

InterNutrition POINT

Aktuelles zur grünen Biotechnologie

Nr. 203
März 2019

Inhalt

- Genome Editing I: Ribonukleoprotein-Komplexe ermöglichen Erbgut-Chirurgie in Reis ohne rekombinante DNA*S. 1
- Genome Editing II: Grosse Herausforderungen beim Nachweis von gerichteten genetischen Veränderungen*S. 2
- Lebensmittel: Gesünderes Sojaöl als erstes Produkt aus genomeditierten Pflanzen auf dem US-Markt*S. 4
- Freiland-Versuche: BAFU verlängert Bewilligung für Untersuchungen an mehltaresistentem Weizen*S. 5

Genome Editing I



Verschiedene Reissorten

Photo ©: [IRRI Image Collection/flickr.com](https://www.flickr.com/photos/irri/)

Ribonukleoprotein-Komplexe ermöglichen Erbgut-Chirurgie in Reis ohne rekombinante DNA

Die Entwicklung von Methoden zur gezielten Erbgut-Veränderung bei Pflanzen (Genome Editing) schreitet mit enormem Tempo voran, und revolutioniert die Pflanzenzüchtung. Bei mehr als 50 Pflanzenarten wurden bisher erfolgreich präzise, gerichtete Modifikationen des Erbguts durchgeführt, um die Eigenschaften der Pflanzen wunschgemäss anzupassen. In vielen Fällen werden hierfür Varianten des CRISPR/Cas9 Systems eingesetzt, mit dessen Hilfe Schnitte im Pflanzenerbgut an vorbestimmten Positionen eingeführt werden können.

Die Maschinerie, welche die gezielten Schnitte auslöst, besteht aus einem Protein (Cas9), welches das Erbmateriale DNA unspezifisch spalten kann, und einem kurzen RNA Fragment (gRNA; guide RNA), welches durch seine Sequenz die Ziel-Spezifität beisteuert. In vielen Genome Editing Ansätzen wird zunächst ein Transgen in Pflanzenzellen eingebaut, welches alle Informationen für die Maschinerie besitzt. Dieses wird in den Zellen abgelesen, Cas9 und gRNA werden produziert, und die gewünschten Schnitte werden ausgelöst. Danach ist die Genome Editing Maschinerie nicht mehr erforderlich. Da unnötige Transgene in Nutzpflanzen nicht erwünscht sind, werden sie durch Kreuzungen wieder entfernt, was einige Zeit erfordert.

Als alternativer Ansatz ist es auch möglich, Cas9 und gRNA im Reagenzglas zu einem Ribonukleoprotein-Komplex (RNP) zusammenzufügen, und diesen direkt in Pflanzenzellen zu übertragen, ohne rekombinante DNA. Der Vorteil dabei ist, dass anschliessend kein unnötiges Transgen in den Pflanzenzellen verbleibt, was Zulassungsverfahren vereinfacht und beschleunigt. Allerdings behindert die Pflanzen-Zellwand die Aufnahme von RNPs in die Zellen. Oft wird die Zellwand daher durch Enzyme entfernt. Die Hülle der wandlosen Zellen (Protoplasten) können dann mit Chemikalien durchlässig gemacht, und die RNPs aufgenommen werden. Allerdings ist es für viele Pflanzenarten schwierig oder unmöglich, aus isolierten Protoplasten wieder vollständige Pflanzen zu regenerieren, die dann weiter gezüchtet werden können.

Hier haben Erika Toda und ihre Forscher-Kolleginnen und -Kollegen von mehreren japanischen Instituten einen Trick gefunden, um die RNPs effizient in Reis-Zellen einzuschleusen. Sie gingen davon aus, dass Pflanzenzel-

len zum Zeitpunkt der Befruchtung keine Zellwände haben können, da diese das Verschmelzen von Ei- und Spermienzellen verhindern würden. Sie wählten daher den Zeitpunkt unmittelbar nach der Befruchtung, um die Zellhülle der befruchteten Eizelle (Zygote) chemisch durchlässig zu machen, und RNPs zuzufügen, welche mehrere verschiedene Reis-Gene verändern sollten. Aus einem Grossteil der behandelten Zygoten konnten sie innert einiger Wochen komplette Reis-Pflanzen regenerieren. Zwischen 4% und 64% dieser Pflanzen trugen die erwarteten Erbgut-Veränderungen, dieser Genome Editing Ansatz ist daher sehr effizient.

Die Autoren weisen darauf hin, dass der von ihnen beschriebene Ansatz für das Genome Editing ohne rekombinante DNA mit Hilfe von RNPs in Zygoten deutlich schneller ist als der Standard-Ansatz mit Protoplasten. Ausserdem löst bei Protoplasten die erforderliche längere Gewebekultur zur Regeneration der Pflanzen oft weitere spontane genetische Veränderungen aus, die nicht im Zusammenhang mit dem gewünschten Genome Editing Ereignis stehen. Die Erbgut-Chirurgie in Zygoten liesse sich bei Reis durch verschiedene Methoden weiter vereinfachen und beschleunigen, und sollte von Reis auch auf andere Pflanzenarten (z. B. Mais und Weizen) übertragbar sein. Die Forscher hoffen daher, dass der von ihnen entwickelte Ansatz künftig einen Beitrag für die weitere züchterische Verbesserung dieser für die Welt-ernährung wichtigen Getreidearten leisten wird.

Quelle: Erika Toda et al. 2019, [An efficient DNA- and selectable-marker-free genome-editing system using zygotes in rice](#), Nature Plants (online 25.03.2019, [doi:10.1038/s41477-019-0386-z](#)).

Genome Editing II

Grosse Herausforderungen beim Nachweis von gerichteten genetischen Veränderungen

Vor über 35 Jahren, im Jahr 1983, wurden die ersten gentechnisch veränderten Pflanzen beschrieben. Die Agrar-Biotechnologie hat mit verbesserten Pflanzensorten seither die Entwicklung der Landwirtschaft weltweit geprägt, über 13% der weltweiten Ackerfläche werden gegenwärtig mit gentechnisch veränderten Nutzpflanzen bestellt. Im Jahr 2013 erhielten die massgeblich beteiligten Forscher Marc Van Montagu, Mary-Dell Chilton, und Robert T. Fraley den World Food Prize für Ihre entscheidenden Beiträge zur Verbesserung der globalen Ernährungssicherheit.

Herkömmliche gentechnisch veränderte Pflanzen enthalten Erbinformationen, oft aus anderen Organismen, welche die gewünschten Eigenschaften vermitteln («Transgene»). Durch die Übertragung vollständiger Gene entstehen in den Zielorganismen neue Kombinationen von genetischem Material. Diese lassen sich mit molekularbiologischen Methoden mit hoher Empfindlichkeit nachweisen. Das ermöglicht auch die Markt-Überwachung: es kann schnell, einfach und kostengünstig überprüft werden, ob eine Gütercharge gentechnisch verändertes Material enthält, und falls ja, ob die nachgewiesenen Pflanzensorten im Importland zugelassen sind.

Die Entwicklung moderner Verfahren des «Genome Editings», durch welche Pflanzeigenschaften durch gezielte, punktförmige Veränderungen im Erbgut ohne den Einbau fremder Gene angepasst werden können, bringen dieses etablierte System ins Wanken. Es ist umstritten, ob derart veränderte Pflanzen gleich wie herkömmliche gentechnisch veränderte Pflanzen reguliert werden sollten – und ob dieses überhaupt möglich ist. Eine entscheidende Rolle bei der Diskussion spielt die Frage, ob und unter welchen

Umständen Veränderungen durch «Genome Editing» nachgewiesen werden können, und ob diese überhaupt als das Resultat menschlichen Eingreifens erkannt werden und von natürlich entstandenen Mutationen unterschieden werden können.

Kürzlich erschien eine wichtige Studie des «*European Network of GMO Laboratories*» (ENGL) hierzu. Dieses Netzwerk widmet sich nahe an der Praxis der Entwicklung europaweiter Standards und Nachweismethoden für gentechnisch veränderte Organismen, und umfasst 95 nationale Vollzugsbehörden aus allen 28 EU Ländern sowie aus Norwegen, der Türkei und der Schweiz. Auch Lutz Grohmann und Kolleginnen und Kollegen vom deutschen Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) sowie vom Julius Kühn-Institut, Quedlinburg, beschäftigen sich in einem neuen Fachartikel mit der Nachweisbarkeit von Genome Editing in Pflanzen.

Natürlich sind gerichtete Veränderungen im Pflanzen-Erbgut nachweisbar, wenn man weiss nach was man suchen muss. Immerhin streben Forscher danach, mit Methoden wie der Erbgut-Schere CRISPR/Cas9 oder anderen Verfahren an vorbestimmten Positionen im Genom Modifikationen einzufügen. Die genetische Information in der Umgebung dieser Position, also die Buchstaben-Abfolge der vier DNA-Bausteine, lässt sich vor und nach der Veränderung ablesen – und so kann einfach festgestellt werden, welche Veränderung an welcher Stelle eingetreten ist. Auch weitere Modifikationen an anderen Stellen im Erbgut können nachgewiesen werden – entweder, indem die DNA Sequenz an Positionen untersucht wird, die aufgrund der Ähnlichkeit zur beabsichtigten Zielsequenz ebenfalls verändert wurden, oder indem die gesamte DNA Sequenz der Zielpflanze erhoben wird und mit derjenigen der unveränderten Ausgangspflanze verglichen wird.

Herausforderungen für die Zulassung und Überwachung von Pflanzen, die mit Hilfe des Genome Editing entwickelt werden, gibt es vor allem in zwei Bereichen: der Entwicklung geeigneter Nachweis-Methoden im Rahmen des Zulassungsverfahrens, und der Marktkontrolle.

Für die **Zulassung** gentechnisch veränderter Pflanzen ist in der EU und der Schweiz Voraussetzung, dass die Hersteller ein geeignetes Nachweisverfahren vorlegen, mit dem die Pflanzen eindeutig und mit grosser Empfindlichkeit identifiziert werden können. Für klassische GVO ist das einfach und schon lange Routine, hier können die neuen genetischen Kombinationen zwischen dem Pflanzen-Genom und dem zusätzlich eingebauten grossen Transgen z. B. durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nachgewiesen werden. Dabei ist auch eine exakte Mengenbestimmung möglich, z. B. für eine unbeabsichtigte Beimischung eines GVO in Handelsware. Da durch Genome Editing oft nur sehr kleine Veränderungen eingeführt werden, möglicherweise nur der Austausch eines einzigen Buchstabens der Gensequenz, und dabei keine neuen Erbgut-Kombinationen entstehen, ist der Nachweis in einer einzelnen Pflanze aufwändiger, aber immer noch machbar. Wirklich kompliziert wird es, wenn winzige Spurenbeimischungen zuverlässig erkannt und auch noch mengenmässig quantifiziert werden sollen. Die aktuell verwendeten Routineverfahren reichen hierfür nicht aus. Die strengen Anforderungen, die für den Nachweis grosser genetischer Veränderungen durch den Einbau von Transgenen entwickelt worden, lassen sich für die winzigen Veränderungen durch Genome Editing nicht umsetzen.

Auch der für GVO geforderte Nachweis einer absolut einzigartigen genetischen Veränderung stösst für genomeditierte Produkte auf Grenzen, da die

technisch hervorgerufenen geringfügigen Veränderungen auch zufällig an anderen Positionen im Erbgut entstehen können. Hier müssen die bestehenden Vorschriften praxistauglich an die neuen Technologien angepasst werden.

Wirklich problematisch wird der Nachweis genom-editierter Pflanzen aber für die **Marktkontrolle**, wenn es keine vorherigen Informationen über die Art und Position der Veränderung gibt. Da sich die eingeführten Veränderungen nicht von solchen unterscheiden, die spontan auch in der Natur entstehen, gibt es ohne Vorwissen keine Möglichkeit, diese eindeutig als Produkt einer vom Menschen gemachten technischen Veränderung zu identifizieren. Eine angebliche Entstehung von leicht erkennbaren «Narben» im Erbgut als Resultat des Genome Editings, die technologiekritische Organisationen als Beleg für den einfachen Nachweis genomeditierter Organismen ins Feld führen, konnte die überwiegende Mehrheit der Experten bisher nicht überzeugen.

Dies führt zwangsläufig zu einem Dilemma: global nimmt der Einsatz von Genome Editing für die Pflanzenzüchtung stark zu, auch in Ländern, bei denen nicht unbedingt Transparenz über die Züchtungsmethoden besteht. Es ist nicht auszuschliessen, dass Produkte des Genome Editings durch den weltweiten Warenaustausch ihren Weg auch nach Europa finden, entweder als Handelsware oder als Beimischung. In der EU gelten alle Produkte des Genome Editings gemäss Urteil des Europäischen Gerichtshofes aber seit Sommer 2018 als «gentechnisch veränderte Organismen», und sind damit als Lebens- und Futtermittel zulassungs- und kennzeichnungspflichtig. Wie aber soll eine Marktkontrolle möglich sein, wenn der Nachweis einer gezielten technischen Veränderung in den Pflanzen nicht sichergestellt werden kann? Hier sind praxistaugliche Anpassungen der Bestimmungen in der EU zwingend erforderlich. Es ist klar, dass die bestehenden Anforderungen und Vorschriften für GVO nicht 1:1 auf alle Produkte innovativer Pflanzenzüchtungs-Verfahren angewendet werden können.

Auch die Schweiz muss bei der laufenden Überprüfung und Anpassung der gesetzlichen Bestimmungen für die Anwendung neuer gentechnischer Verfahren dem Umstand des schwierigen bis unmöglichen Nachweises von Produkten des Genome Editings Rechnung tragen.

Quellen: [Detection of food and feed plant products obtained by new mutagenesis techniques](#), European Network of GMO Laboratories (ENGL) Report, 26.03.2019; Lutz Grohmann et al. 2019, [Detection and Identification of Genome Editing in Plants: Challenges and Opportunities](#), Front. Plant Sci. 10:236

Lebensmittel

Gesünderes Sojaöl als erstes Produkt aus genomeditierten Pflanzen auf dem US-Markt

Weltweit wird über Anwendungen des «Genome Editings» in der Pflanzenzüchtung diskutiert, und wie die neuen Technologien reguliert werden sollten. Während in Europa die Entwicklungen aufgrund der unklaren und teilweise restriktiven Bestimmungen weitgehend blockiert sind, kam in den USA jetzt das erste mit Hilfe des «Genome Editings» entwickelte Lebensmittel auf den Markt – ein Sojaöl mit besonders hohem Ölsäure-Gehalt, das in seiner Zusammensetzung weitgehend dem gesunden Olivenöl entspricht.

Das kleine Pflanzen-Biotech-Unternehmen Calyxt hatte die Sojasorte mit Hilfe der TALEN-Technologie entwickelt, einer Alternative zum bekannten CRISPR/Cas9 Verfahren. Innerhalb von nur drei Jahren nach Entwicklungs-

start hatten sie die Anbauzulassung des US Landwirtschaftsministeriums erhalten. Im letzten Jahr begann der kommerzielle Anbau und die erste grosse Ernte wurde eingefahren (siehe [POINT 198, Oktober 2018](#)). Jetzt gelangte das daraus hergestellte Calyno™ High Oleic Soybean Oil in den USA als Premium-Produkt in den Handel.

Aufgrund des angepassten Fettsäure-Stoffwechsels in den modifizierten Sojapflanzen enthält Calyno™ etwa 80% Ölsäure, bis zu 20% weniger gesättigter Fettsäuren im Vergleich zu herkömmlichem Sojaöl, und keine der gesundheitsschädlichen trans-Fettsäuren. Eine Diät, die reich an einfach ungesättigten Fettsäuren wie der Ölsäure ist, wird mit niedrigerem Körperfett und niedrigerem Blutdruck in Zusammenhang gebracht, und gilt daher als gesünder. Ein weiterer Vorteil des Calyno™-Öls ist seine bessere Hitze-stabilität, die eine bis zu dreifach längere Verwendung beim Frittieren ermöglicht, und eine bessere Lagerfähigkeit. Diese Eigenschaften tragen zu einer besseren Ausnutzung des Öls bei, schonen so Ressourcen und leisten einen Beitrag zur Nachhaltigkeit.

Aktuell werden die genomeditierten Sojapflanzen im mittleren Westen der USA auf über 13'000 ha von mehr als 100 Vertragslandwirten angebaut. Das Unternehmen will die Anbauflächen deutlich vergrössern, um die Nachfrage zu befriedigen. Gemäss Manoj Sahoo, Verkaufschef bei Calyxt, zeigt das erfolgreiche Inverkehrbringen des ersten Lebensmittels aus genomeditierten Pflanzen nicht nur, dass Lebensmittelhersteller und Konsumenten Innovationen unterstützen, sondern auch dass sie bereit sind, einen Preis-aufschlag für gesündere und rückverfolgbare Produkte zu bezahlen. Da die Pflanzen keine fremde Erbinformation enthalten und nur punktförmige Veränderungen in ihren eigenen Genen, gelten sie in den USA nicht als «gentechnisch veränderte Organismen». Produkte daraus müssen nicht speziell gekennzeichnet werden.

In der EU müsste das Calyno™-Öl gemäss der Rechtsprechung des Europäischen Gerichtshofs als GVO-Produkt zugelassen und beim Verkauf entsprechend gekennzeichnet werden. Es ist allerdings nicht klar, wie allfällige Spurenbeimischungen der in Europa noch nicht bewilligte Sojasorte erkannt werden könnten, da die klassischen GVO-Testverfahren bei genomeditierten Produkten nicht greifen.

Quelle: [First Commercial Sale of Calyxt High Oleic Soybean Oil on the U.S. Market](#), Financial Times, 26.02.2019; [High oleic soybean — a premium oil market commercial opportunity](#), Calyxt Website

Freiland-Versuche

BAFU verlängert Bewilligung für Untersuchungen an mehltaresistentem Weizen

Bereits im Jahr 2008 wurden auf dem Agroscope-Versuchsfeld in Zürich-Reckenholz gentechnisch veränderte Weizenpflanzen mit Mehltau-Resistenzgenen aus anderen Weizensorten ausgesät. Die Versuche wurden bis 2010, und dann in erweiterter Form von 2014 – 2018 weitergeführt. Dabei wurde die Wirksamkeit verschiedener Gen-Varianten für die Pilzresistenz untersucht, mit einem speziellen Augenmerk auf Kombinationen verschiedener Resistenzgene. Um diese Arbeiten fortzuführen, wurde im Oktober 2018 ein Verlängerungsgesuch beim zuständigen Bundesamt für Umwelt BAFU eingereicht (siehe [POINT 199, Oktober 2018](#)).

Da die verwendeten Weizenlinien und die geplante Versuchsdurchführung weitgehend den bereits bewilligten Freilandversuchen der bisherigen acht

Jahre entsprachen, konnte ein vereinfachtes Bewilligungs-Verfahren durchlaufen werden. Einsprachen oder Stellungnahmen aus der Öffentlichkeit waren innerhalb der Einsprachefrist nicht eingegangen. Am 14. März 2019 bewilligte das BAFU die Fortführung der Freiland-Versuche von 2019 bis 2023. Zugleich wurden umfangreiche Sicherheits-Auflagen gemacht, um eine Verbreitung der gentechnisch veränderten Pflanzen in der Umwelt zu verhindern. An der Beurteilung des Gesuches waren neben dem Bundesamt für Umwelt auch die Bundesämter für Gesundheit (BAG), für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV), für Landwirtschaft (BLW), die Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit (EFBS), die Eidgenössische Ethikkommission für die Biotechnologie im Ausserhumanbereich (EKAH) sowie der Umweltdienst des Kantons Zürich (AWEL) beteiligt. Die Versuche werden durch eine unabhängige Begleitgruppe eng verfolgt.

Mit der Fortführung der Feldversuche mit mehltaresistentem Weizen laufen aktuell vier Freiland-Projekte mit gentechnisch veränderten Pflanzen auf dem Versuchsfeld in Reckenholz. Auch cisgene Kartoffeln mit verbesserter Resistenz gegen Kraut- und Knollenfäule, cisgene Apfelbäume mit verbesserter Resistenz gegen Feuerbrand, und Winterweizen mit erhöhtem Ertragspotenzial werden untersucht. Anfang 2019 wurden zusätzlich Versuche mit Mais- und Gerstenlinien beantragt, die dank dem Lr34-Resistenzgen aus Weizen gegen verschiedene Pilzkrankheiten resistenter sein sollten.

Im europäischen Umfeld bleibt die Schweiz damit ein wichtiger Standort für Freiland-Versuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen, und erhält ihre Kompetenzen auf diesem international weiter expandierenden Gebiet. In der EU hat die Anzahl der Freisetzung-Anträge für gentechnisch veränderte Versuchspflanzen seit 2009 um über 90% abgenommen, von 109 Anträgen auf nur noch 7 im Jahr 2018. Bei diesen wenigen Anträgen handelt es sich um Projekte aus der Grundlagenforschung, die kommerzielle Pflanzenzüchtung hat ihre Freilandversuche mit gentechnisch veränderten Sorten schon länger aus Europa abgezogen. In den Nachbarländern Italien und Österreich wurden seit 2006 gar keine neuen Anträge auf Freisetzungsversuche mehr eingereicht, in Deutschland seit 2013, in Frankreich seit 2014.

Zum Vergleich der Grössenordnungen: beim US Landwirtschaftsministerium wurden allein im Jahr 2018 etwa 440 Anträge für Freisetzungsversuche eingereicht, im laufenden Jahr 2019 sind es bereits über 150.

Quellen: [BAFU bewilligt Fortsetzung eines Freisetzungsversuchs mit GVO](#), BAFU Medienmitteilung, 14.03.2019; [B/CH/18/01 \(B18001\): Bewilligungs-Besuch und BAFU Verfügungen](#), BAFU Website; [www.protectedsite.ch](#), Agroscope-Standort für Feldversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen (Zürich-Reckenholz); [Freilandversuche: Deutschland keine, EU nur noch wenige](#), transgen.de, 20.03.2019; [USDA / APHIS Biotechnology Release Permits and Notifications](#), Freisetzungs-Datenbank des US Landwirtschaftsministeriums

Kontakt und Impressum



POINT erscheint monatlich in elektronischer Form ([Archiv](#) der vorherigen Ausgaben). Der Newsletter fasst aktuelle Meldungen aus Forschung und Anwendung rund um die grüne Biotechnologie zusammen. Für ein kostenloses Abonnement können Sie sich per e-mail [anmelden](#) und natürlich auch [abmelden](#). Wir freuen uns auf Ihre Fragen und Anregungen!

Text und Redaktion: [Jan Lucht](#)

scienceindustries, Postfach, CH-8021 Zürich
Telefon: 044 368 17 63

e-mail: jan.lucht@scienceindustries.ch

Eine Initiative von

scienceINDUSTRIES
S W I T Z E R L A N D