

InterNutrition POINT

Aktuelles zur grünen Biotechnologie

Nr. 165
Oktober 2015

Inhalt

<i>Forschung Schweiz: Freilandversuche mit feuerbrand-resistenten Äpfeln beantragt</i>	S. 1
<i>Genom-Chirurgie: Gezielte Veränderungen im Pflanzen-Erbgut ohne Fremd-DNA</i>	S. 3
<i>Bio-Fortifikation: Vitamin B6-angereicherter Maniok bewährt sich in Feldversuchen</i>	S. 5
<i>EU: Mehrheit der Mitgliedsstaaten verzichtet auf GVO-Anbauzulassungen, Vorschlag der EU Kommission für nationale GVO-Importverbote scheitert im Parlament</i>	S. 5

Forschung Schweiz

Gala



Gala + FB_MR5



An Feuerbrand erkrankte Gala-Apfelbäume (oben), resistente cisgene Pflanzen (unten)

Photo ©: Giovanni Brogini, Agroscope

Freilandversuche mit feuerbrand-resistenten Äpfeln beantragt

Bis zum Oktober wurde in der Schweiz im Jahr 2015 in 170 Gemeinden ein Befall mit der hochansteckenden Pflanzenkrankheit Feuerbrand gemeldet. Dies ist deutlich weniger als im verheerenden Jahr 2007, als die Seuche über 900 Gemeinden betraf. Damals mussten gegen 250'000 befallene Obstbäume vernichtet werden – ein enormer Schaden für die betroffenen Landwirte. Eine wirksame Behandlung gegen die von Bakterien hervorgerufene Krankheit existiert nicht, wenn sie einmal ausgebrochen ist bleibt nur die Rodung der befallenen Bäume, um eine weitere Ausbreitung zu verhindern. Einer Infektion kann wirksam durch eine Behandlung der Blüten mit dem Antibiotikum Streptomycin vorgebeugt werden, das in der Schweiz seit 2008 als Notfallmittel zugelassen ist. Allerdings ist ein grossflächiger Antibiotika-Einsatz in der freien Natur problematisch, da er zu der Entwicklung von Resistenzen bei Bakterien beitragen kann. Ausserdem können Streptomycin-Spuren in Honig gelangen; in den letzten Jahren mussten in der Schweiz regelmässig mehrere Tonnen Honig wegen Streptomycin-Rückständen vernichtet werden. Alternative Vorbeugungs-Massnahmen gegen eine Bakterien-Infektion, wie eine Behandlung der Bäume mit Mineralstoffen oder Kaliumalaunsulfat (MLA), wirken bisher weniger zuverlässig.

Zwar existieren Apfelsorten mit höherer Resistenz gegen Feuerbrand, diese konnten sich aufgrund ihrer Anbau- und Qualitätseigenschaften aber bisher nicht am Markt etablieren. Die Züchtung von neuen Apfelsorten, welche Feuerbrand-Resistenz und von Verarbeitern und Konsumenten gewünschte Eigenschaften vereinen, wird intensiv vorangetrieben, kann aber Jahrzehnte dauern. Mit klassischer Züchtung ist es jedoch nicht möglich, etablierte und beliebte Apfelsorten zusätzlich mit einer Resistenz gegen Feuerbrand auszustatten, da bei jeder Kreuzung verschiedener Sorten die Eigenschaften der Elternsorten vermischt werden und so deren Merkmalskombinationen verloren gehen.

Im Jahr 2014 hatte ein Forscherteam um Cesare Gessler von der ETH Zürich einen vielversprechenden Ansatz vorgestellt, mit dem beliebte Apfelsorten ohne Änderung ihrer sonstigen Eigenschaften zusätzlich mit einer Resistenz gegen Feuerbrand ausgestattet werden können: die direkte Übertra-

gung eines isolierten Resistenzgens aus Wildäpfeln mit Hilfe molekularbiologischer Methoden. Damit gelang es den Wissenschaftlern, die Feuerbrand-Resistenz der beliebte Apfelsorte «Gala» in nur einem Schritt in kurzer Zeit zu verbessern (siehe auch [POINT 147, März 2014](#)). Durch eine nachträgliche Entfernung des für die Resistenz nicht erforderlichen Markergens konnten sogenannte «cisgene» Pflanzen gewonnen werden, die das Wildapfel-Resistenzgen tragen, nicht aber (wie «transgene» Pflanzen) artfremde Gene.

Nach der Pensionierung von Projektleiter Cesare Gessler von der ETH Zürich im Jahr werden die Forschungsarbeiten an den cisgenen feuerbrandresistenten Äpfeln von der staatlichen Forschungsanstalt Agroscope fortgeführt, wo die Apfelbäume bisher im Glashaus weiter untersucht wurden. Dort lassen sich aber nie alle Umwelteinflüsse simulieren, die in freier Natur auf Pflanzen einwirken können.

Im Oktober 2015 hat Agroscope daher beim Bundesamt für Umwelt BAFU den Antrag gestellt, ab 2016 die cisgenen Gala-Apfelbäume im Freiland zu testen. Vorgesehen ist eine Anpflanzung im Agroscope Versuchsfeld «Protected Site» in Reckenholz bei Zürich über einen Zeitraum von bis zu fünf Jahren. Dabei sollen vor allen die agronomischen Eigenschaften der cisgenen Apfelbäume mit denjenigen konventioneller Sorten unter Praxis-Bedingungen verglichen werden, auch um herauszufinden ob der Einbau des Resistenzgens zusätzliche unerwartete Auswirkungen auf die Pflanzen hat. Auch Aspekte der Biosicherheit sollen untersucht werden, z. B. die Auswirkung von Blattmaterial der Pflanzen auf Bodenlebewesen. Um eine Übertragung von Pollen der cisgenen Pflanzen auf andere Apfelbäume zu verhindern, sollen die Bäume mit insektendichten Netzen umgeben werden.

Die Forscher erhoffen von den Freiland-Versuchen langfristig einen Nutzen für die landwirtschaftliche Praxis, indem das Potential cisgener Ansätze zur raschen Verbesserung von Pflanzeigenschaften mit arteigenen Genen ausgeleuchtet wird. Eine spätere Verwendung der jetzt untersuchten Pflanzen für den Schweizer Obstbau wird ausdrücklich nicht angestrebt, da bei den Pflanzen noch weitere Optimierungsmassnahmen (z. b. Einbau zusätzlicher Resistenzgene) vorgesehen sind. Für die Umwelt wollen die Wissenschaftler einen positiven Beitrag leisten, indem sie die Entwicklung von Alternativen zum bisherigen Antibiotika-Einsatz gegen den Feuerbrand unterstützen. Die vorgesehenen Versuche sollen auch das Grundlagenwissen zu cisgenen Pflanzen vertiefen, um zukünftige Entwicklungen besser steuern zu können und um eine vertiefte Beurteilung zu ermöglichen.

Nicht zuletzt wollen die Wissenschaftler mit dem Freiland-Versuch auch einen Beitrag zur öffentlichen Diskussion um moderne Züchtungsverfahren leisten, damit diese anhand konkreter Beispiele und in der Schweiz gewonnener Erfahrungen geführt werden kann. Wird die Versuchsbewilligung wie erhofft ab 2016 nach umfassender Prüfung des Antrags durch das BAFU erteilt, würden am «Protected Site»-Versuchsfeld bei Zürich neben den neu dazukommenden feuerbrand-resistenten Äpfeln auch die bereits laufenden Versuche mit cisgenen, gegen Kraut- und Knollenfäule resistente Kartoffeln sowie mehltresistente, gentechnisch veränderten Weizenlinien im Freiland fortgeführt. Damit entsteht ein in Europa einzigartiges Kompetenzzentrum zur Beurteilung von mit gentechnischen Methoden verbesserten Pflanzen unter Praxis-Bedingungen auf dem Feld.

Quellen: [Feldversuch geplant mit cisgenen Apfelbäumen, die gegen Feuerbrand resistent](#)

[sind](#), Medienmitteilung Agroscope, 27.10.2015; [Feldversuch mit cisgenen Apfelbäumen auf der Protected Site in Zürich-Reckenholz](#), Fact Sheet Agroscope, Oktober 2015; Giovanni A. L. Broggin et al. 2014, [Engineering fire blight resistance into the apple cultivar 'Gala' using the FB_MR5_CC-NBS-LRR resistance gene of Malus × robusta 5](#), Plant Biotech. J. 12:728–733; Thomas D. Kost et al. 2015, [Generation of the First Cisgenic Fire Blight Resistant Apple Line of the Cultivar 'Gala'](#), Plant and Animal Genome Conference San Diego (Abstract P1104); [Agroscope: Feuerbrand](#) (Info-Website), www.protectedsite.ch, Standort für Feldversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen (Agroscope Info-Website).

Genom- Chirurgie

Gezielte Veränderungen im Pflanzen-Erbgut ohne Fremd-DNA

Gezielte Veränderungen am Erbgut von Lebewesen, z. B. um bestimmte unerwünschte Eigenschaften auszuschalten, waren lange Zeit nur mit erheblichem Aufwand möglich. In den letzten zehn Jahren wurden programmierbare Nukleasen (z. B. Zinkfinger-Nukleasen, TALENS) entwickelt, Eiweisse mit deren Hilfe an gewünschten Stellen im Genom gezielt Schnitte eingefügt werden können. Bei der Reparatur dieser Schnitte entstehen kleine Veränderungen durch Verlust (Deletion) oder Einfügungen (Insertion), welche die Funktion eines Gens beeinflussen können.

Zwei benachbarte Schnitte erlauben das Entfernen des Erbgut-Abschnittes zwischen ihnen. Diese präzisen Eingriffe in das Erbgut werden auch als Genom-Chirurgie (genome editing) bezeichnet, und erweiterten die Möglichkeiten zur gezielten Anpassung der Eigenschaften von Organismen erheblich. Allerdings war die Herstellung einer auf eine bestimmte Schnittstelle programmierten Nuklease immer noch ein schwieriges Unterfangen, und nicht immer von Erfolg gekrönt. Es mussten komplexe, grosse Eiweissmoleküle ganz neu entwickelt und produziert werden, die nicht immer die gewünschte Aktivität entfalteten.

Ein grosser Technologie-Sprung ermöglicht es Forschern seit etwa drei Jahren, mit einer neuen, relativ einfachen Methode und geringem Aufwand gezielt und schnell Veränderungen am Erbgut von Tieren und Pflanzen vorzunehmen. Das CRISPR/Cas9-System besteht aus einem Nuklease-Eiweiss (Cas9), welches DNA an beliebigen Stellen zu schneiden vermag, sowie einer kurzen Leit-RNA, einer Nukleotidkette welche die Nuklease spezifisch an die gewünschte Schnittstelle binden lässt und so die Schnittposition bestimmt. Während mit den Vorgänger-Methoden für jede neue Schnittstelle ein ganz neues, komplettes Nuklease-Molekül selbst entwickelt oder für mehrere tausend Franken bestellt werden musste, genügt heute die automatische Synthese der Leit-RNA-Sequenz für wenige Franken und deren Kombination mit der Standard-Cas9-Protease. Die Verfügbarkeit des CRISPR/Cas9-Systems hat das Feld der Genom-Chirurgie revolutioniert und wird als einer der wichtigsten technologischen Entwicklungen der Gentechnologie in den letzten Jahrzehnten betrachtet. Zahlreiche Labors auf der ganzen Welt setzen das Verfahren ein, und hunderte von Veröffentlichungen beschreiben gezielte Genveränderungen bei Mikroorganismen, Tieren und Pflanzen.

Auch die Eigenschaften von Nutzpflanzen können mit dem CRISPR/Cas9-Systems verändert werden; Anwendungen wurden z. B. für Reis, Weizen, Süssorangen und Sorghum beschrieben. Die dabei im Pflanzen-Genom bewirkten Veränderungen unterscheiden sich nicht von natürlich vorkommenden Mutationen, da Brüche im Erbgut auch spontan entstehen können. Es ist daher nicht möglich, nachträglich nachzuweisen, ob eine bestimmte Erbgut-Veränderung natürlich entstanden oder das Resultat von Genom-

Chirurgie ist.

Noch ist es juristisch umstritten, ob Nutzpflanzen mit gezielten Erbgut-Veränderungen durch das CRISPR/Cas9-System als gentechnisch veränderte Organismen (GVO) einzustufen sind. Dies würde vor allem in Europa eine sehr hohe Hürde für die Anbaubewilligung bedeuten. Bei den bisher beschriebenen Anwendungen wurde jeweils ein künstliches Gen, welches die Produktion der Cas9-Nuklease und der Leit-RNA ermöglicht, in die Zielpflanze eingebracht. Dort wurde das Gen abgelesen, und das CRISPR/Cas9-System erzeugte den gewünschten Schnitt im Erbgut. Danach wird das eingefügte künstliche Gen nicht mehr benötigt und kann wieder entfernt werden – zurück bleibt eine Pflanze mit einer punktförmigen Erbgut-Veränderung, ohne Fremd-DNA. Da durch dieses Verfahren die Pflanze aber vorübergehend Fremd-DNA aufnimmt und dadurch genetisch umprogrammiert wird, könnten auch die Nachkommen, die keine extern zugefügte Erbinformation mehr tragen, immer noch als GMO betrachtet werden.

Ein Forscherteam aus Südkorea hat jetzt das CRISPR/Cas9-System so angepasst, dass kein Fremd-Gen mehr in die Pflanzenzellen eingeführt werden muss. Sie kombinierten gereinigtes Cas9-Eiweiss, das bei spezialisierten Anbietern gekauft werden kann, im Reagenzglas mit der erforderlichen kurzen Leit-RNA, machten die Hüllen von Pflanzenzellen (Reis, Salat und Tabak) mit Chemikalien durchlässig, und gaben dann den Cas9-Leit-RNA-Komplex zu den Zellen. Nach dessen Aufnahme in die Pflanzenzellen wurden dann an den vorbestimmten Stellen im Pflanzenerbgut wie erhofft Schnitte eingefügt. Bis zu 46% der Pflanzenzellen wiesen an den gewünschten Stellen Veränderungen (kleine Insertionen / Deletionen) auf, die nicht von natürlichen Mutationen zu unterscheiden waren. Mutationen an anderen als den gewünschten Stellen wurden nicht beobachtet. Da sich der den Zellen zugeführte Cas9-Leit-RNA-Komplex nicht vermehren kann, wird er nach Erledigung seiner Aufgabe abgebaut und geht verloren. Da bei diesem Ansatz keine rekombinante DNA in die Zellen eingeführt wird, gehen die Autoren davon aus dass die dabei entstehenden Pflanzen nicht als GMO angesehen werden sollten. Sie hoffen, damit eine breite Anwendung der CRISPR/Cas9 Technologie zur Verbesserung von Nutzpflanzen zu ermöglichen.

Die neuen Techniken zur Genom-Chirurgie eröffnen neue Dimensionen sowohl für die Grundlagenforschung als auch in der Anwendung, vor allem in der Pflanzenzüchtung, der industriellen Biotechnologie und der Biomedizin. Die neuen Möglichkeiten werfen aber auch ethische und rechtliche Fragen auf. Die wissenschaftlichen Akademien und die Forschungsförderungs-Institution DFG in Deutschland haben im Herbst 2015 ihre Stellungnahme «Chancen und Grenzen des *genome editing*» vorgelegt, in der sie auf das hohe wissenschaftliche Potential der Methode hinweisen und darauf, dass ihr Einsatz in vielen Bereichen ethisch und rechtlich unbedenklich sei. Bei therapeutischen Ansätzen beim Menschen und bei gezielten Eingriffen in Ökosysteme mit potentiell weitreichenden Folgen sollte jedoch eine vertiefte Debatte sowohl innerhalb der Wissenschaft als auch in der Gesellschaft über die künftigen Entwicklungen geführt werden. Für vererbare Eingriffe in die menschliche Keimbahn unterstützen die Herausgeber ausdrücklich ein freiwilliges internationales Moratorium, um offene Fragen zu diskutieren, Nutzen und Risiken der Methoden zu beurteilen und um Empfehlungen für zukünftige Regelungen zu erarbeiten.

Quellen: Je Wook Woo et al. 2015, [DNA-free genome editing in plants with preassembled](#)

[CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins](#), Nature Biotechnology (advance online publication 19.10.2015, [doi:10.1038/nbt.3389](#)); [CRISPR tweak may help gene-edited crops bypass biosafety regulation](#); Nature News, 19.10.2015; Heidi Ledford 2015, [CRISPR, the disruptor](#), Nature 522:20–24; Khaoula Belhaj 2015, [Editing plant genomes with CRISPR/Cas9](#), Current Opinion in Biotechnology 32:76–84; [Chancen und Grenzen des genome editing](#), Stellungnahme der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina, der Deutschen Forschungsgemeinschaft, acatech, Deutsche Akademie der Technikwissenschaften sowie der Union der deutschen Akademien der Wissenschaften, September 2015

Bio- Fortifikation

Vitamin B6-angereicherter Maniok bewährt sich in Feldversuchen

Ein Mangel an Vitamin B6 verursacht eine Reihe ernster Erkrankungen und Entwicklungsstörungen, speziell bei Kindern. Er wird zu durch einseitige Ernährung ausgelöst, z. B. in Afrika mit Maniok. Die stärkehaltigen Wurzeln sättigen zwar und sind gute Energiespender, aber enthalten zu wenig Vitamine. Im Rahmen einer internationalen Zusammenarbeit, an der auch die ETH Zürich und die Universität Genf beteiligt waren, konnten an der Vitamin B6-Biosynthese beteiligte Pflanzengene identifiziert und aus der Modellpflanze Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) in Maniok transferiert werden. Die transgenen Pflanzen produzierten in Wurzeln und in den als Gemüse verwendbaren Blättern deutlich mehr Vitamin B6 als unveränderte Maniok-Pflanzen.

Nach anfänglicher Aufzucht und Charakterisierung der Pflanzen im Labor wurden Feldversuche über mehrere Stecklings-Vermehrungszyklen in Shanghai durchgeführt. Die Pflanzen zeigten wie bereits zuvor im Glashaus einen stabil, in Wurzeln bis zu 5.8-fach und in Blättern bis zu fast 50-fach erhöhten Vitamingehalt. Auch nach dem Kochen, das beim Verzehr von Maniok zwingend erforderlich ist um den schädlichen Gehalt an Blausäureverbindungen in den Pflanzen zu reduzieren, wiesen Wurzeln und Blätter einen hohen Vitamingehalt auf. Die Forscher konnten aufgrund von Messungen der Bioverfügbarkeit berechnen, dass etwa 50 g der transgenen Maniokblätter oder 500 g der Wurzeln den vollen Tagesbedarf eines Erwachsenen decken würden. Die Vitamin-angereicherten Maniokpflanzen könnten so Teil einer vielseitigeren, gesünderen Ernährung sein und einen Beitrag zur Bekämpfung des Vitamin B6-Mangels leisten.

Die hier vorgestellte Technologie ist ohne Patente frei verfügbar, und könnte auch von Forschern in Afrika für die lokal bevorzugten Manioksorten eingesetzt werden. Hervé Vanderschuren, Leiter des Maniok-Projektes an der ETH Zürich, unterstützt afrikanische Labors durch Ausbildung und Wissens-Transfer dabei, auch molekularbiologische Methoden bei der Pflanzenzüchtung einzusetzen. Dies soll dabei helfen, die Technologie unter Bauern und Konsumenten zu verbreiten. Die noch wenig ausgebaute Gesetzgebung im Bereich transgene Nutzpflanzen in Afrika stellt in vielen Ländern noch ein Hindernis bei der Anwendung in der Praxis dar.

Quellen: Kuan-Te Li et al. 2015, [Increased bioavailable vitamin B6 in field-grown transgenic cassava for dietary sufficiency](#), Nature Biotechnology 33:1029–1032; [Gentransfer erhöht Vitamin-B6-Gehalt in Maniok](#), ETH Zürich News, 09.10.2015; Hervé Vanderschuren 2012, [Strengthening African R&D through effective transfer of tropical crop biotech to African institutions](#), Nature Biotechnology 30:1170-1172.

EU

Mehrheit der Mitgliedsstaaten verzichtet auf GVO-Anbauzulassungen, Vorschlag der EU Kommission für nationale GVO-Importverbote scheitert im Parlament

Im Frühjahr 2015 waren in der EU neue Regelungen in Kraft getreten,

welche es einzelnen Mitgliedsstaaten ermöglichen den Anbau EU-weit als sicher eingestuft und zugelassener gentechnisch veränderter Nutzpflanzen einzuschränken oder zu untersagen. In einer ersten Phase bis zum 3. Oktober 2015 hatten die Staaten die Möglichkeit, ohne Angabe von Gründen von den Saatgut-Unternehmen zu verlangen, ihr Hoheitsgebiet vom Geltungsbereich laufender Anbau-Zulassungsgesuche auszunehmen. Von dieser Möglichkeit machten 17 der 28 EU Staaten vollständig Gebrauch, darunter Frankreich, Deutschland, Österreich und Italien. Zusätzlich schränkten die belgische Region Wallonien sowie die Unionsmitglieder Wales, Schottland und Nordirland des Vereinigten Königreiches den GVO-Anbau ein.

Von den Möglichkeiten für nationale Anbauverbote hatte sich die Europäische Kommission ein Ende der jahrelangen Blockade des EU-Zulassungsverfahrens versprochen, bei der eine unauflösbare Patt-Situation zwischen den Mitgliedsstaaten jegliche Entscheidung für oder gegen eine EU-weite Anbauzulassung verhinderte. Es muss sich jedoch bei der nächsten Beratung über die sieben im Moment noch hängigen Anbau-Gesuche erst noch zeigen, ob Länder die für sich selber einen GVO-Anbau ausgeschlossen haben und von der Entscheidung nicht betroffen sind den anderen Ländern einen GVO-Anbau aufgrund der positiven Sicherheitsbeurteilung der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit EFSA zugestehen, oder weiterhin die Entwicklung auf diesem Gebiet blockieren wollen.

Massiven Schiffbruch erlitt ein noch weitergehender Vorschlag der EU Kommission, auch den Import von GVO-Pflanzen national zu regeln. Bei der Abstimmung im Europäischen Parlament am 28. Oktober 2015 gab es 619 Stimmen für eine Zurückweisung des Vorschlags, 58 Gegenstimmen, und 13 Enthaltungen. Die Parlamentarier fürchteten ein Chaos bei der Umsetzung der Bestimmungen und eine Gefährdung des gemeinsamen Marktes.

Bei der augenfälligen Diskrepanz zwischen der verbreiteten Zustimmung zu nationalen Anbauverböten, aber Ablehnung nationaler Regelungen bei GVO-Importen zeigt sich auch politischer Pragmatismus: ein Grossteil der in die EU importierten Futter-Soja ist gentechnisch verändert, hier hätten Handelsbeschränkungen weitreichende wirtschaftliche Auswirkungen.

Quellen: [Restrictions of geographical scope of GMO applications/authorisations: Member States demands and outcomes](#), European Commission GMO Authorisation Website; [GVO: Parlament lehnt Entscheidungsfreiheit bei nationalen Importverboten ab](#); Medienmitteilung Europäisches Parlament, 28.10.2015; [Abstimmung PV 28/10/2015 - 7.5 \(Verwendung gentechnisch veränderter Lebens- und Futtermittel\)](#), Europäisches Parlament, 28.10.2015

Kontakt und Impressum



POINT erscheint monatlich in elektronischer Form auf Deutsch und Französisch ([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](#) an – und 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