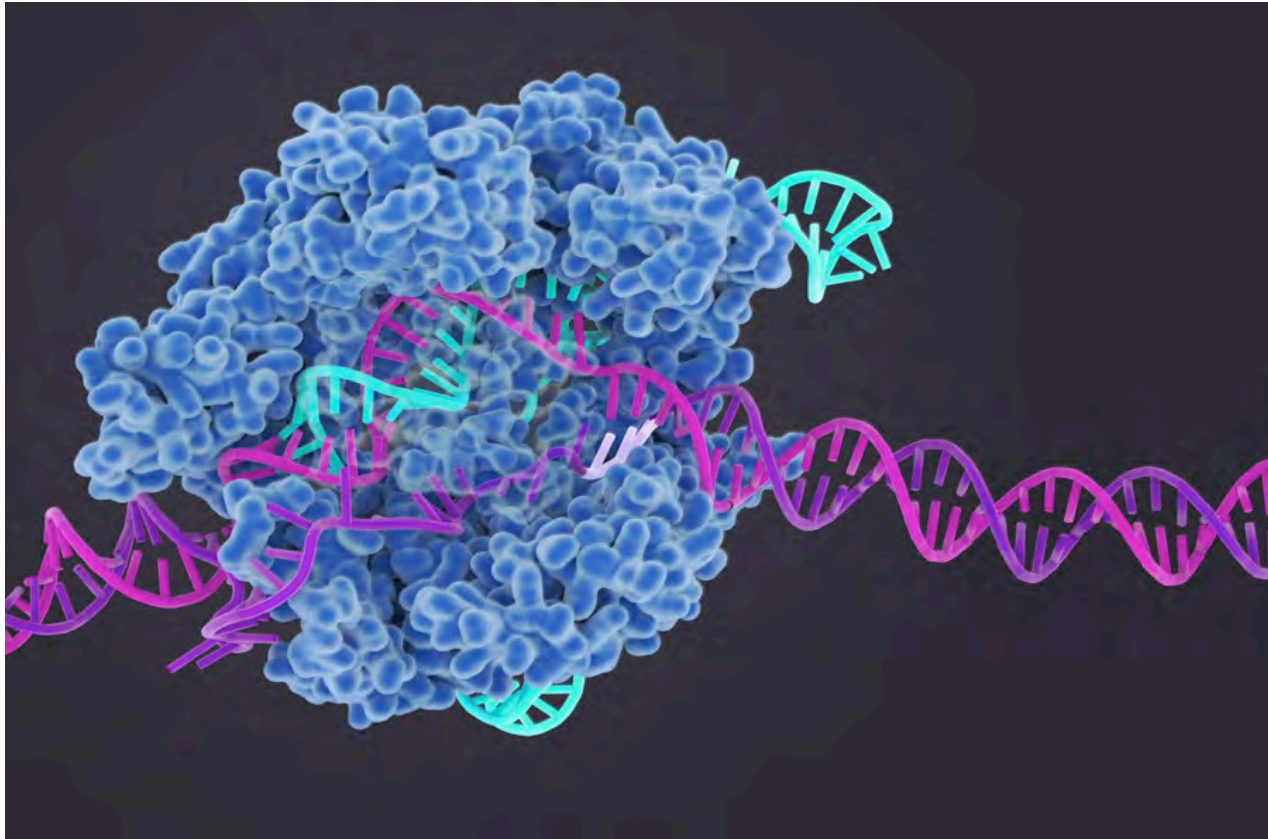


CRISPR/Cas9: Die Wunderwaffe nüchtern betrachtet



CRISPR/Cas hat in den Medien ein großes Interesse gefunden, auch in der Schweiz

ZEIT ONLINE

Politik Gesellschaft Wirtschaft Kultur **Wissen** Digital **NEU** Campus Karriere Entdecken Sport me

Gentechnik

Maßmenschen

Ob die menschliche Keimbahn verändert wird, ist nicht mehr die Frage. Sondern wann.

Von **Ulrich Bahnsen**

4. Dezember 2015 / DIE ZEIT Nr. 49/2015, 3. Dezember 2015 / 73 Kommentare

TagesAnzeiger

Gentech ohne Freisetzungsversuche

Neuste Gentechmethoden sind so gut, dass sich veränderte Pflanzen nicht von herkömmlichen unterscheiden. Der Bund und die EU überprüfen nun ihre Gesetze. Die Biobranche ist in Aufruhr.

Gentechnische Pflanzen

Die Furcht der Biobauern vor der neuen Gentechnik

von Cornelia Eisenach 3.3.2016, 17:00 Uhr

Die moderne Gentechnik ist in Lebensmitteln nicht mehr nachweisbar. Dass Forscher deshalb eine Lockerung der Deklarationspflicht fordern, beunruhigt Biolandwirte.

SUCHE

DIE WELT

ABONNEMENT

Home Politik Wirtschaft Geld Sport Wissen Panorama Feuilleton ICON Reise PS WELT Regional Meinung Videos Markt

Wissen > Crispr/Cas9: Genchirurgie kann Krankheiten gezielt ausschalten

WISSEN CRISPR/CAS9

08.09.15

Mit Genchirurgie Krankheiten gezielt ausschalten

Mit einer neuen Methode lassen sich Gene exakt modifizieren. Theoretisch könnte sich der Mensch neu erschaffen. Wahrscheinlicher ist aber eine Anwendung bei Erbkrankheiten und in unserer Ernährung.

NZZ CAMPUS

Abos & Newsletter | Wettbewerbe | Jobs Suche Anmelden

Studium Leben Zukunft Politik Multimedia E-Paper Firmenporträts Blogs

Das Leben danach Viertelsemester-Blog Bloxford Getroffen Science-Blog Alltagskulturen-Blog (red.)

SCIENCE-BLOG | 1496 Credits

Lasst Genmanipulation die Welt verbessern!

Sandrine Gehrig, 28.12.2015 - 15:45

Neue Zürcher Zeitung

Umstrittene Gentech-Methode Crispr/Cas9

Grossbritannien erlaubt Genmanipulation von menschlichen Embryonen

von Helga Rietz | 1.2.2016, 16:30 Uhr

Die neue Gentech-Methode Crispr/Cas9 soll für die Erforschung der frühen Entwicklung menschlicher Embryonen verwendet werden. Kritiker warnen vor einem weiteren Schritt in Richtung «Designer-Babies».

Das Medieninteresse wird durch die Erfolge in der Anwendung von CRISPR/Cas in Tieren und menschlichen Embryonen weiter geweckt



Sci Rep. 2016 Feb 9;6:20620. doi: 10.1038/srep20620

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN One-step generation of triple gene-targeted pigs using CRISPR/Cas9 system

Received: 02 October 2015
Accepted: 08 January 2016
Published: 09 February 2016

Xianlong Wang^{1,2}, Chunwei Cao^{1,2}, Jiaojiao Huang^{1,2}, Jing Yao¹, Tang Hai¹, Qiantao Zheng^{1,2}, Xiao Wang^{1,2}, Hongyong Zhang^{1,2}, Guosong Qin¹, Jinbo Cheng¹, Yanfang Wang¹, Zengqiang Yuan¹, Qi Zhou^{1,2}, Hongmei Wang^{1,2} & Jianguo Zhao^{1,2}

GENOME EDITING

Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs)

Luhan Yang,^{1,2,3*} Marc Güell,^{1,2,3,†} Dong Niu,^{1,4,†} Haydy George,^{1,†} Emal Lesho,¹ Dennis Grishin,¹ John Aach,¹ Ellen Shrock,¹ Weihong Xu,⁶ Jürgen Poci,¹ Rebeca Cortazio,¹ Robert A. Wilkinson,⁵ Jay A. Fishman,⁵ George Church^{1,2,3,*}

Science (2015) 50: 1101-1104

Über 60 Retroviren in Schweinen gleichzeitig inaktiviert. Dies hat grosse Vorteile für die Entwicklung von Schweinen für die menschliche Transplantationsmedizin.

Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing

NATAŠA SAVIĆ, and GERALD SCHWANK
ZURICH, SWITZERLAND

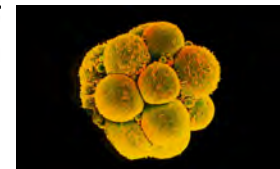
<http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2015.09.008>

J Assist Reprod Genet (2016) 33:581–588
DOI 10.1007/s10815-016-0710-8

TECHNOLOGICAL INNOVATIONS

Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing

Xiangjin Kang¹ · Wenyin He¹ · Yuling Huang¹ · Qian Yu¹ · Yaoyong Chen¹ · Xingcheng Gao¹ · Xiaofang Sun¹ · Yong Fan¹



Das erste Experiment mit nicht lebensfähigen menschlichen Embryonen

In Laborexperimenten können genetisch vererbare Krankheiten mit Hilfe von CRISPR/Cas erfolgreich korrigiert werden

Disease	Mutation	iPS	CRISPR	Function test	Reference
Chronic granulomatous disease	A single intronic mutation in the <i>CYBB</i> gene	Skin fibroblast	CRISPR/Cas9D10A, nickase; donor-mediated HR	<i>In vitro</i> differentiated macrophage function	Flynn et al, 2015, <i>Experimental Hematology</i> ⁴⁴
Barth syndrome	1 bp deletion or mutation	Skin fibroblast	CRISPR/CAS9 and PiggyBac, donor-mediated HR	<i>In vitro</i> differentiated cardiomyocyte; muscle	Wang et al, 2014, <i>Nature Med</i> ⁴²
β -Thalassemia	C > T mutation in <i>HBB</i> gene	Fibroblast	CRISPR/CAS9 and PiggyBac, donor-mediated HR		
β -Thalassemia	A/G and TCTT deletion in the <i>HBB</i> gene	Skin fibroblast	CRISPR/CAS9 and PiggyBac, donor-mediated HR		
Cystic fibrosis	CFTR F508 del	No iPS cells involved; 3D-intestinal organ cultures	CRISPR/CAS9, donor-mediated HR		
Duchenne muscular dystrophy	75484bp deletion including exon 44 of <i>Dystrophin</i> gene	Fibroblast	CRISPR/Cas9, donor-mediated HR	differentiated skeletal muscle cells; gene expression	<i>Stem Cell Reports</i> ⁴⁸
Hemophilia A	Gene inversion (140 kb and 160 kb from intron 1 to 22)	Urine cells from hemophilia A patients	Cas9 protein and gRNA DNA plasmid were delivered by a microporator system.	<i>in vivo</i> differentiated endothelial cells; Transplantation into a hemophilia mouse	Park et al, 2015, <i>Cell Stem Cell</i> ⁴³

Genes & Diseases (2016) xx, 1–8

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: <http://ees.elsevier.com/gendis/default.asp>



REVIEW ARTICLE

CRISPR-mediated genome editing and human diseases

Liquan Cai ^{a,*}, Alfred L. Fisher ^{b,c}, Haochu Huang ^d, Zijian Xie ^a

Genom-Editierung des Menschen ist in weiter Ferne, aber prinzipiell möglich



The New York Times | <http://nyti.ms/1OAX4EB>

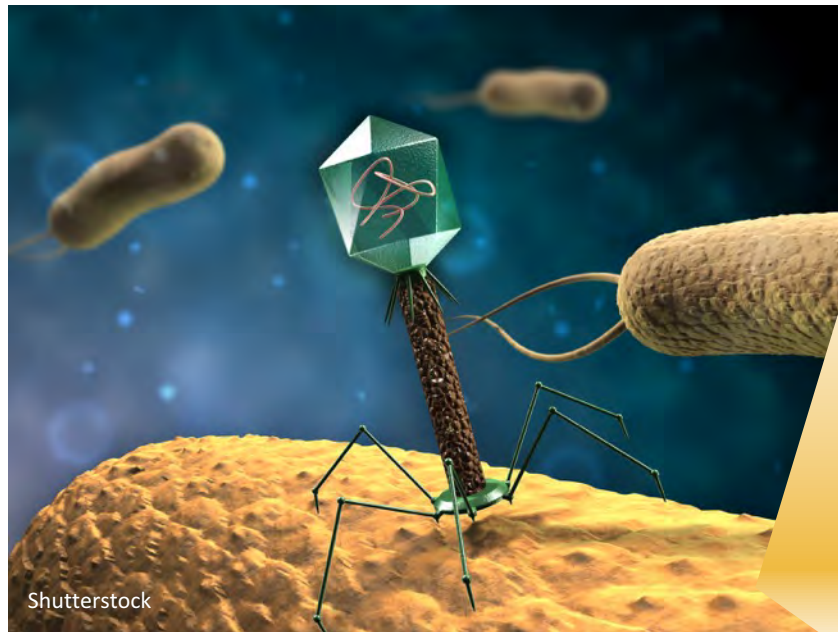
SCIENCE

Scientists Seek Moratorium on Edits to Human Genome That Could Be Inherited

By NICHOLAS WADE DEC. 3, 2015

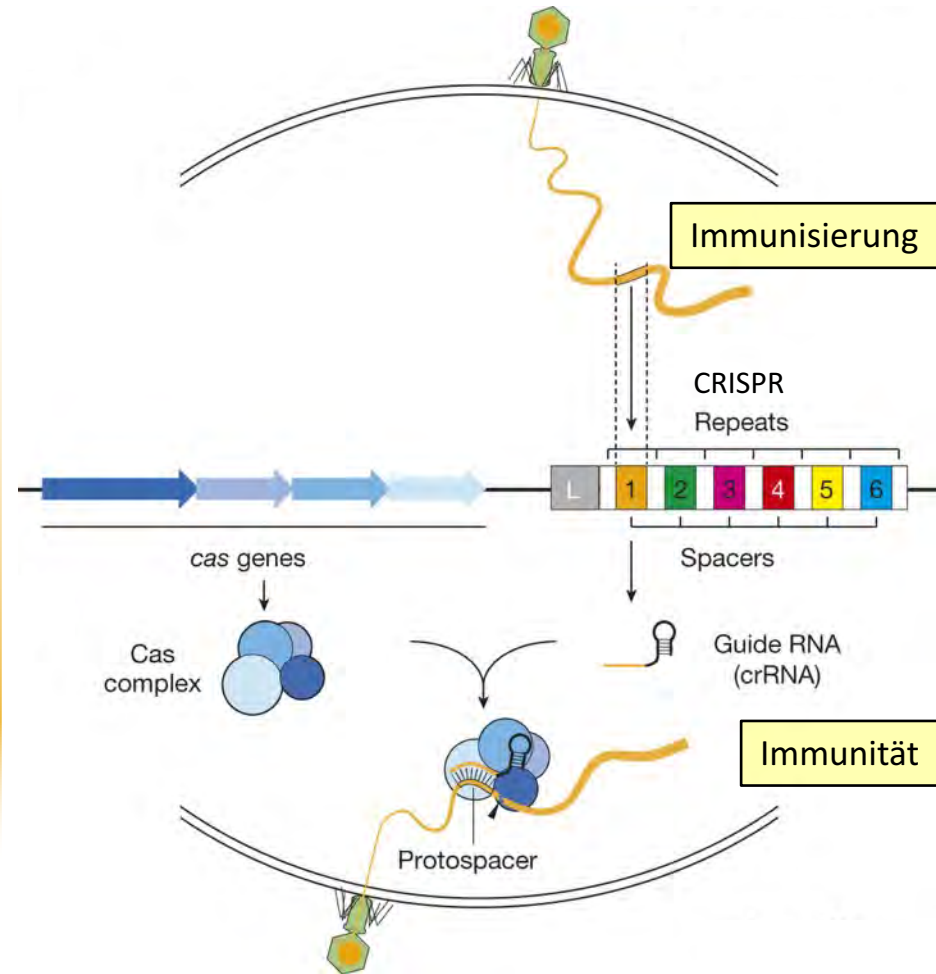
An international group of scientists meeting in Washington called on Thursday for what would, in effect, be a moratorium on making inheritable changes to the human genome.

CRISPR/Cas ist ein zentrales RNA-gesteuertes Enzym für die Immunität von Bakterien gegen die Infektion von bakteriellen Viren



Shutterstock

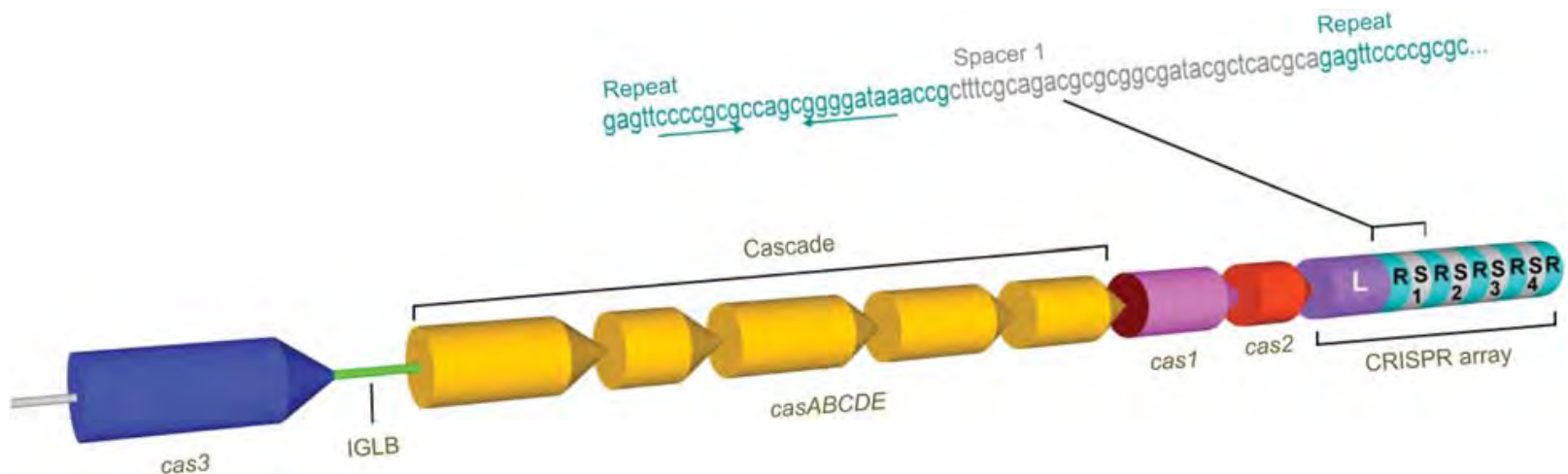
Bakterieller Virus (Bakteriophage) auf der Oberfläche einer Bakterienzelle kurz vor dem Einschleusen seiner DNA



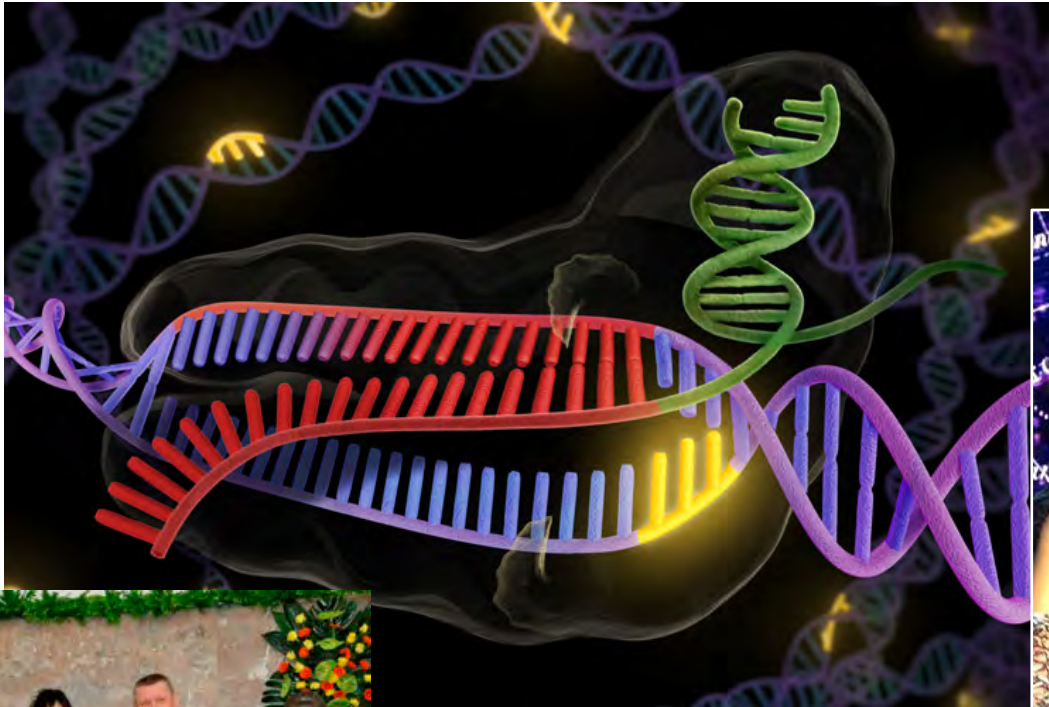
Marraffini, Nature 2015

Der CRISPR-Cas Locus ist das Immunsystem der Bakterien

Das Immunsystem der Bakterien (oder in anderen Worten, der Impfausweis) besteht aus einer Ansammlung von DNA Sequenzen (**CRISPR = clustered regularly interspaced short palindromic repeats**), den CRISPR-assoziierten Enzymen (Cas), sowie regulatorischen Sequenzen für den Einbau von neuen Virus-DNA Segmenten (Spacer). Die Einzelheiten des CRISPR-Cas Locus können in verschiedenen Bakterienarten variieren.



Martin Jinek (jetzt an der Universität Zürich), Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier hatten in 2012 erkannt, das Cas9 für RNA-programmierbare Genom-Editierung eingesetzt werden kann



Jinek et al. (2012)
Science 337:816-821



Paul-Ehrlich-Preis
in 2016



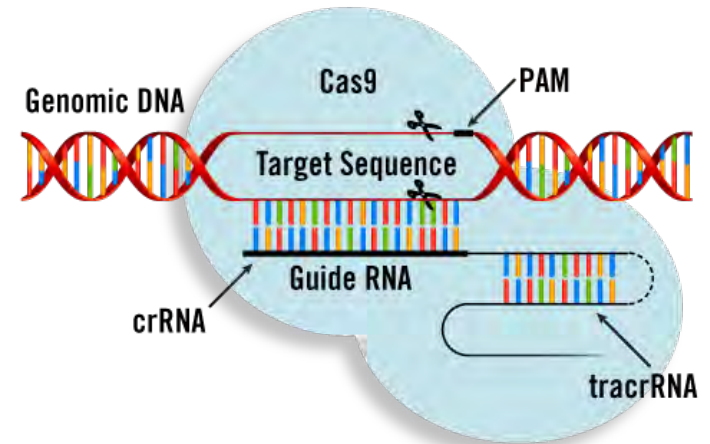
Jennifer Doudna (UC Berkeley) und
Emmanuelle Charpentier (Helmholtz
Zentrum für Infektionsbiologie) bei
der Verleihung des 2014
Breakthrough Prize

Das bakterielle CRISPR/Cas RNA-Enzym kann angepasst werden, um in anderen Zellen zielgerichtete Mutationen im Genom zu erzeugen

In Bakterienzellen schneidet der Komplex aus Cas-Enzym und die CRISPR-RNA (crRNA) Fremd-DNA (z.B. von Bakteriophagen) an spezifischen Stellen

Das Cas-Enzym und die guide-RNA können so angepasst werden, dass sie zielgerichtet an definierten Stellen das Genome aufschneiden

Die DNA Sequenzspezifität vom Cas-Enzyme ist durch die guide-RNA gewährleistet

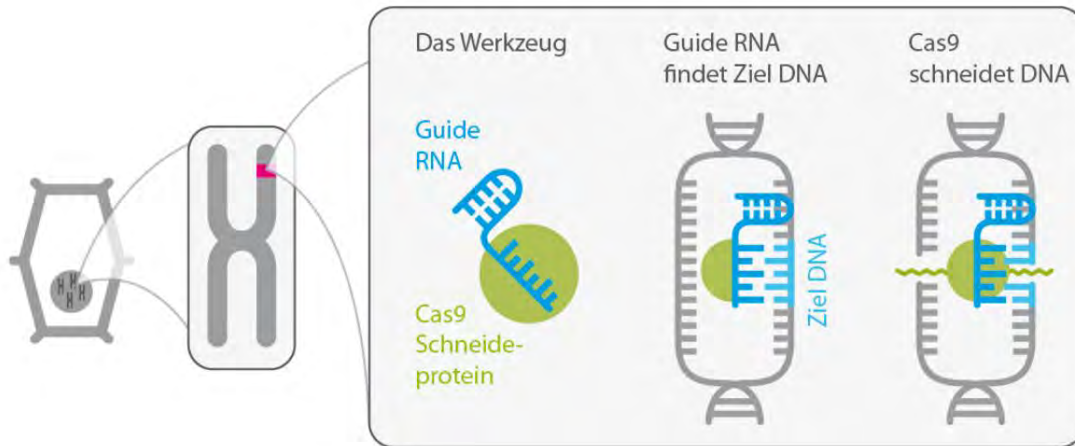


<https://www.mirusbio.com/applications/crispr-cas-transfection>

Vorteil gegenüber chemisch- oder Strahlen-induzierten Genom Mutationen die zufällig sind:

- genaue Anpassung der Ziel-DNA Sequenz
- präzise Erkennung der Schnittstelle durch Basenpaarung

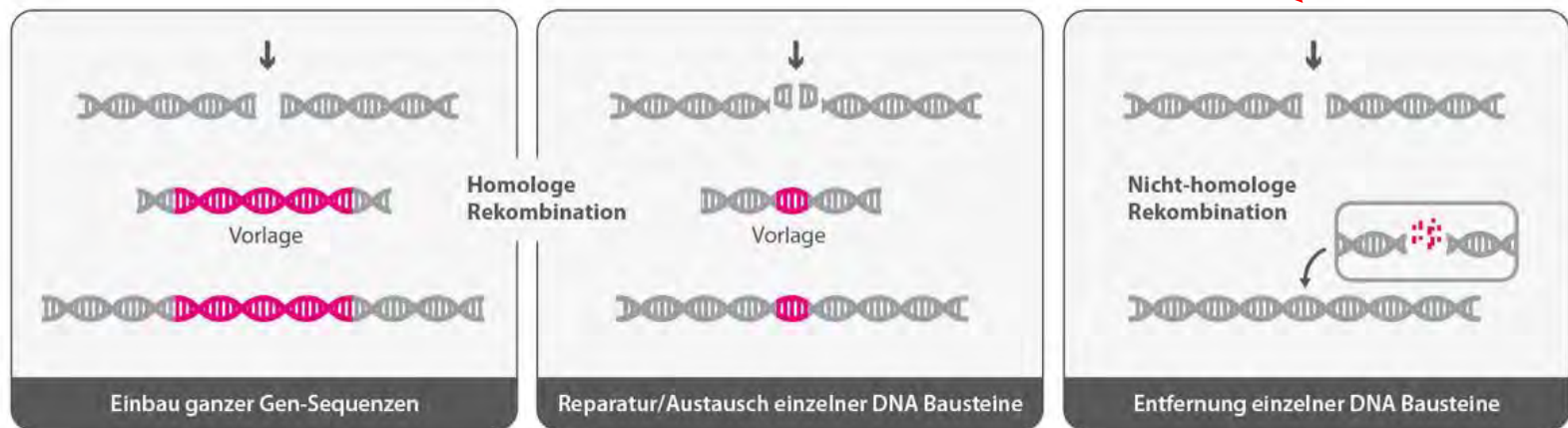
CRISPR/Cas, ein neues Werkzeug für gezielte Genom-Editierung



Genom DNA kann präzise und gezielt mit Hilfe der guideRNA (Sonde) und dem Cas-Enzyme (Schere) durchgetrennt werden.



Die Zelle erkennt die durchgetrennte DNA und aktiviert einen Reparaturmechanismus. Dieser kann zu verschiedenen Genomveränderungen führen (genome editing).

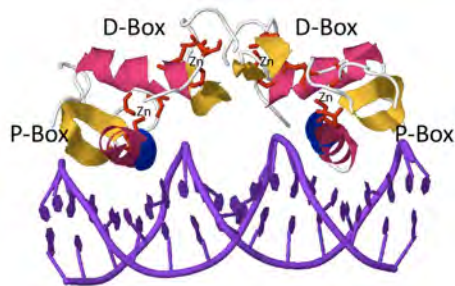


Graphiken von Transparenz Gentechnik (<http://www.transgen.de>)

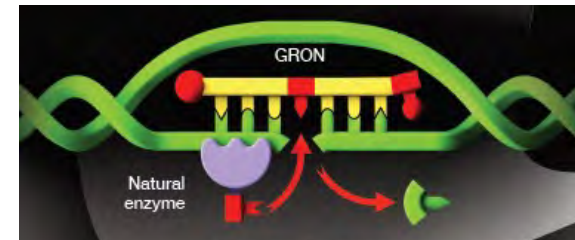
CRISPR/Cas ist eine von verschiedenen neuen Methoden die, basierend auf zwei Prinzipien, zielgerichtete Mutationen in Genomen ermöglichen

1. Auswahl eines Genorts durch Sequenz-spezifische Erkennung der DNA
2. Mutation des Genorts durch Schneiden und Reparatur oder Rekombination der DNA

Zink-Finger



Oligonukleotid (DNA)

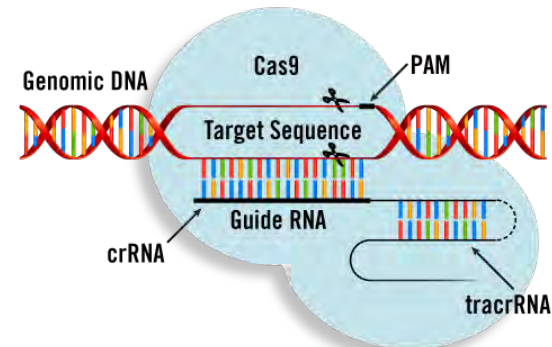


Rapid Trait Development System (RTDS)

TALEN



CRISPR/Cas



Die Cibus *RTDS*TM Technologie wurde in Deutschland als “Nicht-GMO” eingestuft, aber dagegen regt sich Widerstand, auch in der Schweiz



Bundesamt für
Verbraucherschutz und
Lebensmittelsicherheit

Widerspruch gegen CIBUS Raps- Bescheid zurückgewiesen

Das BVL weist nach eingehender Prüfung den Drittwiderspruch gegen den Bescheid zur Einstufung eines herbizidresistenten Rapses der Firma CIBUS zurück. Das BVL hatte bereits am 5. Februar 2015 entschieden, dass die betroffenen Rapspflanzen nicht als gentechnisch veränderte Organismen im Sinne des GenTG einzustufen sind und Feldversuche mit diesen Pflanzen in Deutschland daher ohne eine für Versuche mit gentechnisch veränderten Organismen erforderliche Genehmigung durchgeführt werden können.



Schweizer
Allianz
Gentechfrei

EU-Kommission untersagt unkontrollierte Freisetzung von Gentechnik-Raps der Firma CIBUS

Erstellt: 30. Juni 2015



Der Gentechnik-Raps der US-Firma Cibus darf in der EU bis auf Weiteres nicht angebaut werden.

Das erste Genom-editierte Nahrungsmittel wurde von USDA zugelassen

IN FOCUS NEWS

BIOTECHNOLOGY

Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation

A fungus engineered using CRISPR-Cas9 can be cultivated and sold without oversight.

BY EMILY WALTZ

The US Department of Agriculture (USDA) will not regulate a mushroom that has been genetically modified with the gene-editing tool CRISPR-Cas9, the agency has confirmed. The long-awaited decision means that the mushroom can be cultivated and sold without passing through the agency's regulatory process — making it the first CRISPR-edited organism to receive a green light from the US government.

"The research community will be very happy with the news," says Caixia Gao, a plant biologist at the Chinese Academy of Sciences Institute of Genetics and Developmental Biology in Beijing, who was not involved in developing the mushroom. "I am confident we'll see more gene-edited crops falling outside of regulatory authority."

Yinong Yang, a plant pathologist at Pennsylvania State University (Penn State) in University Park, engineered the fungus — the common white button mushroom (*Agaricus bisporus*) — to resist browning. The effect is achieved by targeting the family of genes that encodes polyphenol oxidase (PPO), an enzyme that causes browning. By deleting just a handful of base pairs in the mushroom's genome, Yang knocked out one of six PPO genes — reducing the enzyme's activity by 30%.

AGENCY RULES

The mushroom is one of about 30 genetically modified organisms (GMOs) to sidestep the USDA's regulatory system in the past 5 years. In each case, the agency's Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) has said that the organisms — mostly plants — do not qualify as something that the agency must regulate. (Once a crop passes the USDA reviews, it may still undergo a voluntary review by the US Food and Drug Administration.)

Several of the plants that bypassed the USDA were made using gene-editing techniques such as the zinc-finger nuclease (ZFN) and transcription activator-like effector nuclease (TALEN) systems. But until now, it was not clear whether the USDA would give the same pass to organisms engineered with science's hottest tool, CRISPR-Cas9.

Yang first presented the crop to a small group of USDA regulators in October 2015, after being encouraged to do so by an APHIS



The common white button mushroom (*Agaricus bisporus*) has been modified to resist browning.

official. "They were very excited," Yang says: "There was certainly interest and a positive feeling" at the meetings. He followed up with an official letter of enquiry to the agency later that month.

The USDA's answer came this week. "APHIS does not consider CRISPR/Cas9-edited white button mushrooms as described in your October 30, 2015 letter to be regulated," the agency wrote to Yang on

"I am confident we'll see more gene-edited crops falling outside of regulatory authority."

13 April.

Yang's mushroom did not trigger USDA oversight because it does not contain foreign DNA from 'plant pests' such as viruses or bacteria. Such organisms were necessary for genetically modifying plants and fungi in the 1980s and 1990s, when the US government developed its framework for regulating GMOs. But newer gene-editing techniques that do not involve plant pests are quickly supplanting the old tools.

The United States is revamping its rules for regulating GMOs, which collectively are known as the Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology. To that end, the US National Academies of Sciences, Engineering and Medicine have convened a committee that is charged with predicting what advances will be made in biotechnology products over the next five to ten years. It will hold its first meeting on 18 April.

In the meantime, Yang is mulling over whether to start a company to commercialize his modified mushroom. Fruits and vegetables that resist browning are valuable because they keep their colour longer when sliced, which lengthens their shelf life. In the past 18 months, biotech companies have commercialized genetically engineered non-browning apples and potatoes.

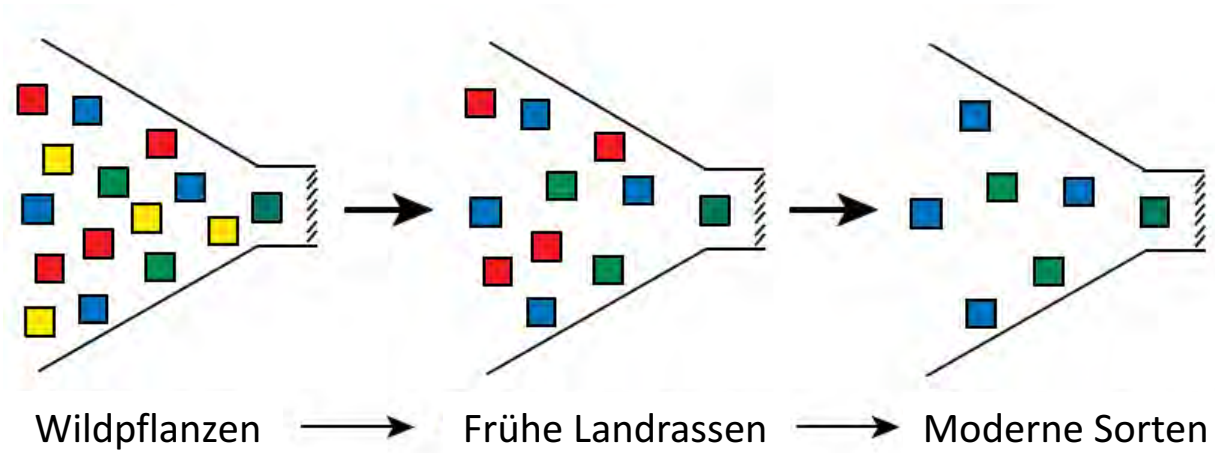
"I need to talk to my dean about that. We'll have to see what the university wants to do next," says Yang about the prospect of bringing his mushroom to market. But he notes that in September 2015, Penn State filed a provisional patent application on the technology. ■

Der CRISPR Champignon wurde von Dr. Yinong Yang an der Pennsylvania State University entwickelt. Die Mutation verhindern verhindert, dass der Pilz bei der Lagerung und nach dem Schneiden braun wird. Die CRISPR/Cas genomeditierte Pilzsorte wurde vom United States Department of Agriculture (USDA) im April 2016 zugelassen.

Auszug aus dem USDA Zulassungsschreiben:

Based on the information cited in your letter, APHIS has concluded that your CRISPR/Cas9-edited white button mushrooms as described in your letter do not contain any introduced genetic material. APHIS has no reason to believe that CRISPR/Cas9-edited white button mushrooms are plant pests. Therefore, consistent with previous responses to similar letters of inquiry, APHIS does not consider CRISPR/Cas9-edited white button mushrooms as described in your October 30, 2015 letter to be regulated pursuant to 7 CFR part 340. Additionally, white button mushroom is not listed as a Federal noxious weed pursuant to 7 CFR part 360, and APHIS has no reason to believe that the anti-browning phenotype of your white button mushroom would increase the weediness of white button mushroom.

Über tausende von Jahren haben wir Wildpflanzen kultiviert und Mutationen für erwünschte Eigenschaften selektiert. Dabei haben unsere Kulturpflanzen auch viele nützliche Eigenschaften verloren



Tanksley and McCouch,
Science 1997



Die Verbesserung vieler unserer Kulturpflanzen von 1960 bis 1990 wurde durch Bestrahlung und chemische Mutagenese erreicht und ist heute bekannt als “Grüne Revolution”

Photo courtesy of S. Harrison, [LSU Ag center](#) and [The World Food Prize](#).

Sorten mit hohem Ertrag, kurzen Halmen und verbesserter Aufnahme von Stickstoff

Züchter und Nobelpreisträger
Norman Borlaug 1914-2009

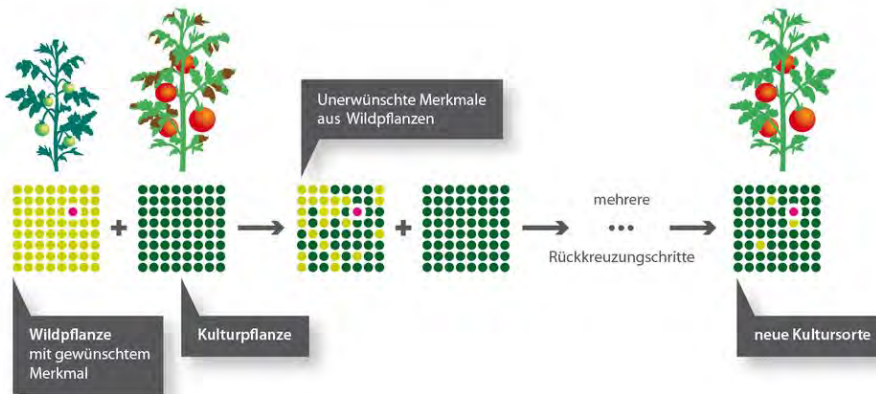
Heute essen wir jeden Tag Obst, Gemüse und Getreide mit Eigenschaften, die durch Mutationszüchtung erzeugt wurden



Weltweit werden über 3'000 Sorten angebaut die durch Mutationszüchtung erzeugt wurden

Die Gentechnik ist eine gezielte und effiziente Variante der Züchtung

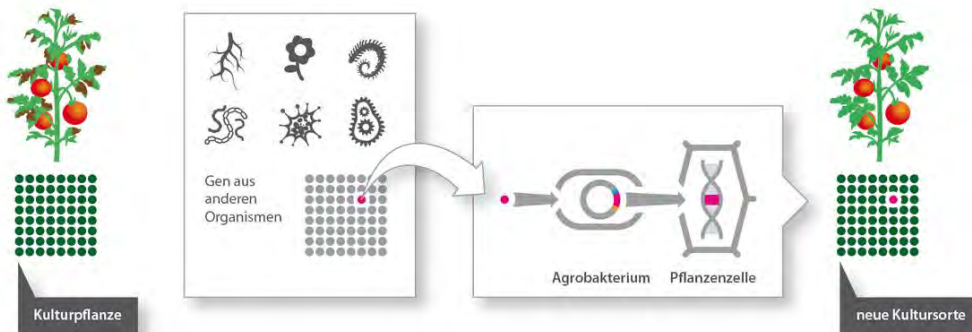
Klassische Kreuzungszüchtung



In der klassischen oder konventionellen Züchtung werden die Genome zweier Eltern vermischt. Häufig müssen dabei unerwünschte Eigenschaften durch langjährige Rückkreuzungen zu einer Elternsorte (normalerweise eine Elitesorte) entfernt werden.

Durch Züchtung entstandene neue Sorten werden häufig registriert aber unterliegen keiner Bewilligungspflicht.

Klassische Gentechnik

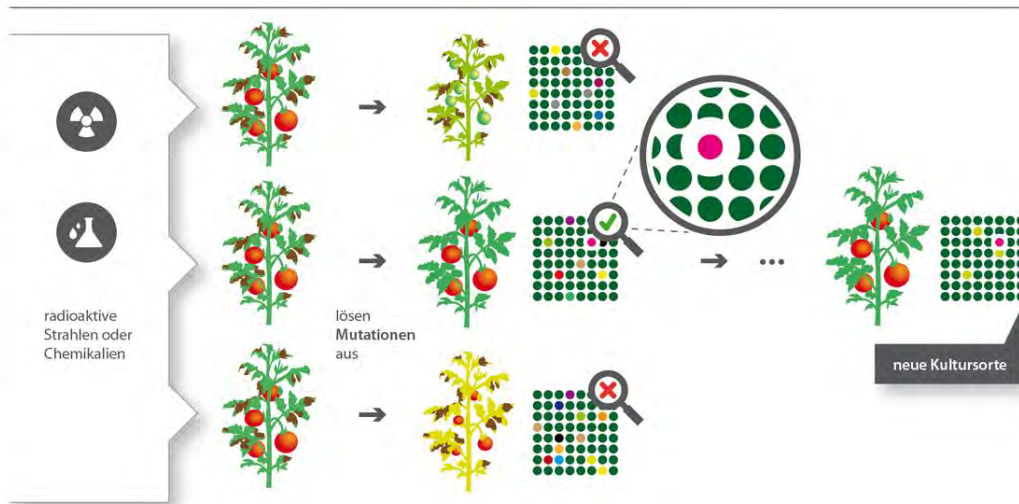


Mit Hilfe der Gentechnik können Gene für gewünschte Eigenschaften (z.B. Krankheitsresistenz) direkt in Elitesorten eingebaut werden ohne deren Eigenschaften zu verändern.

GVO Sorten unterliegen der Bewilligungspflicht. Der Anbau von GVO Sorten ist derzeit in der Schweiz verboten.

CRISPR/Cas ist eine präzise und effiziente Variante der Mutationszüchtung

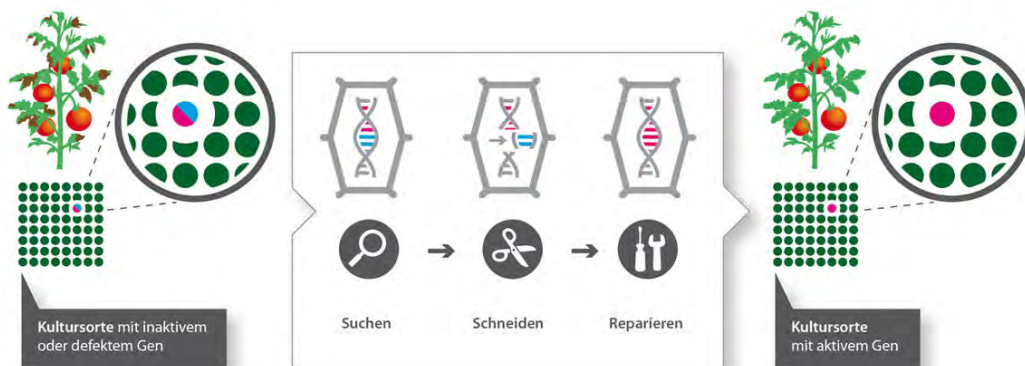
Mutationszüchtung



In der Mutationszüchtung werden neben den gewünschten Mutationen auch viele andere Mutationen erzeugt. Diese müssen oft durch langwierige Rückkreuzungen zu den Elternlinien entfernt werden.

Die so erzeugten neuen Sorten unterliegen nicht der Bewilligungspflicht.

Genome Editing



Mit CRISPR/Cas können die gewünschten Mutationen präzise und effizient erzeugt werden, ohne dass andere Mutationen im Genome auftreten. Die CRISPR/Cas Mutationen lassen sich nicht von chemisch erzeugten Mutationen unterscheiden.

Zur Zeit ist unklar, ob solche neuen Sorten als GVO eingestuft werden und somit der Bewilligungspflicht unterliegen.

Seit 2013 sind schon eine Reihe von neuen Merkmalen bei Kulturpflanzen mit Genom-Editierung erzeugt worden, die mit Mutationszüchtung viele Jahre gedauert hätten

CRISPR/Cas, TALEN und Genome Editing: Projekte in der Pflanzenzüchtung (Beispiele)

Pflanzenart	Ziel	Verfahren	Wer	Stand
Weizen	Mehltau-Resistenz	TALEN	Calyxt	Feldversuche, in den USA nicht als GVO eingestuft
Weizen	Mehltau-Resistenz	CRISPR	Chinese Academy of Science	Projekt publiziert
Weizen	weniger Gluten	TALEN	Calyxt	Entwicklung
Mais	Trockentoleranz	CRISPR	DuPont Pioneer	Feldversuche
Wachsmais	Stärke	CRISPR	DuPont Pioneer	Markteinführung in fünf Jahren
Reis	Toleranz gegen Reisbrand (Rice blast)	CRISPR	Chinese Academy of Science	Projekt publiziert
Erdnuss	Ausschalten von Allergenen	CRISPR	Aranex, UK	Startup
Gurken	Resistenz gegen Viren	CRISPR	Volcani Center, Israel	Projekt publiziert
Citrusfrüchte	Resistenz gegen Citrus Greening	CRISPR	Univ. of Florida	Projekt publiziert
Paprika (Pepper)	Resistenz gegen Viren	CRISPR	Seminis Vegetable Seeds	Entwicklung
Tomate	Reifverzögerung	CRISPR	Univ. Nottingham, UK	Studie publiziert
Kartoffel	Lagerfähigkeit, weniger Acrylamid	CRISPR, TALEN	Univ. of Minnesota, Simplot, Calyxt	in den USA nicht als GVO eingestuft*
Sojabohnen	veränderte Fettsäuren	TALEN	Calyxt	in den USA nicht als GVO eingestuft, Feldversuche
Pappeln	Genfunktionen	CRISPR	Univ. Umea, Schweden	Forschung



Weizen Hirse Mais Reis Tomate

*eine GVO-Variante (Kartoffel mit den gleichen Merkmalen) ist in den USA bereits zugelassen

Die Mehltau Erkrankung im Weizen kann durch gezielte Ausschaltung des MLO Gens verhindert werden



Pilze

04. August 2016 14:58; Akt: 04.08.2016 14:58

Weizenernte für Bauern katastrophal

Der nasse Frühling und Krankheiten haben den Bauern das Geschäft vermiest. Besonders gelitten hat der Weizen. Die Ernte ist so schlecht wie seit Jahrzehnten nicht mehr.

nature
biotechnology

Home | Current issue | News & comment | Research | Archive | Authors & referees | About the

home > archive > issue > research > letter > abstract

NATURE BIOTECHNOLOGY | RESEARCH | LETTER

日本語要約

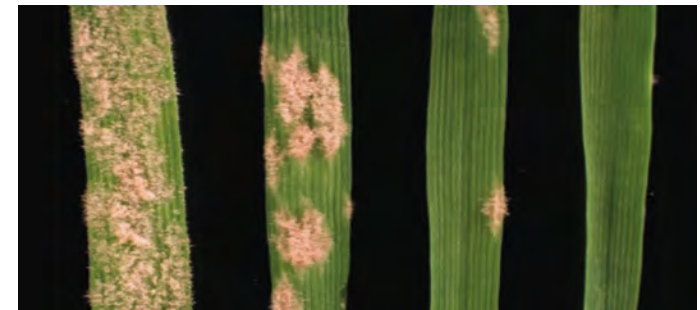
Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew

Yanpeng Wang, Xi Cheng, Qiwei Shan, Yi Zhang, Jinxing Liu, Caixia Gao & Jin-Long Qiu

Aktives MLO Gen unterdrückt Abwehr gegen Mehltau

Weizen hat 6 MLO Kopien (je 2 im A, B und D Genom)

Mutation aller Kopien durch TALEN und CRISPR/Cas



Befall von Weizenblättern mit Mehltau (*Blumeria graminis* f. sp. *Tritici*)

Breite Anwendungsmöglichkeiten der CRISPR/Cas Methode für die Verbesserung unserer Kulturpflanzen



Nahrungsmittelsicherheit

Züchtungsoptionen
Samenreifung und Lagerung

Energie

Stoffwechselgene
Stärkemetabolismus

Boden

Versalzung durch Bewässerung
Toxische Metallbelastung



Klimaveränderung

Trocken- und Hitzestress
Erhöhte CO₂ Konzentration

Wasser

Wassermangel
Überflutung

Pflanzenkrankheiten

Aggressive Bakterien und Pilze
Viren mit hoher Infektivität

