

InterNutrition POINT

Aktuelles zur grünen Biotechnologie

Nr. 149
Mai 2014

Inhalt

<i>RNAi: Pflanzen bremsen Schädlinge</i>	S. 1
<i>Gerichtete Mutagenese: Zwei Fliegen mit einer Klappe durch Einsatz neuartiger Methoden</i>	S. 2
<i>Freiland-Versuche: Empörung über Freispruch für französische Feld-Verwüster</i>	S. 3
<i>Protected Site: Öffentliche Führungen zu den Weizen-Freilandversuchen</i>	S. 4

RNAi



Grüne Pfirsichblattlaus
(*Myzus persicae*)

Photo: Scott Bauer / USDA-ARS

Pflanzen bremsen Schädlinge

Viele Lebewesen haben raffinierte Verteidigungs-Strategien entwickelt, um sich gegen bestimmte Viren zu schützen: sie erkennen die ungewöhnlichen Erbgut-Strukturen bei einer Infektion, zerschneiden die virale Erbsubstanz, und bremsen so die Infektion. Dieser Mechanismus, der als RNA-Interferenz (RNAi) bezeichnet wird, beruht auf der Erkennung und dem Abbau doppelsträngiger Strukturen aus RNA, der Botensubstanz, welche als Kopie der in den Genen gespeicherte Erbinformation als Vorlage für die Produktion der verschiedenartigen Proteine dient. Dieser Vorgang kann eingesetzt werden, um Pflanzengene gezielt zu inaktivieren: die Produktion kurzer RNA-Bruchstücke, welche an pflanzliche mRNA binden können, führt dazu dass diese mRNA und die von ihr übertragene Information zerstört wird.

Die hemmenden RNA-Fragmente müssen aber gar nicht in dem Zielorganismus selber produziert werden. Bei einfachen Organismen, wie Fadenwürmern und Insekten, kann auch von aussen mit der Nahrung aufgenommene RNA körpereigene Gene stilllegen. Diese Beobachtung lässt sich verwenden, um Pflanzen vor Schädlingen zu schützen. Ein chinesisches Forscherteam hat jetzt gezeigt, wie man Tabakpflanzen mit diesem Trick gegen Blattläuse resistenter machen kann.

Die Wissenschaftler setzten hierzu den Tabakpflanzen Genkonstrukte ein, die kurze, zu lebenswichtigen Blattlausgenen komplementäre RNA-Fragmente produzierten. Wenn Blattläuse an diesen Pflanzen saugten, nahmen sie die RNA-Fragmente zusammen mit dem Pflanzensaft auf. Durch RNA Interferenz bremsen diese Fragmente die Ablesung der wichtigen Blattlausgene, was den Insekten nicht gut bekam: die Anzahl ihrer Nachkommen ging deutlich zurück. Die Forscher konnten zeigen, welche Blattlausgene besonders gut als Ziel für diesen Ansatz geeignet waren, und verschiedene Parameter optimieren. Die beobachtete teilweise Blattlausresistenz müsste allerdings für eine praktische Anwendung wohl noch weiter verstärkt werden.

Der hier beschriebene Ansatz ist nur einer von vielen Anwendungen von RNAi für den Pflanzenschutz, der in der Grundlagenforschung und von Saatgutunternehmen verfolgt wird. Für den Pflanzenschutz ist es besonders attraktiv, über einen Wirkmechanismus zu verfügen der sich deutlich von den verbreitet angebauten Bt-Pflanzensorten unterscheidet. Diese produzie-

ren ein spezifisches insektizides Eiweiss. Der Einsatz von unterschiedlichen Mechanismen zur Kontrolle von Schadinsekten – abwechselnd oder auch gleichzeitig – verringert die Wahrscheinlichkeit, dass sich bei den Insekten Resistenzen bilden. Zudem ist der durch RNAi vermittelte Schutz sehr spezifisch. Durch geeignete Wahl der RNA-Sequenzen können gezielt einzelne Insektenarten gehemmt werden, ohne dass andere Insekten oder Tiere beeinträchtigt werden.

Mehrere Saatgutunternehmen arbeiten an Nutzpflanzen, die mittels RNAi gegen bestimmte Schädlinge resistent sind, die erste gegen den Wurzelbohrer resistente RNAi-Maissorte steht in der letzten Entwicklungsphase – eine willkommene Erweiterung der Optionen für den Pflanzenschutz.

Quellen: [Hongyan Guo et al. 2014, Plant-Generated Artificial Small RNAs Mediated Aphid Resistance](#), PLoS ONE 9(5): e97410. [doi:10.1371/journal.pone.0097410](#); Kai Kupferschmidt 2014, [A Lethal Dose of RNA](#), Science 341:732-733

Gerichtete Mutagenese

Zwei Fliegen mit einer Klappe durch Einsatz neuartiger Methoden

Sojaöl wird verbreitet für die Lebensmittelherstellung eingesetzt, hat aber eine für die Haltbarkeit ungünstige Fettsäure-Zusammensetzung. Mit verschiedenen biotechnologischen Ansätzen kann das Fettsäure-Profil deutlich verbessert werden, zum Beispiel durch die Erhöhung des Ölsäure-Gehalts. Hierfür müssen bestimmte Stoffwechsel-Enzyme der Pflanzen inaktiviert werden. Dafür wird die Alesung der dazu gehörenden Sojagene durch «Gene Silencing» abgeschaltet, indem mit gentechnischen Methoden ein entsprechendes Gen-Konstrukt in die Pflanzen eingebracht wird. In den USA sind die ersten so gewonnenen Biotech-Sojaölsorten bereits im Markt verfügbar.

Forscher des US-amerikanischen Pflanzen-Biotechunternehmens Collectis Plant Science haben nun ebenfalls Sojapflanzen mit einem stark gesteigerten Ölsäuregehalt entwickelt. Hierfür verwendeten sie ein neuartiges, wesentlich schnelleres und effizienteres Verfahren als den klassischen Einbau eines «Gene Silencing»-Konstrukts: Sie schalteten zwei Soja-Zielgene durch gerichtete Mutagenese aus.

Sie setzten dabei das erst seit wenigen Jahren verfügbare TALENs (Transcription activator-like effector nuclease)-System ein. Hierbei wird eine künstliche Proteindomäne konstruiert, die spezifisch an eine gewünschte DNA-Sequenz im Pflanzenerbgut binden kann. Diese Erkennungs-Domäne wird mit einer zweiten Proteindomäne fusioniert, welche DNA spalten kann. Wird dieses Hybrid-Eiweiss in einer Pflanzenzelle produziert, sucht es nach seiner Erkennungsstelle im Erbgut, bindet dort, und spaltet den DNA-Strang. Pflanzliche Reparaturmechanismen versuchen, diesen Strangbruch zu reparieren, indem die freien DNA-Enden wieder verknüpft werden. Dabei kommt es aber oft zu Verlusten von kurzen DNA-Abschnitten, welche das Zielgen permanent inaktivieren.

Die Forscher konstruierten eine TALENs, die spezifisch zwei sehr ähnliche Fettstoffwechsel-Gene von Soja (*FAD2-1A* und *FAD2-1B*) erkennen sollte, und führten diese als Transgen in die Sojapflanzen ein. 19 der resultierenden Sojapflanzen wurden untersucht, in vier davon fanden die Forscher inaktivierende Mutationen in beiden *FAD2*-Genen. Durch Analyse der Nachkommen nach Selbstbefruchtung fanden sie Pflanzen, bei denen das TALENs-Transgen wieder verloren gegangen war, die aber beide *FAD2*-Mutationen behielten. Diese Pflanzen weisen also keinerlei fremdes Erbma-

terial mehr auf, sondern nur kleine, präzise gesetzte Mutationen in den beiden Zielgenen («Genome Editing»), der ganze Vorgang hatte nur 15 Monate gedauert. Wie erhofft wiesen die Sojapflanzen einen stark erhöhten Gehalt an Ölsäure im Öl auf (80% statt 20% bei unveränderten Pflanzen).

Die Forscher betonen, dass ihr Ansatz der gerichteten Mutagenese schneller und verlässlicher sei als herkömmliche «Silencing»-Ansätze. Zudem könnte die Abwesenheit fremder DNA in den Pflanzen das Zulassungsverfahren beschleunigen, das für gentechnisch veränderte Pflanzen sehr aufwändig und teuer ist. Tatsächlich unterscheiden sich die von den Forschern induzierten gerichteten Mutationen nicht von solchen, die auch spontan entstehen können.

Die in den USA für Freisetzen zuständige Behörde USDA-APHIS hat kürzlich für einige, mit einem ähnlichen Verfahren veränderte Pflanzen beschlossen, dass diese nicht als GVO unter ihre Zuständigkeit fallen. Für mit TALEs gezielt veränderte Pflanzen steht die Beurteilung allerdings noch aus. Auch europäische Experten tendieren dazu, diese Pflanzen nicht als GVO zu betrachten und nicht dem strengen Zulassungsverfahren zu unterziehen, allerdings ist die politische Diskussion hierüber noch nicht abgeschlossen.

In den letzten Jahren ist eine ganze Reihe von neuen Verfahren zur genetischen Veränderung von Pflanzen entwickelt worden, welche die klassischen Definitionen für einen GVO sprengen und eine umfassende Neubewertung der Kriterien erfordern. Dabei stimmt die juristische Sichtweise nicht unbedingt mit der naturwissenschaftlichen überein. Dies musste kürzlich das staatliche Forschungsinstitut Scion in Neuseeland erfahren.

Ein Gericht dort hatte das TALEs-Verfahren und ein weiteres, ähnliches Verfahren zur gerichteten Mutagenese als gentechnischen Eingriff eingestuft, und so erzeugte Pflanzen in Neuseeland dem aufwändigen GVO-Zulassungsverfahren unterstellt. Der Richter betonte dabei selber die Unzulänglichkeit der vor 15 Jahren erstellten Definitionen, die längst von der technischen Entwicklung überholt worden sind.

Quellen: William Haun et al. 2014, [Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene family](#), Plant Biotechnol. J.(in press, online 23.05.2014), doi: 10.1111/pbi.12201; [Collectis plant sciences reports generation of High Oleic Soybean in Journal of Plant Biotechnology](#), Collectis media release, 23.05.2014; Frank Hartung & Joachim Schiemann 2014, [Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU](#), The Plant Journal 78:742–752; [High court decision on GMOs – experts respond](#), Science Media Center New Zealand, 23.05.2014

Freiland-Versuche

Empörung über Freispruch für französische Feld-Verwüster

An einem frühen August-Morgen im Jahr 2010 stürmten militante Gentech-Gegner, die aus ganz Frankreich angereist waren, ein Versuchsfeld der staatlichen Forschungsinstituts INRA bei Colmar. Sie rissen dort transgene Weinstöcke heraus, die dort seit 2005 im Freiland wuchsen. Die INRA-Forscher hatten den Pflanzen ein Virus-Resistenzgen eingebaut, und wollten dessen Wirksamkeit im Freiland prüfen. Bei den Pflanzen waren nur die Wurzelstöcke gentechnisch verändert. Auf diese Unterlage wurde eine konventionelle Rebsorte gepfropft, so dass Blüten und Reben der Pflanzen keine gentechnische Veränderung aufwiesen.

Nachdem die «freiwilligen Sensenmänner» («faucheurs volontaires») 2011 zunächst zu befristeten Freiheitsstrafen und empfindlichen Geldstrafen

verurteilt worden waren, hat das Berufungsgericht in Colmar am 14. Mai 2014 alle 54 Angeklagten freigesprochen. Nach Ansicht der Richter hatten sie keine Straftat begangen, da die Bewilligung der Feldversuche nicht vollständig und damit unwirksam war. Nach Ansicht der Richter hatten die Forscher bei der Antragstellung die Unschädlichkeit ihrer Versuche nicht hinreichend bewiesen.

Am 20. Mai 2014 veröffentlichten zwölf führende französische Forschungsinstitute und Hochschul-Organisationen eine Erklärung, in dem sie sich sehr beunruhigt über die Auswirkungen dieses Urteils äusserten und dem betroffenen Forschungsinstitut die volle Unterstützung zusagten. Der juristische Schutz der Grundlagenforschung im Dienste der Öffentlichkeit sei damit in Frage gestellt, eine Sicherheitsforschung zu möglichen Risiken von GVO nicht mehr möglich. Die Verfasser warnen eindrücklich davor, auf das Wissen als Grundlage für gesellschaftliche Entscheidungen zu verzichten, und fordern eine Klärung der rechtlichen Rahmenbedingungen für Forschung mit gentechnisch veränderten Organismen.

Das letzte Wort ist in der Angelegenheit noch nicht gesprochen. Der General-Staatsanwalt hat Einspruch gegen das Urteil des Berufungsgerichts eingelegt, die Angelegenheit geht damit in die nächste Instanz.

Quellen: [Uproar as anti-GM activists acquitted in France](#), Nature News blog, 21.05.2014; [Déclaration de responsables d'organismes publics de recherche et d'universités](#), CEA, 20.05.2014; [Relaxe des faucheurs de vignes OGM à Colmar : le parquet se pourvoit en cassation](#), France 3, 19.05.2014,

Protected Site

Öffentliche Führungen zu den Weizen-Freilandversuchen

Seit einigen Wochen spriessen in der Schweiz wieder gentechnisch veränderte Pflanzen im Freiland. Im März 2014 wurden auf einem Versuchsfeld der Forschungsanstalt Agroscope am Standort Reckenholz (ZH) Weizensorten mit verbesserter Mehlauresistenz ausgesät, um ihre Eigenschaften unter natürlichen Bedingungen zu erproben. Das Feld ist Teil der neu eingerichteten «Protected Site», die Forschern eine Infrastruktur für Freilandversuche zur Verfügung stellt.

Die Transparenz gegenüber der Öffentlichkeit ist den Forschern ein grosses Anliegen. Für Interessierte bietet Agroscope daher Führungen zur Protected Site an. Während den einstündigen Veranstaltungen werden die Versuchsanlage sowie der laufende Weizen-Versuch der Universität Zürich erklärt sowie Fragen beantwortet. Die Führungen finden am 12. Juni 2014 (Abend) sowie am 5. Juli 2014 (Morgen) statt.

Das Anmeldeformular und weitere Informationen stehen auf der Agroscope homepage zur Verfügung:

- [Führungen Protected Site am Donnerstag, 12. Juni 2014](#)
- [Führungen Protected Site am Samstag, 5. Juli 2014](#)

Es werden verschiedene Termine angeboten, die Führungen sind kostenlos.

Quellen: www.protectedsite.ch, Informationen zum Standort für Feldversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen in Zürich-Reckenholz; [Weizen mit verbesserter Mehlauresistenz \(Universität Zürich\)](#), Projektbeschreibung.

Kontakt und Impressum

POINT erscheint monatlich in elektronischer Form auf Deutsch und Französisch. Er fasst aktuelle Meldungen aus Forschung und Anwendung rund um die grüne Biotechnologie



zusammen. Für ein kostenloses Abonnement (e-mail) können Sie sich auf unserer Website www.internutrition.ch anmelden, dort steht auch ein [Archiv](#) der vorherigen Ausgaben zur Verfügung. Wir freuen uns auf Ihre Fragen und Anregungen!

Text und Redaktion: [Jan Lucht](#)

scienceindustries, Postfach, CH-8021 Zürich

Telefon: 044 368 17 63

Homepage: www.internutrition.ch, e-mail: info@internutrition.ch

Eine Initiative von **scienceINDUSTRIES**
S W I T Z E R L A N D