

SONDERHEFT
2024

VBio

Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**MATERIAL-
FORSCHUNG**
Gesteinsbesiedelnde
Pilze

PFLANZENGENETIK
Genomsequenzen
sichtbar machen

EXPERIMENT
Pauline und die
Ausreißer

BIOLOGIE

IN UNSERER ZEIT

CRISPR-Cas

... mehr als nur
Verteidigung

Gentechnik und neue genomische Techniken in der Pflanzenzüchtung

Wie geht es weiter mit CRISPR-Cas in der EU?

KLAUS-DIETER JANY

ABB. 1 In Großbritannien wurde Püree der gentechnisch veränderten Flavr-Savr™-Tomate in Dosen vertrieben.



Die Landwirtschaft steht vor vielen Herausforderungen. Bedeutsam sind eine wachsende Weltbevölkerung, die Verknappung von Ackerland und die Risiken im Zusammenhang mit dem Klimawandel sowie der Verlust der biologischen Artenvielfalt. Die Pflanzenzüchtung hat sich stets den ändernden Bedingungen und Anforderungen gestellt und neue Verfahren zur Anpassung von Pflanzen in ihre Züchtungsverfahren aufgenommen. Hier zeichnet sich ein stetiges Kontinuum ab. Die neuesten Verfahren für Änderungen der genetischen Information sind die neuen genomischen Techniken (NGT). In vielen Ländern stehen bereits genomeditierte Pflanzen in der „Erprobung“ und die Ergebnisse sind vielversprechend für Lösungen der anstehenden Probleme. Ob es in der Europäischen Union zu praktischen Anwendungen kommen wird, hängt unter anderem weitgehend von der gesetzlichen Regulierung genomischer Techniken ab.

Die Gentechnik stellt eine Querschnittstechnik dar, die seit 1990 weite Bereiche der Medizin, Chemie, Landwirtschaft, Lebensmittelproduktion und des Umweltschutzes nachhaltig beeinflusst. Der Ausdruck „Gentechnik“ löst je nach Anwendungsbereich bei den Menschen sehr unterschiedliche Reaktionen aus. Im medizinischen Bereich wird die Gentechnik seit der Einführung von humanem Insulin, dem Faktor VIII und anderer gentechnisch hergestellter Medikamente positiv bewertet und ist weitgehend akzeptiert. Gentechnik wird als Fortschritt in der Gesundheitsvorsorge bis hin zur Bereitstellung von genomeditierten Organen für Transplantationen gesehen. Ein großer Anteil an verarbeiteten Lebensmitteln ist mit der Gentechnik in Berührung gekommen, aber ist selbst nicht gentechnisch verändert worden. In diesem Bereich sind Anwendungen der Gentechnik weitgehend unbekannt und werden daher auch kaum thematisiert. Im Gegensatz dazu werden Anwendungen der Gentechnik in der Landwirtschaft und beim Umweltschutz seit mehr als 30 Jahren emotional und kontrovers diskutiert. Befürworter sehen hier Möglichkeiten für eine nachhaltigere Landwirtschaft, den Herausforderungen des Klimawandels zu begegnen und zur Ernährungssicherheit beizutragen, während Kritiker mit der Gentechnik das Ende der konventionellen und insbesondere ökologischen und gentechnikfreien Landwirtschaft, die großflächige Einführung von pestizidtoleranten Pflanzen, negative Auswirkungen auf die Biodiversität sowie eine Monopolisierung der Pflanzenzüchtung befürchten. Generell sehen sie unberechenbare Risiken für Mensch und Umwelt.

Die Argumente für oder gegen Gentechnik haben sich im Laufe der Zeit kaum geändert, wohl aber die wissenschaftlichen Erkenntnisse über Struktur und Funktion von Genen sowie die Verfahren für genetische Veränderungen von Organismen, die sich in den letzten 30 Jahren fortentwickelt haben und in ihrem Ergebnis immer präziser wurden – von der induzierten Zufallsmutagenese durch ionisierte Strahlen oder mutagene Chemikalien über die ungerichtete Einführung funktioneller Gene bis hin zu gezielten sequenzspezifischen Änderungen im Genom. Letztere Verfahren werden unter dem Begriff „neue genomische Techniken“ (NGT) summiert. Bekannter sind hierfür auch

die Begriffe CRISPR-Cas (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated protein (Cas)*) und TALEN (*transcription activator-like effector nuclease*) bzw. Genscheren.

Gentechnik und neue genomische Techniken

Bei der induzierten Zufallsmutagenese sind die genetischen Veränderungen nicht vorhersehbar und die Änderungen auf der molekularen Ebene sind nicht gezielt ausgerichtet. Hunderte von Mutationen treten auf. Mit einem *trial and error*-Ansatz und Wissen findet der Züchter die für ihn interessanten Pflanzen heraus und züchtet sie über Rückkreuzungen weiter. Trotz der vielen (unbekannten) Mutationen haben die letzten acht Jahrzehnte im Umgang mit solchen mutierten und zugelassenen Pflanzen gezeigt, dass von ihnen im Vergleich zu Pflanzen aus traditionellen Kreuzungszüchtungen keine besonderen oder andersartigen Risiken für Mensch, Tier und Umwelt ausgehen. Gegenwärtig sind etwa 3200 Sorten für 200 Pflanzenvarietäten, die aus der induzierten Zufallsmutagenese hervorgegangen sind, in der Datenbank der Internationalen Atomenergie-Organisation (IAEO) [1] registriert. Allerdings dürfte die Dunkelzahl an zufallsmutierten Pflanzen viel höher sein, da Pflanzenmaterialien aus dem *atomic garden*-Kulturareal, auf dem Pflanzen Gammastrahlen (Cobalt-60) ausgesetzt werden, um Mutationen zu erzeugen, an Hobbyzüchter und Züchterunternehmen zur Weiterzüchtung frei abgegeben wurden. Darunter befinden sich z. B. Durum-Weizen, Gerste, Hafer, Reis sowie viele Gemüse und Obstarten. Nach dem Urteil des Europäischen Gerichtshofs (EuGH) C-258/16 vom Juli 2018 [2] sind diese Pflanzen zwar gentechnisch veränderte (gv)-Organismen (GVO), aber sie sind entsprechend der Ausnahmeregelung in der Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EC [3] von den Regularien der Gentechnikgesetzgebung ausgenommen. Diese GMO dürfen auch im ökologischen Landbau verwendet werden.

Mit den Erkenntnissen aus dem natürlichen Gentransfer mit dem Bakterium *Agrobacterium tumefaciens* wurde es möglich, intakte funktionsfähige Gene (bzw. synthetische Genkonstrukte) in Pflanzen zu transferieren. Diese Verfahren aus der klassischen Gentechnik wurden seit 1990 genutzt, um Pflanzen mit neuen genetischen Eigenschaften wie z. B. Herbizidtoleranz oder Insektenresistenz auszustatten. In der Regel wurden hierfür Gene aus Mikroorganismen verwendet. Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten somit eine „artfremde“ genetische Information, die über klassische Züchtungsverfahren nicht übertragbar wäre. Im Mittelpunkt der gentechnischen Veränderungen standen agronomische Eigenschaften wie Herbizidtoleranzen, Insekten-, Pilz- und Virusresistenzen. Die erste kommerziell gehandelte gv-Pflanze als Lebensmittel war die Flavr-SavrTM-Tomate, die von dem Unternehmen Calgene entwickelt wurde. Sie erhielt am 19.05.1994 die Zulassung in den USA. In England wurde sie von der Firma Zeneca als Püree in den Handel gebracht (Abbildungen 1 und 2). Bei der Flavr-SavrTM-Tomate war allerdings nicht

ABB. 2 | WERBEFLYER FÜR DIE FLAVR-SAVRTM-TOMATE

MACGREGOR'S TOMATOES
GIVING YOU FLAVR SAVR SEEDS

Summertime Taste... Year-Round!TM

MACGREGOR'S TOMATOES OUR DISCOVERY GIVES YOU SUMMERTIME TASTE... YEAR-ROUND!TM

At MacGregor's Tomatoes, we have dedicated ourselves to the mission of providing the highest quality fresh foods to our customers. Since 1982, the MacGregor's Tomato team of hard-working professional men and women has successfully applied the latest developments in genetic engineering, tomato plant breeding, and farming to solve an age-old problem—how to supply an abundance of great-tasting tomatoes all year long.

How did we do it? First, we made a copy of a gene which causes softening of tomatoes. Then, we put this copy into the plant—backwards—to slow down the softening gene. Simple enough. But, we have to know if this step was successful. So, we attach a gene which makes a naturally occurring protein. This protein makes Flavr SavrTM seeds resistant to the kanamycin contained in our test medium. Now, the results become very easy to read. These seeds unaffected by the kanamycin carry the reversed gene and will be planted for tomato production. No kanamycin is present in tomatoes grown from Flavr Savr seeds.

Once planted in the soil, Flavr Savr seeds will grow into delicious MacGregor's Tomatoes—tomatoes which soften more slowly, stay on the vine days longer and arrive at your store fresh and ready for you to take home and enjoy.

Along with their great taste, MacGregor's Tomatoes provide the following nutrients:

For a medium-size tomato:			
Serving size	149g	Carbohydrate	6g
Serving size	5.5oz	Fat	1g
Calories	35	Sodium	10mg
Protein	1g	Dietary fiber	1g
		Calcium	2
		Iron	2

*Contains less than 2% of the U.S. RDA of this nutrient. Source: U.S. Food and Drug Administration.

USP 4,948,838 USP 5,034,322 USP 4,801,540 USP 5,107,085

MACGREGOR'S TOMATOES

IN KÜRZE

- Die neuen genomischen Techniken wie CRISPR-Cas, TALEN usw. ermöglichen **ausgewählte sequenzspezifische Veränderungen im Genom**. In der Regel wird hierbei **kein „artfremdes“ genetisches Material** eingeführt.
- **Mehr als 60 Pflanzenarten** wurden bislang mit den NGTs bearbeitet. Pflanzenwachstum und Ertragssteigerung, Qualitätsverbesserungen und Toleranzen gegen bio- und abiotischen Stress stehen im Vordergrund.
- Nahezu alle genomeditierten Pflanzen stehen **noch im Forschungsstadium**. Lediglich fünf Pflanzen sind kommerziell auf dem Markt erhältlich.
- Die neuen genomischen Techniken (NGT) können einen Beitrag zur Lösung **anstehender Herausforderungen in der Landwirtschaft** leisten.
- In vielen Ländern werden genomeditierte Pflanzen, sofern sie keine „artfremde“ genetische Information enthalten, wie konventionelle Pflanzen reguliert. **Die EU ringt noch um eine Regelung.**

der Geschmackserhalt das Ziel der gentechnischen Veränderung, sondern eine längere Haltbarkeit bzw. eine bessere Transportfähigkeit. Dies wurde durch die „Antisense-Technik“ erreicht [4]. Hierdurch wurde die Expression des Enzyms Polygalacturonase herunterreguliert. Die Polygalacturonase ist mitverantwortlich für „Matschigwerden“ während der Reifung und Lagerung der Tomaten, indem sie die Zellwände abbaut.

Die Marktpräsenz war nur kurz; bereits drei Jahre später, 1997, war die Flavr-SavrTM-Tomate sowohl als Frischware als auch als Püree vom Markt wieder verschwunden. Die Gründe hierfür waren sicherlich mannigfaltig, aber sie wurden nie klar aufgeklärt [5]. Nach Aussagen von Gentechnikkritikern erfüllten die am Stamm gereiften Tomaten nicht die Erwartungen der US-Bürger an den Geschmack und wurden deshalb auch nicht nachgefragt; sie wurden zu einem finanziellen Verlust für Monsanto (Monsanto hatte inzwischen Calgene aufgekauft). Wahrscheinlicher ist aber folgendes Szenario: Monsanto und Zeneca hatten zunächst Streitigkeiten über entsprechende Patente, aber man einigte sich außergerichtlich darauf, dass Monsanto die Rechte zur Vermarktung der frischen Tomaten und Zeneca an den verarbeiteten Tomaten erhalten solle. Beides funktionierte offensichtlich eine gewisse Zeit für beide Partner zufriedenstellend. Für Monsanto wurde diese Vereinbarung allerdings immer mehr zum Verlustgeschäft, da bei den frischen Tomaten immer mehr Ausschussware angeliefert wurde. Ökonomisch war das Flavr-SavrTM-Tomatenprojekt nicht mehr tragbar und wurde deshalb eingestellt. Im gleichen Zeitraum wurde in Mexiko eine Tomate mit ähnlichen Eigenschaften (eine israelische Entwicklung) angebaut und viel billiger auf den amerikanischen Markt gebracht. Beides beendete den Anbau der Flavr-SavrTM-Tomate in Amerika, da Zeneca nun Anbau und Logistik der Tomaten in Amerika sowie Transport nach Europa hätte selbst organisieren und finanzieren müssen. Dies konnte und wollte Zeneca nicht stemmen und stellte das Vorhaben ein.

Aufgrund der damaligen Gesetzeslage (Freisetzungsrichtlinie 90/200/EWG [6]) war ein Anbau in der EU nicht erlaubt, wohl aber das Inverkehrbringen von Tomatenpüree, da dieses keinen GVO darstellt. 1996 erhielten als erste gv-Pflanzen die herbizidtolerante Sojabohne (GTS 40-3-2) und der insektenresistente Mais (Bt-176) die Zulassung zur Verwendung als Lebens- und Futtermittel in der EU. Inzwischen haben in der EU 98 gv-Pflanzenvarietäten (48× Mais, 26× Sojabohne, 15× Baumwolle, 8× Raps, 1× Zuckerrüben) die Zulassung für den Import als Lebens- und Futtermittel erhalten. Der Anbau dieser Pflanzen ist explizit ausgeschlossen [7]. Jährlich werden ca. 30 Mill. Tonnen – vornehmlich gv-Sojabohnen und gv-Mais – in die EU importiert. Weltweit sind 33 gv-Pflanzen im Anbau [8], wobei die Gesamtanbaufläche gegenwärtig auf hohem Niveau (190 Mill. ha) stagniert [9].

In der EU besitzt allein der insektenresistente Mais MON 810 eine Zulassung zum kommerziellen Anbau [10].

Die Genehmigung ist zwar bereits seit 10 Jahren abgelaufen, jedoch konnten sich bislang die Mitgliedsstaaten nicht zu einer Aufhebung der Anbaugenehmigung durchringen. Allerdings dürfen die Mitgliedsstaaten über die Opt-out-Richtlinie (EU)2015/412 [11] den Anbau von gv-Pflanzen auf ihrem Staatsgebiet untersagen. In der EU werden quasi keine gv-Pflanzen kommerziell angebaut. Freisetzen von gv-Pflanzen für Forschungszwecke sind in der EU stark zurückgegangen. Von 2002 bis 2015 wurden in der EU 881 Feldversuche durchgeführt, davon etwa die Hälfte in Spanien. Von 2015 bis 2020 waren es nur noch 56 Feldstudien [12]. In Deutschland wurden seit 2012 keine gv-Pflanzen mehr freigesetzt – auch nicht für Forschungszwecke. Sicherheitsforschungen zu möglichen Auswirkungen auf die Umwelt wurden seitdem nur noch unter kontrollierten, aber artifiziiellen Bedingungen in Klimakammern oder Gewächshäusern durchgeführt. Die Sicherheitsforschung an gv-Pflanzen – insbesondere für die belebte Umwelt – wurde in der EU in den letzten 25 Jahren mit ca. 300 Mill. Euro gefördert. Trotz intensiver Forschungen konnten bislang keine negativen Auswirkungen, die sich spezifisch aus der gentechnischen Veränderung ableiten lassen, nachgewiesen werden. Weltweit ist die Mehrheit der Wissenschaftler/-innen der Auffassung, dass zugelassene gv-Pflanzen genauso sicher sind wie die vergleichbaren, konventionell gezüchteten.

Mit der bahnbrechenden Publikation der Arbeitsgruppe um Doudna und Charpentier von 2012 [13] zur Nutzung des CRISPR-Cas-Systems zur gerichteten sequenzspezifischen Veränderung im Genom wurde ab ca. 2014 die Genomeditorierung als ein weiteres Werkzeug in der Pflanzenzüchtung eingeführt. Die Verfahren der Genomeditorierung werden in der EU als neue genomische Techniken bezeichnet und beinhalten vornehmlich die Genschere CRISPR-Cas, TALEN und Zinkfinger-nukleasen. Mit ihnen können zielgerichtet genetische Veränderungen in der ausgewählten DNA-Sequenz im Pflanzengenom herbeigeführt werden. Sie reichen vom einfachen Austauschen und Entfernen einzelner (weniger) Nukleotide (*site-directed nuclease* Typ I, SDN-1), dem Einfügen einzelner sowie bis zu 20 Nukleotiden (SDN-2) bis zum Einfügen funktioneller Gene (SDN-3). Bei SDN-1 erfolgt der DNA-Doppelstrangsschnitt an einer vorbestimmten Sequenzfolge im Genom. Anschließend wird der Schnitt durch das zell-eigene Reparatursystem geschlossen. Hierbei werden einzelne Nukleotide eingefügt oder deletiert. Bei SDN-2 und SDN-3 wird eine DNA-Matrix verwendet und hier erfolgt die Reparatur durch eine homologe Rekombination. Allen gegenwärtigen Anwendungen ist gemeinsam, dass die Pflanzen keine „artfremde“ genetische Information enthalten. Die meisten Anwendungen stammen aus dem SDN-1-Bereich (ca. 95 %). Die eingeführte Mutation könnte bei diesen Pflanzen auch durch klassische Züchtungsverfahren entstehen. Eine Unterscheidung, ob die Mutation auf klassischem Wege herbeigeführt wurde oder durch die neuen genomischen Techniken, ist trotz gegenteiliger

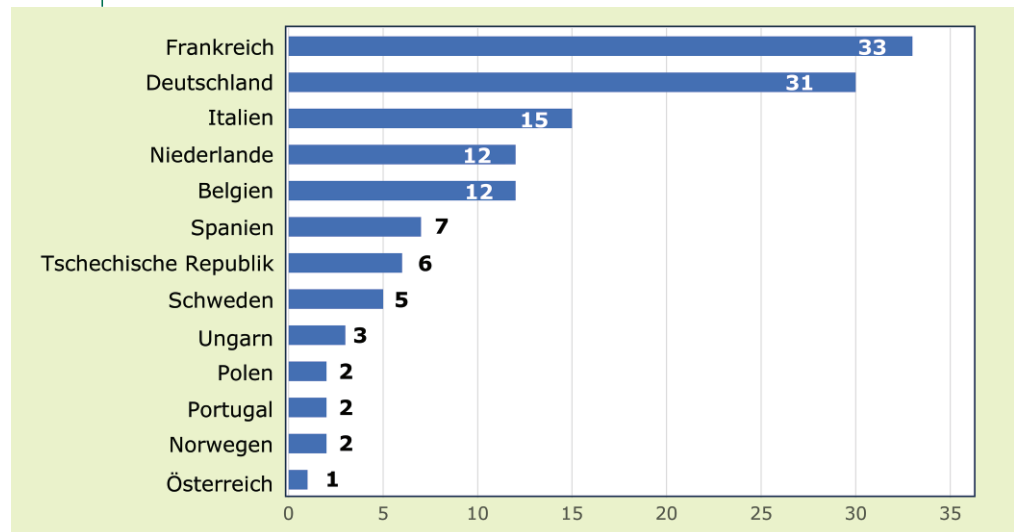
Behauptungen bislang nicht möglich [14, 15].

Entsprechend der EU-SAGE-Datenbank (EU-SAGE = *European Sustainable Agriculture through Genome Editing*) [16] sind die führenden Länder im Forschungs- und Anwendungsbereich China (498 Projekte) und die USA (174 Projekte). Länder aus der EU sind mit 131 Projekten aufgeführt, wobei Deutschland mit 31 Projekten und Österreich mit einem vertreten sind (Abbildung 3).

Anwendungen der neuen genomischen Techniken bei Pflanzen verlaufen stürmisch. Listet der von der EU-Kommission in Auftrag gegebene JRC-Report (JRC = *Joint Research Center*) von 2021 [17] knapp 500 Anwendungen auf, so befinden sich Ende April 2024 bereits 882 Forschungsprojekte in der EU-SAGE-Datenbank. Die Bandbreite der genomeditierten Nutzpflanzen ist groß; sie reicht von Reis (252 Projekte), Tomaten (108), Mais (54), Soja (46), Weizen (44), Kartoffeln (28), Tabak (24), Gerste (21) bis hin zu Zuckerrüben, Zuckerrohr, Grapefruit, Kakao, Spargel und mehr [18]. Im Vergleich zur klassischen Gentechnik haben sich die Anwendungsbereiche deutlich verschoben. Herbizidtoleranzen und/oder Insektenresistenzen sind deutlich in den Hintergrund getreten. Dafür sind Veränderungen in der stofflichen Zusammensetzung, Toleranzen gegenüber abiotischem und biotischem Stress sowie Ertragssteigerung in den Vordergrund getreten (Abbildung 4).

In den USA werden genomeditierte Pflanzen von den Gentechnikregelungen ausgenommen und können direkt auf den Markt gelangen. Der *Animal Plant Health Inspection Service* des *United States Department of Agriculture* (USDA) hat bis Ende 2023 17 Pflanzenspezies, die 63 unterschiedliche Anwendungen umfassen, die Ausnahmeregelung erteilt [19]. Auch hier stehen Anwendungen zu Qualitätsmerkmalen (30) und Ertragssteigerung (7) im Vordergrund. Karavolias und Kollegen [20] fassen spezifische Untersuchungen zur Anpassung von Pflanzen an den Klimawandel sowie für abiotische Stresstoleranzen zusammen. Reis, Mais und Tomaten mit verbesserter Trockentoleranz wurden entwickelt, was zu höheren Erträgen unter trockeneren Bedingungen führt. Die neuen genomischen Techniken werden außerdem angewandt, um den Nährwert von Nutzpflanzen durch eine Erhöhung des Gehalts an Vitaminen und Mikronährstoffen und eine Eliminierung von antinutritiven Inhaltsstoffen zu erreichen. Beispiele hierfür sind: Reis mit erhöhtem Eisengehalt, Sojabohnen mit hohem Ölsäuregehalt, Tomaten mit hohem γ -Aminobuttersäure-Gehalt oder Melonen, Reis und Bananen mit erhöhtem Vitamin-A-Gehalt.

ABB. 3 | ANZAHL DER PROJEKTE ZU GENOMEDITIERTEN PFLANZEN IN DER EU



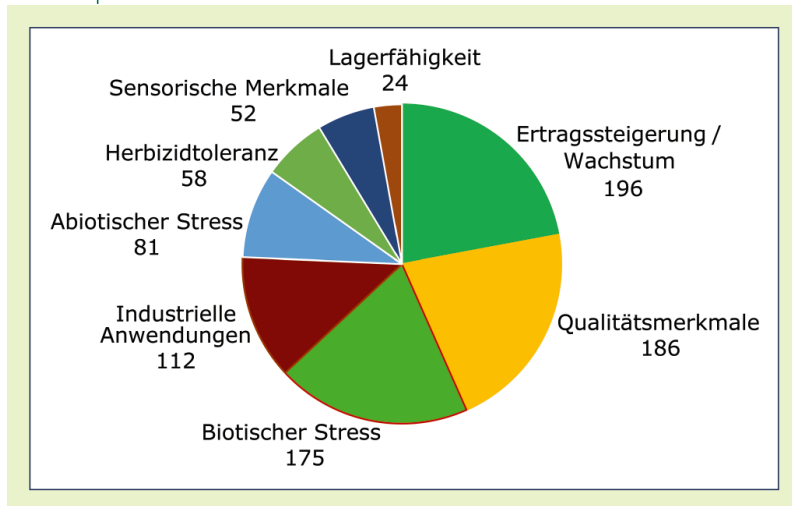
Daten aus der EU-SAGE-Datenbank (<https://www.eu-sage.eu/genome-search>), aufgerufen am 30.04.2024.

Trotz der zahlreichen Anwendungsbeispiele sind von den aufgeführten genomeditierten Pflanzen bislang nur vier bis fünf kommerziell im Handel. Die meisten befinden sich noch im Versuchsstadium, einige in einer vorkommerziellen Phase (12–15). Kommerziell erhältlich sind Sojabohnen mit erhöhtem Gehalt an Ölsäure, Tomaten mit hohem Gehalt an γ -Aminobuttersäure (GABA), Mais mit erhöhtem Amylopektin-Gehalt, Salat aus Senfblättern mit einer Reduzierung des scharfen Geschmacks durch Minimierung der Senfölbildung und langsamer braun werdende Champignons durch Inaktivierung der Phenoloxidase. In vielen Ländern der Welt sind genomeditierte Pflanzen, denen keine „artfremde“ genetische Information eingefügt wurde, von den gentechnikspezifischen Regelungen ausgenommen, so dass diese Listung unvollständig sein könnte. Im Folgenden werden exemplarisch einige Beispiele näher vorgestellt.

Tomaten mit erhöhtem Gehalt an γ -Aminobuttersäure (GABA)

Die GABA-Tomaten wurden gemeinsam von der *University of Tsukuba* und dem Biotechnologie-Unternehmen *Sanatech Seed Co., Ltd.* entwickelt [21]. Tomaten produzieren von Natur aus den Botenstoff GABA, der auch im menschlichen Körper vorkommt und dort als inhibitorischer Neurotransmitter eine zentrale Rolle im Gehirn und Nervensystem spielt. GABA blockiert bestimmte Signale im Gehirn und reduziert dadurch die Erregbarkeit von Nervenzellen. Da ihre Einnahme beruhigend auf das zentrale Nervensystem wirkt, den Blutdruck senkt und den Schlaf fördert, wird GABA auch therapeutisch eingesetzt. Allerdings wird in konventionellen Tomaten die GABA-Bildung durch einen genetischen Schalter begrenzt. Japanische Wissenschaftler fanden heraus, dass das Gen

ABB. 4 VERTEILUNG DER ANWENDUNGSBEREICHE FÜR GENOMEDITIERTE PFLANZEN IN DER EU



Gezeigt ist die Anzahl der Projekte im jeweiligen Themengebiet. Daten aus der EU-SAGE-Datenbank (<https://www.eu-sage.eu/genome-search>), aufgerufen am 30.04.2024.

sigad3 die Synthese steuert. Durch das CRISPR-Cas9-Verfahren tauschten sie ein einziges Nukleotid in diesem Gen aus. Diese genomeditierte Tomate enthält fünf- bis sechsmal mehr GABA als konventionelle Tomaten.

Das Unternehmen *Sanatech Seed Co., Ltd.* verteilte im Mai 2021 Saatgut kostenfrei an Hobbygärtner und im Dezember des gleichen Jahres begannen Bewerbung, kommerzieller Anbau und Vertrieb der GABA-Tomate unter dem Namen „*Sicilian Rouge High GABA*“ (Abbildung 5) im Lebensmittelhandel. Nach den japanischen Richtlinien für Produkte aus genomeditierten Pflanzen gelten die GABA-Tomaten nicht als GVO. Sie sind das weltweit erste kommerziell angebotene – und nachgefragte – Lebensmittel, das durch das CRISPR-Cas-Verfahren entwickelt wurde.

Tomaten mit erhöhtem Gehalt an Vitamin D

Tomaten mit erhöhtem Gehalt an Vitamin D wurden vom *John Innes Centre (JIC)*, Großbritannien, und der *Seoul National University (SNU)*, Südkorea gezüchtet. Pflanzen sind *per se* keine ergiebige Vitamin-D-Quellen. Tomaten bilden zwar eine Vitaminvorstufe (Provitamin D₃), aber diese entsteht vorwiegend in den Blättern und nur in geringeren Mengen in unreifen Früchten. Wissenschaftler des *John Innes Centre (JIC)* entdeckten, dass es sich hierbei um einen Schutzmechanismus der Pflanze handelt: Das Enzym (SI7-DR2) wandelt das Provitamin D₃ in andere Pflanzenstoffe, die Esculeoside, um. Diese unterstützen die Abwehr von Schädlingen und Krankheitserregern.

Mithilfe des CRISPR-Cas9-Systems wurde genau das Gen, das für das SI7-DR2-Enzym kodiert, inaktiviert. Das Provitamin D₃ wurde nicht länger umgewandelt, sondern reichte sich nun in den Blättern und Früchten der editierten Pflanzen an. Wurden diese anschließend mit UV-

Licht (im Freiland = Sonnenlicht) bestrahlt, wandelte sich das Provitamin in Vitamin D₃ um. Die Tomaten enthielten im Mittel rund zwei Mikrogramm Vitamin D₃, etwa so viel wie 28 Gramm Thunfisch oder zwei mittelgroße Eier. Der tägliche Verzehr von zweieinhalb bis sieben dieser Tomaten würde somit die von der Weltgesundheitsorganisation empfohlene Tagesmenge an Vitamin D₃ liefern.

Im Gewächshaus hatte das Abschalten des Gens keinerlei negativen Auswirkungen auf Wachstum, Entwicklung und Ertrag der Pflanzen. Der in den Tomaten entdeckte Syntheseweg existiert auch in anderen Nachtschattengewächsen wie Paprika, Kartoffeln oder Auberginen. Diese Gemüsesorten könnten ebenfalls so verändert werden, dass sie größere Mengen von Provitamin D₃ enthalten. Einen ähnlichen Ansatz verfolgt ein Forschungsteam aus Südkorea: Mit der Genschere wurde ein einziges Gen ausgeschaltet, wodurch eine noch höhere Akkumulation an Provitamin D₃ – insbesondere in den Früchten – erreicht werden konnte. Ziel ist hier, die genomeditierten Tomaten 2026 für den Verkauf freigegeben zu können [22, 23].

Weizen mit reduziertem Gehalt an freiem Asparagin

Acrylamid ist potenziell kanzerogen und neurotoxisch. Die Acrylamidbildung tritt beim Erhitzen (Braten, Backen, Frittieren, Grillen usw.) auf – insbesondere bei Lebensmitteln mit höherem Gehalt an der Aminosäure Asparagin und an reduzierenden Zuckern wie z. B. Glucose oder Fructose. Die Reduzierung an freiem Asparagin ist daher der Ansatzpunkt für die Minderung von Acrylamidbildung. Ähnliches wird bereits in der Lebensmittelverarbeitung durch die Verwendung des Lebensmittelenzyms Asparaginase praktiziert.

Das *Rothamsted Research Institute* griff deshalb in den Syntheseweg für Asparagin beim Weizen ein, indem es die Umwandlung der Asparaginsäure in Asparagin durch die Inaktivierung der Asparaginsynthetase blockierte. Mithilfe des CRISPR-Cas9-Verfahrens konnte das Gen *TaASN2* für die Synthetase ausgeschaltet werden. Im Gewächshausversuch wurde eine signifikante Reduktion des Asparagingehaltes im Weizenkorn demonstriert. Im Freilandversuch wurde nun nochmals die Minimierung an freiem Asparagin verifiziert. Gegenüber den Vergleichspflanzen konnte die Menge an freiem Asparagin – dem Vorläufer für die Bildung von Acrylamid in der Maillard-Reaktion – um zwischen 40 und 60 Prozent reduziert werden [24].

Gesetzliche Regelungen

Anwendungen aus der Gentechnik unterliegen weltweit gesetzlichen Regelungen und Zulassungsverfahren. Die wichtigsten Gesetze in der EU sind hier die Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EC [3] und darauf aufbauend die Verordnungen EG 1829/2003 sowie EG 1830/2003 [25, 26]. Wie bereits erwähnt, orientiert sich die Freisetzungsrichtlinie im Wesentlichen an dem Kenntnisstand der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts. Die Verfahren aus den

Sicilian Rouge High GABA

Foods with Function Claims	Notification · H617
1 tomato Can lower blood pressure of people with high blood pressure	
2 tomato can relieve temporary stress from work/studies	
5-7 tomato can improve sleep quality (for example, a deeper and more refreshing sleep)	
	5-7 tomato can protect skin health by maintaining skin elasticity

GABA's Effect

ABB. 5 Die GABA-Tomate „Sicilian Rouge High GABA“ der Firma „Sanatech Seed“. Quelle: <https://sanatech-seed.com/en/221226-2/>

neuen molekularen Techniken waren damals noch nicht bekannt. Der EuGH hat 2018 auf der Grundlage des bestehenden Gentechnikrechts geurteilt, dass Pflanzen, die mithilfe der neuen Techniken gezüchtet wurden, allen Anforderungen aus der Freisetzungsrichtlinie unterliegen. Die EU-Kommission ist nach langjährigen Befragungen und Beratungen zu dem Schluss gekommen, dass das bestehende Recht den Anwendungen aus den NGTs nicht mehr gerecht wird. Sie legte im Juli 2023 einen Vorschlag für die Regulierung gewisser NGT-Pflanzen mit dem Titel „Vorschlag für eine Verordnung des Europäischen Parlaments und des Rates über mit bestimmten neuen genomischen Techniken gewonnene Pflanzen und die aus ihnen gewonnenen Lebens- und Futtermittel sowie zur Änderung der Verordnung (EU) 2017/625“ vor [27]. Mit dem Vorschlag möchte sie erreichen, dass einerseits ein hohes Schutzniveau für die Gesundheit von Mensch und Tier sowie für die Umwelt aufrechterhalten und andererseits das Inverkehrbringen von NGT-Pflanzen und daraus gewonnenen Erzeugnissen ermöglicht wird. Gleichzeitig möchte sie dabei den ökologischen Landbau schützen und die Nachhaltigkeitsziele des Green Deal unterstützen.

Es ist ein Vorschlag der EU-Kommission, der nun im Gesetzgebungsverfahren, dem Trilog-Verfahren über EU-Parlament und Mitgliedstaaten, in eine Verordnung überführt werden muss. Mit dem Vorschlag wird keine Deregulierung für gv-Pflanzen angestrebt, sondern es soll ein *lex specialis* für gewisse genomeditierte Pflanzen (NGT-Pflanzen) geschaffen werden. Der EU-Kommissionsvorschlag gilt ausschließlich für höhere Pflanzen,

a) die mithilfe der neuen genomischen Techniken – einschließlich der Cisgenese und Intragenese – erzeugt wurden

und

b) bei denen keine „artfremde“ genetische Information eingefügt wurde. Die neuen Informationen müssen aus dem Genpool der Züchter stammen.

Im Vorschlag ist die Einführung von zwei Kategorien von NGT-Pflanzen vorgesehen – und zwar die Kategorie der NGT-1-Pflanzen und der NGT-2-Pflanzen. NGT-1-Pflanzen sollen als gleichwertig zu konventionellen Pflanzen angesehen werden, da sie auch aus traditionellen Züchtungsverfahren hervorgehen könnten. Sie sollen aus dem Regelwerk der Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EC und den Verordnungen (EG) 1829/2003 und (EG) 1830/2003 herausgenommen werden – ähnlich der mithilfe der traditionellen Zufallsmutagenese erzeugten Pflanzen. Dies bedeutet aber nicht, dass NGT-1-Pflanzen und daraus gewonnene Erzeugnisse unkontrolliert auf den Markt kommen können. Einerseits unterliegen sie allen Regularien aus den Saatgutgesetzen und andererseits den neuen Vorschriften aus dem EU-Kommissionsvorschlag. Die Produkte müssen außerdem auch den Anforderungen aus der Basisverordnung (EC) 178/2002 genügen [28].

Der Status von NGT-Pflanzen, insbesondere von NGT-1-Pflanzen, muss vor einer Freisetzung von einer kompetenten Behörde überprüft werden. Für Freisetzen zu wissenschaftlichen Zwecken ist dies eine Behörde aus dem jeweiligen Mitgliedsstaat, während für Freisetzen zum Zwecke einer späteren Vermarktung/Inverkehrbringung die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (*European Food Safety Authority*, EFSA) zuständig ist. Bei dieser Überprüfung – quasi einer Notifizierung – wird festgestellt, ob die NGT-1-Pflanze der entsprechenden konventionell gezüchteten gleichwertig ist und den Kriterien aus Annex 1 (s. Kasten „Gleichstellung von NGT-1-Pflanzen

mit konventionellen Pflanzen“) entspricht. Über den Prüfprozess und sein Ergebnis werden die Mitgliedsstaaten und die EU-Kommission informiert. Letztere gibt das Ergebnis der Überprüfung im Amtsblatt bekannt. Sie trägt die NGT-1-Pflanze in ein noch zu erstellendes Register ein und vergibt eine Identifizierungsnummer. Die Entscheidung der EU-Kommission ist für alle Mitgliedsstaaten bindend. Das Register ist öffentlich zugänglich und soll zur Transparenz für alle Marktbeteiligten beitragen. Eine spezielle Kennzeichnung ist für NGT-1-Pflanzen nicht vorgesehen, aber durch die Identifizierungsnummer kann sich jeder über den Status der Pflanzen oder der Produkte informieren. Hier ist nun mehr Eigeninitiative gefordert, wie man sie auch bei konventionellen Lebensmitteln kennt, wo z. B. ein Code Informationen über Lebensmittel liefert.

Allerdings ist für die Vermarktung von NGT-1-Pflanzen als Saatgut eine Kennzeichnung mit „Cat-1-NGT“ und Angabe der Identifizierungsnummer notwendig. Hiermit sollen insbesondere der Ökolandbau und Erzeuger von gentechnikfreien Produkten vor einer Verwendung von NGT-1-Pflanzen geschützt werden. NGT-2-Pflanzen sind alle Pflanzen, die nicht als NGT-1-Pflanzen eingeordnet werden können; sie fallen unter die Kategorie 2. Für sie gelten die bestehenden gesetzlichen Regelungen für GVO, sofern nicht abweichende Vorschriften in der neuen Verordnung für sie erlassen werden.

Die Diskussionen über den EU-Kommissionsvorschlag sind auf allen Ebenen heftig. Der Vorschlag wurde inzwischen vom EU-Parlament mit zahlreichen Änderungsvorschlägen angenommen. Die Mitgliedsstaaten – der Rat – konnten sich bislang nicht auf einen gemeinsamen Standpunkt für den EU-Kommissionsvorschlag einigen. Erst wenn dies erfolgt ist, kann das Trilog-Verfahren für die Fortsetzung einer Regulation beginnen. Intensive Diskussionen stehen vor allem über eine Kennzeichnung, Absicherungen einer ökologischen und gentechnikfreien Landwirtschaft und Lebensmittelproduktion sowie der Patentierbarkeit von NGT-Pflanzen an.

GLEICHSTELLUNG VON NGT-1-PFLANZEN

Kriterien zur Gleichstellung von NGT-1-Pflanzen mit konventionellen Pflanzen gemäß Annex 1 aus Kommissionsvorschlag:

1. Ersatz oder Einführung von höchstens 20 Nukleotiden
2. Entfernen einer beliebigen Anzahl von Nukleotiden
3. Sofern die genetische Veränderung die Sequenz eines endogenen Gens nicht unterbricht:
 - a) gezielte Einführung einer zusammenhängenden DNA-Sequenz in den Genpool des Züchters,
 - b) gezielter Ersatz einer endogenen DNA-Sequenz durch eine im Genpool des Züchters vorhandene zusammenhängende DNA-Sequenz.
4. Gezielte Inversion einer Abfolge beliebiger Nukleotide
5. Jede andere gezielte Veränderung jeglicher Größe unter der Bedingung, dass die resultierenden DNA-Sequenzen bereits (möglicherweise mit Veränderungen gemäß den Nummern 1 und/oder 2) bei einer Art aus dem Genpool der Züchter auftreten.

Die Landwirtschaft und Lebensmittelproduktion stehen vor zahlreichen Herausforderungen, von denen die wichtigsten

- die Zunahme der Weltbevölkerung (9–10 Milliarden Menschen im Jahr 2050),
 - die Verknappung der Anbauflächen,
 - die Risiken im Zusammenhang mit dem Klimawandel und
 - der Verlust der biologischen Vielfalt
- sind. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer nachhaltigen Produktion mit geringerem Flächen- und Betriebsmitteleinsatz und einer Verringerung der Umweltauswirkungen. Die neuen genomischen Techniken können hier einen wichtigen Beitrag leisten. Alle Beteiligten aus Politik, Wirtschaft und Wissenschaft stehen hier in einer hohen Verantwortung – für das, was sie tun, aber auch für das, was sie unterlassen.

Zusammenfassung:

Kreuzen und Auslesen waren und sind Meilensteine in der Pflanzenzüchtung und beides hat große Erfolge in der Steigerung der Ernteerträge und der Sicherung der Nahrungsmittelversorgung erbracht. Immer schnellere Veränderungen (biotischer und abiotischer Art), erhöhte Anforderungen an Widerstandsfähigkeiten, Qualität usw. erfordern eine ständige Erweiterung des Methodenspektrums zur genetischen Veränderung von Pflanzen, um sie präzise, sicher und schnell an die veränderten Ansprüche anzupassen. In der Pflanzenzüchtung besteht ein Kontinuum im Methodenspektrum. Die letzten stark in der Diskussion stehenden Verfahren waren die Gentechnik und die neuen genomischen Techniken wie CRISPR-Cas und Co. Während bei der klassischen Gentechnik noch Einführungen von Herbizidtoleranzen und/oder Insektenresistenzen im Vordergrund standen, stehen nun Wachstum und Ertragssteigerungen, Qualitätsverbesserungen und Toleranzen gegenüber abiotischem und biotischem Stress im Augenmerk.

Summary:

Genetic engineering and new genomic techniques in plant breeding

Crossbreeding and selection were and are milestones in plant breeding and both have been very successful in increasing crop yields and securing food supplies. Increasingly more rapid changes (biotic and abiotic), higher demands on resistance, quality, etc. require a constant expansion of the range of methods for the genetic modification of plants in order to adapt them precisely, safely and quickly to changing requirements. In plant breeding, there is a continuum in the range of methods. The last methods – heavily discussed – were genetic engineering and the new genomic techniques such as CRISPR-Cas and Co. While classical genetic engineering focussed on the introduction of herbicide tolerance and/or insect resistance, the focus is now on growth and yield increases, quality improvements and tolerance against abiotic and biotic stress.

Schlagworte

Gentechnik, neue genomische Techniken, Genomeditierung, gentechnisch veränderte (gv)-Organismen (GVO), Pflanzenzüchtung, NGT-Pflanzen, rechtliche Regelungen

Literatur

- [1] IAEA (2023). Mutant Variety Database, <https://www.iaea.org/resources/databases/mutant-varieties-database>
- [2] EuGH-Urteil C 528/16 vom 25. Juli 2018, <https://t1p.de/shd5c>
- [3] Richtlinie 2001/18/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. März 2001 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt und zur Aufhebung der Richtlinie 90/220/EWG des Rates. ABl. L106, 1–37 (2001), <https://t1p.de/fc3tw>
- [4] M. G. Kramer, K. Redenbaugh (1994). Commercialization of a tomato with an antisense polygalacturonase gene: The FLAVR SAVR™ tomato story. *Euphytica* 79, 293–297, <https://doi.org/10.1007/BF00022530>
- [5] BIOfunk (2020): Die Antimatsch-Tomate ist tot – Schade eigentlich, <https://t1p.de/m6tju>
- [6] Richtlinie 90/220/EWG des Rates vom 23. April 1990 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt. ABl. L 15-27 vom 08.05.1990, <https://t1p.de/4zyit>
- [7] Kommission: EU Register of authorised GMOs, <https://t1p.de/b6wae>
- [8] ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) (2023). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2019, <https://t1p.de/oftna>
- [9] ISAAA (2024). GM Approval Database, <https://t1p.de/7ilcf>
- [10] Kommissionsentscheidung 98/294/EC (1998): Entscheidung der Kommission vom 22. April 1998 über das Inverkehrbringen von genetisch verändertem Mais (*Zea mays* L., Linie MON 810) gemäß der Richtlinie 90/220/EWG des Rates. ABl. L 131, 32–33 (1998), <https://t1p.de/e9rea>
- [11] Richtlinie (EU) 2015/412 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 11. März 2015 zur Änderung der Richtlinie 2001/18/EG zu der den Mitgliedstaaten eingeräumten Möglichkeit, den Anbau von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) in ihrem Hoheitsgebiet zu beschränken oder zu untersagen. ABl. L68, 1–7 (2015), <https://t1p.de/3s3hp>
- [12] Jany Kl.-D. (2021): Gentechnisch veränderte Pflanzen (GVO): Freisetzungen von GMO in der EU 2010-2020, <https://t1p.de/9z2zv>
- [13] M. Jinek et al. (2021). A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* 337, Issue 6096, 816–821, <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
- [14] R. D. Shillito et al. (2021). Detection of genome edits in plants – from editing to seed. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 57, 595–608, <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10214-z>
- [15] T. Cardi et al. (2023). CRISPR-Cas-mediated plant genome editing: outstanding challenges a decade after implementation. *Trends in Plant Science* 28 (10), 1144–1165–1146, <https://t1p.de/k5332>
- [16] EU-SAGE-Datenbank, <https://t1p.de/m5c83>
- [17] C. Parisi, E. Rodriguez Cerezo (2021). Current and future market applications of new genomic techniques, EUR 30589 EN, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2021, ISBN 978-92-76-30206-3, <https://doi.org/10.2760/02472>
- [18] O. Dima et al. (2022). Interactive database of genome editing applications in crops and future policy making in the European Union, *Trends in Plant Science* 27, 746–748.
- [19] USDA (2024). APHIS Issues Regulatory Status Review Responses, <https://t1p.de/rp92u>
- [20] N. Karavolias et al. (2021). Application of Gene Editing for Climate Change in Agriculture. *Front Sustain Food Syst* 5-2021, <https://t1p.de/7218o>
- [21] M. Matsuo, M. Tachikawa (2022). Implications and Lessons from the Introduction of genome-edited food products in Japan. *Front. Genome Ed* 4/22, <https://doi.org/10.3389/fgeed.2022.899154>
- [22] J. Li et al. (2022). Biofortified tomatoes provide a new route to vitamin D sufficiency. *Nat. Plants* 8, 611–616, <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01154-6>
- [23] WGG (2023). Tomaten mit erhöhtem Gehalt an Vitamin D, <https://t1p.de/pxkl0>
- [24] S. Raffan et al. (2023). Field assessment of genome edited, low asparagine wheat: Europe's first CRISPR wheat field trial. *Plant Biotechnology Journal*, <https://doi.org/10.1111/pbi.14026>
- [25] Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel. ABl. L 268, 1–23, <https://t1p.de/ryd9f>
- [26] Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen und über die Rückverfolgbarkeit von aus genetisch veränderten Organismen hergestellten Lebensmitteln und Futtermitteln sowie zur Änderung der Richtlinie 2001/18/EG. ABl. L 268, 24–28, <https://t1p.de/61op3>
- [27] Kommission (2023). Vorschlag für eine VERORDNUNG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES über mit bestimmten neuen genomischen Techniken gewonnene Pflanzen und die aus ihnen gewonnenen Lebens- und Futtermittel sowie zur Änderung der Verordnung (EU) 2017/625, <https://t1p.de/3xkxw>
- [28] Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. ABl. L 31, 1–24, <https://t1p.de/h4oqs>

Verfasst von:



Wissenschaftskreis
Genomik und
Gentechnik e.V.

Klaus-Dieter Jany
(Jahrgang 1943)
studierte Biologie
und Chemie an der

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg und promovierte dort über die Verdauungsphysiologie magenloser Fische. An der Universität Stuttgart habilitierte er sich für die Fächer Biochemie und Allgemeine Biologie. Von 1992–2008 leitete er das Molekularbiologische Zentrum (MBZ) an der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel. Bis 2018 war er dann für die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) tätig. Seit 2013 ist er der 1. Vorsitzender des Wissenschaftskreises Genomik und Gentechnik e. V. (WGG).

Korrespondenz

Prof. Dr. Klaus-Dieter Jany
Wissenschaftskreis Genomik und Gentechnik e. V.
(WGG)
Nelkenstr.36
76351 Linkenheim-Hochstetten
E-Mail: jany@wgg-ev.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!

