

4.3 Neue genetische Techniken für die Pflanzenzucht

Die neuen genetischen Techniken haben ein ausserordentliches Potenzial für die Pflanzenzüchtung und die Pflanzenbiotechnologie. Dies beruht unter anderem auf den Möglichkeiten, Mutationen oder Gene gezielt in die Pflanze einzubringen, bestimmte Gene in ihrer Aktivität zu verändern oder von einer Einzelpflanze genetisch identische Nachkommen zu züchten. Obschon einige der Verfahren Gentechnik nutzen, ist in den für den Anbau vorgesehenen Pflanzen meist keine gentechnische Veränderung mehr vorhanden. Angesichts der vielfältigen Nutzungsmöglichkeiten der neuen Techniken erscheint es sinnvoll, vor ihrer Anwendung eine öffentliche Erläuterung der wissenschaftlichen Grundlagen und der Vorteile sowie eine Erklärung zu den gesetzgeberischen Rahmenbedingungen vorzuschicken. Dies würde die Akzeptanz in der Bevölkerung fördern.[1] Andernfalls könnten Vorbehalte die züchterisch ausgezeichneten Perspektiven dieser Techniken deutlich einschränken.

WILFRIED WACKERNAGEL

MOTIVATION FÜR DIE ENTWICKLUNG NEUER TECHNIKEN

Gentechnik kann bei der Entwicklung neuer Kulturpflanzenlinien so eingesetzt werden, dass die damit produzierten Pflanzen oder deren Früchte keine GVP sind.

Die Gentechnik ist eine breit anwendbare biomolekulare Vorgehensweise. Sie hat sowohl die Grundlagenforschung als auch die angewandte Forschung in Biologie, Medizin, Biotechnologie, Landwirtschaft, Lebensmittelerzeugung und Pharmakologie revolutioniert. Parallel zu den verschiedenen Anwendungsgebieten wurde in den vergangenen Jahren eine ganze Reihe neuer genetischer Techniken für die Pflanzenzüchtung entwickelt. Ein wichtiges Motiv ist dabei die Beschleunigung der Züchtungsverfahren. Die neuen Technologien könnten aber auch die Entschärfung der Gentechnik-Problematik bewirken: Die Zulassung von neuen gentechnisch veränderten Organismen (GVO) ist äusserst aufwendig und gleichzeitig kann deren Vermarktung auf breite Ablehnung stossen. Eine mögliche Lösung dafür ist, die Gentechnik bei der Entwicklung von neuen Kulturpflanzenlinien so einzusetzen, dass die damit produzierten Pflanzen oder deren Früchte keine gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) sind.

GVO-EINSTUFUNG: PRODUKT ODER PROZESS

Bereits 2007 haben die Zulassungsbehörden einiger EU-Staaten vorgeschlagen, dass einige neue genetische Techniken auf ihre Einordnung unter die GVO-Richtlinien überprüft werden sollten.

Für jede neue genetische Technik muss vorab geprüft werden, ob das Herstellungsverfahren sowie das Produkt schlussendlich unter die EU-Richtlinien für den Umgang mit GVO fällt oder nicht.[2][3] Die Einführung dieser Richtlinien dient dem Schutz vor möglichen Gefahren, die vom Erbmateriale in GVO herrühren könnten. Diese Risiken müssen in Betracht gezogen werden, weil sich in GVO das fremde Erbmateriale in einem neuen Kontext befindet, wodurch die Wirkung des Erbmateriale nicht abschliessend vorhersagbar ist. Die EU-Richtlinien regeln also den Umgang mit Organismen, die durch Gentechnik dauerhaft integriertes fremdes Erbmateriale enthalten.

Bereits im Jahr 2007 haben Mitglieder der 'Competent Authorities' (Zulassungsbehörden für GVO,

deren Freisetzung und Inverkehrbringen) einiger EUStaaten vorgeschlagen, dass eine Reihe neuer genetischer Techniken, insbesondere für die Anwendung bei der Pflanzenzucht, definiert und auf ihre Einordnung unter die EU-Richtlinien hin überprüft werden sollte. Zu diesem Zweck wurde 2008 die 'New Techniques Working Group' (NTWG) mit zwei Experten aus jedem EU-Mitgliedstaat eingerichtet. Die Experten nahmen ihre Arbeit mit einer ersten Sitzung in Brüssel am 15. Dezember 2008 auf. Die Arbeit der NTWG wurde mit dem 'Final Report' im Dezember 2011 abgeschlossen. Zu verschiedenen Aspekten der Techniken und der Produkte in Bezug auf die EU-Richtlinien hat die NTWG in ihrem Abschlussbericht Stellung bezogen. Sie hält darin fest, dass in Zellen eingebrachtes neues genetisches Material nur dann zu einem GVO führt, wenn dieses sich tatsächlich repliziert und an die Nachkommen weitergegeben wird. Ist dies nicht der Fall, ist die Zelle oder der Organismus kein GVO.

Für die Einstufung, ob ein Organismus gentechnisch verändert ist oder nicht, ist das Endprodukt entscheidend und nicht die Zwischenstufen im Prozess.

Ferner war die NTWG der Auffassung, dass auch von einem GVO mit integrierter Fremd-DNA ein nicht gentechnisch veränderter Organismus abstammen kann, wenn die Fremd-DNA nachweislich entfernt wurde. Solche Nachkommen enthalten dementsprechend nicht das Risiko, das mit klassischer Gentechnik verbunden sein könnte und fallen nicht unter die regulatorischen Vorschriften der EU-Richtlinien. Das Endprodukt ist also entscheidend und nicht die Zwischenstufen im Prozess.

Ein weiterer Punkt ist, dass sich nur 'echte' GVO anhand ihrer rekombinanten DNA identifizieren lassen. Die Identifizierbarkeit ist für ein erfolgreiches Monitoring notwendig. Dagegen sind Pflanzen, die durch einige der neuen Techniken entstanden sind und dabei nur vorübergehend fremde DNA enthielten, genetisch nicht von ihren Ausgangspflanzen oder von natürlich vorkommenden Varianten des Wildtyps zu unterscheiden. Zudem haben die Experten der NTWG – unter der Sichtweise, dass RNA für zelluläre Organismen kein Erbmaterial ist – die Übertragung von rekombinanter RNA in Zellen nicht als Erzeugung eines GVO eingestuft.

NEUE GENETISCHE TECHNIKEN MIT ANWENDUNGSPOTENZIAL

Im Folgenden werden die neuen Techniken und Anwendungsmöglichkeiten dargestellt und mit der Bewertung durch die NTWG hinsichtlich der EU-Richtlinien ergänzt.

Oligonukleotid-gesteuerte Mutagenese (OgM)

Durch das Einbringen von kurzen DNAAbschnitten in Zellen lassen sich Punktmutationen gezielt auslösen. Diese sogenannten Oligonukleotide, bestehend aus 20 bis 100 Nukleotiden, werden entsprechend der Zielregion im Genom ausgewählt.[4][5]

Es gibt mehrere Varianten dieser Technik, bei denen man unterschiedliche Oligonukleotide in die Zellen einbringt:

- DNA-Oligonukleotide, die sich durch wenige Nukleotide von der Zielsequenz unterscheiden;
- aus Anteilen von DNA und RNA bestehende Oligonukleotide (chimäre Oligonukleotide);
- Oligonukleotide, die mit der Zielsequenz eine dreisträngige DNA bilden;
- RNA-Oligonukleotide, die sich durch wenige Nukleotide von der Zielsequenz unterscheiden;

- Oligonukleotide mit einer angehängten mutationsauslösenden chemischen Gruppe (wie z. B. ein radioaktiver Stoff, der beim Zerfall einen Doppelstrangbruch auslösen kann).

Die zellulären Mechanismen, die zur Mutation führen, sind für die verschiedenen Oligonukleotide nicht im Detail bekannt. Während DNA-Oligonukleotide die Mutationen durch den Austausch einer neuen Sequenz verursachen, stellen dreisträngige DNA-Sequenzen aufgrund ihrer Struktur Angriffspunkte für zelluläre DNA-Reparaturenzyme dar. Im Verlauf der Reparatur entstehen dann vermutlich durch die nicht homologe Verknüpfung von DNA-Enden die Punktmutationen beziehungsweise kleine Deletionen oder Insertionen. RNA-Oligonukleotide dienen den DNA-Reparaturmechanismen möglicherweise als Vorlage und führen so die Mutation herbei.

Die Mutagenese mit Oligonukleotiden wurde bereits bei verschiedenen Agrarpflanzen wie Raps, Mais, Tabak, Reis und Weizen erfolgreich durchgeführt. In Europa ist bereits eine auf diese Weise gezüchtete Sorte auf dem Markt: der herbizidresistente Clearfield-Raps von BASF. Das Oligonukleotid dient bei dieser Technik als ortsspezifisches Mutagen und wurde deshalb von den Experten der NTWG als eine Variante klassischer Mutagenese beurteilt.

Zinkfinger-Nuklease-Technik

Diese Technik ermöglicht das gezielte Einbringen von unterschiedlichen Mutationen in ein Genom. Die Zinkfinger-Nukleasen (ZFN) sind Enzyme, die aus zwei verschiedenen Bereichen bestehen: Der Bereich mit dem sogenannten Zinkfinger bindet an eine spezifische Nukleotidsequenz, während der enzymatisch aktive Bereich die DNA spalten kann. So erzeugen die Enzyme benachbart zu ihrem DNA-Bindungsort einen DNA-Strangbruch. Binden zwei Enzyme gegenläufig, können sie einen Doppelstrangbruch zwischen ihren beiden Bindungsorten hervorrufen. Ein geeignetes Enzym Paar kann in einem grossen Genom (z. B. bei Pflanzen, Tieren oder beim Menschen) eine Sequenz erkennen, die nur ein einziges Mal vorkommt.[6] Die Zinkfinger-Nukleasen kommen auf verschiedene Arten zur Anwendung:

- Entweder werden Zellen mit einem replikationsunfähigen Plasmid transformiert, welches das Gen für die ZFN trägt. Dieses Gen wird vorübergehend exprimiert und geht dann wieder verloren.
- Oder die Zellen werden mit Messenger-RNA, welche die ZFN codiert, transformiert.
- Schliesslich kann isoliertes ZFN-Protein auch direkt in die Zelle geschleust werden.

Der durch die ZFN erzeugte Doppelstrangbruch kann auf drei Arten zu einer genetischen Veränderung führen. Daran sind immer die zelleigenen DNA-Reparaturenzyme beteiligt.

- Zinkfinger-Nuklease-1 (ZFN-1): Der Reparaturvorgang des Doppelstrangbruchs führt zu Veränderungen von einem Basenpaar oder kleinen Insertionen respektive Deletionen am Ort des Doppelstrangbruchs. So lassen sich ortsspezifisch zufällige Punktmutationen erzeugen.
- Zinkfinger-Nuklease-2 (ZFN-2): Wenn mit den ZFN ein Oligonukleotid in eine Zelle eingebracht wird, dessen Nukleotidsequenz Ähnlichkeit zur Region um den Doppelstrangbruch besitzt, lässt sich durch die Abweichung von der Sequenz eine gewünschte Punktmutation gezielt am Ort des Doppelstrangbruchs erzeugen.
- Zinkfinger-Nuklease-3 (ZFN-3): In die Zelle wird mit den ZFN ein grosses DNASTück aus

Tausenden von Basenpaaren eingebracht. Dieses enthält ein Fremdgen, das von zwei Sequenzen flankiert ist, welche mit den beiden DNA-Enden am Doppelstrangbruch identisch sind. So wird das Fremdgen direkt am Ort des Doppelstrangbruchs durch Rekombination integriert.

Die verschiedenen ZFN-Techniken dienen der Gen-Inaktivierung, der Einführung von bestimmten Mutationen oder dem Einbau von neuen Genen bis hin zur Erzeugung definierter grosser Deletionen. Der Einbau von fremder oder eigener DNA ins Genom kann gezielt und ohne negative Auswirkung auf vorhandene Gene erfolgen. Die ZFN-Technik wurde bereits erfolgreich bei der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* sowie bei Tabak und Mais angewendet und auch bei Säugerzellen und Tieren wie Zebrafischen, Fruchtfliegen, Ratten und Nematoden eingesetzt.

Die Experten der NTWG waren der Auffassung, dass die Techniken ZFN-1 und ZFN-2 zu den Mutagenese-Techniken gehören. Daher sind die damit hergestellten Organismen von den EURichtlinien ausgenommen. Die Technik ZFN-3 hingegen führt mit der Integration eines DNA-Segmentes aus einem nicht kreuzbaren Organismus eindeutig zu einem gentechnisch veränderten Organismus und wird daher gemäss den Richtlinien beurteilt.[6][7]

Cisgenese und Intragenese

Das Ergebnis der Cisgenese ist dasselbe wie bei der klassischen Kreuzungszüchtung. Der Vorteil liegt aber im schnelleren Erreichen des Zuchtziels und im vollständigen Erhalt der übrigen genetischen Information des Empfängerorganismus.

Cisgenese beschreibt die genetische Veränderung einer Empfängerpflanze mit einem oder mehreren Genen aus der gleichen oder einer mit der Empfängerpflanze kreuzbaren Pflanze.[8] Bei der Cisgenese wird das Gen unverändert mit seinen Introns und Steuerelementen in das neue Genom übertragen. Dabei wird der Gentransfer so durchgeführt, dass im Empfänger keine grösseren fremden DNA-Abschnitte verbleiben. Bei der Intragenese besteht die übertragene DNA jeweils aus einer Kombination von Genabschnitten, Genkombinationen oder Genen mit fremden Steuerelementen. Die DNA kommt, wie schon bei der Cisgenese, aus der gleichen oder kreuzbaren anderen Pflanzen.[9]

Cisgenese und Intragenese eignen sich für die Verbesserung von Agrarpflanzen durch das Einfügen von Resistenzgenen gegen Pilze oder andere Krankheitserreger, die aus Wildpflanzen entnommen werden. Ein Beispiel für Cisgenese sind die im Projekt Schorfresistente Äpfel erzeugten Linien der Apfelsorte Gala. Diese sind resistent gegen Apfelschorf dank der Übertragung des Resistenzgens aus einem Wildapfel, wobei alle guten Eigenschaften von Gala erhalten bleiben.[10] Im Prinzip wird durch Cisgenese dasselbe erreicht wie bei der klassischen Kreuzungszüchtung. Der Vorteil liegt aber im schnelleren Erreichen des Zuchtziels und im vollständigen Erhalt der übrigen genetischen Information des Empfängerorganismus. Ausserdem wird durch Cis- und Intragenese die Einkreuzung unerwünschter Gene vermieden, die bei der klassischen Kreuzungszüchtung auftreten kann. Diese neue Art der Züchtung wird heute ausser bei Obstgehölzen auch schon bei Getreide und Zierpflanzen angewendet.

Kurze Nukleotidsequenzen von etwa zehn Basenpaaren, die nach der Übertragung der Gene gelegentlich im Empfänger genom verbleiben, werden nicht als Eintrag von Fremd-DNA bewertet.

In der Bewertung durch die Experten der NTWG gelten kurze Nukleotidsequenzen von etwa zehn Basenpaaren, die nach der Übertragung der Gene gelegentlich im Empfänger genom verbleiben, nicht als Eintrag von Fremd- DNA, da solche Sequenzen gelegentlich ohnehin in einem Genom

vorkommen. Als Fremdsequenzen eingestuft wurden jedoch DNA-Abschnitte mit einer Länge ab 20 Nukleotidpaaren. Oft wird für den Gentransfer in die Pflanzen das Bakterium *Agrobacterium tumefaciens* benutzt. Die Sequenz, die nach der Genübertragung aus dem Bakterienvektor in den resultierenden Pflanzen verbleibt, stellt nach Beurteilung der Experten der NTWG aber keine Fremd-DNA dar, wenn solche Sequenzen natürlicherweise im Genom der Pflanze oder im Genom von Pflanzen, die mit der Experimentalpflanze kreuzbar sind, vorkommen.

RNA-gesteuerte DNA-Methylierung für die Genregulation (RdDM)

Die DNA-Methylierung und die Inaktivierung von Genen sind Teil von natürlichen Abläufen innerhalb von zellulären Regelprozessen in Pflanzen und Tierzellen.

Wenn bestimmte Gene einer Pflanze abgeschaltet werden sollen, zum Beispiel, um ihr Blühverhalten zu verändern, kann dies durch die gezielte DNAMethylierung und somit Inaktivierung von Promotorregionen erfolgen.[11][12] Die DNA-Methylierung und die Inaktivierung von Genen sind Teil von natürlichen Abläufen innerhalb von zellulären Regelprozessen in Pflanzen- und Tierzellen. Das veränderte Methylierungsmuster bleibt in der nächsten Generation erhalten. Für die gezielte Promotor-Methylierung wird in die Zelle eine doppelsträngige RNA mit der Sequenz des betreffenden Promotors eingebracht. Zelleigene Enzyme methylieren dann die zur RNA identische Promotorsequenz im Genom der Pflanze. Das Verfahren ist für Zellen von Säugetieren und Pflanzen verfügbar. Wird aus der Pflanzenzelle eine komplette Pflanze regeneriert, bleibt das neue Methylierungsmuster über mehrere Generationen erhalten. Bei dem Verfahren kann ein gewünschtes Gen ausgeschaltet werden, ohne dass im Organismus ein einziges Nukleotidpaar ausgetauscht wurde. Die Technik wurde bereits bei der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* erprobt. Gegenwärtig wird das Verfahren auf andere Pflanzen ausgedehnt.[13]

Pfropfen auf transgene Unterlagen

Früchte, Samen oder Pollen des nicht veränderten Sprosses enthalten kein Transgen und können somit unter keinen Umständen zu transgenen Pflanzen führen.

Als eine wichtige Methode erweist sich die gentechnische Veränderung von Pflanzen, von denen dann lediglich der Wurzelstock mit den neuen Eigenschaften verwendet wird. Wenn ein nicht transgenes Reis auf einen gentechnisch veränderten Wurzelstock gepfropft wird, lässt sich dadurch beispielsweise eine Schädlingsresistenz des Sprosses oder eine erhöhte Produktion von Früchten auf übersalzenen Böden erzeugen.[14] Das Pfropfen auf gentechnisch veränderte Wurzelstöcke ist unter anderem bei Gurken- und Melonengewächsen, Obstbäumen und Wein erfolgreich. Nachweislich gelangen lediglich Stoffwechselprodukte, Cytokine oder RNA aus der Wurzel in den Spross, jedoch keine chromosomalen Gene.[15] Es stellt sich die Frage, ob solche chimären Pflanzen im Ganzen als GVO betrachtet werden müssen. Da der Wurzelstock einen eigenen Spross bilden kann, der dann gentechnisch veränderte Pollen und Früchte produziert, ist die Pflanze klar gentechnisch verändert. Die Experten der NTWG stellten aber fest, dass Früchte, Samen oder Pollen des nicht veränderten Sprosses als nicht gentechnisch verändert einzustufen sind. Sie enthalten kein Transgen und können somit unter keinen Umständen zu transgenen Pflanzen führen. Wenn umgekehrt ein transgener Spross auf eine nicht transgene Unterlage gepfropft wird, dann sind die gesamte Pflanze und deren Pollen und Früchte als GVO einzustufen.

‘Reverse Breeding’

Während in der klassischen Hybridzüchtung zwei geeignete Ausgangslinien von Pflanzen gekreuzt

werden, um die erwünschten Hybriden zu erhalten, geht die neue Methode genau umgekehrt vor. Eine Hybride mit den gewünschten Eigenschaften wird ausgewählt. Aus dieser Einzelpflanze generiert der Züchter in zahlreichen Zwischenschritten zwei Elternpflanzen, bei deren Kreuzung dann wieder die Hybriden entstehen.[16][17] Dieses Verfahren wird für die kommerzielle Züchtung propagiert. Weitere Methoden, solche perfekt homozygoten Linien für die Hybridzüchtung herzustellen, wurden erst kürzlich publiziert.[18]

Agro-Infiltration und ‘Floral Dip’

Durch den DNA-Transfer mittels Agrobakterien wird eine lokal begrenzte Expression des Gens im Pflanzengewebe erreicht, ohne dass sich die DNA stabil ins Pflanzengenom integriert.

Bakterien der Spezies *Agrobacterium tumefaciens* sind natürlicherweise in der Lage, ein Stück ihrer DNA in Pflanzenzellen zu übertragen. Diese Fähigkeit wird genutzt, um DNA-Stücke mit einem bestimmten Gen in Pflanzenzellen zu bringen. Das Gen steuert in der Pflanze dann die Bildung eines gewünschten Proteins. Für dieses Verfahren wird das betreffende Gen in die DNA der Agrobakterien eingefügt. Dann wird ein Teil der Pflanze, beispielsweise ein Blatt, mit einer Suspension von Agrobakterien infiltriert. Durch den DNA-Transfer in die Pflanzenzellen wird eine lokal begrenzte hohe Expression des Gens im Pflanzengewebe erreicht, ohne dass sich die DNA stabil ins Pflanzengenom integriert. Die Vorteile der Methode liegen in ihrer Geschwindigkeit, Einfachheit und der hohen Genexpression. So lassen sich zum Beispiel sehr schnell grosse Mengen eines Proteins in der Pflanze erzeugen und isolieren. Oder es können bestimmte genetische Konstrukte auf ihre Expression in verschiedenen Pflanzen getestet werden. In einer anderen Anwendung des Verfahrens wird pflanzliches Gewebe mit Keimzellen (z.B. Blüten) einer Infiltration mit dem Bakterium unterzogen (Floral Dip). Daraus werden anschliessend stabil transformierte Embryos isoliert. Dies ist gegenwärtig eine Standardprozedur für die Transformation der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* und sie funktioniert auch bei Raps, Kohl und anderen landwirtschaftlichen Pflanzen.

Hinsichtlich der Einordnung in die EU-Richtlinien sind die gentechnisch veränderten Agrobakterien als GVO einzustufen. Zur Frage, ob die Pflanzen, an deren Blättern die Agro-Infiltration vorgenommen wurde, als GVO anzusehen sind, bestand keine Einigkeit in der NTWG. Die Experten waren sich jedoch einig, dass bei der Abwesenheit einer stabil integrierten DNA die Nachkommen dieser Pflanzen keine GVP sind. Dagegen sind die nach dem ‘Floral Dip’ isolierten Nachkommen mit integrierter DNA definitiv GVP. Die kommerzielle Produktion von wertvollen biologischen Substanzen durch Agro-Infiltration, beispielsweise in Tabakpflanzen, wird bereits betrieben.

Synthetische Biologie

Die ‘Synthetische Biologie’ eröffnet vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in der Biotechnologie. Sind die neu synthetisierten Zellen fähig, sich zu replizieren, führt diese Technik entsprechend den EU-Richtlinien klar zu einem GVO.

Ursprünglich sollte dieser Bereich neuer Techniken von der NTWG als ‘Synthetische Biologie’ behandelt werden. Dieser nur undeutlich definierte Begriff schliesst sehr unterschiedliche Ziele, Verfahren und Anwendungen mit ein. Dazu gehört unter anderem die Konstruktion von biologisch-regulatorischen Schaltkreisen, die auf externe Reize reagieren. Ebenso zählt dazu die Synthese von Protozellen, die einerseits einige Eigenschaften lebender Zellen haben, andererseits von eigenständiger Replikation ausgeschlossen sind. Ein anderes Ziel ist die Konzeption von Minimalzellen, die dann mit integrierten künstlichen Stoffwechselwegen versehen werden können, um neue Biomoleküle zu synthetisieren. Diese können für die Pharmazie, als Energiequelle oder als Verpackungsmaterial verwendet werden.

Innerhalb der synthetischen Biologie ist die Synthese von Genen, Gengruppen, neuartigen Genkombinationen und ganzen Genomen ein wichtiges Feld. Der Ersatz eines mikrobiellen Genoms durch ein synthetisch hergestelltes Genom ist kürzlich bereits realisiert worden.[19] Diese neue Technik ermöglicht es auch, neuartige Nukleinsäuren mit einem veränderten genetischen Code oder mit neuartigen Basen herzustellen und eröffnet vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in der Biotechnologie. Deshalb wurde im Kreis der neuen Techniken zunächst der einschränkende Begriff ‘Synthetic Genomics’ gewählt.

Die Synthese neuer Genome und deren Transplantation in eine andere Zelle führen entsprechend den EU-Richtlinien klar zu einem GVO, sofern die Zellen mit dem neuen Genom zur Replikation befähigt sind. Sollte die synthetisierte Nukleinsäure in ein Kompartiment eingeführt werden, das sich nicht repliziert und auch die Nukleinsäure nicht in lebende Zellen zu übertragen vermag, dann handelt es sich offensichtlich nicht um eine Zelle und somit auch nicht um einen GVO im Sinne der EU-Richtlinien. Von kommerziellen Anwendungen der ‘Synthetischen Biologie’ ist noch nichts bekannt.

STATUS DER NEUEN TECHNIKEN

Unter den neuen Techniken lassen sich vier Kategorien unterscheiden. Nur eine der Kategorien bringt dauerhaft gentechnisch veränderte Organismen hervor, welche gemäss den EU-Richtlinien als GVO beurteilt werden müssen. Trotzdem laufen im allgemeinen Verständnis alle Techniken unter dem Begriff ‘Gentechnik’.

Die neuen Techniken setzen Nukleinsäuren in unterschiedlicher Weise ein. Vier Kategorien von Verfahren lassen sich unterscheiden.

1. In vitro synthetisierte, kurze Nukleinsäuren werden in Zellen eingebracht, wo sie eine Punktmutation auslösen können, aber nicht genomisch integriert werden (Beispiel: OgM). Dies ist keine Technik, die unter die EU-Richtlinien fällt, da die eingesetzten Oligonukleotide kein genetisches Material im Sinne der EU-Richtlinien sind. Die genetisch veränderten Organismen sind offiziell keine GVO, weil durch Mutagenese erzeugte Mutanten von den EU-Richtlinien explizit ausgenommen sind.

2. Die lediglich vorübergehende Anwesenheit von rekombinanten DNA-Molekülen in Zellen ist ein Zwischenstadium in mehreren Techniken. Die DNA wird dabei jedoch weder ins Genom integriert noch eigenständig repliziert. Sie dient nur der vorübergehenden Bildung von bestimmten Enzymen (Beispiel: ZFN- 1 und ZFN-2) oder RNA-Molekülen (Beispiel: RdDM). Die Zwischenstufenzellen sind wegen der fehlenden Replikation der rekombinanten Moleküle beziehungsweise der fehlenden dauerhaften Weitergabe an die Nachkommenzellen im Sinne der EU-Richtlinien keine GVO. Am Ende der Prozedur ist in den Organismen keine rekombinante DNA mehr vorhanden, der Genotyp (ZFN-1, ZFN-2) beziehungsweise Phänotyp (RdDM) der Pflanzen ist aber wunschgemäss verändert.

3. Eine Gruppe von Techniken basiert darauf, dass zunächst ein GVO erzeugt wird, bei dem aber später die integrierte DNA durch Kreuzung (Reverse Breeding) oder durch lokales Ausschneiden von fremden Genen aus dem Genom (Cisgenese) wieder entfernt wird. Rekombinante DNA ist in der endgültigen Pflanze nicht mehr vorhanden. Diese Organismen sind keine GVO.

4. Bei einigen Techniken werden dauerhaft gentechnisch veränderte Organismen geschaffen. Dazu zählen durch die ZFN-3-Technik erzeugte Pflanzen, gepfropfte Pflanzen mit transgenem Wurzelstock sowie Organismen mit neuem, synthetisch erstelltem Genom. Diese Techniken, beziehungsweise die

erzeugten Organismen, fallen klar unter die EU-Richtlinien, mit Ausnahme der Nachkommen von Reisern auf einem transgenen Wurzelstock.

Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Es gibt keine wissenschaftliche Begründung, um klassische und gentechnisch hergestellte Nutzpflanzen mit unterschiedlichen Massstäben zu bewerten. Bei der Risikobewertung soll das Produkt (also die Pflanze) und nicht die Technologie, mit der sie hergestellt worden ist, im Vordergrund stehen. Gentechnisch veränderte Sortenlinien müssen, genau wie neue Sortenlinien, die mit klassischen Methoden gezüchtet werden, als biologische Produkte auf ihre Verträglichkeit für Mensch, Tier und Umwelt getestet und auf die jeweiligen agronomischen Konzepte abgestimmt werden.

Neue Techniken der Pflanzenzucht nutzen Gentechnik in der Art, dass in dem für den Anbau vorgesehenen Produkt keinerlei gentechnische Veränderung mehr zu erkennen ist. Gemäss den EU-Richtlinien sind Produkte aus diesen neuen Techniken keine GVO. Dies ist künftig bei der Beurteilung von Freisetzungsgesuchen durch die Behörden und bei der Warendeklaration zu berücksichtigen.

Angesichts der vielfältigen Nutzungsmöglichkeiten der neuen Techniken erscheint es sinnvoll, vor ihrer Anwendung eine öffentliche Erläuterung der wissenschaftlichen Grundlagen und der Vorteile und eine Erklärung zu den gesetzgeberischen Rahmenbedingungen vorzuschicken. Dies würde die Akzeptanz fördern. Andernfalls könnten Vorbehalte, nicht zuletzt wegen vermeintlicher oder tatsächlicher Nähe zur Gentechnik, die züchterisch ausgezeichneten Perspektiven dieser Techniken deutlich begrenzen.

Die moderne Pflanzenzüchtung hat sich in den letzten Jahren rasant weiterentwickelt. Es sind heute gentechnisch veränderte Nutzpflanzen mit mehreren kombinierten neuen Merkmalen verfügbar. Deren Einsatz gewinnt an Bedeutung. Ausgehend von den für die Schweiz relevanten Berechnungsgrundlagen würde eine kombinierte Herbizid- und Krankheitsresistenz zu einer deutlich besseren Wirtschaftlichkeit von GVP führen. Die Einschätzung der wirtschaftlichen Bedeutung von GVP für die Schweiz sollte in Zukunft anhand neu entwickelter Pflanzen mit kombinierten und neuen Eigenschaften beurteilt werden.

LITERATUR

- [1] Kuzma, J., Kokotovich, A. (2011) Renegotiating GM crop regulation. *EMBO Reports* 12, 883-888.
- [2] Official Journal of the European Communities (1990) Council Directive 90/219/EC on the contained use of genetically modified micro-organisms. *OJ L* 117, 1-14.
- [3] Official Journal of the European Communities (2001) Council Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing. *OJ L* 106, 1-39.
- [4] Simon, P., Cannata, F., Concordet, J.P., Giovannangeli, C. (2008) Targeting DNA with triplex-forming oligonucleotides to modify gene sequence. *Biochimie* 90, 1109-1116.
- [5] Storici, F. (2008) RNA-mediated DNA modifications and RNA-templated DNA repair. *Curr Opin Molec Therapeutics* 10, 224-230.
- [6] Urnov, F.D., Rebar, E.J., Holmes, M.C., Zhang, H.S., Gregory, P.D. (2010) Genome editing with engineered zinc finger nucleases. *Nat Rev Genet* 11, 636-646.
- [7] ZKBS (2011) Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zur Verwendung der Zinkfinger-Nuklease-Technik 1 (ZFN-1). *Az.* 6790-10-103.

- [8] Jacobsen, E., Schouten, H.J. (2007) Cisgenesis strongly improves introgression breeding and induced translocation breeding of plants. *Trends Biotechnol* 25, 219-223.
- [9] Rommens, C.M. (2007) Intragenic crop improvement: combining the benefits of traditional breeding and genetic engineering. *J Agric Food Chem.* 55, 4281-4288.
- [10] Vanblaere, T., Szankowski, I., Schaart, J., Schouten, H., Flachowsky, H., Broggini, G.A., Gessler, C. (2011) The development of a cisgenic apple plant. *J Biotechnol* 154, 304-311.
- [11] Baev, V., Naydenov, M., Apostolova, E., Ivanova, D., Doncheva, S., Minkov, I., Yahubyan, G. (2010) Identification of RNA- dependent DNA-methylation regulated promoters in *Arabidopsis*. *Plant Physiol Biochem* 48, 393-400.
- [12] Law, J.A., Jacobsen, S.E. (2010) Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat Rev Genet* 11, 204-220.
- [13] Schmitz, R.J., Zhang, X. (2011) High-throughput approaches for plant epigenomic studies. *Curr Opin Plant Biol* 14, 130-136.
- [14] Ghanem, M.E., Albacete, A., Smigocki, A.C. et al (2011) Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *J Exp Bot* 62, 125-140.
- [15] Stegemann, S., Bock, R. (2009) Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *Science* 324, 649-651.
- [16] Dirks, R., van Dun, K., de Snoo, C.B. et al, (2009) Reverse breeding: a novel breeding approach based on engineered meiosis. *Plant Biotechnol J* 7, 837-845.
- [17] Wijnker, E., van Dun, K., de Snoo, B. et al. (2012) Reverse breeding in *Arabidopsis thaliana* generates homozygous parental lines from a heterozygous plant. *Nat Genet* 44, 467-70.
- [18] Chan, S.W.L. (2010) Chromosome engineering: power tools for plant genetics. *Trends Biotechnol* 28, 605-610.
- [19] Gibson, D.G., Glass, J.I., Lartigue, C. et al (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329, 52-56.