

SONDERDRUCK

aus

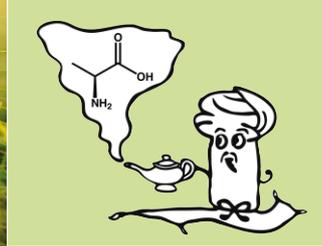
4 | 2021

VBio

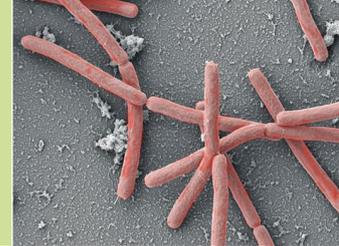
Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland



NACHHALTIGKEIT
Genomeditierte
Lebensmittel



BIOTECHNOLOGIE
Nicht-kanonische
Aminosäuren



**MIKROBE DES
JAHRES**
Methanothermobacter

BIOLOGIE

IN UNSERER ZEIT



Schwarmintelligenz



Foto: Hans Braxmeier.

Genetische Variation gezielt erzeugen und nutzen

Mehr Nachhaltigkeit durch Genomeditierung

STEPHAN CLEMENS

Die Produktion von Nahrungsmitteln gilt global als der wichtigste Treiber für Umweltveränderungen und droht, die Belastungsgrenzen unseres Planeten zu übersteigen. Ein Wandel in Richtung größerer Nachhaltigkeit der Landwirtschaft ist deshalb ein dringliches Ziel. Gleichzeitig muss eine wachsende Weltbevölkerung, deren Ernährungsgewohnheiten sich zudem wandeln, ausreichend mit gesunden Nahrungsmitteln versorgt werden, die z. B. genügend Mikronährstoffe enthalten. Um diese in Konflikt zueinander stehenden Ziele zu erreichen, sind tiefgreifende Veränderungen nötig. Dazu gehört die Nutzung des Innovationspotenzials neuer Züchtungsmethoden.

Die „Planetary Boundaries“, also die planetaren Grenzen, definieren den Rahmen, in dem der Mensch im von ihm geprägten Zeitalter des Anthropozäns die Umwelt verändern kann, ohne die Existenz des Lebens auf der Erde durch irreversible oder katastrophale Veränderungen von Ökosystemen zu gefährden [1]. Planetare Grenzen existieren etwa für die Erhöhung der CO₂-Konzentration der Atmosphäre, die Emission von Stickstoff und Phosphor, die Landnutzung für die Produktion von Nahrungsmitteln, den Frischwasserverbrauch und den Verlust von Biodiversität. Die Landwirtschaft gilt als der weltweit stärkste Treiber für Umweltveränderungen, welche die planetaren Grenzen belasten [2]. Etwa ein Drittel der für den Treibhauseffekt relevanten Klimagasemissionen geht auf die Landwirtschaft zurück. CO₂ wird bei der Umwandlung von Wäldern in Anbaufläche frei, gedüngte Felder emittieren Stickoxide, Viehzucht und Reisanbau setzen Methan frei. Dazu kommen Emissionen durch den Transport und die Verarbeitung von Nahrungsmitteln. Stickstoff und Phosphor limitieren pflanzliche Produktivität. Deshalb lassen sich durch Düngung erhebliche Ertragsteige-

Die mit einem grünen Pfeil markierten Begriffe werden im Glossar auf Seite 345 erklärt.

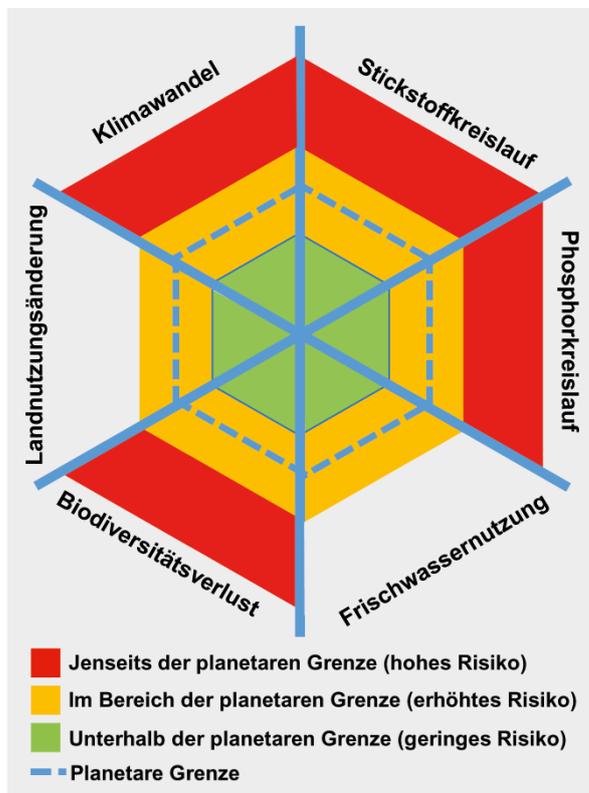


ABB. 1 Die Nahrungsmittelproduktion belastet das System Erde in einigen Bereichen bereits jenseits der planetaren Grenzen. Gezeigt sind sechs Schlüsselprozesse und das Ausmaß der jetzigen Belastung. Die konkreten Zahlen zu planetaren Grenzen und derzeitiger Belastung sind in Tabelle 1 aufgelistet. Planetare Grenzen sind nicht als Umschlagspunkte zu verstehen, sondern befinden sich noch diesseits solcher Schwellen. Die planetaren Grenzen sind als Warnsystem zu verstehen. Sie sind so kalkuliert, dass Gesellschaften noch Zeit zur Reaktion bleibt [1].

IN KÜRZE

- Die Produktion von Nahrungsmitteln überlastet schon heute in einigen Schlüsselprozessen wie dem **Eintrag von Stickstoff und Phosphat** die planetaren Grenzen, innerhalb derer ein Überleben des Systems Erde möglich ist.
- Die Landwirtschaft muss also **dringend nachhaltiger werden**, gleichzeitig jedoch Ertragsteigerungen erzielen und die Produktivitätsverluste in Folge des Klimawandels ausgleichen.
- Dies kann nur mit **nachhaltiger Intensivierung** gelingen, die alle zur Verfügung stehenden technologischen Möglichkeiten nutzen sollte.
- Pflanzenzüchtung hat schon in vergangenen Jahrzehnten wesentlich zur Steigerung von Erträgen **ohne höheren Flächenverbrauch** beigetragen.
- Züchtung basiert auf der **Nutzung von genetischer Diversität**, die durch neue Methoden wie die **Genomeditierung** gezielt generiert werden kann.
- **Genomeditierung mittels CRISPR-Cas** kann Limitierungen der Züchtung überwinden und so vielfältig zu nachhaltigerer Produktion von Nahrungsmitteln beitragen.

rungen erzielen. Aus demselben Grund hat der Eintrag dieser Makronährstoffe jedoch auch schwerwiegende Konsequenzen für Ökosysteme. Die resultierende ► Eutrophierung verändert z. B. aquatische und marine Habitats stark. Mehr als 70 Prozent des gesamten Frischwasserverbrauchs der Erde wird für die Bewässerung von Feldern aufgewandt, da Pflanzen bei der CO₂-Aufnahme für die Photosynthese Wasser an die Atmosphäre abgeben und Pflanzen auch dort angebaut werden (müssen), wo Niederschlagsmengen nicht ausreichen. Landnutzung für die Nahrungsmittelproduktion gilt als größte Bedrohung für die Biodiversität, da Lebensräume verkleinert oder fragmentiert werden. Zudem ist landwirtschaftliche Produktion mit der Belastung durch Pestizide verbunden.

Planetare Grenzen einhalten

In den letzten Jahren ist vielfach vorgeschlagen worden, die planetaren Grenzen als Orientierung zu nutzen, um „nachhaltige Landwirtschaft“ zu definieren, also eine Landwirtschaft, die im Sinne der 1987 von der Weltkommission für Umwelt und Entwicklung formulierten Definition „den Bedürfnissen der heutigen Generation entspricht, ohne die Möglichkeiten künftiger Generationen zu gefährden, ihre eigenen Bedürfnisse zu befriedigen und ihren Lebensstil zu wählen“. Ein Beispiel hierfür ist die „EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems“ [3]. Abbildung 1 fasst die Ist-Situation und die ermittelten Zielgrößen für eine Nahrungsmittelproduktion innerhalb der planetaren Grenzen zusammen. Notwendigerweise werden Intervalle angegeben (Tabelle 1), da natürliche Schwankungen existieren und wissenschaftliche Restunsicherheiten bleiben. Deutlich wird jedoch, dass der heutige Einfluss der Nahrungsmittelproduktion die planetaren Grenzen in einigen Bereichen bereits überschreitet. Dies gilt insbesondere für den Eintrag von Stickstoff und Phosphor sowie die Bedrohung der Biodiversität [1]. Eine Erweiterung hat das Konzept in den letzten Jahren noch durch die Idee einer „Planetary Health Diet“ erhalten. Hier wird eine Ernährungsweise gesucht, die auf nachhaltiger Produktion innerhalb der planetaren Grenzen basiert und gleichzeitig gesundheitsförderlich ist [3]. Wesentliche Merkmale sind Vielfalt und ein hoher Anteil pflanzlicher Produkte.

Wichtig ist die Feststellung, dass es sich bei der Orientierung an planetaren Grenzen um eine systemweite Definition handelt. Nachhaltigkeit kann nicht allein auf Ebene des einzelnen Betriebs oder einer Region beurteilt werden. Essentiell ist eine globale Perspektive. Selbst eine Betrachtung der gesamten EU ohne Berücksichtigung der Lebensmittelimporte ist unzureichend. Erste Berechnungen haben etwa ergeben, dass eine Umsetzung der „Farm to Fork“-Strategie des „European Green Deal“ nicht unbedingt zu mehr Nachhaltigkeit führen wird, obwohl dies ein ausdrückliches Ziel der Agenda ist. Innerhalb der EU wird z. B. nur ein geringerer Teil der in der EU konsumierten Pflanzöle produziert. Eine weitere Reduktion der Produktion

TAB 1. PLANETARE GRENZEN FÜR SECHS DURCH DIE PRODUKTION VON NAHRUNGSMITTELN STARK BELASTETE SCHLÜSSELPROZESSE DES SYSTEMS ERDE

	Kontrollvariable	Planetare Grenze (Unsicherheit)	Ist-Zustand
Klimawandel	Klimagasemissionen	5 Gigatonnen (Gt) CO ₂ -Äquivalente (4,7–5,4)	8,5–13,7 Gt CO ₂ -Äquivalente
Stickstoffkreislauf	Stickstoffeintrag	62 Teragramm (Tg) N pro Jahr (62–82)	~150 Tg N pro Jahr
Phosphorkreislauf	Phosphoreintrag	8 Tg P pro Jahr (6–12)	14,2 Tg P pro Jahr
Frischwassernutzung	Frischwasserverbrauch	2500 km ³ pro Jahr (1000–4000)	2600 km ³ pro Jahr
Biodiversitätsverlust	Aussterberate	10 Artentode pro Million Spezies pro Jahr (1–80)	100–1000 Artentode pro Million Spezies pro Jahr
Landnutzungsänderung	Anbaufläche	13 Millionen km ² (11–15)	12,6 Millionen km ²

Angegeben sind die Kontrollvariablen für die Schlüsselprozesse, planetare Grenzen (in Klammern die durch Lücken in der wissenschaftlichen Erkenntnis oder natürliche Schwankungen anzunehmende Spanne) sowie die derzeitige Belastung. Die Zahlen stammen aus [3], ergänzt durch [1].

in Europa wird basierend auf den existierenden Trends zu einer entsprechenden Erhöhung des Flächenverbrauchs in Südamerika und Asien führen [4]. Dieser könnte wegen geringerer Produktivität sogar höher ausfallen als die in Europa eingesparte Fläche. Ähnliche Zusammenhänge existieren für weitere Produktgruppen.

Ziele für nachhaltige Entwicklung

Der notwendige Übergang zu nachhaltigerer Produktion von Nahrungsmitteln innerhalb der planetaren Grenzen ist schon auf dem heutigen Ertragsniveau eine enorme Herausforderung, die eine Vielzahl von Anpassungen erfordert (Abbildung 1). Noch schwieriger wird die Aufgabe dadurch, dass auch nachhaltige Entwicklung unabdingbar ist und die Weltbevölkerung bis zum Jahr 2050 auf etwa 10 Milliarden anwachsen wird. Das zweite der von allen Mitgliedsstaaten der UN im Jahre 2015 anerkannten Ziele für nachhaltige Entwicklung („Sustainable Development Goals“, SDGs) lautet „Kein Hunger“. Nach aktuellen Schätzungen sind trotz beachtlicher Fortschritte in den letzten Jahrzehnten weltweit etwa 800 Millionen Menschen unzureichend mit Kalorien versorgt, und die Erreichung des Ziels bis 2030 gilt derzeit als nicht wahrscheinlich [5]. Hunger hat sicher viele Ursachen, doch tritt er vorwiegend in Regionen mit geringer landwirtschaftlicher Produktivität auf. Dies illustriert die Notwendigkeit der Steigerung landwirtschaftlicher Erträge. Noch verbreiteter als Unterernährung ist Mangelernährung. Wahrscheinlich sind mehr als 2 Milliarden Menschen unzureichend mit Mikronährstoffen versorgt [5]. Im Sinne des dritten Zieles für nachhaltige Entwicklung – „Gesundheit und Wohlergehen“ – müssen deshalb nicht nur Erträge erhöht werden, sondern auch die Qualität von Nahrungsmitteln. Notwendig ist „nutritional yield“ [6], also eine Produktion, die auch auf optimale Gehalte, z. B. der Spurenelemente Eisen und Zink, abzielt.

Zur Erreichung der SDGs sind deshalb von 2005 gerechnet bis 2050 Ertragsteigerungen von 100–110 Prozent erforderlich [7]. Die notwendigen Ertragssteigerungen könnten allerdings deutlich geringer ausfallen, wenn sich die Ernährungsgewohnheiten der Menschen hin zu einer gesünderen, vorwiegend auf pflanzlichen Produkten basierenden Diät in größerem Maßstab verändern würden. Dies ist jedoch global gesehen in den kommenden Jahr-

zehnten nicht zu erwarten. Projektionen sagen noch für lange Zeit einen Trend in Richtung steigenden Konsums tierischer Produkte voraus. Es muss also erheblich mehr produziert werden, bei maximal gleichbleibender Anbaufläche und deutlicher Verringerung des Ressourcenverbrauchs. Diese immense Herausforderung wird dadurch noch größer, dass der Klimawandel global gesehen nach allen vorliegenden Modellierungen und auch biologisch plausibel zu Ertragseinbußen führen wird [8]. Rapide Veränderungen von Temperaturen und Niederschlagshäufigkeiten werden den Stress für Nutzpflanzen zwangsläufig erhöhen und damit in vielen Regionen der Erde Erträge mindern.

In der Wissenschaft herrscht weitgehende Einigkeit darüber, dass die notwendige Balance zwischen Ertrag und Umweltschonung nur durch die Kombination einer Vielzahl verschiedener Strategien und Maßnahmen erreicht werden kann [9]. Eine einfache Umstellung der Produktionsweise, wie zum Beispiel der häufig geforderte Umstieg auf organische Landwirtschaft, reicht bei weitem nicht aus. Die vorliegenden quantitativen Analysen zeigen für den Vergleich der konventionellen mit der organischen Landwirtschaft, dass beide Ansätze Vor- und Nachteile in Bezug auf Nachhaltigkeit aufweisen. Eine ► Metaanalyse von Clark und Tilman [10] für mehrere Hundert landwirtschaftliche Systeme und 70 verschiedene Produktgruppen zeigte, dass der Flächenverbrauch organischer Landwirtschaft für alle Produktgruppen höher ist und für einige auch das Eutrophierungspotenzial, während der Energieeinsatz geringer ist. Notwendig ist eine nachhaltige Intensivierung, um die Erhöhung der landwirtschaftlichen Produktion bei gleichzeitiger Verringerung des ökologischen Fußabdrucks zu erreichen [2]. Elemente einer nachhaltigen Intensivierung sollten die Nutzung agrarökologischer Erkenntnisse und besseres Management sein – ebenso wie technologische Fortschritte. Zu letzteren gehört, neben beispielsweise der Informations- und Kommunikationstechnologie für das ► Smart Farming, die Nutzung des Innovationspotenzials der Pflanzenzüchtung, ohne die eine angemessene Antwort auf die geschilderten Herausforderungen kaum vorstellbar ist [9]. Dies gilt umso mehr, als die Folgen des Klimawandels eine deutlich beschleunigte Entwicklung angepasster Sorten verlangen. Zudem können

züchterische Innovationen, anders als etwa ausgefeilte Sensortechnologie für das Smart Farming, auch ohne komplexe Infrastruktur und unter kleinbäuerlichen Bedingungen nutzbar gemacht werden.

Pflanzenzüchtung und Domestizierung

In den Jahrzehnten seit dem 2. Weltkrieg sind enorme Ertragssteigerungen erzielt worden. Die „Grüne Revolution“ hat eine Verdreifachung der Erträge bei nur um ca. 30 Prozent erhöhtem Flächenbedarf erreicht. In erster Linie haben dazu die wichtigsten Nahrungspflanzen Weizen, Reis und Mais beigetragen. Neben Faktoren wie verbesserter Düngung, chemischem Pflanzenschutz, Bewässerung oder Mechanisierung haben vor allem Innovationen in der Pflanzenzüchtung zu diesen Erfolgen geführt [9]. Nach Schätzungen waren sie für bis zu 50 Prozent der Produktivitätsgewinne verantwortlich, und so lässt sich erklären, dass Norman Borlaug, einer der wichtigsten Weizenzüchter, für seine Verdienste um die Ernährungssicherheit von Millionen Menschen 1970 mit dem Friedensnobelpreis ausgezeichnet wurde. Einige der großen züchterischen Erfolge sind inzwischen auch im molekularen Detail nachvollziehbar. Zu den wichtigsten Eigenschaften von Weizen- und Reissorten der Grünen Revolution zählt die Zwergwüchsigkeit. Die, verglichen mit traditionellen Sorten, deutlich geringere Größe dieser Pflanzen verringert das Risiko des Umknickens und erhöht den Anteil der Körner am Gesamtgewicht der Pflanze. Wir wissen heute, dass subtile Veränderungen in Synthese oder Signaltransduktion des Pflanzenhormons Gibberellinsäure (GA) hinter dieser Wuchsform stecken. Gibberellinsäure stimuliert das Streckungswachstum von Pflanzen. Die Züchtung hat Genvarianten genutzt, von denen die molekulare Forschung gezeigt hat, dass sie für die verstärkte Aktivität von DELLA-Proteinen sorgen. Dies sind Repressoren der GA-Antwort, die folglich das Streckungswachstum bremsen. Solche Genvarianten, deren genaue Natur damals noch nicht bekannt sein konnte, haben die Überlebenswahrscheinlichkeit und den Lebensstandard von vielen Millionen Menschen erhöht.

Bereits vor den Erfolgen der Pflanzenzüchtung in den vergangenen Jahrzehnten hat der Mensch durch die Selektion von zufälligen Mutationen einige Arten domestiziert, d. h. zu Kulturpflanzen gemacht, und eine allmähliche, wenn auch langsame und ungeplante Anpassung an seine Bedürfnisse erreicht. Dieser Prozess begann vor etwa 12.000 Jahren nach dem Ende der letzten Eiszeit. Dank faszinierender Fortschritte der molekulargenetischen Forschung kennen wir heute einige der zugrundeliegenden Mutationen im Detail. Unsere Getreidesorten zeigen z. B. einen Verlust der natürlichen Samenausbreitung. Ein Wildgras wirft die Körner ab und sorgt damit für die Verbreitung des Nachwuchses. Die Kulturgräser halten ihre Körner fest, was biologisch nicht sinnvoll, aber gut für die Ernte ist. Eine der dafür nötigen, selektierten Mutationen im Reis ist bekannt: Ein Basenaustausch im Genlokus *sb4* sorgt für die Veränderung einer Aminosäure des kodierten Proteins. Dieses ist wichtig für die Ausbildung einer Trennschicht als Sollbruchstelle für den Samenabwurf. Die Mutation führt zu eingeschränkter Funktion dieses Proteins [11]. Analoge genetische Veränderungen sind parallel auch in Hirse und Mais aufgetreten. Eine weitere typische Eigenschaft von Kulturpflanzen ist der zumindest teilweise Verlust von Bitterstoffen. Wilde Mandeln akkumulieren große Mengen cyanogener Glykoside, die bei Abbau hochtoxische Blausäure freisetzen. Der Mensch hat Mandeln mit weniger Bitterstoffen selektiert. Eine der verantwortlichen Mutationen verändert eine einzige Base in einem Gen für einen ▶ Transkriptionsfaktor, mit der Folge, dass zwei für die Biosynthese der cyanogenen Glykoside wichtige Gene nicht mehr aktiviert werden [12]. Diese Beispiele zeigen, dass durch einzelne Basenaustausche Eigenschaften verändert werden können.

Genetische Variation ermöglicht also die Selektion von für den Menschen günstigen Eigenschaften. Das Ausmaß der genetischen Variation ist damit ein limitierender Faktor für die Möglichkeiten der Züchtung und ist durch Domestikation und Züchtung notwendigerweise kleiner geworden, da immer nur bestimmte Genotypen weitervermehrt wurden (Abbildung 2). Um die genetische Variation zu erhöhen, ist deshalb über Jahrzehnte Mutationszüchtung betrieben worden. Arbeiten mit der Fruchtfliege *Drosophila* hatten gezeigt, dass energiereiche, ionisierende Strahlung zu Mutationen führt. Deshalb wird die radioaktive Bestrahlung von Nutzpflanzen dazu genutzt, ungerichtete Mutationen zu erzeugen und so die genetische Variation zu erhöhen. Sehr viele der heute in Europa angebauten Gerstesorten gehen beispielsweise auf mutagenisierte Linien zurück. Ein Beispiel für das Erbe dieser Mutagenese, eine 141 Mb große Inversion in Chromosom 7H, ist gerade erst durch die Sequenzierung vieler Gerstengenome detektiert worden [13]. Etwa ein Viertel des gesamten Chromosoms ist damit in vielen der kommerziell bedeutenden Sorten in Europa invertiert, was eine große genomische Veränderung darstellt.

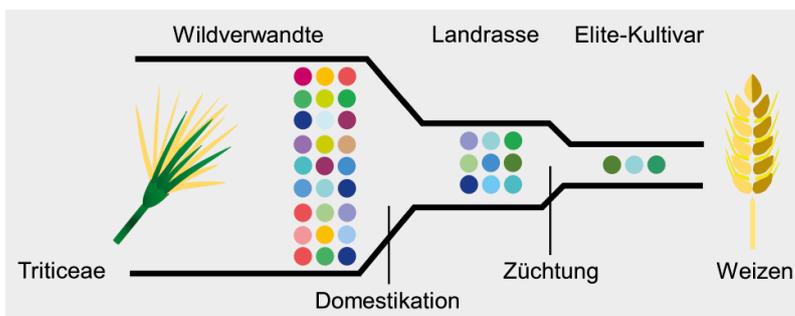


ABB. 2 Verlust genetischer Diversität in Kulturpflanzen. Nur ein Teil der allelischen Variation (symbolisiert durch die farbigen Kreise) in Wild-Populationen der Vorläuferarten heutiger Kulturpflanzen ist in Landrassen präsent. Die Züchtung konnte dann wiederum nur einen Teil der vorhandenen genetischen Diversität für die Entwicklung der heutigen Elite-Kultivare nutzen. Modifiziert nach [19].

Gezielte Erzeugung genetischer Variation durch CRISPR-Cas

Neue Züchtungsmethoden sind nicht mehr auf zufällig auftretende Mutationen angewiesen, sondern können diese gezielt und damit auch sehr spezifisch und begrenzt erzeugen. Damit wird die Überwindung grundsätzlicher Limitationen für die Züchtung von Pflanzen möglich. Gerade die im November 2020 mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichnete Methode der Genomeditierung mittels CRISPR-Cas eröffnet völlig neue Perspektiven. Das Prinzip der Methode basiert darauf, dass die Nuklease Cas9 – durch eine „Guide-RNA“ geleitet – spezifisch an einer Stelle im Genom einen Doppelstrangbruch erzeugt (Abbildung 3). Dieser wird durch die zelleigenen DNA-Reparatursysteme korrigiert. Dabei kommt es beim sogenannten „non-homologous end joining“ häufig zum Verlust oder der Insertion einzelner DNA-Basen. Wenn der Doppelstrangbruch in einer kodierenden Sequenz gesetzt wurde, ist dann meist ein Funktionsverlust des betreffenden Gens die Folge. Erfolgt die Reparatur durch „homology-directed repair“ in Gegenwart einer Vorlage (eines Templates), können auch kurze Sequenzabschnitte eingefügt oder editiert werden. Seit der ersten Veröffentlichung der Methode im Jahre 2012 hat ein rasanter Prozess der Nutzung wie auch der methodischen Weiterentwicklung eingesetzt. Immer neue Abwandlungen werden veröffentlicht, die das

Repertoire erweitern. Beispielsweise erlauben das Base Editing und das Prime Editing die gezielte Editierung einzelner Basen [14] (Abbildung 3).

Für die Genomeditierung müssen RNAs und Enzyme in Zellen eingebracht werden. Dies erfolgt entweder dadurch, dass ein DNA-Konstrukt mit der Information für Proteine und Guide-RNA durch herkömmliche Transformation in Pflanzen eingeschleust wird. Nach erfolgter Editierung kann das Konstrukt sehr einfach durch Selbstung oder Kreuzung aus den Nachkommen entfernt werden. Ganz ohne zwischenzeitliche Integration fremder DNA kommt die Technik aus, wenn entweder RNA oder Ribonukleoprotein-Partikel (Komplexe aus RNA und Proteinen) in eine einzelne Pflanzenzelle gebracht werden und aus der Zelle mit editiertem Genom *in vitro* eine ganze Pflanze regeneriert wird [14].

Schon die ersten Anwendungen der noch sehr jungen Technologie für gerichtete, kontrollierte und evidenzbasierte Mutagenese haben gezeigt, dass züchterische Erfolge im Sinne größerer Nachhaltigkeit der Nahrungsmittelproduktion erzielt werden können. Eine in der Gersteszüchtung seit Jahrzehnten genutzte Mutation betrifft den *Mlo*-Lokus und verleiht Resistenz gegen Mehltau. Die Resistenz verleihende Genvariante ist inaktiv und wurde zuerst in einer Landrasse in Äthiopien entdeckt. Das *Mlo*-Protein ermöglicht Mehltauinfektionen. Deshalb ist ein Verlust

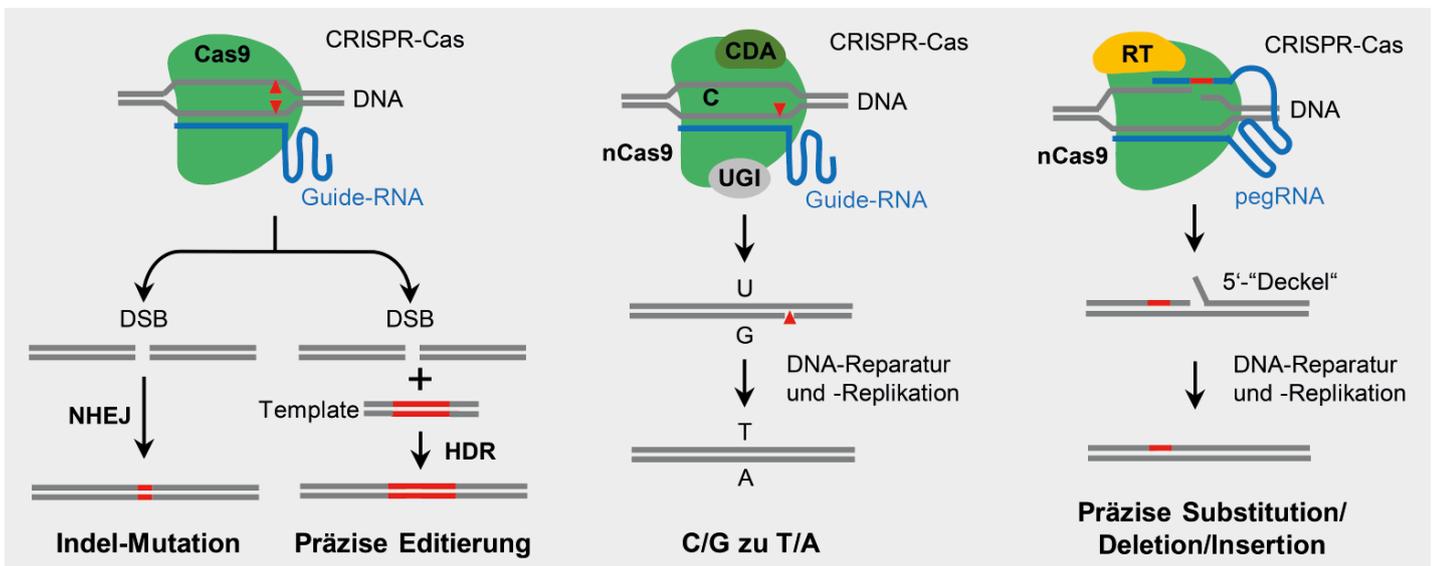


ABB. 3 Methoden der Genomeditierung mittels CRISPR-Cas. Links: Die Nuklease Cas9 verursacht spezifisch an einer Stelle im Genom einen Doppelstrangbruch (DSB). Die Programmierung erfolgt durch die Sequenz der Guide-RNA und die RNA-DNA-Basenpaarung. Der entstandene DSB wird durch eines von zwei zellulären Systemen repariert. Im Ergebnis bleibt nach dem „Non-Homologous End Joining“ (NHEJ) meist eine kurze Insertion oder Deletion zurück (Indel, alle Veränderungen der DNA sind rot hervorgehoben). „Homology-directed Repair“ (HDR) in Gegenwart einer von außen eingebrachten Vorlage (Template) kann zur gezielten Editierung genutzt werden. Mitte: Ein mutiertes Cas9-Protein (nCas9) wird beim Base Editing eingesetzt. Durch nCas9 wird nur ein Einzelstrang geschnitten. Eine fusionierte Cytidin-Deaminase (CDA, wie hier gezeigt) oder eine Adenin-Deaminase wandeln dann, unterstützt durch den Uracil-DNA-Glycosylase-Inhibitor (UGI), Cytosin/Guanin in Thymin/Adenin um, bzw. Adenin/Thymin in Guanin/Cytosin. Rechts: Für das Prime Editing ist nCas9 mit einer reversen Transkriptase fusioniert. Die „prime editing guide RNA“ (pegRNA) ist eine modifizierte Guide-RNA, die zusätzlich eine Primer-Bindungsstelle und eine Vorlage für die Reverse Transkriptase trägt. Mittels Reverser Transkription wird die RNA-Vorlage in DNA umgeschrieben. Der entstehende 5'-"Deckel" wird dann durch DNA-Reparaturmechanismen Teil des Genoms. Durch Prime Editing können präzise Editierungen, Insertionen und Deletionen erzeugt werden.

der Genfunktion vorteilhaft, und die entsprechende Genvariante wird seit Jahrzehnten in der Züchtung genutzt. Eine analoge Mlo-Inaktivierung kann auch in anderen Pflanzenarten Mehlauresistenz hervorbringen. Das zufällige Auftreten einer solchen Mutation im Kulturweizen ist jedoch unwahrscheinlich, da im hexaploiden Genom insgesamt 6 Allele inaktiviert werden müssten. Mittels CRISPR-Cas lässt sich eine solche Veränderung jedoch gezielt herbeiführen, und die komplette Inaktivierung aller Mlo-Allele führt tatsächlich zu Mehlauresistenz [15].

Resistenz gegenüber einem wichtigen Krankheitserreger ist auch im Reis erreicht worden. Die Weißblättrigkeit („Bacterial Blight“) beim Reis wird durch *Xanthomonas oryzae* ausgelöst. Wie alle mikrobiellen Pathogene nutzt dieses Bakterium Effektoren, die den Stoffwechsel und das Immunsystem der Wirtspflanzen stören. Eine Klasse von Effektoren aktiviert in Pflanzenzellen Gene für Zuckertransporter, die sogenannten SWEET-Proteine. Diese sorgen für einen Export von Saccharose, welche die Bakterien im extrazellulären Raum als Nahrung nutzen. Die Effektoren erzielen ihre Wirkung durch die Bindung an regulatorische Sequenzen der SWEET-Gene. Werden einzelne Basen in den Bindungsstellen durch Genomeditierung modifiziert, erfolgt keine Aktivierung mehr. Zucker werden nicht austransportiert und die Reispflanze entwickelt Resistenz gegen *Xanthomonas oryzae* [16].

Pflanzen mit züchterisch verbesserter Resistenz müssen weniger durch Pestizide geschützt werden. Weitere Beiträge zu mehr Nachhaltigkeit und gesünderer Ernährung im Sinne einer „Planetary Health Diet“ sind bereits absehbar. Eine wünschenswerte, größere Vielfalt der Nahrungsmittel ließe sich fördern, wenn mehr Nutzpflanzen

züchterisch so erschlossen würden, dass sie wie die wichtigsten Arten Weizen, Reis oder Gerste in Gebieten mit sehr unterschiedlichen Klima- oder Bodenbedingungen angebaut werden könnten. Viele sogenannte Orphan Crops werden in Millionen kleinbäuerlicher Haushalte angebaut und haben ein bisher nicht ausreichend genutztes genetisches Potenzial. Ein Beispiel ist Quinoa (*Chenopodium quinoa*). Diese Art hat in den letzten Jahren eine stark gestiegene Nachfrage erfahren, da sie als glutenfreies Pseudogetreide ein günstiges Inhaltsstoffspektrum aufweist. Eine erwünschte und in einigen Sorten ausgeprägte Eigenschaft ist der Verlust der Synthese von Saponinen – für den Menschen schädlichen Bitterstoffen – in der Samenschale (Abbildung 4). Nach der Sequenzierung des Quinoa-Genoms wurde die genetische Grundlage für diese Eigenschaft identifiziert. Ein Basenaustausch oder eine Insertion in einem Gen eines Transkriptionsfaktors verhindern – ähnlich wie im Beispiel der Mandel – die Aktivierung der Synthese [17]. Mit CRISPR-Cas ließe sich eine solche Veränderung sehr schnell in andere Sorten einbringen und damit z. B. die relativ hohe Salztoleranz auch von Quinoa-Sorten, die bisher noch Bitterstoffe bilden, für den Anbau auf ansonsten wenig nutzbarem Land fördern. Dies wäre ein Beitrag zu nachhaltiger Intensivierung.

Eine weitere erwünschte Eigenschaft von Quinoa ist wegen der oben angesprochenen Vorteile die Kleinwüchsigkeit. Hier und in vielen anderen Arten kann eine beschleunigte Domestizierung und Züchtung erreicht werden, indem auf der Basis des heutigen Wissens über entscheidende Genveränderungen in Nutzpflanzen systematisch genetische Variation erzeugt wird, anstatt nur auf die zufällig aufgetretenen Mutationen angewiesen zu sein (Abbildung 5). Für Kleinwüchsigkeit etwa wären Varianten der DELLA-Gene ein vielversprechender Ansatzpunkt [18]. Auch andere Schlüsselgene der Anpassung von Pflanzen an menschliche Bedürfnisse sind bekannt und können systematisch variiert werden. Zum Beispiel zeigen Nutzpflanzen häufig ein verändertes Blühverhalten. Tomaten etwa sind seit dem zufälligen Auftreten der *sp*-Mutante in den 1920er Jahren sehr viel effektiver zu nutzen. Die Abkürzung *sp* steht für „self-pruning“ und meint, dass die mutierten Tomatenpflanzen ein determiniertes Wachstum zeigen, also gleichzeitiges Blühen der Seitensprosse mit entsprechender Fruchtbildung anstelle eines ständigen Wechsels zwischen vegetativen und reproduktiven Phasen [18]. Systematisches Editieren der für Blühregulatoren kodierenden Gene würde in vielen Nutzpflanzen sehr nützliche genetische Variation

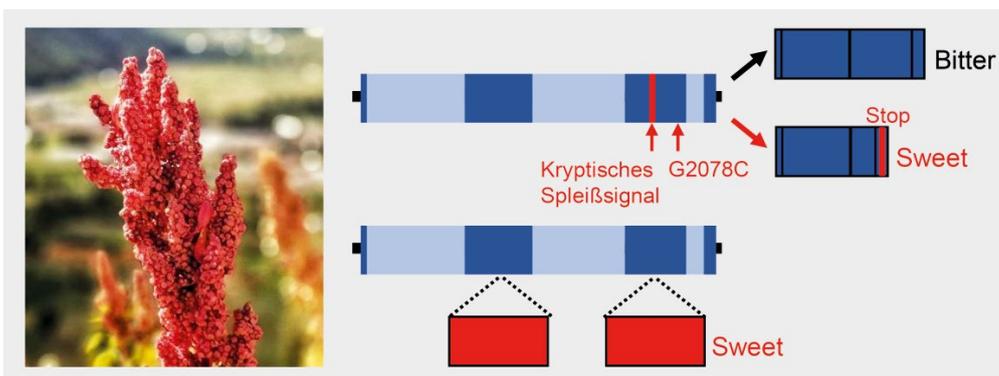


ABB. 4 Durch Genomeditierung können Nutzpflanzen wie Quinoa (*Chenopodium quinoa*) schneller züchterisch entwickelt werden. Im Sinne einer größeren Diversität unserer (pflanzenbasierten) Ernährung ist die Ausweitung des nachhaltigen Anbaus von Orphan Crops wie Quinoa wünschenswert. Wichtig dafür ist der Verlust der Bildung von Saponinen, für den Menschen schädlichen Bitterstoffen, in der Samenschale („sweet quinoa“). Die Genomsequenzierung [17] hat zwei verantwortliche Mutationsereignisse offenbart. Beide betreffen das *TSARL1*-Gen. Dieses kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der die Saponinsynthese in der Samenschale aktiviert. Die eine Mutation führt zu einer durch ein vorzeitiges Stopcodon nicht-funktionalen Spleißvariante, die andere besteht in Exon-Insertionen. Mittels CRISPR-Cas wäre es nun möglich, ähnliche Mutationsereignisse auszulösen und damit die „sweet quinoa“-Eigenschaft ohne die sehr zeitraubende Einkreuzung (Quinoa ist tetraploid) in andere interessante Sorten zu übertragen. Bildquelle: alpakaventas über www.pixabay.com.

erzeugen, aus der Züchter dann selektieren können und so erwünschte genetische Veränderung erreichen.

Schon eine solche gezielte Veränderung einzelner Gene wird also große Vorteile bringen. So werden durch ungerichtete Mutagenese oder die Kreuzung mit Wildverwandten verursachte, unübersehbare und oft nachteilige Veränderungen von Genomen vermieden. Dies spart sehr viel Zeit und hohe Kosten, die mit mehrmaligen Rückkreuzungen und der aufwändigen phänotypischen Charakterisierung von Nachkommen verbunden sind. Feldversuche würden stark reduziert werden können, da ja die aufgetretene genetische Veränderung viel geringer ausfällt und im Idealfall eine einzige DNA-Base betrifft (Abbildung 5).

Die Potenziale der Genomeditierung gehen jedoch weit darüber hinaus. Viele der Limitationen für die klassische Züchtung können überwunden werden. Häufig ist es nahezu unmöglich, günstige Allele verschiedener Gene in einer Sorte zu vereinen, da ein ungünstiges Allel in unmittelbarer Nähe auf einem Chromosom liegt. Das Aufheben

einer solchen Kopplung durch Crossing-over während der Meiose ist extrem unwahrscheinlich. Die gezielte Inaktivierung ungünstiger Allele mittels CRISPR-Cas wird die Nutzung von den Züchtern bereits bekannten günstigen Allelen erleichtern (Abbildung 6). Rezessive Eigenschaften sind in polyploiden Arten kaum zu erreichen. Das oben erwähnte Beispiel Mlo zeigt, dass dies mittels CRISPR-Cas ermöglicht wird.

Auch die viel schwierigere Verbesserung quantitativer, durch zahlreiche Gene beeinflusster Eigenschaften wie der Trockenstresstoleranz oder der Effizienz der Stickstoffnutzung wird sehr von den Möglichkeiten der Genomeditierung profitieren können. Quantitative Eigenschaften sind durch zahlreiche sogenannte „Quantitative Trait Loci“ (QTLs) beeinflusst. Diese leisten jeweils meist nur einen kleinen Beitrag zur gewünschten Eigenschaft. Klassische Züchtung kann QTLs mit geringem Effekt kaum nutzen, da Kreuzungen zu viele unerwünschte genetische Veränderungen einbringen. Dies ist anders, wenn durch Genomeditierung mehrere Loci gleichzeitig verändert werden,

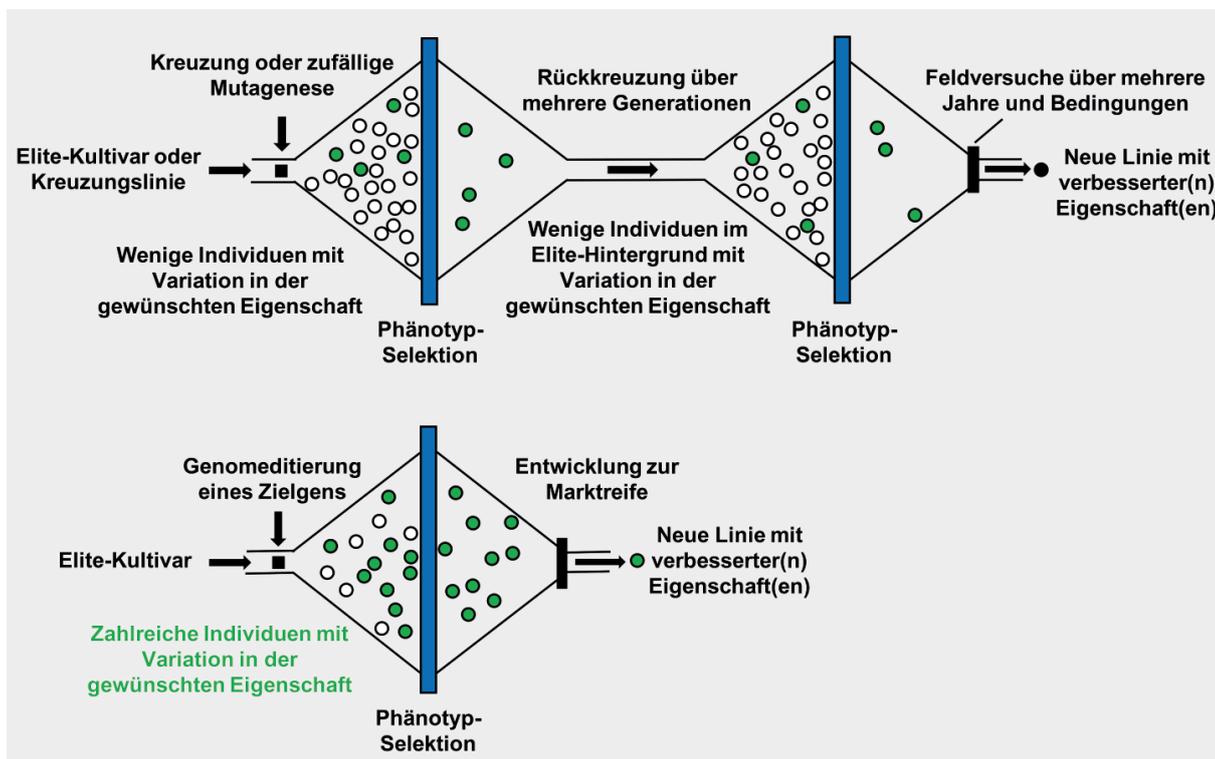


ABB. 5 Die klassische Züchtungsstrategie mit zufälliger Rekombination und Mutation im Vergleich zu einer auf Genomeditierung und gezielter Mutation basierender Strategie. In der klassischen Züchtung (oben) wird genetische Variation durch Rekombination oder Mutagenese mittels physikalischer und chemischer Verfahren erzeugt. Viele der generierten Individuen zeigen keine Variation in gewünschten Eigenschaften (leere Kreise), wenige Individuen zeigen Variation (grüne Kreise). Die Fixierung einer verbesserten Eigenschaft in einem Elite-Kultivar benötigt meist Kreuzungen über mehrere Generationen und das mehrjährige Testen auf zahlreichen Versuchsfeldern, da in jedem Genotyp zahlreiche zufällige genomische Veränderungen vorliegen. Mit Genomeditierung (unten) tragen mehr Individuen einer Population Variation in einem für die gewünschte Eigenschaft wichtigen Gen (z. B. ein den Blühzeitpunkt kontrollierendes Gen). Aufwändige Rückkreuzungen über mehrere Generationen sind für die Fixierung einer gewünschten Eigenschaft nicht erforderlich, da nur eine sehr geringe genetische Veränderung aufgetreten ist. Dies reduziert auch den notwendigen Aufwand für Feldversuche drastisch. Das CRISPR-Cas-Konstrukt kann in einer Generation durch Selbstung oder die Kreuzung mit einem Elter entfernt werden, um transgenfreie Linien zu erhalten. Modifiziert nach [20].

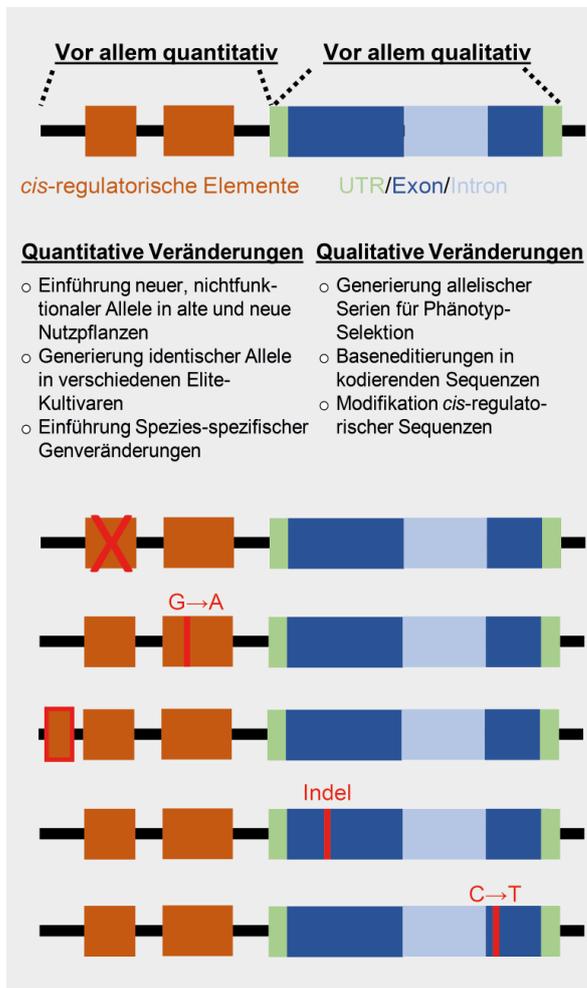


ABB. 6 Gezielte Generierung genetischer Variation durch Genomeditierung. Die mit Abstand häufigste Form genetischer Variation in der Natur besteht aus Polymorphismen einzelner DNA-Basen (Einzelnukleotidpolymorphismen, engl. „Single-nucleotide polymorphisms“, SNPs). Solche Polymorphismen können regulatorische Sequenzen (links) wie auch kodierende Sequenzen (rechts) betreffen. Durch CRISPR-Cas generierte allelische Serien wichtiger Gene, also Serien von Varianten mit verschiedenen Polymorphismen, kann sehr wertvolle Diversität für die Züchtung bereitgestellt werden. Beispiele sind Gene, von denen bekannt ist, dass sie das Blühverhalten oder die Wuchshöhe von Pflanzen beeinflussen. Veränderungen cis-regulatorischer Sequenzen und Introns können die Expression verändern und damit zu schwächeren oder stärkeren Allelen mit quantitativen Effekten führen. Mutationen in proteinkodierenden Sequenzen führen meist zu Funktionsverlust, z. B. wenn das Leseraster durch eine Baseninsertion oder -deletion (Indel) zerstört wird. Solche nicht-funktionalen Allele können wichtige Eigenschaften wie z. B. eine verringerte Synthese von Bitterstoffen oder Resistenz gegen bestimmte Pathogene hervorbringen. Einige CRISPR-Cas-Techniken erlauben das spezifische Editieren einzelner Basen und damit die gezielte Veränderung von Proteineigenschaften (siehe Abbildung 3). Durch die Kombination von Editierungsereignissen können auch komplexe quantitative Eigenschaften verändert werden, die von mehreren Genen beeinflusst werden.

ohne das Genom einer Sorte ansonsten zu verändern. Mit CRISPR-Cas lassen sich mehrere der in Abbildung 6 dargestellten Editierungen kombinieren. Damit können auch komplexere Eigenschaften gezielt verändert werden.

Europa ist allerdings weit davon entfernt, diese Potenziale innovativer Methoden für eine nachhaltigere Produktion gesünderer Nahrungsmittel zu nutzen. Nach bisheriger Rechtslage werden genomeditierte Pflanzen wie transgene Pflanzen behandelt, obwohl sie nach Abschluss der Entwicklung keine fremden Gene enthalten. Deshalb fordern die deutsche wie die europäische Wissenschaft dringend eine evidenzbasierte Regulierung genomeditierter Pflanzen (<https://www.leopoldina.org/publikationen/detailansicht/publication/wege-zu-einer-wissenschaftlich-begrundeten-differenzierten-regulierung-genomeditierter-pflanzen-in/>), die unter anderem berücksichtigt, dass durch CRISPR-Cas erzeugte Mutationen nicht *per se* anders zu beurteilen sind als natürlich aufgetretene oder durch radioaktive Bestrahlung erzeugte unkontrollierte Mutationen. Ein erstes Anzeichen für die geforderte Neubewertung ist die jüngst erfolgte Veröffentlichung einer vom Rat der Europäischen Union in Auftrag gegebenen Studie der EU-Kommission zu „New genomic techniques“ (https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en). In dieser wurde festgestellt, dass die bestehende Regulierung der technischen Entwicklung nicht gerecht wird und die neuen Züchtungsmethoden Beiträge zu mehr Nachhaltigkeit leisten können.

Zusammenfassung

Die Produktion von Nahrungsmitteln belastet wie keine andere menschliche Aktivität die planetaren Grenzen. Emission von Klimagasen wie Methan, von Stickstoff und Phosphor, der Frischwasserverbrauch oder die Bedrohung der Biodiversität gehen zum Teil schon jetzt über diese Grenzen hinaus. Landwirtschaft muss dringend nachhaltiger werden, gleichzeitig jedoch eine Steigerung der Produktion möglichst gesunder Nahrungsmittel erreichen. Damit dies global gelingen kann, ist eine nachhaltige Intensivierung essentiell, die sich auf eine sinnvolle Kombination aller verfügbaren Werkzeuge und Maßnahmen stützt. Zu diesen müssen Innovationen in der Pflanzenzüchtung gehören. Deren Potenzial hat schon die Errungenschaften der letzten Jahrzehnte mit ermöglicht, und dank neuer Züchtungsmethoden wie der Genomeditierung können heute viele Limitationen der klassischen Züchtung überwunden werden. Genetische Variation kann wissenschaftsbasiert erzeugt und genutzt werden, um nachhaltiger bessere Nahrungsmittel zu produzieren.

Summary

Genome editing for more sustainability

Among all human activities, food production causes the largest strain on planetary boundaries. Emission of greenhouse gases such as methane, release of nitrogen and phosphorus, freshwater usage and the threat to biodiversity are

in part already exceeding those boundaries. Agriculture needs to become more sustainable, yet at the same time it has to achieve increases in the production of healthy food. Globally, this can only be accomplished by sustainable intensification, using a smart mix of measures and tools. Among those, innovations in plant breeding have to play a key role. Their potential enabled many of the achievements in past decades. Novel breeding techniques such as genome editing can help overcome many of the limitations inherent to plant breeding. Based on knowledge, genetic variation can be precisely generated and used to produce healthier food in a more sustainable way.

Schlagworte:

Nachhaltigkeit, Lebensmittel, Planetare Grenzen, Genomeditierung.

Danksagung:

Der Autor dankt Ursula Ferrera für Hilfe bei der Erstellung der Abbildungen.

Literatur

- [1] W. Steffen et al. (2015). Sustainability. Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet. *Science*, 347:1259855.
- [2] J. Rockström et al. (2017). Sustainable intensification of agriculture for human prosperity and global sustainability. *Ambio*, 46:4–17.
- [3] W. Willett et al. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*, 393:447–492.
- [4] R. Fuchs et al. (2020). Europe’s Green Deal offshores environmental damage to other nations. *Nature*, 586:671–673.
- [5] FAO The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. doi: 10.4060/CA9692EN.
- [6] R. DeFries et al. (2015). Metrics for land-scarce agriculture. *Science*, 349:238–240.
- [7] D. Tilman et al. (2011). Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *PNAS*, 108:20260–20264.
- [8] T. Wheeler, J von Braun (2013). Climate Change Impacts on Global Food Security. *Science*, 341:508–513.
- [9] M. Qaim (2020). Role of New Plant Breeding Technologies for Food Security and Sustainable Agricultural Development. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 42:129–150.
- [10] M. Clark, D. Tilman (2017). Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. *Environ Res Lett*, 12:064016.
- [11] C. B. Li (2006). Rice domestication by reducing shattering. *Science*, 311:1936–1939.
- [12] R. Sánchez-Pérez et al. (2019). Mutation of a bHLH transcription factor allowed almond domestication. *Science*, 364:1095–1098.
- [13] M. Jayakodi et al. (2020). The barley pan-genome reveals the hidden legacy of mutation breeding. *Nature*, 1–6.
- [14] C. Gao (2021). Genome engineering for crop improvement and future agriculture. *Cell*, 184:1621–1635.
- [15] Y. Wang et al. (2014). Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotech*, 32:947–51.
- [16] R. Oliva et al. (2019). Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. *Nature Biotechnol*, 37:1344–1350.
- [17] D. E. Jarvis et al. (2017). The genome of *Chenopodium quinoa*. *Nature*, 542:307–312.

GLOSSAR

CRISPR-Cas: Diese wichtigste Methode der Genomeditierung ist durch die Untersuchung von Sequenzen in Bakteriengenomen (CRISPR, „clustered regularly interspaced short palindromic repeats“) entdeckt worden. Die CRISPR-Sequenzen kodieren für RNA-Moleküle, die die Nuklease Cas an eine Stelle im Genom leiten, wo letztere spezifisch DNA-Doppelstrangbrüche setzt. In der Anwendung wird Cas durch maßgeschneiderte Guide-RNAs geleitet (siehe Abbildung 3).

Eutrophierung: Ein Überangebot an Nährstoffen wie Phosphor und Stickstoff; dieses löst in Gewässern vermehrtes Algen- und Pflanzenwachstum aus. Nach deren Absterben werden die Nährstoffe unter O₂-Verbrauch bakteriell abgebaut, wodurch O₂-Mangel auftreten kann.

Metaanalyse: Eine quantitativ-statistische Zusammenfassung von wissenschaftlichen Arbeiten zu einem Thema.

„Quantitative Trait Loci“ (QTL): Die meisten Eigenschaften, in denen sich Organismen einer Art unterscheiden können, sind quantitativer Natur, d. h. von zahlreichen Genen und Umweltfaktoren beeinflusst. QTL bezeichnet einen genetischen Locus, der einen Beitrag zur Ausprägung einer Eigenschaft leistet, diese jedoch nicht vollständig erklärt.

Reverse Transkriptase: Ein in Retroviren entdecktes Enzym, das RNA in DNA umschreiben kann; ein essenzielles Werkzeug der Molekularbiologie.

Selbstung: (Gezielt herbeigeführte) Selbstbefruchtung einer Pflanze.

Smart Farming: Der Einsatz von moderner Informations- und Kommunikationstechnologie in der Landwirtschaft.

Transkriptionsfaktor: Ein Protein, das die Aktivität von Genen durch direkte Interaktion mit regulatorischen Abschnitten (cis-regulatorischen Sequenzen) kontrolliert. Die Bindung von Transkriptionsfaktoren ist die Voraussetzung für die Rekrutierung der RNA-Polymerase, die dann eine mRNA synthetisiert.

- [18] Y. Eshed, Z. B. Lippman (2019). Revolutions in agriculture chart a course for targeted breeding of old and new crops. *Science*, 366:eaax0025.
- [19] M. W. Bevan et al. (2017). Genomic innovation for crop improvement. *Nature*, 543:346–354.
- [20] A. Scheben, D. Edwards (2018). Towards a more predictable plant breeding pipeline with CRISPR/Cas-induced allelic series to optimize quantitative and qualitative traits. *Current Opinion in Plant Biology*, 45:218–225.

Verfasst von:



Stephan Clemens studierte Biologie in Münster und Brighton (UK). Nach der Promotion in Münster war er als Wissenschaftler an der University of California San Diego tätig, danach als Arbeitsgruppenleiter am Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie in Halle/Saale. Seit 2006 ist er Professor für Pflanzenphysiologie an der Universität Bayreuth, seit 2018 Gründungsdekan der neuen Fakultät für „Lebenswissenschaften: Lebensmittel, Ernährung und Gesundheit“, die in Kulmbach aufgebaut wird.

Korrespondenz:

Prof. Dr. Stephan Clemens
Lehrstuhl Pflanzenphysiologie
Universität Bayreuth
Universitätsstraße 30
95440 Bayreuth
Email: stephan.clemens@uni-bayreuth.de



Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM
FÜR DIE**

BIEWISSENSCHAFTEN

Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



www.vbio.de

Jetzt beitreten!

