

MAUSBLICK

Gentechnik in neuer Dimension

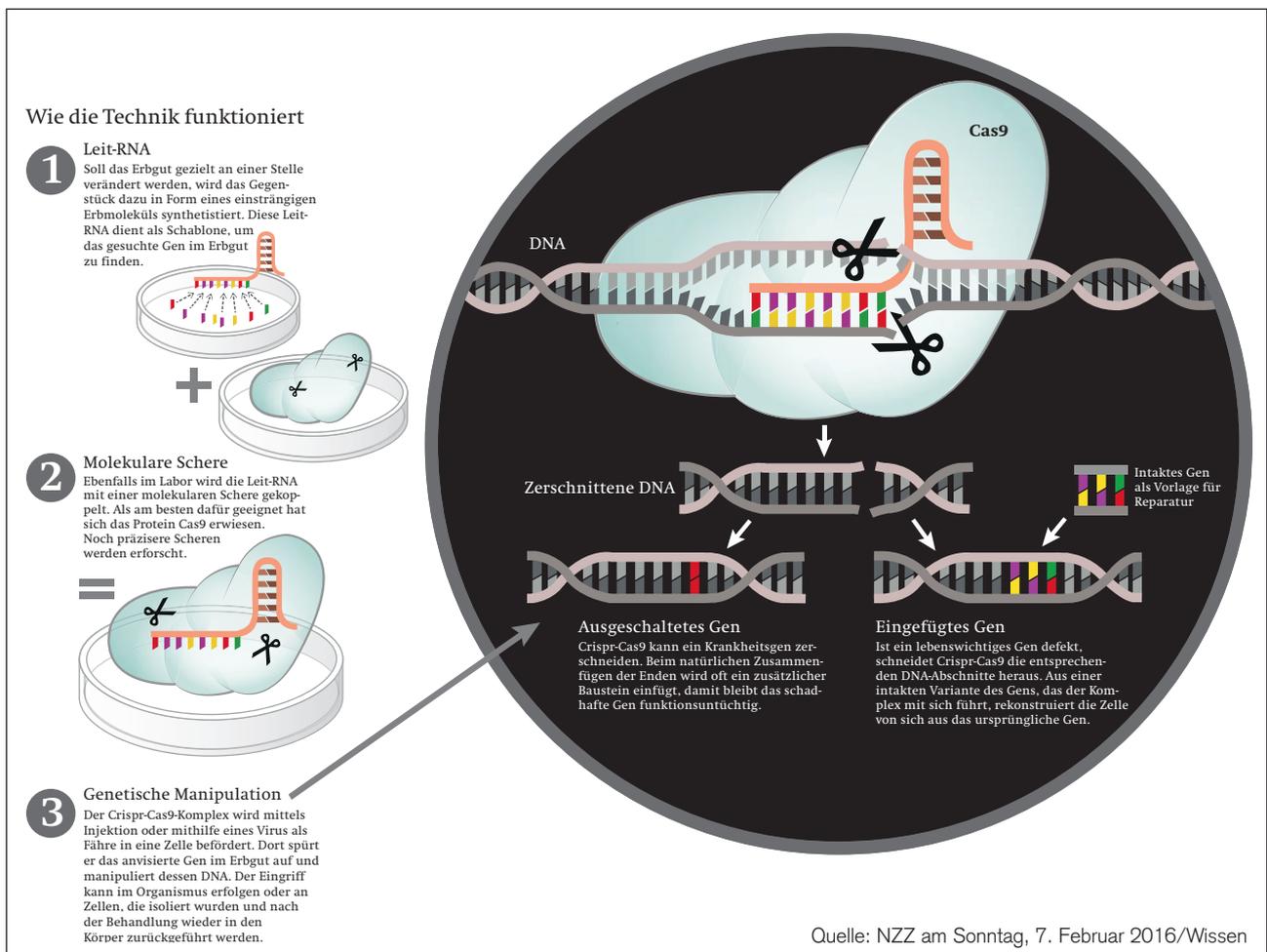
Mit CRISPR/Cas kann jedes Gen in jedem Lebewesen ausgeschaltet oder ersetzt werden

Eine neue Methode erobert die Labore der Welt. Mit der «CRISPR/Cas-Technik» lässt sich das Genom jedes Lebewesens verändern, und zwar schneller, günstiger und präziser als mit allen anderen Methoden zuvor. Forscher und Journalisten überschlagen sich vor Begeisterung. Von einem «Quantensprung», von «der grössten Biotech-Entdeckung des Jahrhunderts» ist die Rede, und die Entwickler der Methode Jennifer Doudna, Emmanuelle Charpentier und Feng Zhang werden bereits als Nobelpreiskandidaten gehandelt.

Die Bestandteile des neuen molekularen Werkzeugkastens kommen in der Natur vor. CRISPR/Cas wur-

de im Erbgut von Bakterien schon vor fast 30 Jahren entdeckt. Aber erst seit kurzem weiss man, dass Bakterien sich damit vor eindringenden Viren schützen. Diese Immunabwehr der Bakterien besteht aus zwei Komponenten: einem zellulären Skalpell, das DNA schneiden kann (Cas) und einem kurzen RNA-Abschnitt, der das Skalpell an die Stelle leitet, die geschnitten werden soll.

Doch nicht nur in Bakterien funktionieren diese Werkzeuge. Im Labor schneidet das Skalpell auch isolierte DNA und die Erbinformation in Zellen von Pflanze, Tier und Mensch. Je nach Programmierung kann mit CRISPR/Cas dann entweder ein Gen nur



herausgeschnitten oder zerstört oder aber etwa bei einer fehlerhaften Mutation durch eine zugefügte intakte Basenfolge ersetzt werden. Die Methode funktioniert im Prinzip wie die «Suche-Ersetze»-Funktion am Computer. Was gesucht und was ersetzt werden soll, entscheidet der Forscher durch die zugegebene Leit-RNA, die im Labor passend für jede Stelle im Genom hergestellt werden kann.

Die Technik ist noch jung, aber sie wird Mensch und Umwelt verändern. Vor zwei Jahren entfernten chinesische Wissenschaftler alle drei Kopien eines Weizengens und erschufen damit eine Sorte, die resistent ist gegenüber dem Befall mit Mehltau. Japanische Forscher nutzten die Technik bereits erfolgreich, um die Lebensdauer von Tomaten zu verlängern.

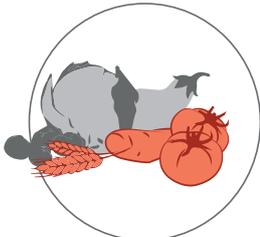
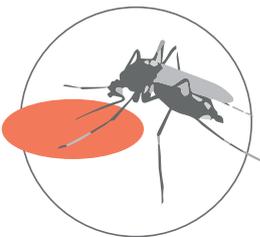
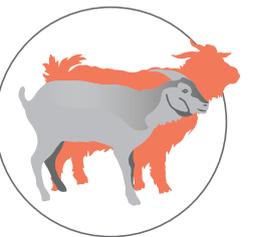
Auch Dirk Becker vom Biozentrum Klein Flottbek in Hamburg setzt auf CRISPR/Cas: «Das grosse Potenzial dieser Methode liegt darin, ein Gen zu 100% auszuschalten. Mit anderen Verfahren gelang das in der Vergangenheit nicht so vollständig.» Ein Anwendungsbeispiel sind etwa Kartoffelpflanzen, die eine besondere Art Stärke enthalten. «Hierzu schaltet man mit CRISPR/Cas ein Gen im Syntheseweg der Stärke aus», erklärt Becker. Die Stärke in diesen Kartoffeln besteht daher nicht wie üblich aus Amylose und Amylopektin sondern nur aus Amylopektin. Die Hersteller von Papier und Klebstoff sind daran interessiert, weil sie für ihre Produktionsprozesse Stärke ohne Amylose benötigen.

In Europa wird gerade heftig diskutiert, ob die mit CRISPR/Cas veränderten Pflanzen als Gentech-Pflanzen deklariert werden müssen. In den USA hat man

sich dagegen entschieden. Wenn mit der Methode nur die Funktion eines Gens ausgeschaltet würde, sei CRISPR/Cas lediglich eine weitere Methode innerhalb der klassischen Pflanzenzüchtung. Dieser Ansicht ist auch Dirk Becker: «Nur wenn zusätzlich noch ein Transgen eingebracht wird, sollte die Pflanze unter das Gentechnik-Recht fallen.»

Die biomedizinische Grundlagenforschung an Zellkulturen oder Tiermodellen ist schon jetzt ohne CRISPR/Cas kaum noch vorstellbar. «Was ich am meisten an CRISPR mag, ist, dass man in jeder Krebszell-Linie jedes beliebige Gen ausschalten und schauen kann, wo die Achilles-Ferse diese Tumors liegt», sagt Eric Lander, Direktor des Broad-Institutes im US-amerikanischen Cambridge und einer der führenden Köpfe des «Human Genome Projects». Es können sogar mehrere Gene gleichzeitig ausgeschaltet und daher auch Krankheiten mit komplexem genetischen Hintergrund wie Diabetes, Alzheimer, Autismus oder Krebs besser verstanden werden.

CRISPR/Cas eignet sich nicht nur zur Erforschung sondern auch zur Behandlung von Krankheiten. Ideen für die Anwendung einer solchen «Genchirurgie» gibt es in Hülle und Fülle. Zum Beispiel könnten gewisse Virusinfektionen behandelt werden. Einige Viren, etwa das Hepatitis-B-Virus oder HIV, bauen ihre Erbinformation in das Genom der infizierten Wirtszellen ein. So können sie trotz Medikamentengabe ein Leben lang im Körper ausharren und die Gefahr bleibt bestehen, dass die Viren wieder «zum Leben» erwachen und sich aktiv vermehren. Forscher vom University College of Medicine in Taipei (Taiwan) versuchten mit CRISPR/Cas bei

				
<p>Anwendungen in Tier- und Pflanzenwelt</p>	<p>Optimierte Nutzpflanzen Weizen, der resistent ist gegen Echte Mehltaupilze; Tomaten, die langsamer reifen und länger haltbar sind, oder Sojabohnen, die nahrhafter sind; Crispr-Cas9 hat bereits optimierte Nutzpflanzen hervorgebracht.</p>	<p>Gene Drive bei Mücken Mücken, die Malaria übertragen, lassen sich genetisch so verändern, dass sie weniger Nachkommen haben und mit der Zeit aussterben. Mit Gene Drive, einer speziellen Anwendung von Crispr-Cas9, wird diese Eigenschaft in einer Population schneller verbreitet.</p>	<p>Massgeschneiderte Hunde Beagles sind als Modellorganismen in der Forschung beliebt. Chinesische Wissenschaftler haben mit Crispr-Cas9 zwei muskulösere Exemplare produziert. Denkbar wären auch andere Eigenschaften, die sich Hundehalter wünschen.</p>	<p>Ertragreichere Ziegen Chinesische Forscher haben das Erbgut von Kaschmir-Ziegen so verändert, dass diese längere Haare haben und mehr Muskeln ansetzen – also einen höheren Ertrag liefern. Andere Wissenschaftler arbeiten an Kühen ohne Hörner.</p>

Mäusen eine Infektion mit Hepatitis-B-Viren zu heilen. Die Genschere entfernte zwar einiges an Viren-DNA, jedoch (noch) nicht ausreichend, um die Infektion gänzlich zu beenden.

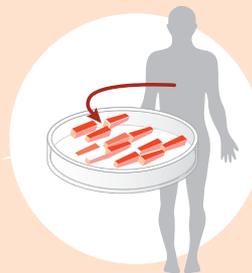
Bevor CRISPR/Cas therapeutisch angewendet werden kann, müssen neben der Effektivität noch einige andere Hürden beseitigt werden. Wie bekommt man die Genschere zum Beispiel dorthin, wo sie im Körper wirken soll? Und: ist die Technik wirklich so präzise? Wird das Genom tatsächlich nur an der anvisierten Stelle geschnitten oder möglicherweise auch an einer zufälligen, unbekanntenen – mit nicht einkalkulierbaren Folgen? Laut Studien zur Zielsicherheit von CRISPR/Cas schwankt die Methode zwischen keinem und 150 falsch angesteuerten Zielen im Genom. Wird jedoch geschnitten, wo nicht geschnitten werden soll, etwa an einem Genort, der die Zellteilung reguliert, könnte das eine ungehemmte Zellvermehrung, also Krebs, auslösen.

Viel sicherer ist die Genchirurgie, wenn sie ausserhalb des Körpers angewendet wird. «Behandelt man Zellen im Labor, kann man nur diejenigen in den Körper zurückgeben, bei denen die Reparatur oder das Ausschalten eines Gens tatsächlich geklappt hat», sagt Gerald Schwank vom Institut für Molekulare Gesundheitswissenschaften an der ETH Zürich. Schwanks Team hat aus Darmgewebe von Patienten mit der Erbkrankheit Cystische Fibrose Stammzellen isoliert. «Mit Hilfe von CRISPR/Cas konnten wir das defekte Gen in diesen Zellen reparieren, der zuvor fehlerhafte Kanal für den Ausstrom von Chlorid-Ionen funktionierte wieder», erklärt Schwank.

Damit die Aktion für den Patienten von Nutzen ist, müssten die reparierten Zellen in den Körper des Patienten zurückgegeben werden und sich im Darm niederlassen. Doch auch hier weiss man noch nicht, wie das gelingen kann. Im Experiment an Mäusen siedelte sich nur ein geringer Teil der veränderten Zellen im Darm an. Aufgeschlossener für die Integration von reparierten Zellen, die von aussen zugegeben werden, ist offenbar die Leber. «Der Harnstoffzyklusdefekt, eine Stoffwechselerkrankung der Leber, könnte die erste Krankheit sein, die mit Hilfe von CRISPR/Cas so geheilt wird», sagt Gerald Schwank. Die Technik sei hier enorm vielversprechend, um die Gentherapie bald in den klinischen Alltag zu bringen.

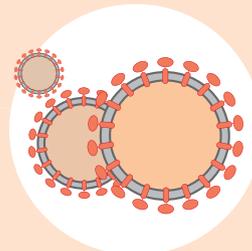
Grosse Wellen schlagen die Versuche, mit CRISPR/Cas genetische Fehler auch in Keimzellen oder Embryonen zu korrigieren. Bei Mäusen gelang dies bereits mit Genen, deren Mutation den «Grauen Star» bzw. degenerative Muskelerkrankungen auslösen. Im April des letzten Jahres sorgten chinesische Forscher für Aufsehen. Sie versuchten an 86 befruchteten, menschlichen Eizellen das für die Bluterkrankung Thalassämie verantwortliche Gen zu reparieren. Die Forscher nutzten solche (triploiden) Eizellen, die bei der in-vitro-Fertilisation anfallen und nicht überlebensfähig sind.

Die Zukunft beim Menschen



Erforschung von Krebs

Krebs ist eine der grössten Geisseln der Menschheit. Crispr-Cas9 könnte helfen, die Entstehung verschiedener Krebsarten besser zu verstehen. Dazu schalten Forscher in Krebszellen bestimmte Gene aus und untersuchen, welchen Einfluss das auf ihre weitere Entwicklung hat.



Gentherapie gegen HIV

Manche Menschen haben eine genetische Mutation, die dafür sorgt, dass das HIV-Virus an ihren Zellen nicht andocken kann. Liesse sich diese Eigenschaft mit Crispr-Cas9 auf Blut-Stammzellen von HIV-positiven Menschen übertragen, könnten diese vielleicht geheilt werden.



Keimbahn-Therapie

Erbkrankheiten wie Chorea Huntington, die man nicht heilen kann, sollen gar nicht erst entstehen. Dazu müsste man das der Krankheit zugrunde liegende defekte Gen bereits in der Keimbahn reparieren, die zur Bildung von Eizellen und Spermien führt. Der Ansatz ist höchst umstritten.



Designer-Baby

Wenn sich schädliche Merkmale aus dem Erbgut eliminieren lassen, könnte man theoretisch auch erwünschte Eigenschaften einfügen. Doch die Idee ist in der Wissenschaft verpönt: Kein seriöser Forscher will Designer-Babys mit blauen Augen oder blonden Haaren schaffen.

Quellen: «Nature» (Bd. 522, S. 20 und Bd. 528, S. 51); «New Scientist» (Nr. 3050, S. 32); «Cell» (Bd. 164, S. 18)

Doch die meisten Zellen, in die anstelle des defekten ein intaktes Gen eingebracht wurde, bauten dies nicht dauerhaft in ihr Erbgut ein. Zudem schnitt das molekulare Skalpell die DNA häufiger an unerwünschten Stellen als erwartet. Die Folgen dieser Fehler sind nicht abschätzbar, die Methode noch zu riskant. «Die Forscher haben mit der Studie gute Arbeit geleistet, weil sie zeigen konnten, dass CRISP/Cas noch nicht bereit ist für eine derartige Anwendung», sagt Dieter Egli, Stammzellforscher von der Columbia University in New York. Für Klaus Ammann ist klar, dass das Genom-Editing eines Tages beim Menschen kommen wird. Der emeritierte Professor für Botanik und Ökologie von der Universität Basel hat eine Monografie mit über 1000 Publikationen zu CRISPR/Cas zusammengestellt. «Die Euphorie ist mir zu dick aufgetragen und zu unkritisch», sagt Ammann. Wie bei jedem wissenschaftlichen Fortschritt müsse man genau hinschauen und abwägen.

Ideal wäre es, wenn wir ein Verständnis der komplizierten Abläufe in einem Organismus auch ohne belastende Tierversuche gewinnen könnten. Leider ist dies jedoch bis heute nicht möglich. Das Dilemma wird uns aber noch lange Zeit begleiten: Grundlagenforschung ohne Tierversuche würde den Verzicht auf medizinischen Fortschritt bedeuten. «Mausblick» will über die Hintergründe aufklären und berichtet daher über Erfolgsgeschichten in der Medizin, die nur dank Tierversuchen möglich waren.

IMPRESSUM

Herausgeberin in Kooperation:



Basel Declaration Society, www.basel-declaration.org

Forschung für Leben

www.forschung-leben.ch | www.recherche-vie.ch

Autor: Dr. Ulrike Gebhardt

Redaktion: Astrid Kugler, Geschäftsführerin