

Das hat meine kühnsten Träume übertroffen

Foto: © KIT.edu

Schon seit über 20 Jahren forscht Holger Puchta an der gezielten Genomveränderung bei Pflanzen. Damals hätte er nie geglaubt, was heute dank CRISPR/Cas alles möglich ist.

GENOMXPRESS SCHOLÆ Redaktion:
Herr Puchta, Sie haben schon Mitte der 1990er Jahre mit Hilfe von Genomeditierung pflanzliches Erbgut gezielt verändert. Wie sah die Technik damals aus?

Holger Puchta: Gar nicht so anders wie heute, nur viel rudimentärer. Wir hatten eine molekulare Schere zur Verfügung, die spezifisch genug war, einen einmaligen Doppelstrangbruch im Genom zu erzeugen. Denn das macht diese Werkzeuge ja so besonders: Sie schneiden nicht an vielen Stellen im Genom, wie Restriktionsenzyme es tun, sondern nur an einem oder wenigen Orten. Aber optimal war diese Genschere nicht.

Was hat noch nicht funktioniert?

Es war unmöglich, die Schere zu programmieren. Sie hatte eine Erkennungsse-

quenz mit der sie an die pflanzliche DNA binden kann, aber diese Sequenz ließ sich nicht verändern. Wir konnten also nicht steuern, wo im Genom die Schere schneiden soll.

Wir Grundlagenforscher konnten mit dieser rudimentären Genschere spannende Sachen anstellen, zum Beispiel fremde Gene an dieser spezifischen Schnittstelle ins Genom zu integrieren. Aber für die praktische Anwendung in der Züchtung war sie nicht geeignet. Dafür braucht man molekulare Scheren, die man ganz gezielt zu bestimmten Genen lenken kann.

Die ließen auch nicht lange auf sich warten. Noch in den 1990er Jahren wurden die Zinkfingernukleasen entdeckt, in den Nullerjahren die TALEN.

Beide waren eine große Bereicherung. Sie haben uns ja bereits lange vor CRISPR/

Cas die Möglichkeit gegeben, jede Stelle im Genom anzusteuern. Aber die Effizienz dieser Genscheren war grottenschlecht, zudem waren sie teuer und aufwändig in der Herstellung. Wenn sie damals eine spezifische Zinkfingernuklease wollten, dann mussten sie einer Firma 25 000 US-Dollar zahlen und bis zu ein Jahr darauf warten. Heute erhalten sie über Nacht ein maßgeschneidertes CRISPR/Cas-System und zahlen nur zehn oder vielleicht zwanzig Dollar.

Die klassische Züchtung hat bisher vor allem mit Hilfe von Mutagenese Variation im pflanzlichen Erbgut erzeugt.

Und das durchaus erfolgreich. Weltweit werden mehr als 3 000 Sorten angebaut, die mit Hilfe von klassischer Mutagenese entstanden sind.

Was ist das Problem bei diesem Ansatz?

Mit Chemikalien oder Strahlung können sie immer nur zufällige Mutationen im Genom erzeugen. Danach brauchen sie viel Zeit und Arbeitskraft, um aus der Vielzahl der Mutanten die Pflanzen zu isolieren, bei denen genau das richtige Gen getrof-

fen worden ist. Aber eine Garantie haben sie nie. Vielleicht ist unter ihren hundert oder tausenden Pflanzen kein einzige dabei, bei der eine zufällige Mutation das gewünschte Gen ausgeschaltet hat und sie müssen wieder von vorn beginnen.

Mit CRISPR/Cas soll es diese Frustration nicht mehr geben. Lassen sich denn alle Pflanzen mit dieser Methode verändern?



Foto: © KIT edu

Prof. Dr. Holger Puchta

ist Biochemiker und ein Pionier auf dem Gebiet der Genomeditierung in Pflanzen. Nach seinem Studium in Tübingen und München zog er in die Schweiz und forschte am Friedrich-Miescher-Institut in Basel. Bereits Mitte der 1990er Jahre machte er die Genomeditierung von Pflanzen zu seinem Forschungsthema. Es sollte ihn nie wieder loslassen.

1995 wurde er Gruppenleiter am Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben. Seit September 2002 ist er Professor für Molekularbiologie und Leiter des Botanischen Instituts am Karlsruher Institut für Technologie.

Ziel seiner Forschung ist es, die pflanzliche Vererbung besser zu steuern. Er möchte Chromosomen so restrukturieren, dass Gene mit agronomisch günstigen Eigenschaften (wie Trockenresistenz) nicht mehr gemeinsam mit Genen mit schlechten Eigenschaften (wie einer Anfälligkeit für bestimmte Krankheiten) vererbt werden. Dann könnte man leichter die besten Eigenschaften von Wildpflanzen in Kultursorten kombinieren.

Zumindest alle Pflanzen, die transformierbar und regenerierbar sind.

Also alle, bei denen es gelingt, fremde DNA in die Zellen einzuführen?

Ganz genau, denn auf irgendeinem Weg muss der CRISPR/Cas-Komplex ja in die Pflanzenzelle hinein. Dazu nutzt man zur Zeit meistens DNA, in der der Bauplan für den CRISPR/Cas-Komplex verschlüsselt ist. Die Zelle liest diese DNA ab und produziert dann die Proteine und sgRNA. Als zweites muss man aus erfolgreich mutierten Zellen dann noch eine komplette Pflanze regenerieren. Bei beiden Schritten können Probleme auftreten. Aber für alle wichtigen Nahrungspflanzen wie Weizen, Reis oder Mais funktioniert das gut. Auch Tomaten, Paprika, Kartoffeln oder Raps bereiten keine Probleme.

Was war der erste große Durchbruch bei der Genomeditierung von Nahrungspflanzen mit Hilfe von CRISPR/Cas?

Der kam von Caixia Gao und Jin-Long Qiu von der Chinesischen Akademie der Wissenschaften in Peking. Sie haben mit Hilfe von CRISPR/Cas Weizen erzeugt, der resistent gegenüber Mehltau ist. Weil Weizen hexaploid ist, mussten sie dafür drei Gene verändern, die jeweils in doppelter Ausführung vorlagen.

Wäre das auch mit klassischer Mutagenese möglich gewesen?

Das ist statistisch gesehen schwer vorstellbar. Eine Genkopie verändern, okay. Aber gleich sechs? No way.

Werden wir dank CRISPR/Cas bald noch weitere krankheitsresistente Pflanzen bekommen?

Zumindest bei den Pflanzenkrankheiten, wo einzelne Gene eine wichtige Rolle spielen, werden wir schnell große Erfolge erzielen. Wir können mit CRISPR/Cas auch Pflanzen züchten, die besser mit extremen klimatischen Bedingungen wie Hitze, Trockenheit oder Überschwemmung zurechtkommen. Außerdem können wir den pflanzlichen Stoffwechsel so lenken, dass Pflanzen mehr sekundäre Metabolite herstellen. Das sind gesundheitsförderliche Stoffe, die teils auch als Arzneimittel verwendet werden. Aber wir dürfen die Methode auch nicht überschätzen: Genomeditierung ist im Prinzip nichts anderes als das, was täglich in der Natur passiert.

Das müssen sie erklären.

Nehmen wir mal an, sie stehen auf einem Gerstenfeld und schauen sich zwei beliebige Pflanzen an. Die sehen sich auf den ersten Blick vielleicht zum Verwechseln ähnlich, aber sie unterscheiden sich durch etwa 100 Mutationen voneinander, alle spontan entstanden. Manche davon sind gut, andere schlecht, die meisten bemerkt man gar nicht. Mit Genomeditierung hilft der Mensch der Natur ein bisschen auf die Sprünge indem er gezielte Mutationen einführt.

Bisher wird Genomeditierung hauptsächlich dazu verwendet, Doppelstrangbrüche im Genom zu induzieren. Dadurch können dann Gene ausgeschaltet oder neue Gene eingefügt werden. Welche Anwendungsmöglichkeiten sehen sie noch?

Die Genschere besitzt zwei Eigenschaften. Sie kann eine bestimmte Gensequenz finden und sie kann sie schneiden. Diese beiden Funktionen müssen aber nicht beide aktiv sein. Wenn man die Schneidefunktion hemmt, kann man ein anderes Protein an CRISPR/Cas koppeln. Nimmt man ein fluoreszierendes Protein, kann man bestimmte DNA-Bereiche unter dem Mikroskop leuchten lassen und live beobachten, wie sich Chromosomen im Zellkern bewegen. Verwendet man Aktivierungs- oder Repressor-Proteine, dann kann man Gene reversibel an- oder abschalten. Das sind für Grundlagenforscher interessante Werkzeuge.

Wie sieht es bei der Züchtung aus? Ließen sich mit CRISPR/Cas neue Wildpflanzen domestizieren, die bisher in unserer Ernährung noch keine große Rolle spielen?

Ich denke, dass sich viele Forscher diese Frage in Zukunft stellen werden. Aber sie brauchen viel Vorwissen über die Pflanze, denn sie müssen die Genschere ja ganz genau leiten.

Wenn sie an ihre Anfänge auf dem Gebiet der Genomeditierung zurückdenken: Hätten Sie gedacht, dass sie mal so ein mächtiges Werkzeug wie CRISPR/Cas zur Verfügung haben werden?

Nein, das hat meine kühnsten Träume übertroffen. Und ich hatte das Glück, von Anfang an dabei zu sein.