sie fordern Risikoprüfungen und eine Kennzeichnung, um die Wahlfreiheit von Landwirten und Verbrauchern zu erhalten.

Dass wesentliche Unterschiede zwischen der alten und der neuen Gentechnik existieren, kann niemand bestreiten: Bei der klassischen Gentechnik werden neue Gene in Organismen eingeführt. Stammen sie aus einer fremden Art, entsteht ein transgener Organismus – wie etwa beim Bt-Mais, dem das Gen einer Bakterienart eingefügt wurde, um ihn gegen Schädlinge resistent zu machen. Dass hier artfremde DNA in das Erbgut gelangt, ist ein wesentlicher Kritikpunkt der Gentechnikgegner. Ein anderer ist, dass bei der alten Technik bis heute niemand vorhersagen kann, wo genau im Erbgut die neuen Gene landen. Gut möglich, dass sie dort, wo sie sich einnisten, bestehende Gene zerstören, was unerwünschte Effekte hervorrufen kann. GVO müssen darum ein aufwändiges Zulas-

sungsverfahren durchlaufen, in dem sie ihre Unbedenklichkeit unter Beweis stellen sollen.

### **Zielgenaue Schere**

Das Genome Editing funktioniert deutlich eleganter. Besonders präzise arbeitet das CRISPR/Cas-System, bei dem Molekularbiologen punktgenau bestimmen können, wo im Genom eine Veränderung stattfinden soll. Die Abkürzung CRISPR steht für »clustered regularly interspaced short palindromic repeats«. Dabei handelt es sich um Erbgutabschnitte, mit denen Bakterien Viren bekämpfen. Dringt ein Virus in ein Bakterium ein, schnappt sich die Zelle Teile der Virus-DNA und baut sie in ihre CRISPR-Struktur ein. Diese wirkt von nun an wie ein molekularer Steckbrief: Gelangt erneut ein Virus mit dieser DNA ins Bakterium, wird es mit Hilfe der aufbewahrten DNA-Schnipsel erkannt. Jetzt setzt die Zelle ein so genanntes Cas-Enzym frei, das am erkannten Abschnitt andockt und die virale DNA zerschneidet (der Name Cas steht für »CRISPR-associated«).

Die Idee, das CRISPR/Cas-System als Werkzeug einzusetzen, ist noch relativ jung. Erst 2012 erschien dazu in der Fach-

zeitschrift »Science« eine bahnbrechende Veröffentlichung von Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna. Darin beschreiben sie, wie man das bakterielle Abwehrsystem als präzise DNA-Schere nutzen kann, die exakt an einer gewünschten Stelle im Erbgut schneidet. Forscher müssen dem Enzym Cas9 lediglich eine so genannte guide-RNA vorlegen, sie übernimmt die Rolle des viralen Steckbriefs: Findet Cas9 das dazu passende Stück, zerschneidet es den Erbgutstrang. Dieser DNA-Bruch kann anschließend auf unterschiedliche Weise wieder repariert werden.

Einzige Voraussetzung ist, dass man für die guide-RNA die Sequenz des gewünschten Gens oder DNA-Abschnitts kennt. »Das Set kann man sich innerhalb eines Arbeitstages für rund 20 Euro herstellen lassen. Das gab es noch nie. Die Technik ist damit für jedes Labor erschwinglich«, sagt Holger Puchta, Leiter des Botanischen Instituts am Karlsruher Institut für Technologie. Der Clou der Methode: Die Genschere funktioniert nicht nur in Bakterien, sondern auch in Pflanzen, Tieren und Menschen. Weltweit haben zahlreiche Arbeitsgruppen gezeigt, dass sich das Verfahren beispielsweise bei Reis, Tabak, Tomaten, Mais oder Wei-

---

»Wie soll der Einsatz einer Technologie kontrolliert werden, wenn man ihre Nutzung gar nicht nachweisen kann?«

[Holger Puchta]

---



zen einsetzen lässt. Die Mutationen, also die gewünschten Veränderungen der Basenfolge der DNA, werden stabil eingefügt und an die Nachkommen weitergegeben.

Selbst in der Tierzucht, wo die klassische Gentechnik bislang eine untergeordnete Rolle spielte, sorgen die exakten Methoden des Genome Editing für Wirbel: Mit CRISPR/Cas könnten sich beispielsweise seltene genetische Defekte bei Rindern »reparieren« lassen, erklärt Henner Simianer von der Abteilung Tierzucht und Haustiergenetik der Georg-August-Universität Göttingen. Jeder Zuchtbulle trage versteckte genetische Defekte. Diese seien zwar sehr selten, »aber da ein guter Bulle mehrere zehntausend Nachkommen hat, reichern sich diese Defekte doch an«, sagt der Göttinger Forscher. Zwar könne man sie auch mit Hilfe klassischer Zuchtmethoden auskreuzen, aber das würde viele Generationen dauern und Unsummen verschlingen. CRISPR/Cas verspricht, sie gezielt aus dem Erbgut zu entfernen.

### **Entscheidend ist die Reparatur des Schnitts**

Andere Arbeitsgruppen forschen an Krankheitsresistenzen: Hühner sollen gegen die

Vogelgrippe resistent gemacht werden, Schweine gegen verschiedene Krankheiten wie etwa die afrikanische Schweinepest. »Die Seuche ist ein echter Killer. Resistente Schweine wären ein Geschenk«, sagt Simianer. Die Ziele der neuen Gentechnik unterscheiden sich dabei nicht von den Zielen der alten Gentechnik oder der traditionellen Zucht: Immer geht es darum, Nutzpflanzen und -tiere an die Bedürfnisse des Menschen anzupassen, sie ertragreicher zu machen, resistenter gegen Krankheitserreger. Mit CRISPR/Cas geht es nur schneller und einfacher. Doch warum ist die rechtliche Einstufung der neuen Methode nun so schwierig?

Mit dem gezielten Schneiden der DNA ist das Erbgut einer Pflanze oder eines Tiers noch nicht verändert. Genauso wichtig ist die Reparatur des Bruchs. Das Genome Editing nutzt dabei die natürliche Fähigkeit von Zellen, solche DNA-Brüche wieder zusammenzufügen. Molekularbiologen unterscheiden drei verschiedene DNA-Reparaturtypen: Bei Typ I entsteht eine Punktmutation. Eine Base, also ein Buchstabe der DNA-Sequenz, wird gegen eine andere ausgetauscht. Bei Typ II schleusen Forscher ein kurzes Stück

künstliche DNA in die Zelle ein, die sich nur in einigen Bausteinen von der ursprünglichen Sequenz unterscheidet. Um den Bruch zu schließen, nutzt die Zelle diese DNA als Vorlage und übernimmt so die Änderungen. Bei Typ III bringt man neben der ursprünglichen Sequenz ein größeres Stück Fremd-DNA in die Zelle ein, das bei der Reparatur in den Bruch eingefügt wird.

Nach dem deutschen Gentechnikgesetz werden solche Organismen als gentechnisch verändert eingestuft, deren »genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist«. Während die Typ-III-Reparatur eindeutig unter das Gentechnikgesetz fällt, herrscht bei der Einordnung von Typ I und Typ II Uneinigkeit: Dort sind nur einige wenige DNA-Bausteine oder ein einzelner ausgetauscht oder gelöscht. Zudem sind die eingebrachte guide-RNA sowie das Cas-Enzym nicht mehr nachweisbar, weil sie abgebaut oder ausgekreuzt wurden. Eine [Stellungnahme des deutschen Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit](#) (BVL) kommt deswegen zu dem Schluss: »Typ-I- und Typ-II-

Reparaturen führen nach Auffassung des BVL nicht zu einem GVO, da die genetischen Veränderungen Punktmutationen darstellen, die auch natürlicherweise durch Kreuzung und/oder natürliche Rekombination entstehen könnten. Ferner ist das Produkt nicht von Produkten der klassischen Mutagenese unterscheidbar, die von der Regulierung durch die Richtlinie ausgenommen sind.«

### **Klassische Verfahren rufen vielfältige Veränderungen hervor**

In der Natur kommen Mutationen, also kleinere genetische Veränderungen, laufend vor – sie sind der Motor der Evolution. Und auch konventionelle Zuchtmethoden verändern das Erbgut von Pflanzen und Tieren: So wählt der Mensch seit 10 000 Jahren gezielt jene Schafe, Kühe, Mais- und Weizenpflanzen aus, die ihm am meisten zusagen. Ein noch deutlicheres Beispiel sind die Hunde: Ob Dogge oder Zwergpinscher, alle rund 300 Hunderassen entstanden durch die Macht künstlicher Auslese.

Unter klassischer Mutagenese versteht man die Behandlung von Pflanzen mit Chemikalien oder radioaktiven Strahlen.

»Damit löst man unzählige Mutationen aus. Wo genau sie entstehen, weiß niemand. Die allermeisten davon sind unbrauchbar und schädlich. Findet sich eine nützliche Mutation, müssen die nachteiligen Genveränderungen aufwändig wieder ausgekreuzt werden. Solche Pflanzen gelten als natürlich und werden ohne Sicherheitsprüfungen vermarktet«, sagt Puchta und fragt: »Warum sollten Pflanzen, die mit Hilfe einer Methode gewonnen wurden, bei der man das Erbgut wie mit einem Skalpell an einem vorher definierten Ort nur wenig verändert, rechtlich schlechter gestellt sein?«

Nun, weil in Deutschland nicht nur das Endergebnis, sondern auch der Entstehungsprozess einer Pflanze zählt. Zu diesem Schluss kommen jedenfalls [zwei Rechtsgutachten](#), die von NGOs wie Greenpeace und BUND in Auftrag gegeben wurden. Auch sie berufen sich auf EU-Recht: Ein Verfahren gelte dann als Gentechnik, wenn »in einen Organismus direkt Erbgut eingeführt wird, das außerhalb des Organismus zubereitet wurde«. Demnach wären alle Pflanzen und Tiere, die mit CRISPR/Cas oder einer anderen Methode des Genome Editing genetisch verändert

wurden, automatisch GVO – egal, ob das eingebrachte Material am Ende noch nachweisbar ist oder nicht. »Aber das ist absurd: Wie soll denn der Einsatz einer Technologie kontrolliert werden, wenn man ihre Nutzung gar nicht nachweisen kann, weil sich die Organismen nicht von ihren natürlichen Artgenossen unterscheiden?«, fragt Puchta.

Weigel und seine Kollegen empfehlen, die Änderungen, die durch Genome Editing erfolgt sind, zu analysieren und zu dokumentieren. Außerdem sollte sichergestellt werden, dass keine Reste von eventuell vorher eingeführter Fremd-DNA im Erbgut verbleiben. Dann seien so gewonnene Pflanzen aber solchen aus konventioneller Züchtung gleichzusetzen.

Einige Staaten, zum Beispiel Kanada, nutzen neuerdings ein Zulassungsverfahren, das das Endprodukt bewertet. Experten nehmen an, dass die USA dem Beispiel Kanadas folgen wird. Wie geht es hier zu Lande weiter? Das ist nach wie vor offen: Die EU-Kommission hat ihre Entscheidung bereits mehrfach verschoben. Zuletzt war sie für März 2016 angekündigt. ↩

(Spektrum.de, 4. April 2016)



ZELLANALYSE

# Die CRISPR-Welle

**von Heidi Ledford**

Die neuen Gene-Editing-Technologien bieten immense Möglichkeiten zur Untersuchung verschiedenster Genome. Fünf Beispiele, wie das CRISPR/Cas9-System die Analyse von Zellen verändert.





**D**ie Mitarbeiter von [Addgene](#) erfahren es sofort, wenn wieder ein neues Paper zu CRISPR/Cas9 veröffentlicht wird. Viele Autoren hinterlegen ihre Methoden und Werkzeuge nämlich bei dieser Non-Profit-Organisation, wo andere Wissenschaftler dann gleich darauf zugreifen können. »Nach der Publikation eines Top-Papers dauert es oft nur Minuten, bis wir die ersten Anfragen dazu haben«, erzählt Joanne Kamens, die Geschäftsführerin der Organisation aus Cambridge in Massachusetts.

Seit Anfang 2013 klingelt hier ständig das Telefon. [Damals war zum ersten Mal publiziert worden](#), wie Forscher das Genom menschlicher Zellen mit Hilfe des CRISPR/Cas9-Systems [an definierten Stellen geschnitten hatten](#). »Alle Mann an Deck, hieß es dann«, erinnert sich Kamens. Seitdem haben sich viele Molekularbiologen mit der neuen Methode beschäftigt, mit der sich das Genom fast jedes Organismus so einfach wie noch nie und dabei

so zielgenau wie mit keiner anderen Technik verändern lässt. Addgene hat bisher schon 60 000-mal und in 83 Ländern der Welt Materialien zu CRISPR verschickt – das sind immerhin etwa 17 Prozent ihrer Lieferungen, und die Informationen zu CRISPR auf ihrer Homepage wurden allein letztes Jahr mehr als eine Million Mal aufgerufen.

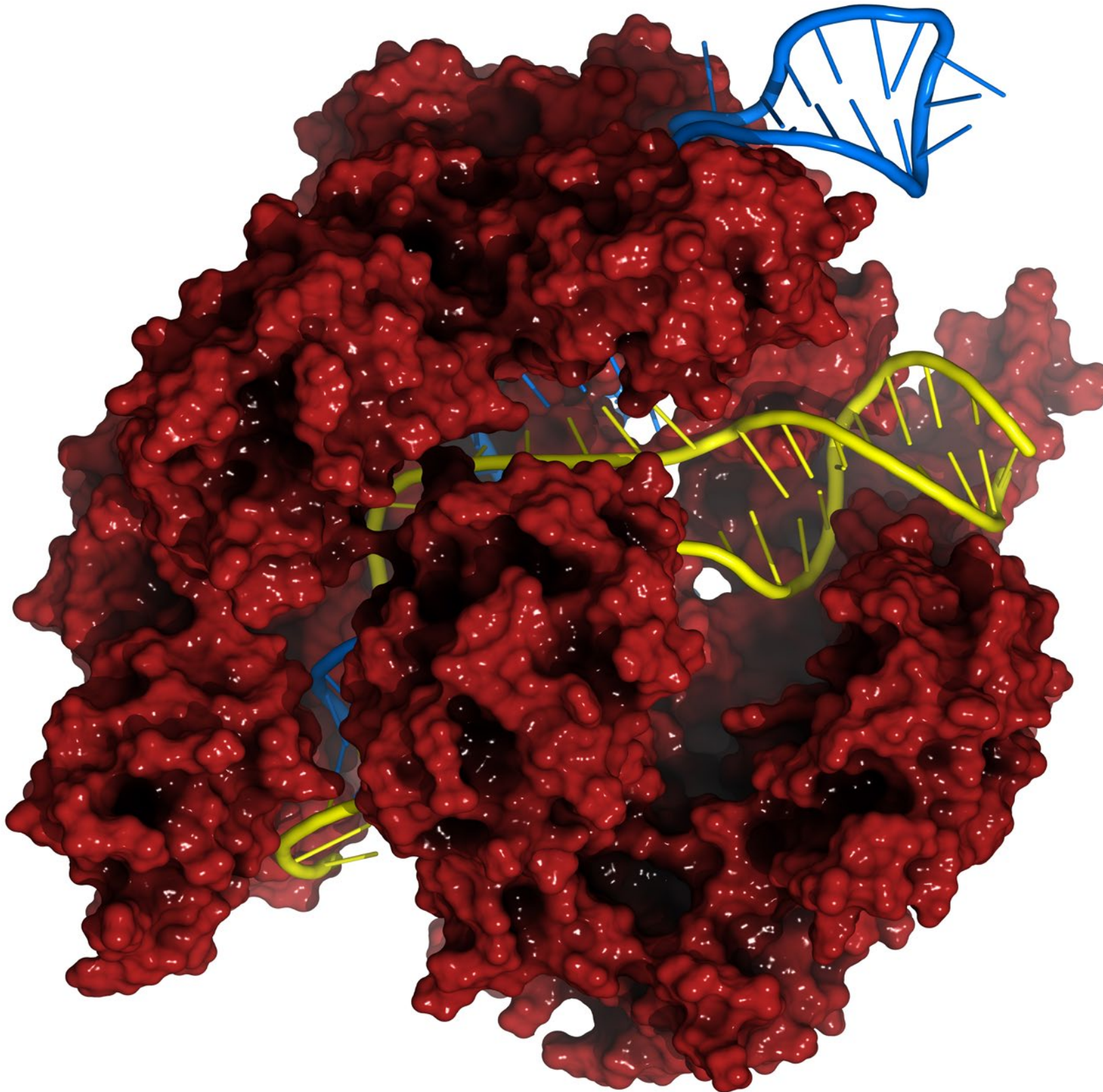
Bei vielen Diskussionen zu CRISPR/Cas9 geht es um den therapeutischen Einsatz und das Gene Editing bei menschlichen Embryonen. Die wahre Revolution findet laut den Wissenschaftlern aber gerade im Labor statt, weil CRISPR genau das bietet, was Biologen wollen: Spezifität. Mit der Methode lässt sich eine ganz bestimmte DNA-Sequenz inmitten des riesigen Genoms anvisieren und untersuchen, wobei das DNA-Editing nur eine der Anwendungen ist. Die Wissenschaftler können nämlich auch schon Proteine an ganz bestimmte DNA-Sequenzen leiten, um so Gene an- oder auszuschalten oder biologische Kreisläufe nachzustellen und die Vorgänge

in Zellen und Erkrankungen besser zu verstehen. »Mit diesem genialen Werkzeug kann jeder einfache Molekularbiologe die Funktion des Genoms untersuchen«, sagt der Hämatologe Daniel Bauer vom [Boston Children's Hospital in Massachusetts](#). »Mit CRISPR lassen sich viel mehr Fragen angehen«, fügt Peggy Farnham hinzu, die als Molekularbiologin an der University of Southern California in Los Angeles arbeitet. »Das ist einfach toll.« Wir zeigen fünf Beispiele, wie das CRISPR/Cas9-System die Analyse von Zellen verändert.

### **Modifizierte Genschere**

Das CRISPR/Cas9-System besteht aus zwei Komponenten: [Cas9](#) ist ein Enzym, welches die DNA wie eine Schere schneidet; dies erfolgt aber erst, nachdem es von einem kleinen RNA-Molekül an eine ganz bestimmte DNA-Sequenz geleitet wurde. Das zelleigene Reparatursystem flickt anschließend die DNA an der Schnittstelle wieder zusammen. Dabei macht es aber oft Fehler. Und genau das gefällt jenen Wissenschaft-

## CRISPR-CAS-DNA-KOMPLEX



lernen, die Gene zerschneiden möchten, um ihre Funktion zu erforschen. Der genetische Code kennt nämlich keine Gnade: Schon der kleinste Fehler, der sich bei der vermeintlichen Reparatur einschleicht, kann die produzierten Proteine völlig verändern oder ihre Produktion sogar stoppen. Damit können die Forscher aber bestens untersuchen, was bei Problemen in der Gen- oder Proteinsequenz in den Zellen oder dem ganzen Organismus geschieht.

Außerdem gibt es in den Zellen noch einen weiteren Reparaturmechanismus, der DNA-Schnitte anhand einer DNA-Schablone, eines so genannten Templates, reparieren kann. Mit Hilfe solch einer Vorlage lässt sich das Genom in fast jeder gewünschten Weise und an jeder Stelle verändern, sprich editieren. Als sich im Jahr 2012 etliche Labors noch damit beschäftigten, wie meisterhaft sie menschliche DNA mit Hilfe des Gene-Editing-Tools schneiden konnten, ging eine Gruppe von Forschern schon einen ganz anderen Weg. »Als Erstes veränderten wir die DNA-Schere«, erklärt der Systembiologe Jonathan Weissman von der University of California in San Francisco (UCSF).



Er hatte von einer neuen Technik des Systembiologen Stanley Qi von der Stanford University in California gehört, der das Cas9-Enzym durch Mutation verändert hatte. Cas9 blieb durch die Mutation zwar noch an der DNA-Stelle gebunden, an die es seine guide-RNA (Führungs-RNA) geleitet hatte, die DNA wurde aber nicht mehr geschnitten. Stattdessen blieb das Enzym einfach dort sitzen und verhinderte, dass die betreffende DNA-Sequenz durch Proteine der Transkriptionsmaschinerie in RNA umgeschrieben wurde. Unter Verwendung dieses Systems konnte der Forscher Gene abschalten, ohne die DNA-Sequenz selbst zu verändern. Mit diesem dCas9 (dead Cas9 für totes Cas9) versuchten die Forscher dann noch etwas ganz Neues: Sie hefteten es an ein anderes Protein, welches die Genexpression aktiviert. Und mit ein paar weiteren Kniffen **hatten sie so eine neue Möglichkeit gefunden, Gene nach Belieben ein- und auszuschalten.**

Seitdem haben mehrere Labors Varianten der Methode veröffentlicht, und viele nutzen sie fieberhaft für ihre Fragestellungen. Bei einer der gängigsten Anwendungen werden Hunderte verschiedener Zelllinien gleichzeitig hergestellt; jede Linie ent-

hält eine andere guide-RNA, mit der ein anderes Zielgen anvisiert wird. Martin Kampmann arbeitet ebenfalls als Systembiologe an der UCSF und möchte herausfinden, ob und wie sich beim An- und Abschalten bestimmter Gene das Überleben von Neuronen verändert, die zuvor toxischen Proteinaggregaten ausgesetzt wurden – dies wird bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer als zu Grunde liegender Mechanismus diskutiert. Ein ähnliches Screening hatte Kampmann schon zuvor mit der Methode der RNA-Interferenz durchgeführt, mit der sich ebenfalls Gene ausschalten lassen. Doch auch wenn sich hiermit viele Moleküle gleichzeitig untersuchen lassen, zeigt die Technik auch Schwächen. »RNAi ist ein Shotgun-Verfahren, bei dem auch Bereiche außerhalb der Zielsequenz beeinflusst werden«, sagt er. »Dagegen wirkt CRISPR wie ein Skalpell und ermöglicht ein viel spezifischeres Vorgehen.«

Weissman und seine Kollegen, darunter auch der Systembiologe Wendell Lim von der UCSF, verbesserten die Methode noch. **Die Forscher führten eine längere guide-RNA ein, deren Motive an verschiedene Proteine binden können. So lassen sich in**

---

»CRISPR wirkt wie  
ein Skalpell und ermöglicht  
ein sehr spezifisches  
Vorgehen«

[Martin Kampmann]

---



einem einzigen Ansatz die Gene von drei verschiedenen Stellen gleichzeitig aktivieren oder inhibieren. Laut Lim sind bis zu fünf Manipulationen gleichzeitig möglich; limitiert wird dies wahrscheinlich nur durch die Menge an guide-RNAs und Proteinen, die maximal in eine Zelle hineingepackt werden können. »Entscheidend ist letztlich, wie viel die Zelle aushält.« Die Möglichkeit, verschiedene Ziele in einem Experiment anzuvisieren, hat auch den Systembiologen Ron Weiss vom Massachusetts Institute of Technology (MIT) in Cambridge zum CRISPR/Cas9-System gebracht. Auch sein Team konnte mehrere Gene in einem Experiment parallel verändern, was die Experimente enorm beschleunigt und ebenso das Nachstellen komplizierter biologischer Regelkreise ermöglicht. So lässt sich beispielsweise der Metabolismus von Zellen in ein wahres Biokraftwerk verwandeln. »Die Systembiologie will komplexes Verhalten durch das Abbild komplizierter Regelkreise darstellen«, erklärt er.

### Epigenetik mittels CRISPR

Die Genetikerin Marianne Rots hatte sich am Anfang ihrer Karriere das Ziel gesetzt, neue Therapiemöglichkeiten zu entwi-

ckeln. Deshalb arbeitete sie zunächst an Gentherapien gegen einzelne mutierte Gene, änderte dann aber doch ihren Kurs. »Mir wurde klar, dass viele Krankheiten auf Veränderung eines ganzen Expressionsprofils beruhen und nicht so sehr auf der Mutation einzelner Gene, worauf ich mich vorher konzentriert hatte«, sagt die Forscherin vom University Medical Center

**»DIE MAUS WAR IMMER DER LIMITIERENDE SCHRITT IN DER UNTERSUCHUNG VON KRANKHEITSGENEN«**

**... sagt Krebsforscher Wen Xue: Während er im ersten Jahr seiner Doktorarbeit unermüdlich daran arbeitete, Mäuse mit einer bestimmten Mutation heranzuziehen, bediente er sich beim zweiten Mal der CRISPR/Cas9-Methode: »Da hatten wir die Maus nach nur einem Monat.«**



FOTOLIA / ALEXANDER ERDBEER

in Groningen in den Niederlanden. Und weil ihrer Meinung nach das Epigenom die beste Möglichkeit zur Genkontrolle bietet, wollte sie dieses und nicht das Genom selbst beeinflussen.

Das Epigenom besteht aus chemischen Markierungen an der DNA sowie deren als Histone bezeichneten Verpackungsproteinen. Diese steuern den Zugang zur DNA und öffnen oder versperren den Weg jener Proteine, die an der Genexpression beteiligt sind. Die Markierungen, die so genannten »marks«, verändern sich allerdings mit der Zeit, wobei einige im Lauf der Entwicklung und durch Umwelteinflüsse hinzugefügt, andere entfernt werden. In den letzten Jahren wurden Millionen Dollar in die Bestimmung und Untersuchung der epigenetischen Markierungen der verschiedenen Zelltypen des Menschen gesteckt und deren Verteilungsmuster unter anderem mit der Gehirnaktivität und dem Tumorstadium abgeglichen. Aber ohne die Möglichkeit, sie auch an definierten Stellen zu verändern, lässt sich ihre Beteiligung an biologischen Vorgängen nicht eindeutig zeigen. »Es gab jede Menge Widerstand, weil wir einfach keine Tools wie die Genetiker hatten, um die Funktion einzel-

ner Gene direkt zu untersuchen«, sagte der Neurowissenschaftler Jeremy Day von der University of Alabama in Birmingham.

Mit dem CRISPR/Cas9-System könnte sich das ändern. Das Team um den Biotechnologen Charles Gersbach von der Duke University in Durham in North Carolina beschrieb im April 2015 eine Methode, mit der die Forscher Azetylgruppen – eine Art der epigenetischen Markierung – an Histone binden konnten, indem sie das nötige Enzym mittels CRISPR/Cas9 an bestimmte Stellen im Genom leiteten. Wie sie herausfanden, lässt sich die Expression von Zielgenen durch das Anhängen von Azetylgruppen an DNA bindende Proteine steigern. So bewiesen sie, dass ihr System funktionierte und dass an genau der untersuchten Stelle die epigenetische Markierung von Bedeutung ist. Bei der Veröffentlichung seiner Arbeiten hinterlegte Gersbach sein Enzym bei Addgene, damit es auch von anderen Forschern genutzt werden konnte – und das taten sie schon kurz darauf. Laut Gersbach wird eine Welle neuer Publikationen unter anderem zeigen, dass die parallele Veränderung mehrerer Markierungen einen synergistischen Effekt auf die Genexpression ausübt.

---

»Wir hatten einfach keine Tools wie die Genetiker, um die Funktion einzelner Gene direkt zu untersuchen«

[Jeremy Day]

---

---

»Technologien kommen  
und gehen. Man darf sich  
nie zu fest an eine  
bestimmte binden«

---

[Patrick Hsu]

Die Werkzeuge der Forscher müssen aber erst noch verbessert werden. Dutzende Enzyme sind in der Lage, epigenetische Markierungen an der DNA zu setzen und wieder zu entfernen, und nicht alle lassen sich gleichermaßen nutzen. »Es war letztlich doch schwieriger als gedacht«, erzählt Gersbach. »An das dCas9 ließen sich zwar alle möglichen Moleküle anfügen; aber die funktionierten dann doch nicht.« Manchmal ist auch schwer zu erkennen, ob sich ein unerwartetes Ergebnis deshalb ergibt, weil die Methode an sich nicht funktioniert oder weil die epigenetische Markierung in dieser bestimmten Zelle oder Umgebung einfach keinen Einfluss hat. Rots beschäftigt sich mit der Funktion epigenetischer Markierungen bei Krebs und hat bisher mit dem schon älteren Editing-Werkzeug der Zinkfingerproteine gearbeitet; nun steigt sie aber doch auf CRISPR/Cas9 um. Mit dem neuen Tool haben alle wieder Chancen auf Erfolg, sagt sie – eine Aussicht, die schon immer für enormen Auftrieb gesorgt hat. So manche Forscher sahen in den Ergebnissen nur Koinzidenzen und meinten, die Veränderung der epigenetischen Markierungen hätte gar keinen Einfluss auf die Genexpression, er-

zählt Rots. »Das lässt sich aber mittlerweile relativ einfach überprüfen, weil sich inzwischen viele Wissenschaftler für die Epigenetik interessieren.«

### **Den Kode knacken**

Die epigenetischen Markierungen an der DNA sind aber nicht der einzige Kode im Genom, den es noch zu knacken gilt, weil nämlich mehr als 98 Prozent des menschlichen Genoms gar nicht für Proteine kodieren. Viele Forscher schreiben diesen Sequenzen trotzdem eine wichtige Rolle zu und wollen das nun anhand des CRISPR/Cas9-Systems herausfinden. Ein Teil dieser Sequenzen kodiert für RNA-Moleküle wie microRNAs und lange nichtkodierende RNAs mit anderen Funktionen als die reine Proteinexpression. Wieder andere Bereiche sind so genannte Enhancer, sprich Transkriptionsverstärker, welche die Expression der von ihnen kontrollierten Gene verstärken. Die meisten DNA-Sequenzen, die das Risiko weit verbreiteter Erkrankungen beeinflussen, liegen in Genomregionen mit nichtkodierender RNA und Enhancern. Früher, noch vor dem Aufkommen des CRISPR/Cas9-Systems, ließen sich die Effekte solcher Sequenzen nur schwer be-

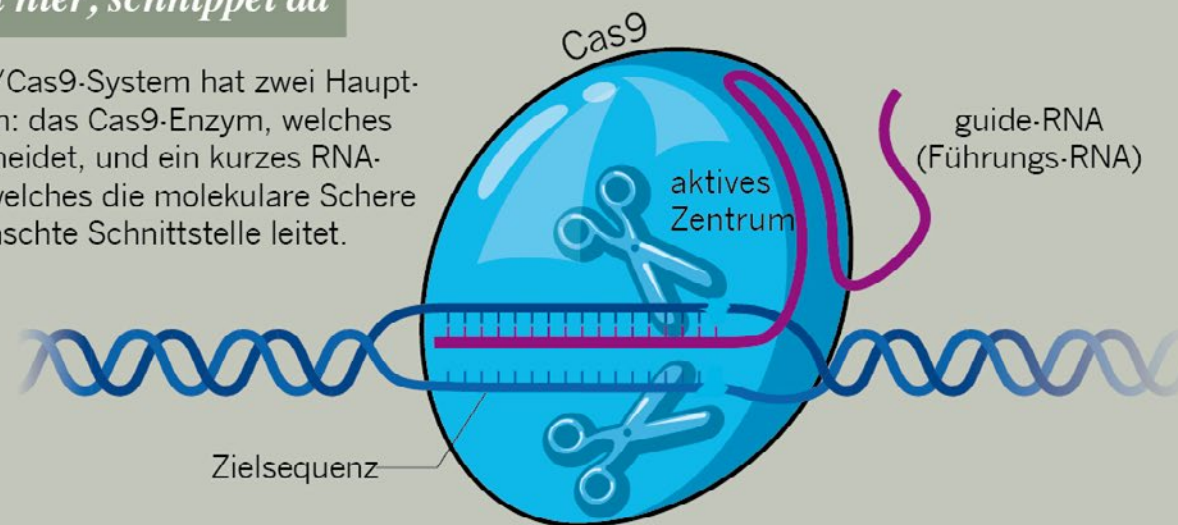


# CRISPR-HACKING

Durch Abwandlung der molekularen Maschinerie des Gene-Editing-Werkzeugs CRISPR/Cas9 lässt sich nun die Funktion von Genen und Genregulatoren mit unglaublicher Genauigkeit untersuchen.

## *Schnippel hier, schnippel da*

Das CRISPR/Cas9-System hat zwei Hauptkomponenten: das Cas9-Enzym, welches die DNA schneidet, und ein kurzes RNA-Stückchen, welches die molekulare Schere an die gewünschte Schnittstelle leitet.

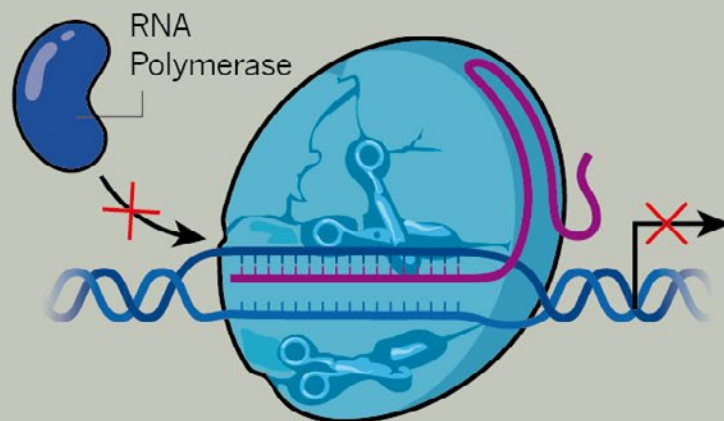


## *Modifizierte Gen-Schere*

Das Cas9-Enzym kann so verändert werden, dass es zwar noch an DNA bindet, diese aber nicht mehr schneidet. Mit Hilfe der passenden guide-RNA kann dieses dCas9 immer noch an einen bestimmten Abschnitt im Genom geleitet werden.

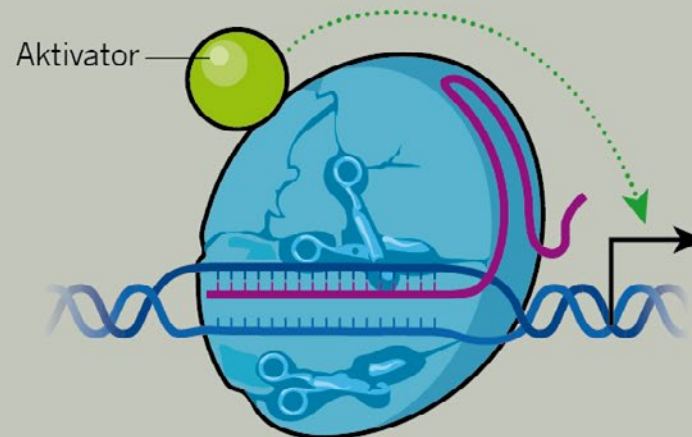
### Gen-Inhibition durch CRISPR

Das dCas9-Enzym blockiert die Bindung anderer Proteine wie der RNA-Polymerase, die zur Expression eines Gens notwendig sind.



### Gen-Aktivierung durch CRISPR

An das dCas9 kann ein Aktivierungsprotein gebunden werden, um so die Expression eines bestimmten Gens zu stimulieren.



stimmen. »Wir konnten die nichtkodierenden Regionen nur schlecht einordnen«, erklärt Bauer. »Inzwischen können wir alles viel genauer untersuchen.«

Farnham und ihre Kollegen nutzen CRISPR/Cas9 gerade zur Deletion jener Enhancer-Regionen, bei denen in Prostata- und Darmkrebs-Proben schon früher Mutationen gefunden wurden. Die Ergebnisse ihrer Analysen waren überraschend und sind noch nicht alle veröffentlicht. So hatten sie beispielsweise einen bisher als wichtig betrachteten Enhancer entfernt – doch dies zeigte keinerlei Einfluss auf die Expression der Gene im Umkreis von einer Millionen Basenpaaren. »Was wir bisher als starkes oder schwaches regulatorisches Element betrachtet haben, kann sich in Deletionsanalysen anscheinend als ganz anders erweisen«, schließt sie.

Auch die Analyse langer regulatorischer Sequenzen mittels CRISPR/Cas9 bietet Überraschungen, wie der Genetiker David Gifford vom MIT und sein Kooperations-

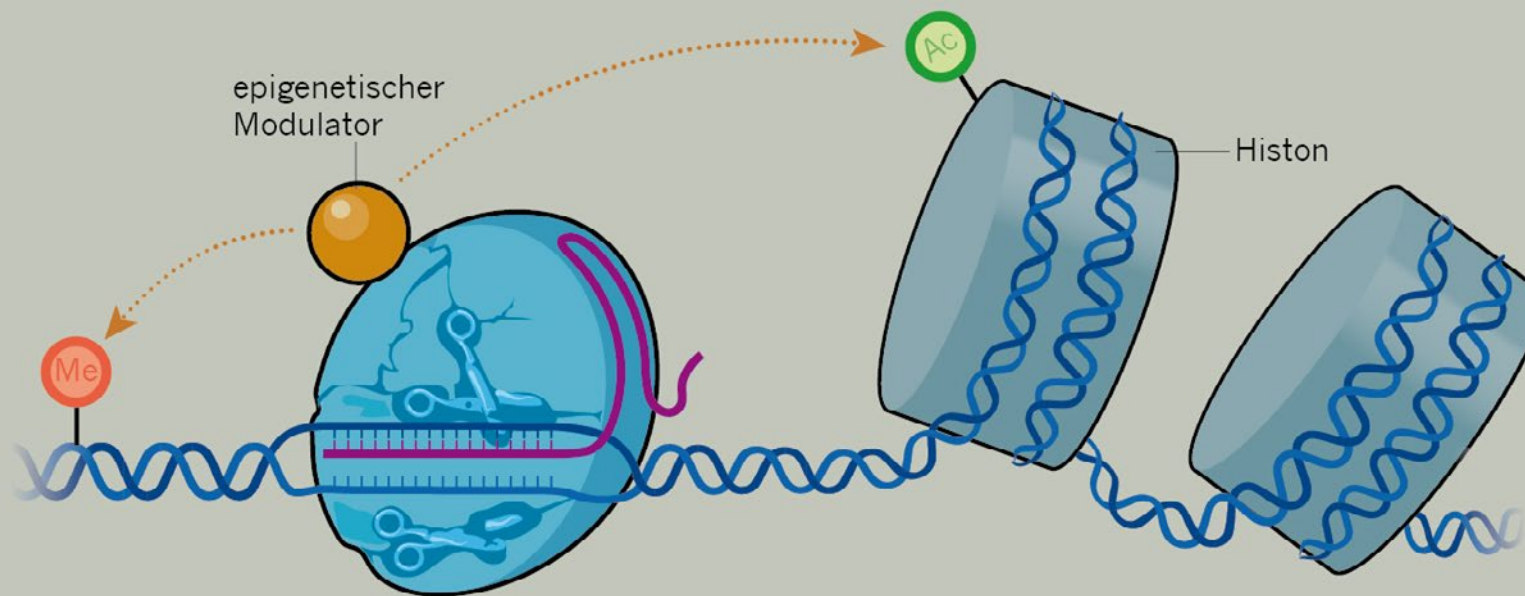
## CRISPR-HACKING

**Das Werkzeug der Genetiker lässt sich auch auf unkonventionelle Weise einsetzen.**



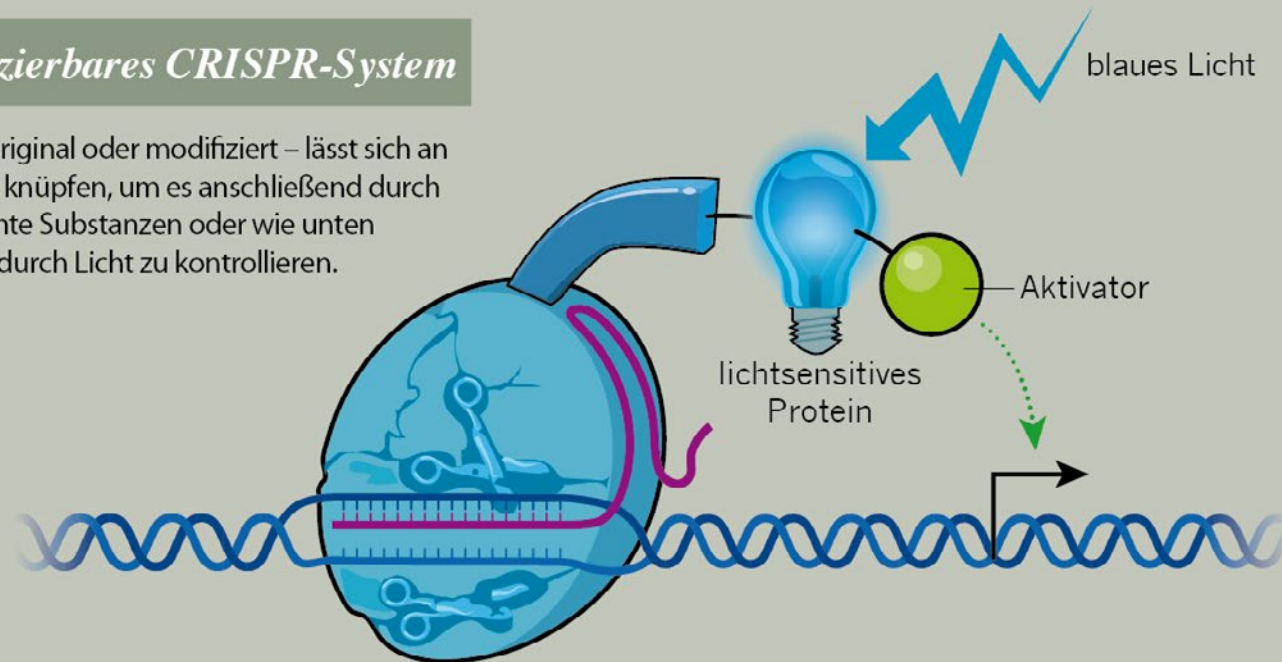
## Epigenetik mittels CRISPR

An dCas9 lassen sich auch epigenetische Modifikatoren binden, die beispielsweise DNA mit Methylgruppen (Me) oder Histonproteine mit Azetylgruppen (Ac) markieren. Dadurch können Forscher den Einfluss gezielt platzierter Modifikationen auf die Genexpression und die Dynamik der DNA untersuchen.



## Induzierbares CRISPR-System

Cas9 – original oder modifiziert – lässt sich an Schalter knüpfen, um es anschließend durch bestimmte Substanzen oder wie unten gezeigt durch Licht zu kontrollieren.



partner Richard Sherwood vom Brigham and Women's Hospital in Boston feststellten. Die beiden führten in einer 40 000 Basenpaaren langen Sequenz verschiedene Mutationen ein und untersuchten im Anschluss daran, ob diese die Aktivität eines nahe gelegenen GFP-Gens beeinflussten. Anschließend listeten sie auf, welche DNA-Sequenzen die Genexpression steigerten, und fanden dabei auch einige Abschnitte, die sie zuvor nicht vermutet hätten, zumindest nicht anhand der bisher bekannten genregulatorischen Chromatin-Modifikationen.

In diese unbekannten Gefilde einzutreten, war selbst mit CRISPR/Cas9 nicht ganz einfach. Das Cas9-Enzym schneidet an genau der Stelle, an die es von der guide-RNA geleitet wird, sofern dort die bestimmte Sequenz vorhanden ist. Ein Gen mit dieser Methode auszuschalten, ist nicht so schwierig, weil sich fast immer passende Stellen finden lassen. Wenn es aber darum geht, ganz spezifische Veränderungen in kurzen, nichtkodierenden RNAs einzuführen, gibt es schon weniger Möglichkeiten. »Wir können hier nicht einfach irgendeine Sequenz nehmen«, sagt Reuven Agami, der am niederländischen

Krebsinstitut in Amsterdam arbeitet. Deshalb machten sich einige Forscher auch schon in Bakterien auf die Suche nach Verwandten des Cas9-Enzyms, die andere Erkennungssequenzen aufweisen. Im Jahr 2015 charakterisierten die Mitarbeiter des Biotechnologen Feng Zhang vom Broad Institute of MIT and Harvard in Cambridge die Familie der Cpf1-Enzyme, die genauso wie Cas9 arbeiten, aber neue Sequenzmöglichkeiten bieten könnten. Laut Agami funktionieren nur wenige der Enzyme so gut wie das bekannte Cas9, doch er hofft trotzdem, in Zukunft eine ganze Sammlung von Enzymen zur Verfügung zu haben, die an verschiedenste Stellen im Genom geleitet werden können. »Noch sind wir nicht so weit«, fügt er hinzu.

### CRISPR erkennt Licht

Die Mitarbeiter in Gersbachs Labor interessieren sich für das Verhalten von Zellen im Gewebeverband und wie es sich beeinflussen lässt. Die Forscher wollen eines Tages Gewebe in einer Kulturschale ziehen, um Medikamente und Zelltherapien zu testen. Durch das klassische CRISPR/Cas9-System lassen sich allerdings nur permanente Veränderungen in Zellen einführen, doch

Gersbachs Team möchte die Gene nur transient ein- und ausschalten, dazu noch an ganz bestimmten Stellen in einem Gewebe. »Ein Blutgefäß nachzustellen, bedarf unglaublich viel Kontrolle«, erklärt er.

Die Forscher nahmen das dCas9, mit dessen Hilfe sich Gene aktivieren lassen, und fügten diesem noch Proteine zu, die durch blaues Licht aktivierbar sind. Dieses neue System schaltet die Genexpression ein, sobald die Zellen dem Licht ausgesetzt werden, und schalten sie wieder ab, wenn das Licht gelöscht wird. Auch die Gruppe des Biochemikers Moritoshi Sato von der Universität Tokio **entwickelte solch ein System** sowie ein anderes aktives Cas9, welches das Genom nur dann editiert, wenn es blauem Licht ausgesetzt wird.

Ähnliche Techniken wurden auch durch die Kombination von CRISPR mit einem chemischen Schalter erreicht. Der Krebsforscher und Genetiker Lukas Dow vom Weill Cornell Medical College in New York City wollte beispielsweise krebsassoziierte Gene in ausgewachsenen Mäusen verändern, um so Mutationen von Darmkrebszellen des Menschen nachzustellen. Sein Team entwickelte hierfür ein System, bei dem Cas9 über die Substanz Doxycyclin

---

»Wenn ich diese Technik schon früher gehabt hätte, wäre meine Postdoc-Zeit viel kürzer gewesen«

[Wen Xue]

---



aktiviert wird und dann seine Ziel-DNA schneidet. All diese Werkzeuge sind ein weiterer Schritt in Richtung Feinkontrolle des Genome Editing. Gersbachs Gruppe hat es bisher nicht geschafft, Blutgefäße nachzubilden; bislang sind sie noch dabei, ihr lichtinduzierbares System effizienter zu machen. »Das ist die erste Generation des Tools«, sagt der Forscher.

### **CRISPR im Tiermodell**

Im ersten Jahr seiner Postdoc-Zeit entwickelte der Krebsforscher Wen Xue eine transgene Maus, die eine bestimmte Mutation mancher Lebertumoren trägt. Er arbeitete unermüdlich daran, schuf die Werkzeuge für das Gene Targeting, injizierte sie in embryonale Stammzellen und versuchte mühevoll, die Mäuse heranzuziehen. Das Ganze kostete ein Jahr Zeit und 20 000 US-Dollar (etwa 17 600 Euro). »Die Maus war immer der limitierende Schritt in der Untersuchung von Krankheitsgenen«, erklärt er. Als ein paar Jahre später wieder ein Experiment mit einer transgenen Maus anstand, schlug ihm sein Mentor das CRISPR/Cas9-System vor. Dieses Mal bestellte Xue einfach die Werkzeuge, injizierte sie in Ein-Zell-Embryos – et voilà, »da hatten wir die Maus nach nur einem Monat«, erinnert

sich Xue. »Wenn ich diese Technik schon früher gehabt hätte, wäre meine Postdoc-Zeit viel kürzer gewesen.«

Von der Krebsforschung bis zur Untersuchung neurodegenerativer Erkrankungen wollen Forscher nun mit Hilfe von CRISPR/Cas9 Tiermodelle entwickeln – mit mehr Tieren, komplexeren Ansätzen und in verschiedenen Tierarten. Xue leitet inzwischen sein eigenes Labor an der University of Massachusetts Medical School in Worcester und sucht ganz systematisch in verschiedenen Tumorzellen nach Mutationen, die er dann mit CRISPR/Cas9 in Zellkultur und im Tiermodell nachstellen möchte.

Hierzu sollen die neuen Tools so angepasst werden, dass sich Genom und Epigenom im Tiermodell genau manipulieren lassen. »Das eigentlich Spannende daran wird die Integration der Systeme sein«, findet Dow. Vielleicht könnten Wissenschaftler damit zumindest einen Einblick in die Komplexität bekannter Erkrankungen des Menschen erhalten. Nehmen wir nur einmal Tumoren: Diese können Dutzende von Mutationen ausweisen, die alle potenziell an der Entwicklung von Krebs beteiligt sind. »Wahrscheinlich sind gar nicht alle für das Modell eines Tumors nötig«, überlegt Dow.

»Aber zumindest zwei, drei oder vier Mutationen braucht man, um einen aggressiven Tumor besser nachzubilden.« Und er fügt hinzu: »Wenn wir all diese Mutationen anhand unserer bisherigen altmodischen Methoden in der Maus einführen wollten, wäre das sehr teuer und zeitaufwändig.«

Der Biotechnologe Patrick Hsu gründete in 2015 sein eigenes Labor am Salk Institute for Biological Studies in La Jolla in California. Dort möchte er mittels Gene Editing neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer und Parkinson in Zellkultur und in Marmosetten untersuchen; er hofft, die Abläufe und das Fortschreiten der Krankheiten hiermit besser als im Mausmodell untersuchen zu können. Auch dieses wäre ohne CRISPR/Cas9 unglaublich teuer und langsam. Die ersten CRISPR/Cas9-Marmoset-Affen sind zwar schon in Planung, doch Hsu ist auch klar, dass dies vielleicht nur ein erster Schritt ist. »Technologien kommen und gehen. Man darf sich nie zu fest an eine bestimmte binden«, weiß er. »Man muss sich immer danach richten, welche biologischen Fragen man gerade beantworten will.« ↩

(Spektrum.de, 20. April 2016)



ISTOCK / VUSTA

GRÜNE GENTECHNIK

# Gentechnik-Innovation auch für die Landwirtschaft

von Jan Osterkamp

Ein Schneidewerkzeug aus Bakterien soll Nutzpflanzen gegen Bakterien schützen, die von Insekten übertragen werden? Klingt verwirrend – klappt aber ganz gut.

Das präzise neue Genmanipulationswerkzeug CRISPR/Cas9 eignet sich auch dafür, Nutzpflanzen gegen Pflanzenviren zu schützen. Auf diesem Weg könnten Erträge drastisch erhöht und die Schäden durch Pflanzenkrankheiten minimiert werden, hoffen Forscher aus China und den USA, die dieser Idee parallel mit ähnlichen Experimenten nachgegangen waren.


CRISPR/Cas9 beruht auf einer natürlichen, zunächst in Bakterien entdeckten sehr zielgenauen Methode, mit der ausgewählte Nukleotidsequenzen zerstört werden können: Ein Enzym namens Cas9 gelangt dabei mit Hilfe eines kurzen RNA-Schnipsels, der so genannten guide RNA, an seinen Einsatzort an der DNA und

schneidet dort, um Gene zu zerstören oder gewünschte Sequenzen einzufügen.

In den aktuellen Studien gelang es den Forschern nun, das System mit einer Zielsequenz von Pflanzenviren zu programmieren und in Versuchspflanzen scharf zu stellen. Die manipulierten Pflanzen gingen daraufhin effizient gegen Gemini-viren vor, die als Agrarpflanzenschädlinge eine große Rolle spielen: Die Zellen der in China untersuchten transgenen CRISPR/Cas9-Pflanzen enthielten anschließend 60 bis 80 Prozent weniger Viren-DNA und entwickelten keines der üblichen Krankheitssymptome. Das Team in den USA hatte ähnlichen Erfolg gegen ein [Mastrevirus von Bohnen](#). ↩

(Spektrum.de, 30. September 2015)





NAHRUNGSMITTEL

## **CRISPR-Pilz**

darf ohne Auflagen in  
die Supermarktregele

von Daniela Zeibig



Die US-Landwirtschaftsbehörde gibt grünes Licht für einen Champignon, der mit CRISPR/Cas genetisch verändert wurde: Sie will Anbau und Verkauf nicht speziell regulieren.

**M**it Hilfe des CRISPR/Cas-Systems lassen sich einzelne Abschnitte des Erbguts besonders einfach und exakt verändern. Bald könnte auch das erste CRISPR-Lebensmittel Einzug in die Supermarktregale halten – zumindest in den USA: Die US-amerikanische Landwirtschaftsbehörde USDA will offenbar einen Pilz, der mit CRISPR/Cas9 gentechnisch verändert wurde, nicht weiter regulieren, wie »Nature« berichtet. Damit könnte er theoretisch bald ohne spezielle Auflagen angebaut und verkauft werden.

Bei dem CRISPR-Pilz handelt es sich um einen Zuchtchampignon (*Agaricus bisporus*), bei dem Yinong Yang von der Pennsylvania State University mit Hilfe des Genmanipulationswerkzeugs eines von sechs Genen ausschaltete, die für ein Enzym namens Polyphenoloxidase kodieren. Da-

durch werden die Champignons langsamer braun und könnten länger in den Supermarktregalen liegen bleiben. Laut »Nature« ist der Pilz einer von 30 gentechnisch veränderten Organismen, die in den vergangenen fünf Jahren das Regulationssystem der Landwirtschaftsbehörde umgehen konnten, weil sie keine fremde DNA beispielsweise von Viren oder Bakterien enthalten – aber der erste, bei dem CRISPR/Cas zum Einsatz kommt. Yang überlegt nun, ob er selbst ein Unternehmen gründen soll, das seine bräunungsresistenten Champignons auf den Markt bringt. ↩

(Spektrum.de, 15. April 2016)



FÜR NUR  
€ 4,99

## LANDWIRTSCHAFT

Von **Bodenschutz** bis **Urban Gardening**

### Biokohle:

Ein neues altes Wundermittel?

### Klimawandel:

Die Landwirtschaft wetterfest machen

HIER DOWNLOADEN





**MEINUNG:** GRÜNE GENTECHNIK

# Was wollen wir wirklich?

**von Lars Fischer**

Genome Editing mit CRISPR-Cas wird die Landwirtschaft verändern. Die Diskussion darüber auch, hofft Lars Fischer.

TRAKTOR: FOTOLIA / DUSAN KOSTIC; PORTRAIT: HEIDE PRANGE



Eigentlich ist es eine rein ästhetische Frage, wie schnell Champignons braun werden – doch sie könnte der neue Fokus einer längst schon ins Absurde abgeglittenen Gentechnikdebatte werden. Oder aber eine Gelegenheit, vom Krieg um Worte wegzukommen und zu diskutieren, was wir wirklich wollen – von unserer Nahrung und unserer Landwirtschaft.

Die US-Landwirtschaftsbehörde USDA hat jedenfalls erstmals über einen mit CRISPR/Cas veränderten Organismus entschieden – dass sie nichts zu entscheiden hat. Der Champignon, in dem nur ein fehlendes Stück DNA ein Gen außer Gefecht setzt, enthalte kein fremdes Erbgut und sei damit kein genetisch veränderter Organismus im Sinne des Gesetzes. Damit könnte der länger attraktiv aussehende Speisepilz ohne zusätzliche Auflagen angebaut und verkauft werden, trotz seines technischen Erbes. Damit ist eingetreten, was Fachleute erwartet haben: Gene Editing hebt die bisherige, an vergleichsweise rabiaten Verfahren orientierte Gentechnikgesetzgebung aus. Zwar wird es noch dauern, bis der Pilz auch hier in den Läden liegt, die

Debatte um Gene Editing ist aber schon in Europa angekommen.

### **Entscheidend ist, was hinten rauskommt**

Die Gentechnikrichtlinie der EU orientiert sich an der »Natürlichkeit« einer Veränderung – solange eine bestimmte Genvariante innerhalb der biologischen Möglichkeiten einer Art liegt, gilt diese nicht als gentechnisch veränderter Organismus. Auf diese Weise ließen sich die ebenfalls keineswegs natürlichen Verfahren der konventionellen Pflanzenzucht von den neuen, im engeren Sinne gentechnischen Methoden abgrenzen.

Das ist spätestens mit CRISPR/Cas vorbei. Denn ob eine Mutation in einem Gen zufallsgesteuert durch harte Röntgenstrahlung entsteht oder durch gezielte Manipulation, ist für das Endergebnis nicht nur gleichgültig. Es ist vor allem von außen technisch nicht mehr feststellbar. Nun streiten Fachleute, ob sich das Gentechnikrecht der EU auf das Endergebnis oder auf das Verfahren bezieht, wenn es Natürlichkeit fordert.

Die Fronten sind die bekannten, aber es ist letztendlich ein Streit um bloße Worte,

der da mit jeder neuen Technik wieder ausgefochten wird. Die eigentlich interessante Frage aber ist nicht, ob eine Pflanze mit einem bestimmten, gerade eben noch »natürlichen« Verfahren verändert wurde oder nicht, sondern was wir von unserem Essen erwarten. Und da darf es eben nicht um unscharfe metaphysische Kategorien wie »natürlich« gehen, sondern um eine Abwägung von Nutzen und Risiko bestimmter Eigenschaften.

Diskutieren sollte man nicht über Gentechnik und Natürlichkeit, sondern über das, was hinten rauskommen soll: Essen, das nicht krank macht und nachhaltig produziert ist, dessen Hersteller gut leben können und das nicht zuletzt für alle Menschen reicht – nicht nur hier in Europa, sondern weltweit. ↩

(Spektrum.de, 15. April 2016)





TRANSPLANTATION

# Spenderorgane aus dem Schwein

von Sara Reardon

Schöne neue Welt? Gene-Editing-Technologien haben der Xeno-transplantation zu neuem Schwung verholfen.

ISTOCK / FOOT00



**D**ie blasse Lunge liegt auf einer dicken Schicht zerstörtem Eis und erinnert an Schlachtabfälle. Vor nur sechs Stunden hatten sie die Chirurgen von der University of Maryland in Baltimore aus einem kräftigen, ausgewachsenen Schwein entnommen, um sie nun bald wieder – hoffentlich gut durchblutet und funktionsfähig – in die Brust eines sechsjährigen Pavians einzusetzen.

Einer der Assistenten bringt das Organ zu Lars Burdorf und seinen Kollegen, deren Hände gerade inmitten des gespreizten Brustkastens des Tiers stecken. In mühevoller Kleinarbeit werden sie nun das Organ mit der Luftröhre des Pavians verbinden und die passenden Arterien und Blutgefäße einzeln aneinandernähen – eine fünfstündige, 50 000 US-Dollar teure Operation. Diese ist aber nur ein weiterer Schritt auf der Suche nach einer verlässlichen und sicheren Quelle für Organe zur Transplantation beim Menschen: Seit Jahrzehnten beteiligen sich daran dutzende La-

boratorien mit immunologischen und gentechnischen Projekten. Wenn das Immunsystem des Pavians die Ersatzlunge toleriert, wäre dies eine Bestätigung dafür, dass die Forscher auf dem richtigen Weg sind.

Robin Pierson leitet das Maryland Labor, das bisher schon etwa 50 solcher Transplantationen vom Schwein zum Primaten durchgeführt hat, um verschiedenste Kombinationen genetischer Veränderungen im Schwein zu testen und den Einsatz immun-suppressiver Medikamente bei den Primaten zu untersuchen. Doch bisher hatten die Tiere nie länger als ein paar Tage nach der Transplantation überlebt. Da die Komplexität des Immunsystems und die Infektionsgefahr durch Schweineviren so erheblich sind, haben sich große Unternehmen Anfang der Jahrtausendwende aus diesem Forschungsfeld zurückgezogen.

Das kann sich nun ändern – dank verbesserter Medikamente und neuer Fortschritte bei Gene-Editing-Technologien wie dem CRISPR/Cas9-System. Hiermit las-

sen sich inzwischen viel einfacher und präziser als früher auch jene Gene verändern, die an Abstoßung und Infektionen beteiligt sind. Im Oktober berichtete das LifeSciences-Unternehmen eGenesis aus Boston in Massachusetts vom Editing des Schweinegenoms an gleich 62 Stellen.

Laut einiger Forscher stehen schon für die nächsten Jahre Studien an, bei denen Nieren aus genetisch veränderten Schweinen in den Menschen transplantiert werden sollen. Das Biotech-Unternehmen United Therapeutics aus Silver Spring in Maryland investierte letztes Jahr 100 Millionen US-Dollar in die Entwicklung transgener Schweine, um die Lungentransplantation voranzubringen; dies war seit mehr als einem Jahrzehnt die erste große Investition der Industrie. Klinische Studien mit Schweinelungen sollen nun bis 2020 beginnen. Und dies, obwohl ein solcher Zeitrahmen nach Meinung so mancher Wissenschaftler unrealistisch ist – vor allem wegen Bedenken der Zulassungsbehörden zur Sicherheit und des Risikos, dass Krankheiten



von den Schweineorganen auf immunsupprimierte Menschen übertragen werden könnten.

»Wissenschaftlich gesehen nähern wir uns der Anwendung«, kommentiert das der Transplantationschirurg Jeremy Chapman vom University of Sydney's Westmead Hospital in Australien. »Wir haben aber sicherlich noch nicht alle Probleme gelöst. Die Xenotransplantation ist nicht einfach, und sobald wir eine Hürde überwunden haben, steht die nächste vor der Tür.«

### Lange Geschichte

Schon seit den 1960er Jahren versuchen Chirurgen, Pavian- und Schimpansennieren in den Menschen zu übertragen. Bisher hatten sie allerdings wenig Erfolg, denn die Patienten verstarben schon nach wenigen Monaten, meist weil ihr Immunsystem das transplantierte Organ angriff und abstieß. Aber die Idee ist geblieben und könnte laut ihrer Befürworter zur Rettung zehntausender Menschen beitragen, die alle bisher vergeblich auf einen geeigneten Organspender warten. Gäbe es einen steten Vorrat an Transplantaten aus so genannten Organfarmen, könnten die Patienten schon Tage vor der Operation mit immunsup-



CHRIS MADDALONI/NATURE; IN: REARDON, S.: NEW LIFE FOR PIG-TO-HUMAN TRANSPLANTS, NATURE 527, 2015

pressiven Medikamenten behandelt und ihre Überlebenschance verbessert werden.

Als die Grundlagenforschung in den 1990er Jahren immer klarer zeigte, warum die nicht humanen Organe abgestoßen werden, stieg auch das Interesse des Transplantationfelds wieder. Forscher um den Chir-

**TRANSPLANTATION VON SCHWEINEORGANEN**  
**In einem OP der University of Maryland entnehmen Lars Burdorf und seine Kollegen einem Schwein Lunge, Leber und weitere Organe. Das Tier wurde gentechnisch so modifiziert, dass seine Proteine keine Immunreaktionen in Primaten hervorrufen.**

urgen David Cooper von der University of Pittsburgh in Pennsylvania fanden heraus, wie die Mehrzahl der Immunreaktionen von einem einzigen Schweine-Antigen angetrieben werden: das Zuckermolekül alpha-1,3-Galaktose, auch alpha-Gal genannt, sitzt auf der Zelloberfläche und **kann innerhalb von Minuten die Abstoßung eines Fremdorgans auslösen**. Das Enzym alpha-1,3-Galactosyltransferase ist verantwortlich für die Produktion des Zuckers. Wenn es die Transferase ausschaltet, sollte das die Immunreaktion abschwächen.

Die Fortschritte in der Transplantationsmedizin machten das Thema für große Pharmakonzerne wieder attraktiver. Ab dem Jahr 1996 investierte die Schweizer Firma Novartis aus Basel massiv in die Forschung zur Xenotransplantation, erklärt Geoffrey MacKay, der damals Businessdirektor für den Bereich Transplantation und Immunologie war und die Untersuchungen leitete. »Sie wollten den Organmangel nicht nur mildern, sondern das Problem mit Hilfe transgener Schweine wirklich lösen.« MacKay ist derzeit Interimsleiter bei eGenesis.

Novartis wollte ursprünglich mehr als eine Milliarde US-Dollar für den Bereich

Xenotransplantation ausgeben, einschließlich der Forschung und der Entwicklung entsprechender Infrastrukturen, die zur Zucht von Schweinen in keimfreien Farmen auf der ganzen Welt nötig wären. Auch andere investierten kräftig, wie das in Boston ansässige Unternehmen Genzyme und die britische Firma PPLs Therapeutics, die schon an der Entwicklung des Klonschafs Dolly beteiligt war. Die amerikanische Gesundheitsbehörde FDA (Food and Drug Administration) legte Richtlinien und Standards fest, die im Vorfeld klinischer Studien mit den neuen Technologien zu beachten waren.

Aber das Immunsystem ist wesentlich komplexer als anfangs gedacht. Die Pavia-Ne überlebten die Transplantation nicht länger als ein paar Wochen, auch dann, als es den Forschern gelang, die Produktion der alpha-Gal medikamentös zu unterdrücken. Das Infektionsrisiko war das zweite große Problem, besonders für die Zulassungsbehörde. Denn selbst wenn die Schweine völlig steril aufgezogen werden, finden sich bei ihnen Dutzende ruhender **endogener Retroviren** (PERVs, porcine endogenous retroviruses), und zur Frage, ob diese im Menschen aktiviert werden könn-

ten, gibt es bisher nur widersprüchliche Aussagen.

Wegen all dieser Schwierigkeiten stampfte Novartis vor mehr als zehn Jahren seine Forschungsaktivitäten im Bereich der Xenotransplantation wieder ein und ließ von weiteren Arbeiten erst einmal ab. Andere Unternehmen folgten, und laut Pierson wurden »Projekte zur Xenotransplantation zum Tabuthema im Businessplan jeder Biotechfirma«.

In den folgenden zehn Jahren war es in Richtung Transplantation parenchymatöser Organe bei den größeren Unternehmen erst einmal zappenduster. Einzelne Forscherteams und Start-ups beschäftigten sich aber mit der Transplantation von Geweben aus Schweinen – ein wesentlich einfacheres Ziel, weil diese nicht so heftige Immunreaktionen auslösen wie ganze Organe. Im April 2015 genehmigte dann die Zulassungsbehörde Chinas **die Transplantation von zellfreier Schweinehornhaut**, und in Aussicht stehen auch Insulin produzierende Inselzellen aus dem Schwein, um diese Diabetikern zu transplantieren.

Die ersten handelsüblichen Inselzellen sollen mit Hilfe einer Technologie des Unternehmens Living Cell Technologies (LCT)



produziert werden, einer Biotech-Firma mit Sitz in Auckland in Neuseeland. Das Unternehmen entwickelte ein Verfahren, bei dem die Inselzellen aus dem Schwein in einem gelatineartigen Tautropfen verkapselt sind, was sie im Menschen vor dem Angriff des Immunsystems schützen soll. Die klinische Studie des DIABECCELL genannten Produkts befindet sich inzwischen schon in fortgeschrittener Phase und die beteiligten Patienten **überleben bereits mehr als neun Jahre ohne Anzeichen von Immunreaktionen oder Infektionen**.

»Mit belegbar sicheren Verfahren stehen Patienten einer Xenotransplantation zunehmend positiv gegenüber«, sagt Jackie Lee, die Forschungsleiterin bei LCT; das Projekt wird inzwischen von Diatranz Otsuka Limited in Auckland durchgeführt. Größere funktionstragende Organe stellen

#### AUSGESUCHTE STÜCKE

**Wissenschaftler forschen am Schwein nach immer neuen Gewebearten zur Transplantation, einschließlich ganzer Organe. Viele versuchen die Tiere gentechnisch zu verändern, um das Risiko einer Abstoßung und Infektion des Menschen zu reduzieren.**

#### Hornhaut

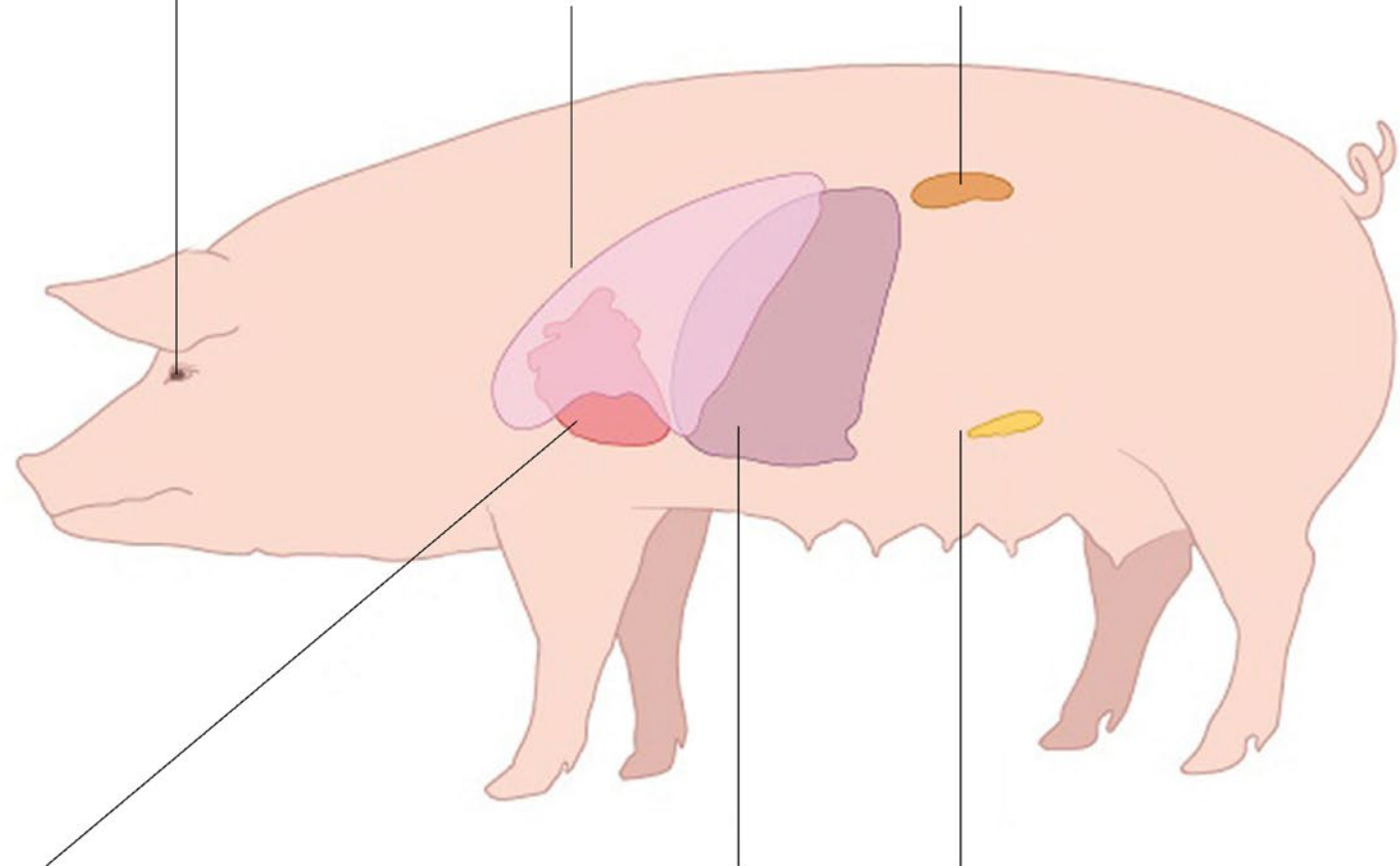
Hornhaut aus Schweinen wurde im April am chinesischen Markt zugelassen.

#### Lunge

Eine Organfarm ist bereits in der Planung und soll später einmal jährlich 1 000 Schweinelungen produzieren.

#### Niere

Eine sechsfach gentechnisch veränderte Niere unterstützte vier Monate lang das Leben eines Pavians.



#### Herz

Ein gentechnisch verändertes Schweineherz wurde in das Abdomen eines Pavians transplantiert und überdauerte dort für 2,5 Jahre.

#### Leber

Einige Schweine wurden so verändert, dass ihre Leber Antikörper produzierte, die gegen Immunzellen eines Primaten wirkten.

#### Bauchspeicheldrüse

Insulin-produzierende Inselzellen werden bereits in klinischen Phase-III-Studien getestet.

die Medizin aber weiter vor eine Herausforderung. Zwar sind einige der früheren Probleme von Novartis inzwischen gelöst, etwa die Entschlüsselung weiterer transplantationsrelevanter Antigene im Schwein und die richtige Kombination von Medikamenten zur Immunsuppression –, aber jedes Organ bringt andere Schwierigkeiten mit sich. So ist die Transplantation einer Niere sicherer als die eines Herzens; dafür lassen sich laut Piersons Team Lungen extrem schlecht transplantieren, weil das Immunsystem im ausgeprägten Blutgefäßnetz öfter auf Proteine des Schweins trifft und diese koaguliert. In seinen laufenden Studien setzt Pierson Lungen aus einem Alpha-Gal-Knock-out-Schwein mit fünf humanen Genen ein; außerdem werden die Organempfänger, sprich die Primaten, mit einer Kombination von fünf Immunsuppressiva behandelt.

Wie Pierson und Cooper stützten sich bisher die meisten amerikanischen Forscher auf Schweine des Unternehmens Revivicor aus Blacksburg in Virginia, das als Ableger der Firma PPL Therapeutics im Bereich der regenerativen Medizin tätig ist. Der Mitbegründer von Revivicor, David

Ayares, war es auch, der im Jahr 2003 Daten zum ersten Schwein lieferte, [bei dem das Alpha-Gal-Gen aus dem Genom entfernt war](#). Das Unternehmen versucht seitdem noch weitere Proteinantigene zu verändern, die allesamt das Immunsystem antreiben oder zur Koagulation des menschlichen Blutes beitragen.

Die Genmodifikationen haben die Überlebenszeit von Schweineherzen in Pavianen wesentlich verlängert. Das Team um den Chirurgen Muhammad Mohiuddin vom National Heart, Lung and Blood Institute in Bethesda in Maryland entnahm das Herz eines alpha-Gal-freien Schweins, das zusätzlich zwei humane Gene besaß, die eine Verklumpung, sprich Koagulation des Blutes, verringern sollen. [Das Herz pflanzten sie in das Abdomen eines Pavians](#); zumindest die Prozedur und Folgen der Transplantation überlebte das Tier zweieinhalb Jahre, auch wenn das Herz noch nicht als Herzersatz fungierte.

Mohiuddins Gruppe will nun eine so genannte lebensunterstützende Transplantation durchführen, bei der das Pavianherz tatsächlich gegen das eines Schweins ausgetauscht wird. Im Juni [berichtete Cooper](#)

---

»Die Leute stehen der Xenotransplantation nun positiver gegenüber«

---



von den bisher erfolgreichsten Versuchen. Hierbei hatten die Forscher eine Schweineiere aus der Firma Revivicor übertragen, die sechs modifizierte Gene trug und 136 Tage lang das Leben eines Pavians unterstützte.

## Gene Editing

Der Forschungsprozess braucht allerdings seine Zeit, weiß Cooper. Es braucht normalerweise mehrere Generationen, bis beide Kopien eines einzigen Gens im Schwein ausgeknockt sind. Mehrere Gene zu deletieren oder gar gegen die humanen Varianten auszutauschen, dauert viele Generationen mehr, weil jeder Wurf Jungschweine unterschiedliche Kombinationen der modifizierten Gene enthält.

Deshalb sind viele Forscher so von den neuen Methoden des Gene Editing begeistert. Mit Hilfe des CRISPR/Cas9-Systems lassen sich beide Kopien eines Gens oder sogar zwei unterschiedliche Gene gleichzeitig schon im Schweineembryo genauestens ausschneiden. »Es dauerte drei volle Jahre, bis wir unser erstes Schwein mit alpha-Gal-Knock-out hatten«, erzählt der Transplantationschirurg Joseph Tector von der Indiana University in Indianapolis. »Inzwischen



CHRIS MADDALONI/NATURE; IN: REARDON, S.: NEW LIFE FOR PIG-TO-HUMAN TRANSPLANTS, NATURE 527, 2015

brauchen wir alles in allem nur noch 150 Tage, um ein Schwein mit neuen Eigenschaften zu züchten.« Seine Gruppe veröffentlichte erst kürzlich den CRISPR-gesteuerten, parallelen Knock-out zweier Gene im Schwein. Nun sind die Forscher schon dabei, die ersten modifizierten Schweineorgane in Makaken zu transferieren, und bisher

## LUNGE UND LEBER VOR DEM RETRANSPLANTIEREN

**Die Leber und ein Lungenflügel des Schweins werden an eine Maschine angeschlossen, um physiologisch natürliche Bedingungen aufrechtzuerhalten: Luft wird durch die Lunge gepumpt, und menschliches Blut durchströmt die Organe.**

überlebte einer der transplantierten Primaten auch bereits mehr als drei Monate.

Vielleicht lässt sich mit Hilfe des Gene Editing die bisher erforderliche Immunsuppression umgehen, hofft der Transplantationschirurg Bernhard Hering von der University of Minnesota in Minneapolis. Seine Gruppe will mit Hilfe des CRISPR-Systems Inselzellen im Schwein züchten, die später ohne immunsuppressive Medikamente transplantiert werden können. LCT arbeitet bereits erfolgreich an verkapselten Inselzellen, in denen viele Experten schon die ersten genetisch veränderten Gewebe für klinische Studien sehen und damit vielleicht auch eine Möglichkeit, den Weg für solide Organe in den Zulassungsbehörden zu ebnen. Herings Schweine sollen in einer keimfreien Anlage gezüchtet werden, mit deren Bau gerade eine Non-Profit-Organisation beschäftigt ist.

### **Revival einer Technik**

Die Fortschritte beim Gene Editing haben dem Feld neue Investitionen beschert. United Therapeutics kaufte 2011 für etwa acht Millionen US-Dollar das Unternehmen Revivicor und verkündete den sehr ehrgeizigen Plan, bis zum Ende des Jahrzehnts

klinische Studien mit genveränderten Schweinelungen beginnen zu wollen. Die Kogeschäftsführerin Martine Rothblatt hat bereits in North Carolina Landflächen für die Produktion von jährlich 1000 Schweineorganen beschafft und will nach eigenen Angaben bis 2017 dort starten. Das ausgeklügelte Konzept schließt Solaranlagen und sogar Helikopterlandeplätze ein, um die frischen Organe schnell zu ihren Empfängern bringen zu können.

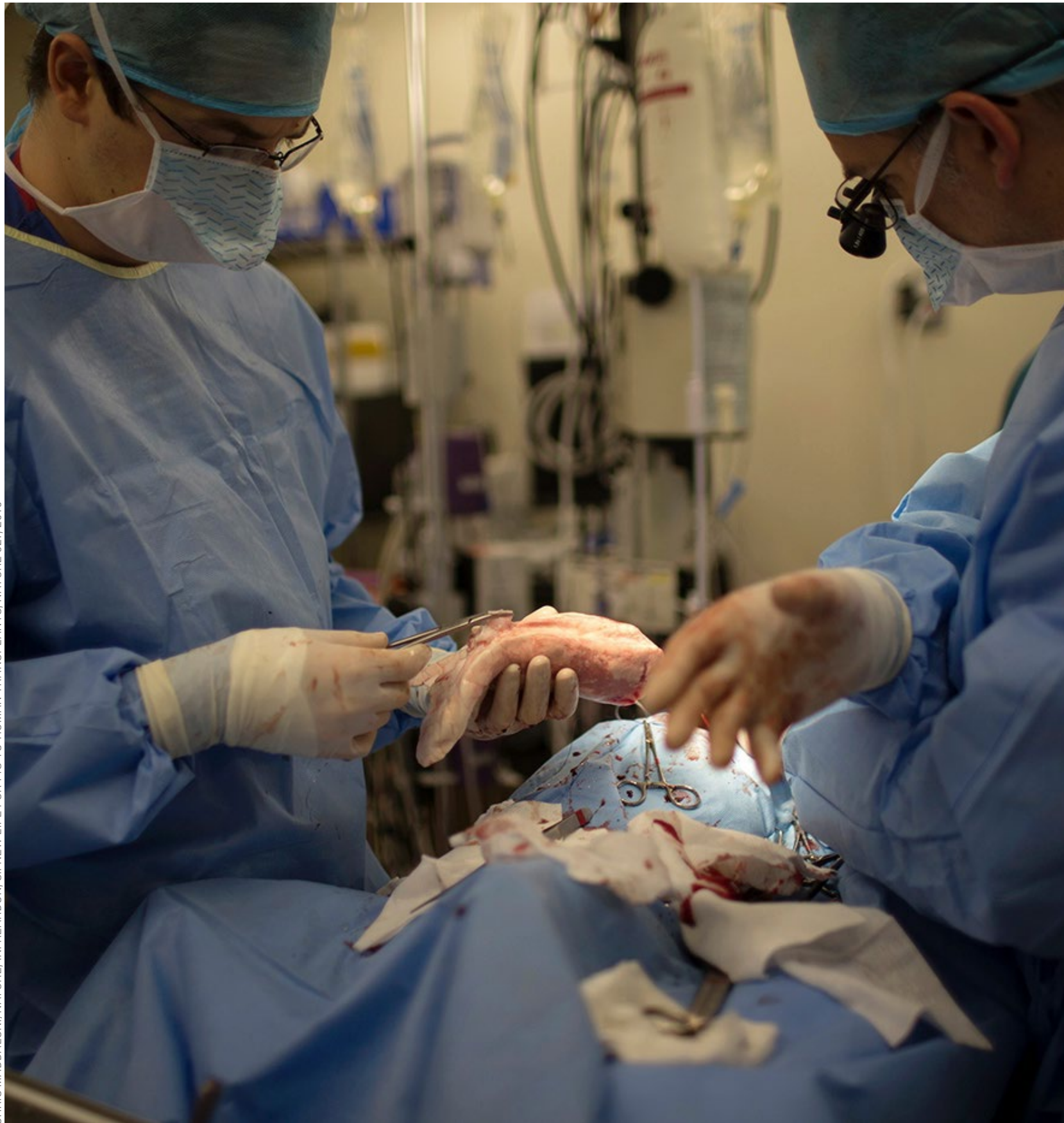
Mit der ehemals von dem Pionier der Gensequenzierung Craig Venter gegründeten Biotech-Firma Synthetic Genomics (SGI) aus La Jolla in Kalifornien ging United Therapeutics im Jahr 2014 eine 50 Millionen US-Dollar schwere Partnerschaft ein. Anstatt nur Antigene auszuschalten, arbeitet SGI inzwischen an einem ganz anderen Konzept zur Lösung der Abstoßungsproblematik. Dabei sollen Schweinezellen Rezeptoren auf ihrer Oberfläche exprimieren, die als eine Art molekularer Schwamm Moleküle aufsaugen, die sonst das transplantierte Organ angreifen könnten. Laut Sean Stevens, dem Leiter der Abteilung für Mammalian Synthetic Biology bei SGI, ermöglichen Methoden wie das CRISPR-System auch andere Kniffe. So

könnte beispielsweise die Genexpression gedrosselt werden, anstatt Gene vollständig zu deletieren, erklärt er. Allein im September 2015 wurden weitere 50 Millionen US-Dollar von United Therapeutics für Forschungsprojekte veranschlagt.

Der Immunologe Peter Cowan vom St Vincent's Hospital in Melbourne in Australien verfolgt wiederum einen anderen Ansatz. Seine Gruppe zog hierfür Schweine auf, die Antikörper gegen humane Immunzellen produzieren. Wenn diese Moleküle lediglich von den transplantierten Leberzellen erzeugt werden, wird auch nur das direkt umliegende Immunsystem supprimiert.

Laut MacKay will auch das Unternehmen eGenesis mit der Organtransplantation in Primaten beginnen. Die Firma war erst im April 2015 von der Bioingenieurin Luhan Yang und dem Genetiker George Church vom Wyss Institute der Harvard University in Cambridge in Massachusetts gegründet worden. Wie Church berichtet, wurden für die Transplantation Embryos mit mehr als 20 genetisch veränderten Oberflächenantigenen und weiteren Faktoren generiert, die nun zur Implantation in weibliche Schweine zur Verfügung stün-





den. Eine der ersten Publikationen beschreibt bereits die CRISPR-gesteuerte Inaktivierung von 62 PERV-Genen in Nierenzellen, und die ersten vorbereiteten Zellkerne wurden schon in Schweineembryonen transferiert.

Allerdings sehen nur wenige Wissenschaftler die PERVs als ernstes Sicherheitsproblem bei der Organtransplantation. Das Virus repliziert sich nur schlecht in humanem Gewebe und es besteht praktisch kein Ausbreitungsrisiko, meint Jay Fishman, der

#### SCHWEINELUNGE FÜR EINEN PAVIAN

Ein Schlüsselexperiment war die Transplantation eines Schweinelungenflügels in einen Pavian, dessen eigene Lunge dabei ersetzt wurde. Die Überwachung der Vitalfunktionen des Tiers bewies, dass die Lunge tatsächlich über eine Nacht hinweg gut funktioniert und genügend Sauerstoff geliefert hatte. Auch die genetischen Veränderungen im Schweinegewebe hatten sich offenbar bewährt: Das Immunsystem des Pavians kam gut mit dem Fremdgewebe zurecht. Leider musste das Tier aber etwas später eingeschläfert werden. Flüssigkeit und Blutklumpen hatten sich in der Lunge gesammelt.

als Spezialist für Infektionskrankheiten am Massachusetts General Hospital in Boston arbeitet. Er erklärt, wie die Forscher dutzende Menschen untersucht haben, bei denen bereits außerhalb der Zulassung Schweinehaut transplantiert wurde – anscheinend ist keiner von ihnen erkrankt.

Aber trotzdem könnte die Zulassung schwierig werden. Die FDA hat nämlich gerade in einer E-Mail an das Magazin »Nature« erklärt, dass sie nach wie vor Bedenken wegen möglicher PERV-verursachter Erkrankungen hat. Und auch andere Erreger dürfen nicht vergessen werden. Die meisten großen Epidemien beginnen nämlich mit einem Tierpathogen, das auf den Menschen überspringt, warnt Peter Collignon, der selbst an der Australian National University in Canberra über Infektionskrankheiten forscht. »Und genau mit solchen Experimenten lassen sich neue Viren aufspüren und deren Vermehrungswege untersuchen.«

Solange keiner ein außerordentlich sicheres Verfahren zur Xenotransplantation nachweisen kann, wird die FDA sie auf Patienten beschränken, die an lebensbedrohlichen Erkrankungen leiden und sowieso keine andere Wahl haben. Die Organe von

genetisch veränderten Tieren in den Markt einzuführen, wird laut der Behörde sogar noch schwieriger, weil sowohl die genetischen Konstrukte zur Veränderung der Tiere als auch die Organe als solche zugelassen werden müssen.

Selbst wenn eines Tages die Sicherheit der Verfahren eindeutig nachgewiesen wird, bleibt unklar, ob die Schweineorgane in ihrer neuen Umgebung im Menschen überhaupt ordentlich arbeiten, sagt Chapman. So ist beispielsweise nicht bekannt, ob eine Schweineniere auf humane Hormone zur Regulation des Urinflusses reagiert oder ob die von der Schweineleber produzierten Proteine mit den humanen Organsystemen richtig interagieren. Und weil Schweine nur etwa zehn Jahre lang leben, überdauern die Transplantate möglicherweise gar nicht ein ganzes Menschenleben. Auch der Einsatz nur zur Überbrückung, bis ein passender menschlicher Spender gefunden ist, erscheint bisher schwierig. So bildet sich beispielsweise um ein transplantiertes Herz herum fibröses Gewebe, was eine zweite Transplantation extrem kompliziert macht, erklärt Chapman. Angesichts der langen Liste allein an bekannten Hürden

sind unvorhergesehene Rückschläge auf dem langen Weg der Forscher besonders entmutigend. Etwa eine halbe Stunde nach seiner Operation an der University of Maryland erwachte der Pavian mit seiner neuen Schweinelunge. Er trug eine kleine Weste, die seine Vitalfunktionen überwachte. Die Lunge hatte über die Nacht hinweg gut funktioniert und auch dann noch genügend Sauerstoff geliefert, nachdem der Blutfluss im zweiten Lungenflügel zeitweise blockiert war. Aber am nächsten Tag erkrankte das Tier und musste eingeschläfert werden – völlig unerwartet, weil die genetischen Veränderungen doch anscheinend gut mit dem Immunsystem des Pavians zurechtgekommen waren, erinnert sich Pierson. Laut anschließender Obduktion hatte sich Flüssigkeit in der Lunge angesammelt, und es waren Blutklumpen entstanden. Wie so viele Aspekte der Xenotransplantation »müssen wir auch dieses Problem erst noch lösen«, sagt Pierson. ↩

Der Artikel ist im Original »[New life for pig-to-human transplants](#)« in »Nature« erschienen.

(Spektrum.de, 22. Dezember 2015)





TROPENKRANKHEIT

# Gentechnisch manipulierte Mücken gegen Malaria

von Jan Osterkamp

Mit neuen Verfahren sollen genmanipulierte Mücken und alle ihre Nachkommen immun gegen Malaria sein. Das könnte die Krankheit stoppen, würde aber einen gigantischen Gentechnik-Freilandversuch erfordern.

Die häufigste Tropenkrankheit wäre für immer besiegt, wenn man alle Mücken im Verbreitungsgebiet töten würde: Nur die Blutsauger übertragen die tödlichen Malariaerreger von Mensch zu Mensch. Selbst ein großflächiger Einsatz von umwelt- und gesundheitsschädlichen Insektiziden wie DDT, der vor Jahrzehnten zeitweise mancherorts durchexerziert wurde, hat dieses Ziel bei Weitem verfehlt. Später versuchten Forscher, Mücken gentechnisch gegen die Malariaparasiten resistent zu machen – mit noch geringerer Wirkung, weil eine freigesetzte und genmanipulierte Mückenpopulation sich nie gegen die vitaleren natürlichen Artgenossen durchsetzen konnte. Nun soll CRISPR Erfolg bringen: Mit der selbstreplizierenden Technik hoffen Forscher auf einen »Gene Drive«, der die einmal eingekreuzten Resistenzgene in sämtliche Mücken und ihre Nachkommen bringt.

Erste Experimente verliefen viel versprechend: Forscher um Valentino Gantz von der University of California in San Diego brachten Malariaresistenzgene mit dem CRISPR-System in Mücken ein und konn-

ten zeigen, dass diese Gene an fast alle Nachkommen der Insekten weitergegeben wurden. Im gentechnologischen Normalfall erbt statistisch nur die Hälfte der nächsten Mückengeneration eingeführte Resistenzgene: Sie integrieren sich nur in eine von zwei Chromosomenkopien, und der Zufall entscheidet, ob die Veränderung auch in die Keimzellen und damit die nächste Generation gelangt. CRISPR aber sorgt dafür, dass die Gene in beide Chromosomen gelangen und auch in rund 98 Prozent der Keimzellen, die dann nur die veränderte Variante enthalten. Dies ist die Grundlage für den erwünschten Gene Drive, also das rasche vollständige Ersetzen sämtlicher Zielgene in der Population durch die veränderte Variante. Vergleichbare Versuche mit dem CRISPR-System und einer anderen Malariamückenspezies scheinen ähnlich erfolgreich zu verlaufen, berichtet »Nature News« vor der Veröffentlichung von Studiendaten. Die Erfolge dürften damit politisch und rechtlich schwierige Abwägungen provozieren: Tatsächlich würden mit den manipulierten malariaresistenten Mücken gentechnisch veränderte Organismen im Freiland ausgesetzt, deren neue Gene geradezu dafür ge-

dacht sind, das Ökosystem und den Genpool zu verändern. Dabei ist etwa noch unklar, ob das genmanipulierte Erbgut auch auf andere Organismen übertragen werden kann – hierzu müssen noch Langzeitstudien unternommen werden. Als Vorsichtsmaßnahme haben zum Beispiel die Forscher in den USA daher zunächst nur die nicht einheimische indische Spezies *Anopheles stephensi* gentechnisch manipuliert. Selbst versehentlich freigesetzt würde sich diese Art außerhalb des Labors nicht halten können. In einem möglichen Feldversuch in den Malariagebieten soll allerdings später einmal das Gegenteil geschehen. ↩

(Spektrum.de, 25. November 2015)



GENTECHNIK

# Werkzeug mit Selbstzerstörung

von Jan Osterkamp

CRISPR erschafft zielgenau gentechnisch manipulierte Zellen – und erlaubt es genauso, sie auf Knopfdruck wieder zu zerstören, ohne genetische Spuren zu hinterlassen.





Das neue, technisch elegante Genmanipulationswerkzeug CRISPR/Cas erlaubt es, viel zielgenauer und einfacher als zuvor beliebige Partien des Erbguts zu verändern. Damit steigt zum Beispiel die Aussicht auf eine praktikable Gentherapie von Erbkrankheiten, die weniger Nebenwirkungen haben könnte – auch wenn das in Mäusen derzeit noch besser funktioniert als in menschlichen Zellen. Vor allem aber vereinfacht die Methode Hunderte von unterschiedlichen Einsatzszenarien, die Gentechniklabore nun in ihren Zellkulturen durchspielen: So erschienen inzwischen mehrere Studien in größeren Fachmagazinen, die etwa untersucht haben, wie mit CRISPR [ins Erbgut von Malariaerregern](#) oder [multiresistenten Bakterien](#) eingegriffen werden kann, um diese gefährlichen Krankheitserreger in Schach zu halten.

Die Technik ist also auf dem Vormarsch – und damit ist gleichzeitig auch die Zeit gekommen, an möglicherweise schädliche Nebeneffekte zu denken. Dieses Problems haben sich Brian Caliendo und Christopher Voigt vom Massachusetts Institute of Technology angenommen: Sie setzen den

CRISPR-Mechanismus ein, um in einem definierten Notfall alle mit CRISPR in einen Organismus eingeführten Manipulationen wieder sicher rückgängig zu machen. Zu diesem Zweck programmierten die Forscher einen [wirksamen Selbstzerstörungsmechanismus für gentechnisch veränderte Organismen](#), der auf verschiedene beliebige Signale hin ausgelöst werden kann.

Mit dem zusätzlichen Kontrollschalter, so die Forscher, können sich die gentechnisch veränderten Zellen wenn gewünscht selbst vernichten. Das könnte etwa dann wichtig werden, wenn sie oder Teile ihres veränderten Erbguts aus einer Laborumgebung oder einer Versuchsanlage ins Freiland gelangen. Sinnvoll sei dabei dann aber auch, dass die Organismen im Falle eines Falles nicht nur schlicht absterben, sondern dass auch sämtliche der zuvor gentechnisch veränderten DNA-Moleküle zuverlässig zerstört werden. Andernfalls könnten sich diese vielleicht doch in der Umwelt verbreiten; es bestehe aber auch die Gefahr, dass in den Zellen schlummern- de Gen-Patente bei einem Diebstahl von Saatgut, Pflanzen oder genetisch veränderten Bakterien bedroht sind.

Wie beim klassischen CRISPR-Verfahren üblich, haben die Forscher für ihren flexiblen Notfallschalter einen Enzymkomplex in Zellen eingebracht, der, einmal aktiviert, durch die Hilfe von mitgelieferten Adress-Sequenzen an bestimmte Stellen im Erbgut andockt und den DNA-Strang dort öffnet. Dies erlaubt bei der CRISPR/Cas-Methode dann einem zeitgleich verabreichten Molekül, ausgewählte neue Genabschnitte exakt hier einzubauen. Der neue gentechnische Selbstzerstörungsmechanismus hat dagegen nur die Adressen der zu zerstörenden Gensequenzen mitbekommen und schneidet sie überall heraus, worauf sie von der Zelle zerlegt werden. Der Schalter kann dabei leicht so eingestellt werden, dass die Zelle diesen massiven Eingriff nicht übersteht und stirbt: Übrig bleiben nun nur die abgetöteten Zellen ohne Reste von ehemals manipulierter DNA-Sequenz.

Entscheidend ist auch, dass der Selbstzerstörungsmechanismus nicht fälschlich ausgelöst wird. Die Forscher verpackten die CRISPR-Sequenzen und die für die Zerstörung wichtigen Schnitt-Zielsequenzen und Werkzeuge daher in einen längeren DNA-Abschnitt, der nur unter ganz bestimmten Umständen abgelesen wird. Dafür sorgte



eine Promotor-Startsequenz, der nur aktiv wird und den Prozess startet, wenn der Zucker Arabinose vorhanden ist. Ohne diesen Zucker wird die gesamte Zerstörungssequenz nie abgelesen und ausgeführt, sondern einfach nur von Generation zu Generation weiter vererbt, wie die Forscher bei Tests überprüften. Erst eine Zugabe von Arabinose startet dann die DNA-Scheren, schneidet die Zielsequenzen aus, zerstört

sie und tötet die Zelle. Durch den modularen Aufbau sind verschiedene mögliche Szenarien denkbar, die das Startsignal zur Selbstzerstörung geben können – etwa unterschiedliche Umweltreize, die nur anfallen, wenn ein gentechnisch veränderter Keim aus dem Labor entkommt.

CRISPR – die Abkürzung steht für »clustered regularly interspaced short palindromic repeats«, wo unter anderem die An-

satzstellensequenz für den gezielten Schnitt im DNA-Molekül hinterlegt sind – kommt in mannigfaltigen Modifikationen natürlich im Erbgut der unterschiedlichsten Bakterien überall in unserer Umwelt vor. Übernommen hatten Bakterien den molekularen Baukasten wohl vor evolutionsgeschichtlich langer Zeit, **womöglich von in ihrem Erbgut herumspringenden mobilen Elementen**, die sie dann domestiziert und vor allem als Werkzeug gegen Viren weiterentwickelt haben. Die Prokaryonten, aber auch höher entwickelte Vielzellernutzenden flexiblen und zielgenauen Mechanismus längst selbst auf vielfältige, von Wissenschaftlern noch nicht völlig verstandene Weise, um ihr Erbgut für ihre Zwecke umzugestalten. ↩

(Spektrum.de, 19. April 2015)

**Die Animation zeigt, wie die CRISPR/Cas9 des Gen-Editierens funktioniert. Im Hintergrund (auf Englisch) spricht dabei einer der Pioniere des Felds, Feng Zhang vom MIT in Boston (Näheres auf seiner Instituts-Homepage <http://zlab.mit.edu>).**





MEDIZIN

# Umstrittener Eingriff ins embryonale Erbgut

von Ewen Callaway

Ein weiteres Team macht seine Versuche an menschlichen Embryonen öffentlich. Die viel gepriesene »CRISPR«-Methode sollte eine Mutation erzeugen, die gegen HIV immun macht.





**C**hinesische Wissenschaftler haben das Erbgut menschlicher Embryonen verändert, um sie resistent gegen eine HIV-Infektion zu machen. Bei ihren Experimenten testeten sie das CRISPR-Verfahren an nicht lebensfähigen Embryonen. Sie sind damit das zweite Team, das von einem erfolgreichen Gene Editing mit Hilfe dieser Methode in menschlichen Embryonen berichtet.

Bereits im April 2015 hatte ein anderes Team aus China mit einer ähnlichen Publikation für Aufsehen gesorgt. Die Genetiker hatten ein Gen in menschlichen Embryonen modifiziert, das im Zusammenhang mit einer Bluterkrankung steht. Auch in diesem Fall waren die Embryonen nicht lebensfähig und hätten nicht zu lebensfähigen Organismen heranreifen können. Diese weltweit erste Publikation ihrer Art hat eine internationale Debatte über die Ethik solcher Manipulationen an Embryonen und menschlichen Keimzellen ausgelöst. Dabei wurde unter anderem die Forderung nach

einem Moratorium laut, das sogar noch Studien mit einschließt, die lediglich die reine technische Machbarkeit nachweisen sollen.

Bereits damals ging das Gerücht um, dass andere Arbeitsgruppen ähnliche Experimente durchgeführt hätten. Die Redaktion von »Nature News« etwa erfuhr aus chinesischen Quellen, dass eine Anzahl Artikel zur Veröffentlichung eingereicht worden seien. Dazu zählt wahrscheinlich auch die jüngste, am 6. April 2016 im »Journal of Assisted Reproduction and Genetics« erschienene Publikation. »Nature News« bat den verantwortlichen Autor, den Stammzellforscher Yong Fan, um eine Stellungnahme. Bis zum Redaktionsschluss dieses Artikels haben wir allerdings noch keine Antwort erhalten.

Fan und seine Mitarbeiter von der Medizinischen Universität Guangzhou hatten im Zeitraum von April bis September 2014 insgesamt 213 befruchtete menschliche Eizellen von 87 Spenderinnen erhalten. Diese Eizellen waren für eine Implantation im Rahmen einer In-vitro-Fertilisation nicht

geeignet, denn sie enthielten einen zusätzlichen Chromosomensatz.

Die Wissenschaftler nutzten das CRISPR/Cas9-System zum Genome Editing, um in manche der Embryonen eine Mutation einzuschleusen, durch die ein Gen namens *CCR5* in Immunzellen lahmgelegt wird. Bei einigen Menschen ist diese Mutation natürlicherweise vorhanden (bekannt als *CCR5Δ32*). Sie führt zu einer Resistenz gegen HIV, denn das *CCR5*-Protein wird durch die Mutation auf eine Weise verändert, die es dem Virus unmöglich macht, in T-Zellen einzudringen und sie zu infizieren.

Mit Hilfe genetischer Analysen konnten die Forscher nachweisen, dass 4 von 26 Embryonen erfolgreich modifiziert wurden. Dabei fand sich die *CCR5Δ32*-Mutation jedoch nicht auf allen Chromosomen gleichermaßen – einige enthielten noch das ursprüngliche *CCR5*-Gen. Und bei anderen traten neue Mutationen auf.

Nach Ansicht von George Daley, Biologe und Stammzellforscher am Boston Children's Hospital in Massachusetts, be-

steht der wissenschaftliche Fortschritt der Studie darin, dass die Forscher mit der CRISPR-Technik erfolgreich eine gezielte genetische Veränderung hervorgerufen hätten. »Es sieht aber nicht so aus, als hätte diese Publikation mehr zu bieten als eben den anekdotischen Nachweis, dass CRISPR in menschlichen Embryonen funktioniert. Doch das wussten wir bereits«, erklärt Daley. »Das ist eindeutig noch weit von dem entfernt, was die Technik eigentlich verspricht« – nämlich sämtliche Genkopien von *CCR5* in einem menschlichen Embryo zu inaktivieren.

»Die Arbeit zeigt die vielen technischen Schwierigkeiten, die einer präzisen Genveränderung in menschlichen Embryonalzellen noch im Weg stehen«, meint der Neurowissenschaftler Xiao-Jiang Li von der Emory University in Atlanta, Georgia. Forscher sollten diese Tücken zunächst beseitigen, beispielsweise mit Experimenten an nicht menschlichen Primaten, und erst dann am Genom menschlicher Embryonen weiterarbeiten, so Li.

### **Nur begrenzte Aussagekraft?**

Tetsuya Ishii, Bioethiker an der Hokkaido University in Sapporo in Japan, hat keine

Probleme damit, wie die Experimente durchgeführt wurden – eine lokale Ethikkommission hatte die Versuche genehmigt und die Eizellenspenderinnen eine Einwilligungserklärung abgegeben; allerdings stellt er die Notwendigkeit der Experimente in Frage: Die *CCR5*Δ32-Mutation ins Genom einzubauen, sei »schlicht Spielerei mit menschlichen Embryonen«, erklärt Ishii – selbst wenn diese nicht lebensfähig sind.

In ihrer Veröffentlichung schreiben Fan und Mitarbeiter, es sei wichtig, bereits jetzt solche Machbarkeitsstudien zum Gene Editing in menschlichen Embryonen durchzuführen, noch während die ethische und rechtliche Debatte über genetische Veränderungen in der Keimbahn läuft. Sie schreiben: »Wir glauben, dass jeder Versuch einer Schaffung genetisch veränderter Menschen durch Modifizierung von Embryonen im Frühstadium so lange streng verboten werden sollte, bis sowohl ethische als auch wissenschaftliche Probleme gelöst sind.«

George Daley sieht gravierende Unterschiede zwischen den Untersuchungen von Fan und [der Forschung einer britischen Arbeitsgruppe](#), die im Februar 2016 von der britischen Behörde für menschliche Be-

---

»Eine Spielerei  
mit menschlichen  
Embryonen«

[Tetsuya Ishii]

---



fruchtung und Embryologie (HFEA) genehmigt wurde und bei der menschliche Embryonen mit Hilfe von CRISPR genetisch modifiziert werden dürfen. Die Arbeitsgruppe der Entwicklungsbiologin Kathy Niakan am Francis Crick Institute in London versucht zu verstehen, warum einige Schwangerschaften vorzeitig enden, und inaktiviert dafür Gene, die in der ganz frühen Phase der Embryonalentwicklung eine Rolle spielen. Die Untersuchungen werden zwar an lebensfähigen Embryonen durchgeführt, laut Genehmigung sind die Forscher aber dazu verpflichtet, jedes Experiment innerhalb von 14 Tagen zu beenden.

### Embryonenforschung versus Manipulation am Menschen

Anfang 2016 äußerte sich der Entwicklungsbiologe Robin Lovell-Badge, der ebenfalls am Francis Crick Institute forscht, gegenüber »Nature«: Die Genehmigung sei von der britischen Behörde sorgfältig erwogen worden, könnte aber seiner Meinung nach anderen Wissenschaftlern Aufwind verleihen, die ebenfalls Gene Editing an menschlichen Embryonen erproben wollen. »Falls das wirklich bereits in China gemacht wird, dürften bald zahlreiche wei-

tere Artikelmanuskripte auftauchen«, meint Lovell-Badge.

Während sich Niakans Forschung um grundlegende Fragen der Embryologie drehe, gehe es Fan darum zu zeigen, dass man zumindest im Prinzip einen HIV-resistenten Menschen erzeugen könnte, erklärt Daley. »Das heißt, die Wissenschaft schreitet bereits voran, bevor wir einen wohlüberlegten Konsens bilden können, ob ein solcher Ansatz überhaupt medizinisch sinnvoll ist.« ↩

Dieser Artikel erschien unter dem Titel »[Second Chinese team reports gene editing in human embryos](#)«.

(Spektrum.de, 14. April 2016)

# Spektrum DER WISSENSCHAFT KOMPAKT



FÜR NUR  
€ 4,99

## EPIGENETIK

Wie die Umwelt  
unser Erbgut beeinflusst

HIER DOWNLOADEN

# GENTHERAPIE-EXPERIMENT

Forscher manipulieren  
Genom menschlicher  
Embryonen

von David Cyranoski und Sara Reardon

Mitten in die Debatte um die ethischen Aspekte dieser Forschung platzt die Nachricht: Der erste Test einer neuen Hightech-Methode ist bereits erfolgt – mit durchwachsenem Ergebnis.





**L**ange waren es nur Gerüchte, dann kam die offizielle Bestätigung: Ein Team chinesischer Forscher hat mit der gezielten Veränderung von Genen in menschlichen Embryos experimentiert. [Die Studie im Fachmagazin »Protein & Cell«](#) ist die weltweit erste Publikation über solche Experimente an menschlichen Embryonen. Erst wenige Wochen zuvor hatten hochrangige Wissenschaftler [eine Debatte über die ethischen Aspekte](#) derartiger [Forschungen angeregt](#).

Leiter der Studie war Junjiu Huang, der an der Universität Sun Yat-sen in Guangzhou an der Funktion von Genen forscht. Ethische Bedenken versuchten die Forscher zu zerstreuen, indem sie ausschließlich nicht lebensfähige Embryonen nutzten, die im Rahmen von künstlichen Befruchtungen entstanden waren.

Konkret versuchten die Wissenschaftler, das Gen zu verändern, das die manchmal tödliche Blutkrankheit  $\beta$ -Thalassämie auslöst. Dazu nutzten sie [CRISPR/Cas9](#). Ihre

Tests hätten nun gezeigt, dass dem medizinischen Einsatz dieser Technik erhebliche Hindernisse entgegenstehen, erklären die Wissenschaftler.

»Soweit ich weiß, ist das der erste Bericht über eine Anwendung von CRISPR/Cas9 bei noch nicht implantierten menschlichen Embryonen. Das macht die Studie zu einem Meilenstein, aber sie gemahnt ebenso zur Vorsicht«, sagt der Stammzellforscher George Daley von der Harvard Medical School in Boston. »Die Arbeit sollte jedem eine ernste Warnung sein, der glaubt, man könne schon jetzt mit der Technik versuchen, Krankheitsgene auszuschalten.«

Manche Experten glauben an die große Zukunft des gezielten »Gene Editing«, denn ein solcher Eingriff könnte schwere genetische Erkrankungen noch vor der Geburt eines Kindes verhindern. Andere sehen die Gefahr einer ethischen Grenzüberschreitung: In einem Beitrag in »Nature« warnen Forscher, dass genetische Manipulationen bei Embryonen zwangsläufig auch die so genannte Keimbahn betreffen und da-

mit weitervererbbar sind. Es könnte zu unvorhersehbaren Auswirkungen auf kommende Generationen kommen. Auch gibt es die Befürchtung, dass die Forschung an den Genmanipulationstechniken unethischen und unsicheren Anwendungen Tür und Tor öffnet.

Die Veröffentlichung von Huang und Kollegen dürfte dieser Debatte neuen Auftrieb verleihen, zumal es den weit verbreiteten Gerüchten zufolge auch andere Gruppen in China gibt, die ganz ähnliche Experimente an menschlichen Embryonen durchführen.

### **Direkt auf das Problemgen**

Die Technik, die Huangs Team einsetzte, besteht darin, den Enzymkomplex CRISPR/Cas9 in die Embryonen zu injizieren. Er kann darauf programmiert werden, sich an eine beliebige Stelle im Erbgut anzuhängen und den DNA-Strang an dieser Stelle aufzutrennen. Ein zeitgleich verabreichtes Molekül ersetzt oder repariert dann das krank machende Gen. Dieses Verfahren ist

an adulten menschlichen Zellen und tierischen Embryonen gut untersucht, aber über Tests an menschlichen Embryonen wurde von offizieller Stelle noch nie berichtet.

Huang und Kollegen überprüften, ob sich mit dem Eingriff ein Gen austauschen lässt, wenn sich der Embryo im Einzelzellstadium befindet. Im Prinzip trügen dann sämtliche Nachfolgerzellen das reparierte

Gen. Die Embryonen, die sie dazu aus Kliniken für Reproduktionsmedizin bezogen, wurden ursprünglich für In-vitro-Fertilisationen produziert, hatten aber durch Befruchtung mit zwei Spermien einen zusätzlichen Chromosomensatz. Das verhindert, dass die Embryonen zu einem lebensfähigen Organismus heranreifen; sie durchlaufen lediglich die ersten Entwicklungsstadien.

In ihrem Experiment unternahm Huangs Gruppe den Versuch, mit Hilfe des CRISPR/Cas9-Systems ein Gen namens *HBB* zu verändern, das für das menschliche  $\beta$ -Globin-Protein kodiert. Mutationen in diesem Gen sind für die  $\beta$ -Thalassämie verantwortlich.

### **Überraschend geringe Effizienz, enttäuschend viele Fehler**

Das Team behandelte 86 Embryonen und wartete dann 48 Stunden ab – damit gaben sie dem CRISPR/Cas9-System und den Molekülen, die die fehlende DNA ersetzen sollen, genügend Zeit, ihr Werk zu verrichten. Unterdessen wuchsen die Embryonen im Schnitt zu jeweils acht Zellen heran. Von den 71 Embryonen, die überlebten, wurden 54 genetisch getestet. Dabei stellte sich heraus, dass nur 28 von ihnen die gewünschte Lücke im Strang aufwiesen, und nur ein Bruchteil von diesen enthielt das genetische Ersatzmaterial. »Wenn man das in normalen Embryonen durchführen will, muss man

### **KÜNSTLICHE BEFRUCHTUNG**

**Mit Hilfe einer Injektionsnadel wird eine Eizelle angestochen.**





nahe bei 100 Prozent liegen«, sagt Huang. »Deshalb haben wir aufgehört. Wir glauben, dass (die Technik) noch zu unreif ist.«

Seine Gruppe entdeckte darüber hinaus auch eine überraschend hohe Zahl von »Off-target-Mutationen«, die vermutlich darauf zurückgingen, dass das CRISPR/Cas9-System an unerwünschten Stellen im Genom ansetzte. Diese Nebenwirkung ist einer der Hauptkritikpunkte bei Genveränderung, die sich auf die Keimbahn auswirken, denn die ausgelösten Mutationen könnten sich als schädlich herausstellen. Ihre Häufigkeit lag bei Huangs Versuchen deutlich über der, die man von Experimenten an Mäuseembryonen oder adulten menschlichen Zellen kennt. Und das, obwohl Huangs Team wahrscheinlich nicht einmal alle unerwünschten Mutationen aufspürte, da sie nur einen Teilbereich des Genoms, das so genannte Exom, absuchten. »Hätten wir eine Komplettssequenzierung vorgenommen, hätten wir noch viel mehr gefunden«, sagt der Forscher.

Laut Huang lehnten sowohl »Nature« als auch »Science« eine Veröffentlichung seiner Studie ab, wobei ethische Einwände eine Rolle gespielt haben sollen. Keines der beiden Magazine war zu einem Kommen-

tar bereit. (Die Nachrichtenredaktion »Nature News«, die für den vorliegenden Bericht verantwortlich ist, arbeitet unabhängig von der »Nature«-Forschungssparte.)

### **Diskussion auf möglichst breiter Grundlage**

Huang zufolge kam von Kritikern der Einwand: Die geringe Effizienz und die erhöhte Zahl von Fehlmutationen in den Experimenten könnten auf die Tatsache zurückzuführen sein, dass die Gruppe keine normalen Embryonen einsetzte – eine Möglichkeit, die auch Huang einräumt. Aber da es keine entsprechenden Versuche an gesunden menschlichen Embryonen gebe, könne auch niemand sagen, ob das Verfahren dann anders wirke.

Trotzdem hält er daran fest, dass nicht lebensfähige Embryonen ein besseres Versuchsmodell für den normalen menschlichen Embryo seien als Tierembryos oder adulte menschliche Zellen. »Wir wollten der Welt unsere Daten zeigen, damit jeder weiß, was wirklich passiert bei diesem Modell, statt nur darüber zu reden, was wohl passieren würde, ohne dass jemand Daten hat«, sagt Huang.

Edward Lanphier zählt zu den Wissenschaftlern, die im März 2015 in »Nature«

---

»Wir brauchen eine  
breit angelegte Diskussion,  
in welche Richtung  
wir hier gehen«

[Edward Lanphier]

---

ihre Warnung veröffentlichten. »Das unterstreicht, was wir vorher schon gesagt haben: Wir müssen diese Experimente vorerst einstellen und gleichzeitig dafür Sorge tragen, dass eine breit angelegte Diskussion geführt wird, in welche Richtung wir hier gehen«, sagt Lanphier. Der Forscher ist Präsident von Sangamo Biosciences in Richmond, Kalifornien, einer Firma, die Methoden zur Genveränderung bei adulten menschlichen Zellen anwendet.

Huang plant nun, nach Wegen zu suchen, wie sich die Zahl der Off-target-Mutationen verringern lässt. Dazu will er auf Tiermodelle und adulte menschliche Zellen zurückgreifen. Verschiedene Strategien kämen in Betracht: Subtile Veränderungen an den Enzymen könnten helfen, die Moleküle präziser an ihr Ziel zu lotsen. Man könnte sie auch in abgewandelter Form in die Zellen bringen, so dass sich ihre Lebensdauer besser einstellen lässt und man sie abschalten kann, bevor sich zu viele Mutationen ansammeln. Oder man variiert die Konzentration der Enzyme und Reparaturmoleküle. Laut Huang könnte es auch helfen, andere Gene-Editing-Technologien einzusetzen. CRISPR/Cas9 ist vergleichsweise effizient und leicht zu verwenden,

während eine andere Gene-Editing-Methode, der Einsatz von bestimmten Nukleasen (TALENs), hingegen den Ruf hat, weniger unerwünschte Mutationen zu erzeugen.

Als sicher darf gelten, dass die Debatte um Genveränderungen in menschlichen Embryonen noch eine ganze Weile weitergehen wird. CRISPR/Cas9 ist berühmt für seine einfache Anwendbarkeit, und Lanphier fürchtet, dass künftig mehr Wissenschaftler versuchen werden, die Ergebnisse von Huangs Gruppe zu verbessern. »Die allgegenwärtige Verfügbarkeit von CRISPRs und die Einfachheit, mit der man sie herstellen kann, bietet Wissenschaftlern in allen Teilen der Welt die Gelegenheit, jedes Experiment durchzuführen, das sie möchten«, sagt Lanphier.

Ein chinesischer Insider, der die Entwicklung in diesem Feld genau kennt, sagt, dass mindestens vier Gruppen in China an Genmanipulationen im menschlichen Embryo forschen.

Dieser Beitrag erschien unter dem Titel »Chinese scientists genetically modify human embryos« bei »Nature News«.

(Spektrum.de, 23. April 2015)

Spektrum  
DER WISSENSCHAFT

KOMPAKT



# AUTISMUS

Entwicklungsstörung mit  
vielen Facetten

HIER DOWNLOADEN





MEINUNG

# Wer hat Angst vorm CRISPR/Cas9-Baby?

von **Lars Fischer**

Die Menschheit hat bereits bewiesen, dass sie mit schwierigen bioethischen Fragestellungen verantwortungsvoll umgehen kann, meint Lars Fischer.

**B**is die ersten lebensfähigen gentechnisch veränderten menschlichen Embryos im Labor entstehen, da scheint sich die Mehrzahl der Fachleute einig zu sein, ist es nur eine Frage der Zeit. Doch das wäre keineswegs das große unkontrollierbare ethische Bedrohungsszenario, zu dem es von einigen Debatten Teilnehmern gemacht wird. Den ganz realen Risiken solcher Techniken steht die langjährige Erfahrung gegenüber, dass die Menschheit mit solchen bioethischen Herausforderungen bisher überraschend aufgeklärt umgegangen ist.

Die Diskussion brach bereits im Frühjahr 2015 los, als chinesische Forscher den (fast) ersten mit CRISPR/Cas9 veränderten menschlichen Embryo erzeugten, allerdings war der von Anfang an nicht lebensfähig. Schon damals ging das Gerücht um, andere Arbeitsgruppen arbeiteten an lebensfähigen veränderten menschlichen Embryos. Seither hat sich die Technik rasant weiterentwickelt, wie jüngste Berichte über umfassende genetische Veränderungen am Schweinegenom zeigen. Die Technik ist noch nicht so weit, aber der Weg zur Keimbahnveränderung scheint vorgezeichnet.

Das ist durchaus ein Grund zur Hoffnung für viele Menschen – »Genome Editing« in der menschlichen Keimbahn hat enormes Potenzial, menschliches Leid zu lindern. So könnte eine gezielte Gentherapie die Wahrscheinlichkeit bestimmter Krankheiten senken oder sie völlig eliminieren und so die Menschheit dauerhaft von vielen Geißeln befreien. Klare ethische Gründe sprechen auch dafür, bestimmte Erbkrankheiten auf diese Weise zu behandeln.

Wie sinnvoll und angebracht solche Techniken sind und ob sie langfristig ungeahnte Folgen haben werden, darüber muss nicht nur die wissenschaftliche Welt, sondern gerade auch die Zivilgesellschaft einzelner Länder diskutieren. Denn die am Horizont sichtbare Möglichkeit, das menschliche Erbgut gezielt zu verändern, wirft weiterreichende Fragen auf: Wie würden solche Methoden unsere Gesellschaft verändern, und würden wir in einer solchen Welt leben wollen? Nicht zuletzt: Wie groß ist die Gefahr des Missbrauchs?

**Diese Debatte gibt es bereits, und das ist ein sehr ermutigendes Zeichen.** Nahezu alle Diskutanten bisher haben sich dafür ausgesprochen, menschliche Keimbahn-



SPEKTRUM DER WISSENSCHAFT

## LARS FISCHER

**Lars Fischer ist Wissenschaftsjournalist und freier Mitarbeiter bei »Spektrum.de«.**

manipulation vorerst – und zweifellos auch langfristig – sehr restriktiv zu handhaben. Erstaunlicherweise scheinen die Gesetze zahlreicher Staaten der Wissenschaft durchaus einen Schritt voraus zu





FOTOLIA / SASHKIN

sein: In vielen Teilen der Welt ist die Veränderung lebensfähiger Embryos bereits verboten, bevor sie überhaupt technisch möglich ist.

Es gibt nicht viele Bereiche in Wissenschaft und Gesellschaft, in denen man der Menschheit ernsthaft ethische Reife bescheinigen kann. Aber im Fall der Bioethik hat sich in Streitfragen noch immer gezeigt, dass dramatische Szenarien und Dammbruchargumente für die Realität wenig Relevanz haben. Sei es bei Biowaffen, Präimplantationsdiagnostik oder auch der jüngsten Debatte um künstlich scharf gemachte Viren – die Fachwelt hat sich ihrer Verantwortung ebenso gewachsen gezeigt wie die Zivilgesellschaft. Für die aktuelle Diskussion um Keimbahnmanipulation ist das ein gutes Zeichen. ↶

(Spektrum.de, 14. Oktober 2015)

### SPERMIUM DRINGT IN EIZELLE EIN

**Der wesentliche Akt der Fortpflanzung vollzieht sich, wenn das Spermium mit einer Eizelle verschmilzt. Welche Erbgutinformationen übertragen werden, hängt aber wohl nicht nur mit dem direkten Vorfahren zusammen.**





GENOME EDITING

# Was können wir von CRISPR erwarten?

von Sara Reardon

Veränderte Vögel und Bienen  
sind nur der Beginn der boomenden  
Gene-Editing-Technologie. Doch  
wie weit wird die Entwicklung  
gehen?



**T**imothy Dorans elf Monate alte Tochter ist allergisch gegen Eier – wie etwa zwei Prozent aller Kinder weltweit. Und weil viele Standardimpfstoffe in Hühnereiern hergestellt werden, können diese Kinder nicht alle Impfungen erhalten. Doran selbst arbeitet als Molekularbiologe an der CSIRO, der Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation in Geelong in Australien und will mit Hilfe des Gene-Editing-Tools CRISPR/Cas9 Abhilfe schaffen.

Die meisten Hühnereiallergien werden durch eines der gerade einmal vier Proteine des Eiweißes ausgelöst. Deshalb modifizierten Dorans Kollegen eines davon im bakteriellen System und testeten es an Allergikern. Wie sie anhand des Blutbildes der Probanden zeigen konnten, traten bei Testpersonen mit dem modifizierten Protein keine allergischen Reaktionen mehr auf. Doran hofft nun, anhand des CRISPR-Systems das Gen in Hühnern verändern zu können, um so hypoallergene Eier zu erhalten.

Die Forscher wollen bis Ende des Jahres die erste Generation der modifizierten Hühner als so genannten Proof of Concept

erzeugen, als Nachweis, dass das Prinzip funktioniert. Doran weiß natürlich, dass es einige Zeit dauern wird, bis die Zulassungsbehörden gentechnisch veränderte Eier genehmigen werden – seine Tochter wird bis dahin hoffentlich die Allergie überwunden haben. »Wenn aber nicht, wird sie als Erste die neuen Eier testen«, sagt er.

Doch Hühner sind nur eine der Tierarten, deren Genome schon bald umgebaut werden könnten. Mit den bisherigen Werkzeugen konnten die Wissenschaftler lediglich eine kleine Auswahl an Lebewesen gentechnisch manipulieren, noch dazu ineffizient und mit sehr großem Aufwand. Seit dem Aufkommen von CRISPR lassen sich Gene verschiedenster Organismen mit ziemlicher Genauigkeit und relativ einfach verändern. Schon seit einiger Zeit hatte die Aussicht auf geneditierte Affen, Mammuts, Moskitos und andere Lebewesen immer wieder für Schlagzeilen gesorgt, als so mancher Forscher versuchte, die Methode für Anwendungen in der Landwirtschaft, der Medikamentenproduktion bis hin zum Wiedererwecken ausgestorbener Spezies einzusetzen. Mittels CRISPR modifizierte Tiere wurden sogar schon als Haustiere zum Kauf angeboten. »Wir können jetzt

alle möglichen Projekte in Betracht ziehen, an die bisher nicht zu denken war«, sagt der Biotechnologe Bruce Whitelaw vom Roslin Institute im schottischen Edinburgh. »Viele wollen sich nun auch ernsthaft mit Genome Editing befassen.«

Die Zulassungsbehörden beraten aber immer noch darüber, wie sie mit solchen neuen Geschöpfen umgehen sollen, besonders mit jenen, die als Lebensmittel oder für die freie Wildbahn gedacht sind. Da gibt es doch jede Menge Bedenken hinsichtlich Sicherheit und Auswirkung auf die Umwelt. Sogar der Direktor der nationalen Nachrichtendienste der USA hat sich eingeschaltet und die Sorge geäußert, der einfache Zugang, die niedrigen Kosten und die rasante Entwicklung des Genome Editings **könnten das Risiko einer Herstellung schädlicher biologischer Agenzien erhöhen.**

Eleonore Pauwels studiert am Wilson Center in Washington D. C. im Bereich Zulassungsverfahren in der Biotechnologie. Ihrer Meinung nach bietet der CRISPR-Boom den Forschern und Politikern eine gute Gelegenheit, die Öffentlichkeit in die Debatte mit einzubeziehen. So ließe sich auch herausfinden, in welchem Bereich

CRISPR dem Menschen wirklich nützen könnte und wo die Grenzen der Technologie liegen. »Die Bevölkerung wäre da eine sehr nützliche Kontrollinstanz«, sagt sie.

### Resistenzen gegen Krankheiten

Eine der populärsten Anwendungen für CRISPR in der Landwirtschaft sind Resistenzen gegen häufige Krankheiten, und die Wissenschaft forscht bereits an etlichen Tieren. Brian Gillis hat ein Biotechnologieunternehmen in San Francisco und will gegen das weltweite und massive Sterben der Honigbiene vorgehen, das auf der Ausbreitung von Krankheiten und Parasiten beruht.

Gillis hat bereits das Genom von »reinlichen« Bienen analysiert, die ihren Bienenstock wie besessen säubern und kranke beziehungsweise infizierte Larven sofort entfernen. Ihre Kolonien sollten nicht so häufig Milben, Pilzen und anderen Pathogenen erliegen wie weniger reinliche Stämme. Gillis möchte nun Gene finden, die mit diesem Verhalten assoziiert sind, um diese in anderen Arten entsprechend zu verändern und damit die Gesundheit der Bienenstöcke zu fördern. Das könnte allerdings schwierig werden. Bisher haben Gil-



FOTOLIA / VLADIMIR GERASIMOV

lis und seine Arbeitsgruppe nämlich noch keine mit Reinlichkeit und Hygieneverhalten assoziierten Gene gefunden, und die Wurzeln für bestimmte Verhaltensweisen sind oft komplex, weiß BartJan Fernhout, der Vorsitzende von Arista Bee Research in Boxmeer in den Niederlanden, wo am Thema Milbenresistenz geforscht wird. Und selbst wenn die Wissenschaftler relevante Gene finden, ließen sich neue resistente

### EIERPRODUKTION

**Nicht nur für Pfannkuchen brauchen wir Eier, sondern auch für Impfstoffe – ein Problem für Menschen mit Eiweißallergie. Die Allergene sollen nun mit Gene Editing unschädlich gemacht werden.**



Populationen auch durch klassische Züchtung erhalten, die angesichts weit verbreiteter Ablehnung der Gentechnik vielleicht sogar von der Bevölkerung vorgezogen würde.

Solche Bedenken scheinen aber die Forschung an Krankheitsresistenzen nicht zu beeinflussen. Whitelaws Gruppe am Roslin Institute ist nicht das einzige Team, das mit CRISPR und anderen Gene-Editing-Systemen Schweine verändern möchte, um die-

sen eine Resistenz gegen virale Erkrankungen einzupflanzen, welche die Agrarunternehmen jährlich Hunderte von Millionen Dollars kosten.

Whitelaws Team will Immungene des Hausschweins so editieren, dass sie jenen der Warzenschweine näherkommen; diese besitzen nämlich eine natürliche Resistenz gegen das für die Landwirtschaft problematische Afrikanische Schweinefiebervirus. Randall Prather von der University of

Missouri in Columbia hat Schweine gezüchtet, deren Zellen ein mutiertes Protein enthalten, welches das Eindringen eines tödlichen Atemwegsvirus verhindern soll. Andere Forscher arbeiten an Rindern, die resistent gegen die Schlafkrankheit auslösenden Trypanosomen sind.

Die Zulassungsbehörden und auch die skeptischen Konsumenten werden Genveränderungen mit dem Ziel der Resistenzbildung hoffentlich besser annehmen als jene allein zur Wachstumsförderung, meint Whitelaw – nicht zuletzt, weil so das Leiden der Tiere verringert werden könnte. Die Regierungen mancher Länder überdenken auch schon, ob die mittels CRISPR modifizierten Tiere überhaupt dieselben Zulassungsverfahren durchlaufen sollten wie andere gentechnisch veränderte Tiere, weil sie ja eigentlich keine DNA von anderen Arten enthalten.

### Neue Medikamente

Doran muss seine Versuche zu den Allergenen in Hühnereiern gut kontrollieren. Der Trick dabei ist es, die genetische Sequenz so anzupassen, dass die exprimierten Proteine keine Immunreaktion auslösen, aber immer noch ihre normale Funktion in der



Embryonalentwicklung der Hühner übernehmen können. Das CRISPR-System ist die erste Technologie, die solch ein passgenaues Editing der Sequenz ermöglicht. »CRISPR ist der Retter in Sachen Allergene«, schwärmt der Molekularbiologe Mark Tizard von der CSIRO, der zusammen mit Doran an dem Hühnereiprojekt arbeitet.

Doch die Anwendung bei Vögeln ist nicht ganz so einfach wie bei Säugetieren. Hier lässt sich die Produktion zusätzlicher Eizellen anregen, die entnommen werden können, um sie zu verändern, zu befruchten und wieder einzupflanzen. Bei Vögeln sind die befruchteten Eier aber fest mit dem Dotter verbunden, so dass eine Entnahme den Embryo zerstören würde. Und weil die Eier im Inneren der Henne schwer zu erreichen sind, können die CRISPR-Komponenten auch nicht direkt in die Eier injiziert werden. Sobald das Ei gelegt ist, ist die Entwicklung aber schon zu weit fortgeschritten, um mittels Gene Editing noch Veränderungen für die nächste Generation einzuführen.

Um dies zu umgehen, möchten Tizard und Doran mit Urkeimzellen, so genannten PGCs (primordial germ cells) arbeiten; bei diesen handelt es sich um unreife Zel-

len, aus denen sich die Spermien und Eier entwickeln. Anders als bei vielen sonstigen Tieren befinden sich die PGCs der Hühner während der Entwicklung im Blut. Die Forscher können sie deshalb relativ einfach entnehmen, im Labor verändern und anschließend wieder zurückgeben, um die Entwicklung der Küken einzuleiten. Das Team am CSIRO hat sogar schon eine Methode entwickelt, mit der sie die Komponenten des CRISPR-Systems direkt in den Blutstrom einbringen können, wo die PGCs dann editiert werden.

Die Forscher planen auch die Entwicklung von Hühnern, bei denen die verschiedenen Komponenten schon im Genom integriert sind – das Ganze nennen sie CRISPRi chickens (CRISPRi-Hühner). Damit ließe sich die DNA der Hühner noch einfacher verändern, was sich für das Gene Pharming – die Medikamentenproduktion aus dem Stall – als wahrer Segen erweisen könnte. Die Zulassungsbehörden haben auch bereits ihre prinzipielle Bereitschaft zur Zulassung solcher Medikamente geäußert. Schon 2006 genehmigte die Europäische Union die Produktion eines Gerinnungshemmstoffs in Ziegenmilch durch ein Verfahren, das 2009 auch von der ame-

rikanischen Behörde FDA (Food and Drug Administration) zugelassen wurde. 2015 genehmigten beide Behörden auch transgene Hühner, deren Eier ein Medikament gegen eine Erkrankung des Fettstoffwechsels produzieren.

### **Ausgestorbene Tiere wieder zum Leben erwecken**

Vor etwa 4000 Jahren trug der Mensch durch die Jagd auf das Wollmammut (*Mammuthus primigenius*) wesentlich zu dessen Aussterben bei. Der CRISPR-Pionier George Church von der Harvard Medical School in Boston in Massachusetts möchte den Schaden nun wiedergutmachen. Hierzu plant er, bedrohte Indische Elefanten mit Hilfe der CRISPR-Technologie in Wollmammut umzuwandeln – oder zumindest in kälteunempfindliche Elefanten. Diese möchte er dann in einem Reservat in Sibirien frei lassen, wo sie seiner Meinung nach ausreichend Platz zum Herumstreuen hätten.

Der Plan klingt verrückt – aber es gibt schon länger Versuche, die großen Säuger den Mammuts ähnlicher zu machen. 2015 präsentierte der Genetiker Vincent Lynch von der University of Chicago in Illinois



Zellen, in die er ein Mammutgen für Wärmegefühl und Fellwachstum integriert hatte, und die auch bei niedrigen Temperaturen wuchsen. Bei Mäusen mit ähnlichen Genvarianten wurde beobachtet, wie sie in einem Käfig mit unterschiedlichen Temperaturbereichen speziell die kühleren Teile bevorzugten. Church sagt, er habe bereits etwa 14 solcher Gene in Elefantenembryos editiert.

Es ist aber kein ganz leichtes Unterfangen, erst ein Gen-Editing durchzuführen, dann die mammutähnlichen Elefanten zur Welt zu bringen und sie anschließend aufzuziehen. Church hält es auch für ethisch nicht vertretbar, gentechnisch veränderte Embryonen in bedrohte Elefanten zu implantieren. Deshalb versucht er mit seinem Labor eine Art künstliche Gebärmutter zu entwickeln, um die Embryos dort aufzuziehen – bisher funktioniert allerdings noch keine dieser Apparaturen.

Doch es gibt auch weniger anspruchsvolle Projekte zur Wiederbelebung ausgestorbener Tiere. Ben Novak von der University of California in Santa Cruz beispielsweise möchte die Wandertaube (*Ectopistes migratorius*) wieder aufleben



FOTOLIA / AUNTSPRAY

lassen, die einstmal weit verbreitet war und Ende des 19. Jahrhunderts durch übermäßige Jagd ausgerottet wurde. Seine Arbeitsgruppe vergleicht derzeit DNA aus Museumspräparaten mit der von heute lebenden Tauben. Er möchte dann mit derselben PGCs-Methode wie Doran das Ge-

#### **FÜR IMMER VERLOREN?**

**Mammut vor der untergehenden Sonne: Könnte man die Eiszeittiere mit modernen Methoden auferstehen lassen – und wäre das eine gute Idee?**



## Wer ist als Nächstes dran?

Viele Wildtiere sind nicht nur durch den Menschen bedroht, auch Krankheiten können kleine Populationen erheblich dezimieren. Ist Resistenz durch CRISPR eine Lösung?





nom der modernen Tauben so verändern, dass die Vögel den ausgestorbenen Arten wieder stärker ähneln.

Laut Novak ist die Technologie noch nicht weit genug fortgeschritten, um die Hunderte von Genen zu editieren, die zwischen heutigen und alten Taubenarten variieren. Aber das CRISPR-System ist die bisher beste Möglichkeit, seinen Traum zu verwirklichen und eine ausgestorbene Art wieder zum Leben zu erwecken. »Ohne CRISPR wäre das Projekt völlig unmöglich«, meint er.

### Krankheitsüberträger kontrollieren

Andere Forscher wollen schon seit Jahrzehnten Moskitos gentechnisch verändern, um so die Verbreitung von Krankheiten wie das Denguefieber und Malaria zu verhindern. Das CRISPR-System bietet hier neue Möglichkeiten.

Im November berichtete der Molekularbiologe Anthony James von der University of California in Irvine, wie er mittels Gene Drive ein Resistenzgen gegen Malaria ins Genom von Moskitos eingebaut hat, [das nun auch an deren Nachkommen weitergegeben wird](#). Und weil beim Gene Drive fast alle Nachkommen zwei Kopien des edi-

tierten Gens erhalten, wird dieses sehr schnell in der gesamten Insektenpopulation verbreitet.

Eine Publikation vom letzten Dezember zeigt einen anderen Ansatz mit Gene Drive; hier wird in einer Moskitopopulation ein Gen verbreitet, das alle weiblichen Tiere steril werden lässt und so die Insekten ausrotten könnte. Der Ausbruch des Zika-Virus in Mittel- und Südamerika – ebenfalls durch Moskitos verbreitet – führte zum gesteigerten Interesse an der Methode, und mehrere Forschungslabors arbeiten bereits daran, den Verbreitungsvektor des Virus, die Moskitospezies *Aedes aegypti*, mittels Gene Drive auszurotten.

Viele Wissenschaftler sorgen sich aber auch um unbeabsichtigte und noch nicht bekannte ökologische Folgen durch das Aussetzen der veränderten Moskitos. Deshalb hat das Team um Church ein so genanntes »Reverse Gene Drive« entwickelt, mit dem die Mutationen in der Population wieder rückgängig gemacht werden könnten.

Auch Jason Rasgon forscht an der Pennsylvania State University im University Park an gentechnisch veränderten Insekten. Natürlich müsste man immer die Ökosysteme beachten, sagt er, aber das Aus-

maß und die Letalität von Erkrankungen wie Malaria würden schwerer wiegen. Mit Moskitos lässt es sich am einfachsten arbeiten, so Rasgon, doch auch andere Anwendungen des Editing-Systems werden untersucht. Beispielsweise wollen sie Stechmücken so modifizieren, dass diese den Erreger der Lyme-Borreliose nicht mehr weitergeben können. Außerdem wird an der Übertragung der Parasitenerkrankung Schistosomiasis gearbeitet: So beschrieben im Jahr 2015 Forscher ein Set von Genen der Posthornschnecke (*Biomphalaria glabrata*), durch dessen Editing sie möglicherweise die Weitergabe des Parasiten [Schistosoma](#) verhindern können.

### Bessere Nahrungsmittelproduktion

Am Ende eines langen Zulassungsverfahrens durch die US-Lebensmittelbehörde FDA wurde im November 2015 zum ersten Mal ein transgenes Tier für die Nahrungsmittelproduktion zugelassen: der schnell wachsende Lachs der Firma AquaBounty Technologies aus Maynard in Massachusetts. Doch nach wie vor befürchten einige, der Lachs könnte in die freie Wildbahn gelangen, sich mit Wildfischen paaren und so das ökologische Gleichgewicht durchein-

anderbringen. Der Fischgenetiker Rex Dunham von der Auburn University in Alabama arbeitet an Catfisch, den in den USA am häufigsten in Fischfarmen gezogenen Welsarten. Er möchte solchen Bedenken gleich von vorneherein entgegenwirken und hat deshalb mittels CRISPR die Gene für drei Fortpflanzungshormone ausgeschaltet; damit sollten die Fische steril sein, und ein möglicherweise doch der Fischfarm entkommender Fisch – gentechnisch verändert oder nicht – hätte nur sehr wenig Chancen, die natürliche Population zu beeinflussen. »Wenn wir 100 Prozent Sterilität erreichen, können sie das Genom der anderen Tiere nicht beeinflussen«, meint Dunham. Um die gentechnisch veränderten Tiere dann weiter zu züchten, würden ihnen Hormone gegeben, und die Methode ließe sich auch auf andere Fischarten anwenden, sagt er. Die neue Technologie könnte auch das Aussortieren nicht er-

wünschter Farmtiere verringern, was eine teure und zweifelsohne tierfeindliche Praxis ist. Die Biotechnologin Alison van Eenennaam von der University of California in Davis setzt die neue Technologie bei der Fleischproduktion mit Rindern ein, wo weibliche Tiere häufig gekeult werden, weil sie weniger Fleisch liefern. Die Forscherin möchte erreichen, dass nur männliche Nachkommen entstehen oder zumindest was vorab als solche erscheint. Hierfür kopierte sie ein für die Entwicklung des männlichen Geschlechts wichtiges Gen des Y-Chromosoms auf das X-Chromosom von

Spermien. Wenn mit diesen nun Nachkommen gezeugt werden, sollten diese entweder unverändert sein, XY-männlich oder XX-weiblich mit männlichen Merkmalen wie einer größeren Muskelmasse.

Aber auch für die Eiproduktion gibt es schon Ansätze. Hier sind männliche Küken von Elitehühnern nicht von Nutzen und werden von den Produzenten meist schon einen Tag nach dem Schlüpfen gekeult. Das Team um Tizard will nun das GFP-Gen, ein für grün fluoreszierendes Protein kodierendes Gen, auf das männliche Geschlechtschromosom der Hühner setzen, damit die

## MOSKITO

**Mücken übertragen eine ganze Reihe von Krankheiten – mit gentechnisch veränderten Artgenossen sollen ihre Populationen nun dezimiert werden.**



FOTOLIA / ROGER DE MARFÀ | TAILLEFER



männlichen Embryonen in den Eiern unter UV-Licht leuchten. Bevor überhaupt Küken geschlüpft sind, könnten diese Eier dann von den Produzenten aussortiert und beispielsweise zur Impfstoffherstellung eingesetzt werden.

Noch ganz anders ließe sich mittels CRISPR eine etwas »humanere« Landwirtschaft erreichen. So können sich Rinder in Anhängern oder anderen engen Gestelle verletzen, besonders wenn ihre Hörner der Tiere sehr lang sind. Aus diesem Grund werden die Hörner von Farmern häufig abgebrannt oder mittels Chemikalien abgeätzt, was für die Tiere schmerzhaft und für den Farmarbeiter gefährlich sein kann. Es gibt auch hornlose Rinder, deren Kreuzung mit den »Elitetieren« der Fleisch- oder Milchproduktion allerdings bisher die Qualität des Nachwuchses senkt. [Deshalb hat sich der Molekulargenetiker Scott Fahrenkrug mit seinem Unternehmen Recombinetics in Saint Paul in Minnesota zum Ziel gesetzt, ein Gen zur Unterdrückung der Hornbildung in Elitetiere einzubringen.](#) Bisher haben sie nur zwei hornlose Rinder erhalten, die beide männlich sind und an der University of California in Davis aufgezogen werden, bis sie für die Zucht alt genug sind.

## Bessere Haustiere

Im September 2015 überraschte die Firma BGI bei einer Konferenz in Shenzhen in China die Besucher mit Mikroschweinen, die nur etwa 15 Kilogramm schwer werden und damit lediglich die Größe eines Dackels erreichen. BGI wollte die Schweine ursprünglich für die Forschung ziehen, beschloss dann aber, die Tiere für 1600 US-Dollar (etwa 1400 Euro) als Haustiere zu barer Münze zu machen – in Zukunft soll der Käufer auch noch die Fellfarbe im Voraus bestellen können.

BGI will mit Hilfe von CRISPR auch die Größe und Farbe von Koi-Karpfen verändern. Die Koi-Zucht ist eine uralte Tradition in China. Laut der Leiterin der Gene-Editing-Abteilung bei BGI, Jian Wang, erhält man selbst mit guten Zuchttieren aus Millionen Eiern nur wenige ausgesprochen schön gefärbte und gut proportionierte Fische, die alle Qualitäten eines Champions haben. Durch CRISPR sollte sich das Muster der Fische besser bestimmen und die Fische auch besser an Hausaquarien anpassen lassen, sagt sie – bisher müssen diese nämlich in großen Pools gehalten werden. Im Jahr 2017 oder 2018 will die Firma mit dem Verkauf von Koi-Karpfen starten und möglicherwei-

se noch eine weitere Art von Fischen in ihr Haustier-Repertoire aufnehmen.

Die Genetikerin Claire Wade von der University of Sydney in Australien will mit Hilfe der neuen Technologie Hunde modifizieren. Ihre Gruppe hat genetische Unterschiede verschiedener Züchtungen analysiert und sucht nun nach Bereichen, die für Verhalten und Eigenschaften wie Lebhaftigkeit verantwortlich sind und sich vielleicht variieren lassen. Das Unternehmen Sooam Biotech aus Seoul ist dafür bekannt, ein verstorbenes Haustier für 100 000 US-Dollar (etwa 88 000 Euro) zu klonen; auch diese Firma ist natürlich an der CRISPR-Technologie interessiert. Wie ihr Mitarbeiter und Forscher David Kim erklärt, wollen sie die Fähigkeiten von Arbeitshunden als Führungshunde oder Herdenhunde verbessern. Jeantine Lunshof arbeitet als Bioethikerin in Churchs Labor in Harvard und hält die Absicht, Tiere nur wegen ihres Aussehens zu verändern – »nur um unsere eigenwilligen Wünsche auszuleben« –, für sehr fragwürdig und möglicherweise schädlich für das Wohlergehen der Tiere.

Aber sie gibt auch zu, dass dies letztlich nicht viel anders ist als die klassischen Züchtungsmethoden, mit denen wir schon seit

Jahrhunderten versuchen, die Eigenschaften von Haustieren zu verbessern. Und CRISPR könnte sogar dazu beitragen, unerwünschte Merkmale verschwinden zu lassen, wie beispielsweise die Anfälligkeit vieler Hunderassen für Hüftprobleme. »Wenn wir ungute Effekte, die durch jahrzehntelange Züchtung aufgetreten sind, wieder reversieren könnten, dann wäre das gut.«

### Modelle für Erkrankungen

Lange Zeit wurden Frettchen in der Forschung als Influenza-Modell genutzt: Das Virus repliziert sich in ihren Atemwegen, und die Tiere niesen manchmal, woran sich gut die Übertragung des Virus untersuchen lässt. Vor der CRISPR-Ära hatten die Virologen keine Möglichkeiten, Frettchengene auf einfache Art zu verändern. Xiaoqun Wang und seine Kollegen von der chinesischen Akademie der Wissenschaften in Peking haben nun anhand des CRISPR-Systems verschiedene an der Gehirnentwicklung beteiligte Gene in diesen Tieren modifiziert. Nun wollen sie noch die Anfälligkeit der Tiere für Grippeviren modulieren und dieses Modell auch anderen Forschern aus dem Bereich der Infektionskrankheiten zur Verfügung stellen.

Die Verhaltensforscher hoffen besonders auf genetisch modifizierte Pinseläffchen, zwei Gattungen der Krallenaffen, die dem Menschen verwandter sind als üblicherweise eingesetzte Nagetiere. Am schnellsten entwickelt sich das Feld in China und Japan, wie beispielsweise die Veröffentlichung des Teams um den Neurowissenschaftler Zilong Qiu von der chinesischen Akademie der Wissenschaften in Schanghai im Januar 2016 zeigte. Die Gruppe hatte mittels CRISPR in Makaken eine Mutation in dem Gen *MECP2* induziert, das beim Menschen mit der Entwicklungsstörung Rett-Syndrom assoziiert ist. Die gentechnisch veränderten Tiere zeigten verschiedene Symptome der Autismusspektrumstörung, wie sich wiederholende Verhaltensweisen und die Vermeidung von Sozialkontakt.

Aber der Genetiker Anthony Chan von der Emory University in Atlanta in Georgia mahnt zu Besonnenheit und fordert die Wissenschaftler dazu auf, solche Modelle im Hinblick auf die ethische Vertretbarkeit zu überprüfen; auch müsse sich jeder fragen, ob nicht die Standardtiere der Labore wie Mäuse ausreichend seien. »Nicht jede Erkrankung muss im Primatenmodell untersucht werden«, sagt er.

Natürlich könnte auch die Grundlagenforschung der Neurowissenschaften von neuen Tiermodellen profitieren. Der Neurobiologe Ed Boyden vom Massachusetts Institute of Technology hält eine ganze Kolonie des kleinsten Säugetiers der Welt, der etruskischen Baumspitzmaus (*Suncus etruscus*). Ihr Gehirn ist so klein, dass sich das Organ als Ganzes unter dem Mikroskop betrachten lässt. Wenn Genveränderungen dazu führen würden, dass Neurone bei jedem Signal aufleuchten, könnten Forscher das gesamte Gehirn in Echtzeit, sozusagen in real time untersuchen.

Der CRISPR-Zoo expandiert sehr schnell – die Frage ist jetzt, wie man ihn steuern und kontrollieren kann. Laut Pauwels könnte das ganze Feld dieselbe Abneigung erfahren wie schon vorausgegangene Generationen gentechnisch veränderter Pflanzen und Tiere. Um das zu vermeiden, müssten die Wissenschaftler die Vorteile ihrer Arbeit sehr deutlich darstellen. »Wenn es etwas gibt, das von Vorteil ist«, sagt er »dann sollten wir es annehmen und nutzen.« ↩

(Spektrum.de, 2. Mai 2016)



## Das Kombipaket im Abo: App und PDF

Jeden Donnerstag neu! Mit News, Hintergründen, Kommentaren und Bildern aus der Forschung sowie exklusiven Artikeln aus »nature« in deutscher Übersetzung. Im Abonnement nur 0,92 € pro Ausgabe (monatlich kündbar), für Schüler, Studenten und Abonnenten unserer Magazine sogar nur € 0,69.

JETZT ABONNIEREN!

