



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

4.0

# Gentechnik ~~2.0~~ – eine Goldgrube für die Pflanzenzüchtung?

---

*Franziska Turck und Martin Krist  
Max-Planck-Institute for Plant Breeding Research  
03.06.2019*



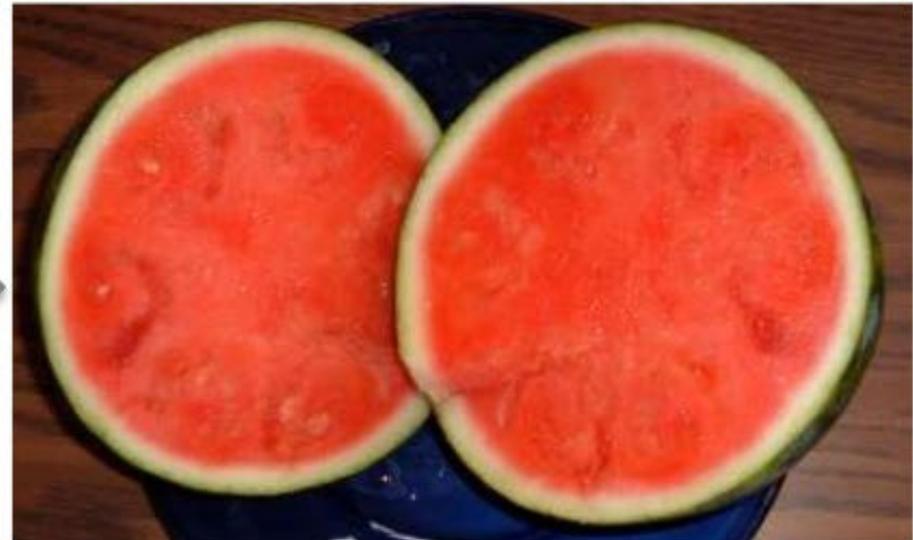
Max Planck Institute  
for Plant Breeding Research

früher



Giovanni Stanchi, 1645 - 1672

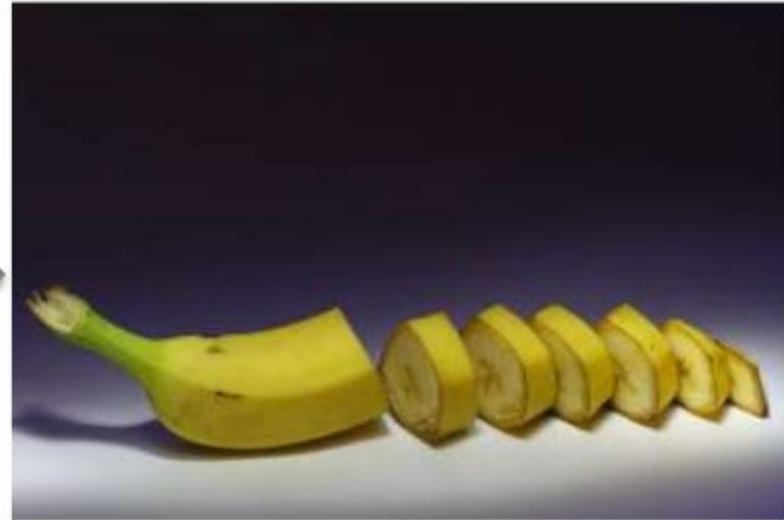
heute



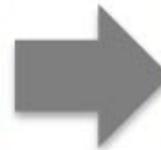
früher



heute



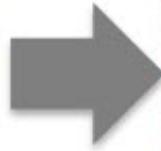
früher



heute



früher



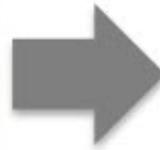
heute



früher



heute

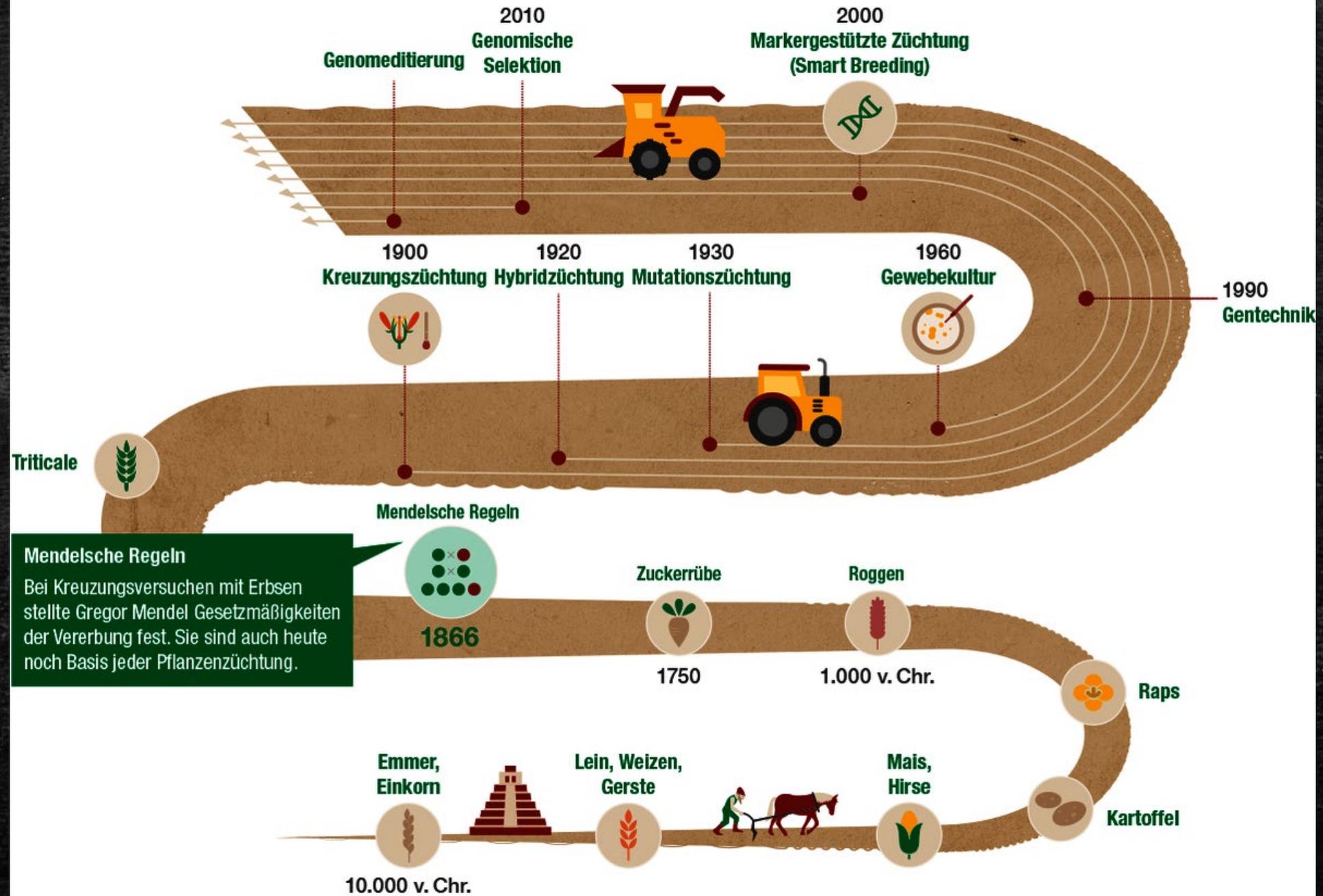


Fazit: Menschen verändern  
Pflanzen seit dem Beginn  
des Ackerbaus vor ca.  
10.000 Jahren

---

MUTATION und SELEKTION

# Meilensteine der Pflanzenzüchtung



<https://www.die-pflanzenzuechter.de/pflanzenzuechtung/innovationen/>

# Struktur des Vortrags

---

- Ein bisschen Wissenschaft muss sein
- Praktische Beispiele
- Der politische Teil

# 1993-2003 10 Jahre von Entdeckung zu Erkenntnis



Salzproduktionstätte, bei Alicante  
Heimat von Francisco Mojica *Haloferax mediteranei*



Francisco Mojica, Alicante

# 1993-2003 10 Jahre von Entdeckung zu Erkenntnis

## 2 bahnbrechende Arbeiten von Francisco Mojica

### Clustered Regularly InterSpaced Palindromic Repeats



**Table 4.** Features of the sequences most similar to CRISPR spacers from *Methanothermobacter thermoautotrophicum*

Location	Phage	Activity	Alignment <sup>a</sup>
40 bp 3' from ORF31	ΨM100	Not applicable	<pre> cttctagcaagagacattgacgatatacacaagtac       cttctagcaagagacattgacgatatacacaagtac           </pre>
ORF31	ΨM100	Unknown	<pre> aagcgcgggcagacagcacatacaagacttcacaa       aagcgcgggcagacagcacatacaagacttcacaa           </pre>
ORF31	ΨM100	Unknown	<pre> tttaacgatgactctgttgagttcatcgattcttcc       tttaacgatgactctgttgagttcatcgattcttcc           </pre>
ORF21	ΨM100	Tail protein	<pre> tgategtgggaaggtttggccatctgaatgattga       tgategtgggaaggtttggccatctgaatgattga           </pre>
<i>peiP</i>	ΨM2	Pseudomurein endoisopeptidase	<pre> aatattgaaacgttcaaggacatgttgaagaggtatg       aatattgaaacgttcaaggacatgttgaagaggtatg           </pre>
ORF6	ΨM2	Unknown	<pre> agatgtgcagatctctctctctctctctctctctc       agatgtgcagatctctctctctctctctctctctc           </pre>
ORF6	ΨM2	Unknown	<pre> aacttcacagaaaagcctccatggagcaagtgctct       aacttcacagaaaagcctccatggagcaagtgctcc           </pre>
103 bp 3' from ORF6	ΨM2	Not applicable	<pre> gattttgacggtgagtacaactctctctctctcagaactg       gattttgacggtgagtacaactctctctctcagaactg           </pre>
ORF17	ΨM2	Unknown	<pre> ccggtccttgacgggaaaatctacagggccacaatag       ccggtccttgacgggaaaatctacagggccacaatag           </pre>

<sup>a</sup>CRISPR-spacer sequence (top line) and best-match homologous sequence (bottom line).

Mojica und Rodriguez-Valeria,  
Mol Biol 1993

Mojica et al., J Mol Evo 2005

# CRISPR/Cas ist Teil eines Immunsystems von Bakterien

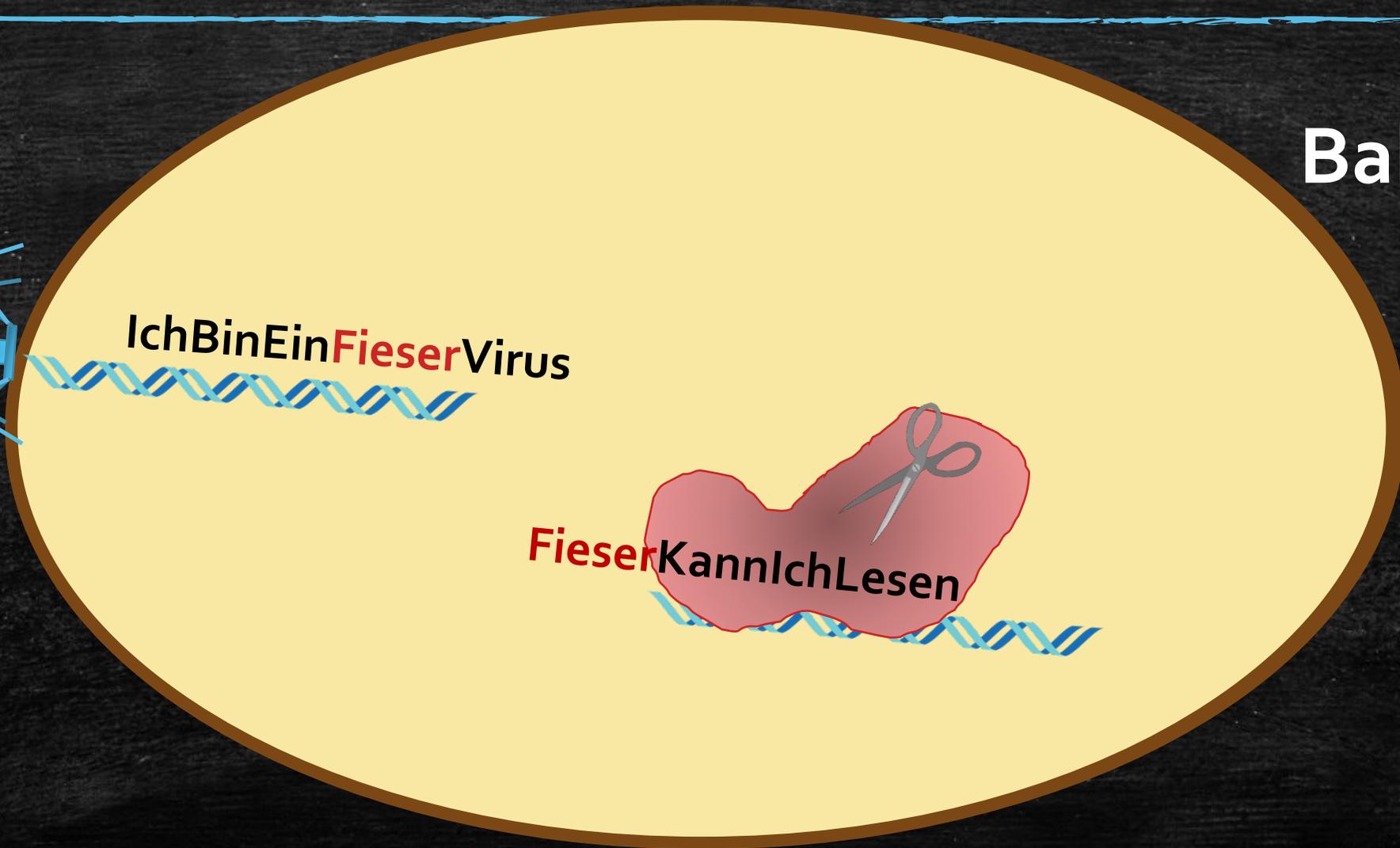
Clustered Regularly InterSpaced Palindromic Repeats



# CRISPR/Cas ist Teil eines Immunsystems von Bakterien

Clustered Regularly InterSpaced Palindromic Repeats

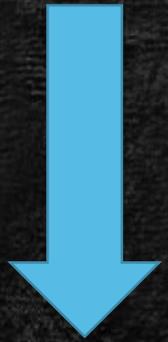
Bakterie



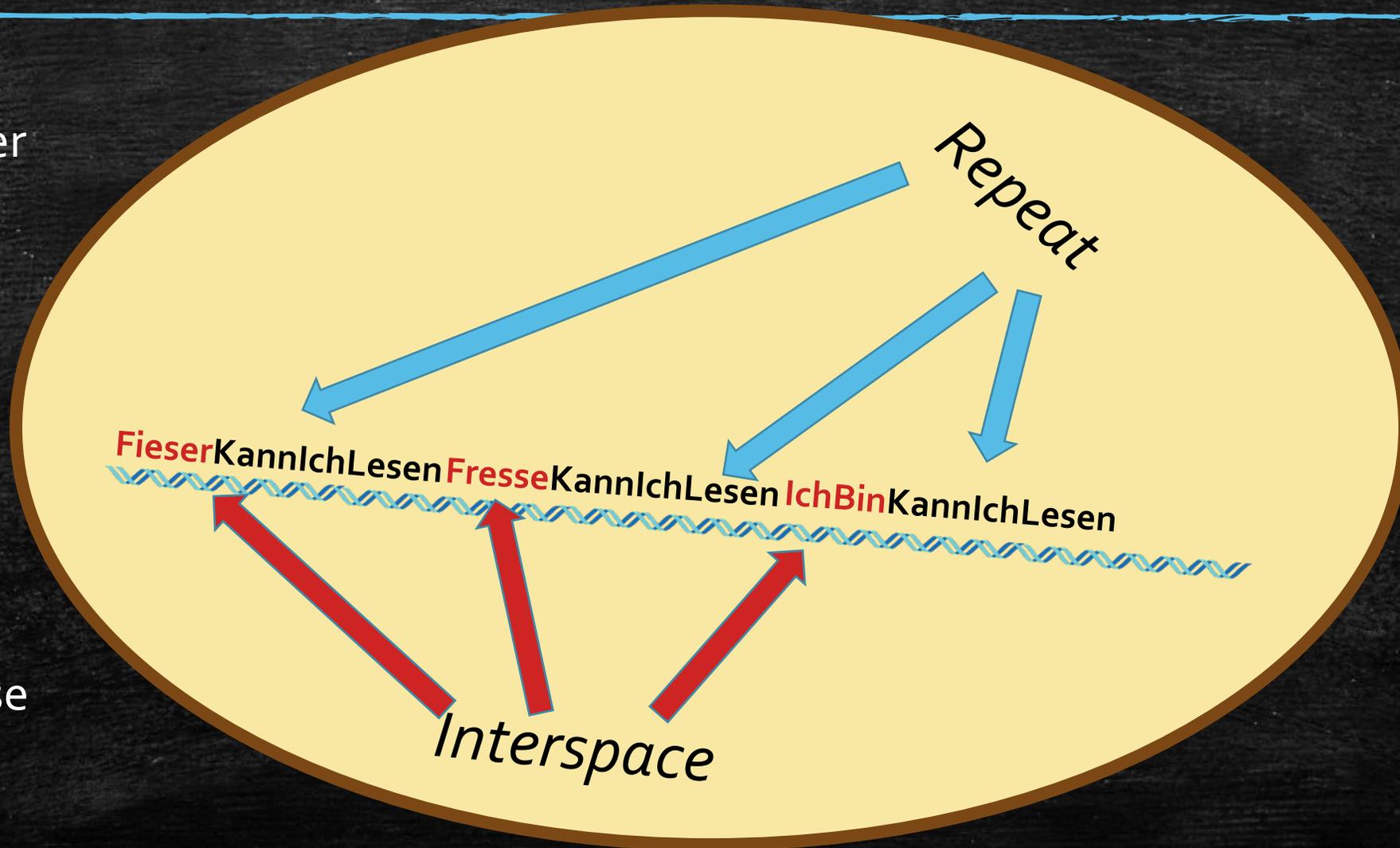
# CRISPR/Cas ist Teil eines Immunsystems von Bakterien

Clustered Regularly InterSpaced Palindromic Repeats

Erfolgreiche Abwehr einer viralen Attacke



Mehr Erkennungssequenzen



Das ist hier alles sehr vereinfacht...

---

Hier kann man mehr Details erfahren

Kurzer Film der MPG:

<https://vimeo.com/166052013>

Langer Vortrag mit vielen Grundlagen von Dr. Franz Klebl, Uni Erlangen Nürnberg

<https://www.youtube.com/watch?v=HNE2Vp1hHlo>

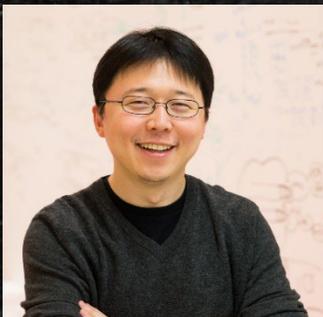
Bei der Gelegenheit: dieser Vortrag kann hier heruntergeladen werden:

<https://www.mpipz.mpg.de/10883/turck>

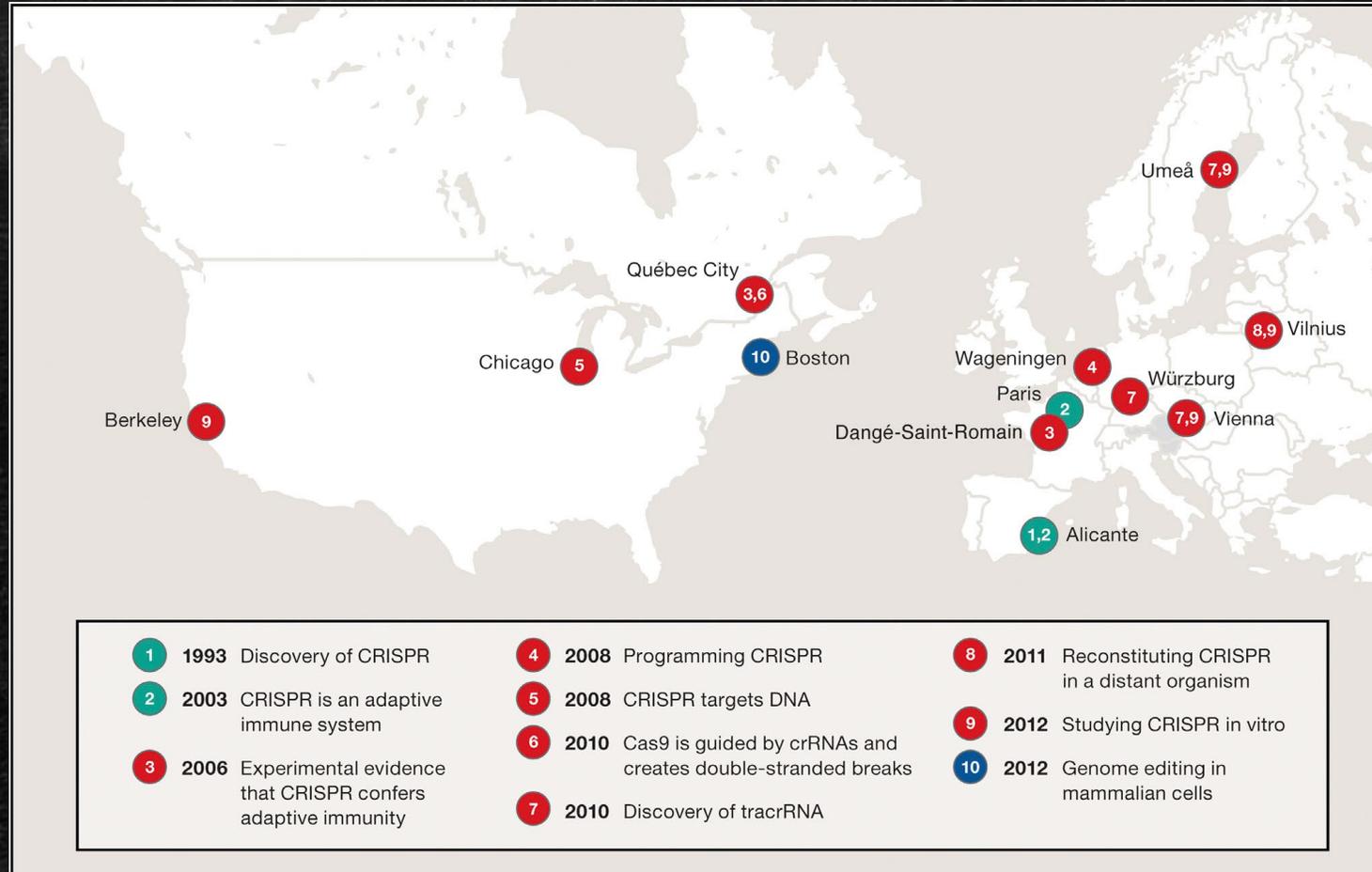
# Brackwasser, Militär und Joghurt



Jennifer Doudna



Feng Zhang



Emmanuelle Charpentier



Virginijus Šikšnys



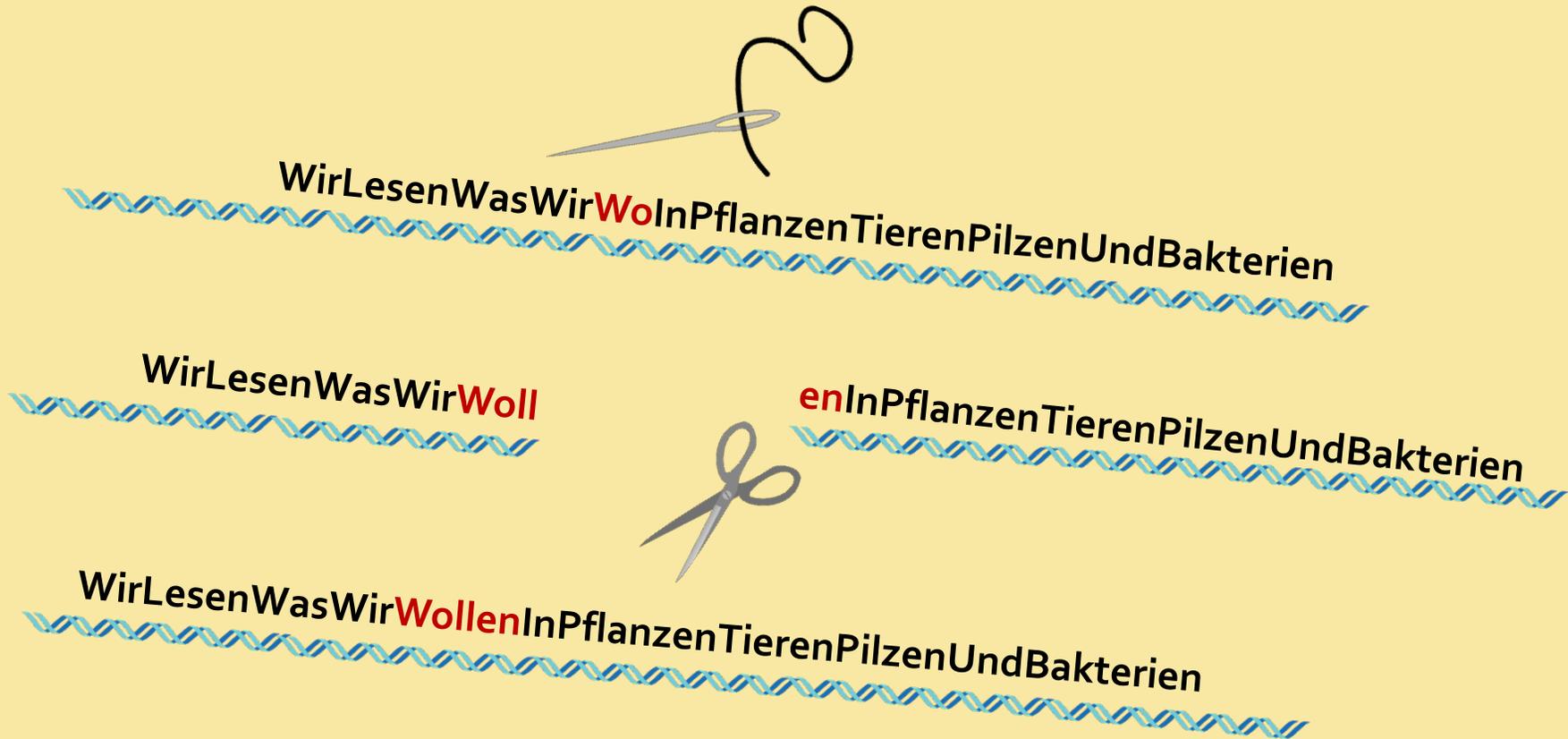
Jörg Vogel

Lander, Cell 164, 18-28 (2016)

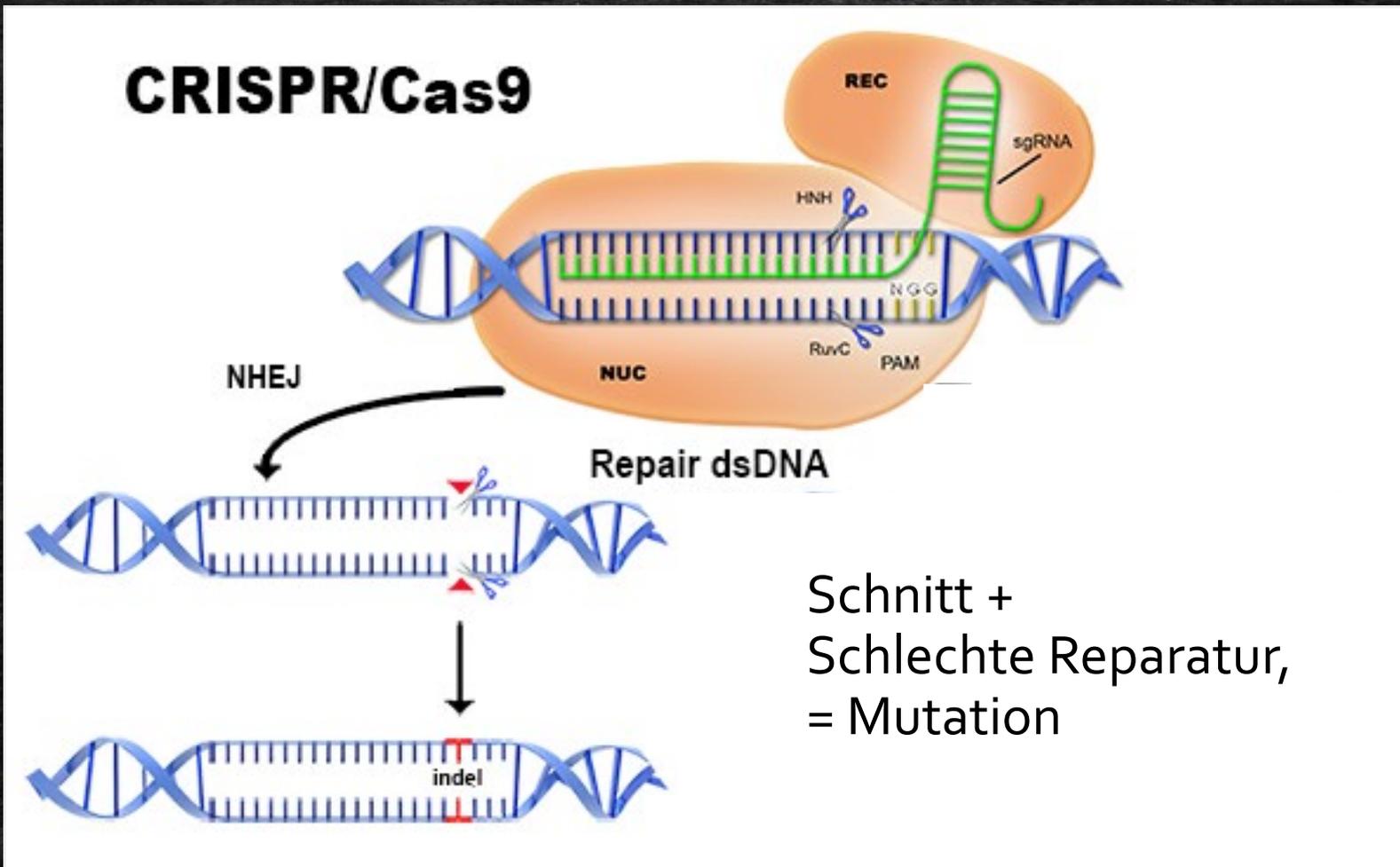
[http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(15\)01705-5.pdf](http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(15)01705-5.pdf)

# CRISPR/Cas ist Teil eines Immunsystems von Bakterien

Clustered Regularly InterSpaced Palindromic Repeats



# CRISPR/Cas Erklärung mit Vorwissen



Warum der Hype?

---

Von Mehltau befallener Weizen



Bis zu 25% Ertragsausfall durch Mehltau bei Weizen und Gerste

Von Mehltau befallener Wein

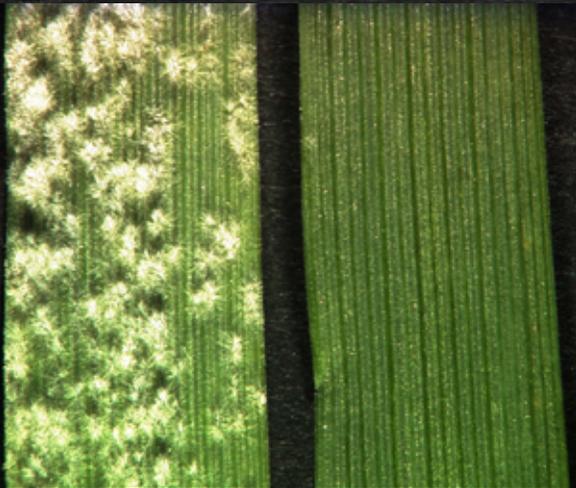


Eine Lösung

Kann Totalausfall der Ernte bedeuten

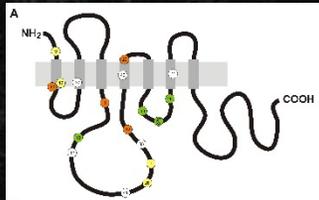
# Genetik ist besser als Chemie

Mehltauresistenz der Gerste durch *mlo* Allele



Mlo

*mlo*



Büschges *et al.* Cell, 1997

Äthiopische Landrassen aus Sammlungen von ca. 1930

Künstliche Erzeugung durch **Mutagenesezüchtung** seit 1942, viele unabhängige Allele

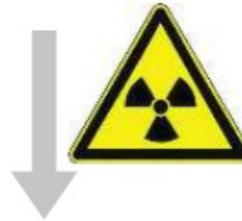
Weit verbreitet in Sommergerstensorten ab ca. 1960

Resistenz ungebrochen seit fast 60 Jahren!

# Was ist Mutagenese Züchtung?

## Strahlungszüchtung

Chromosom in der Pflanze

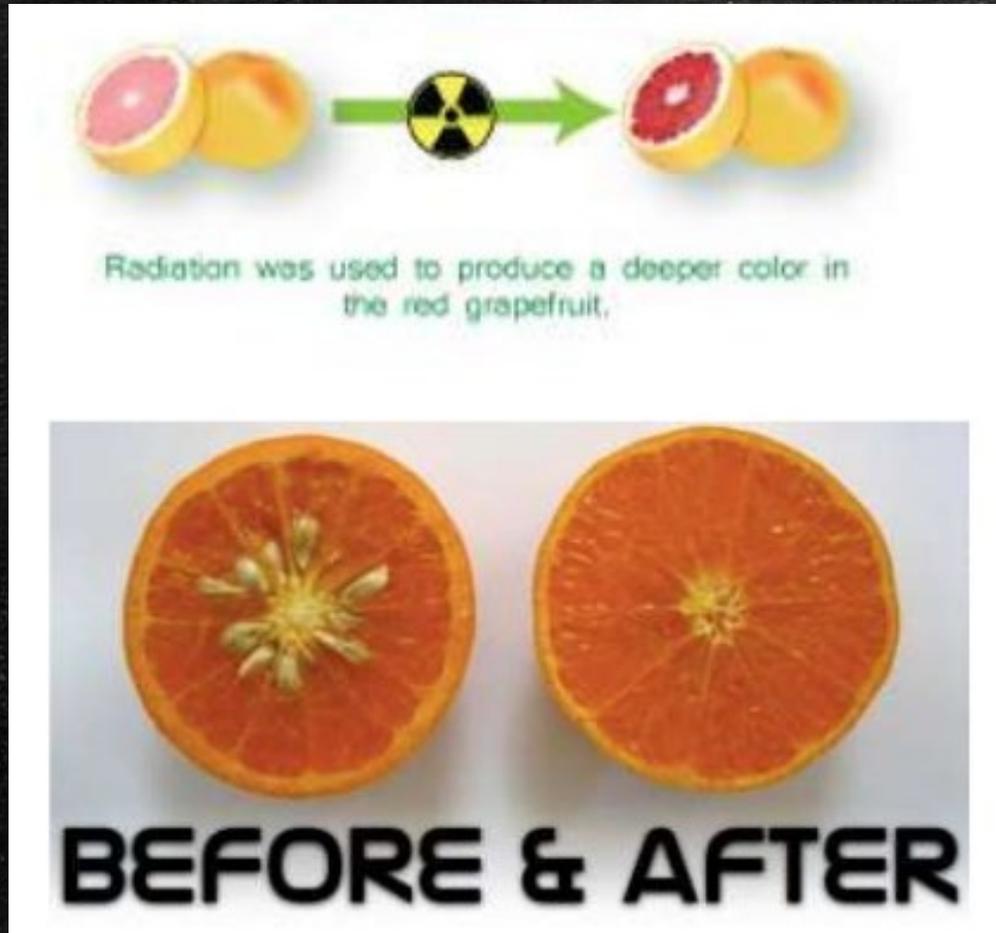


unerwünschte Mutationen      gewünschte Mutation

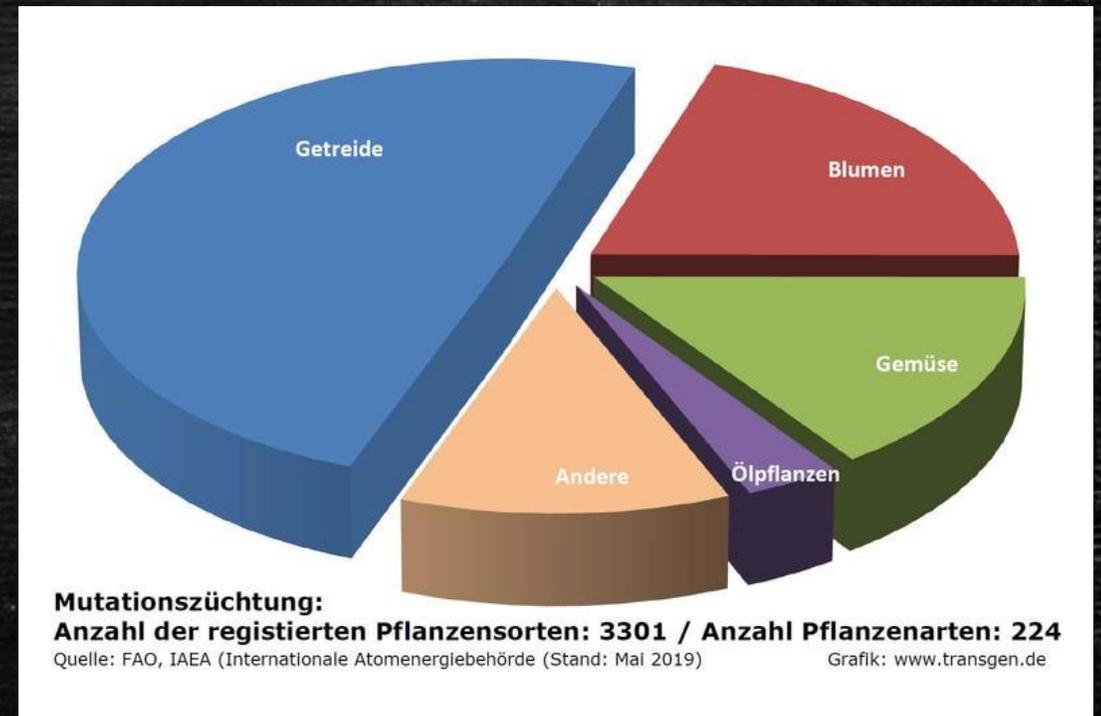


Resultat:  
Genetisch veränderter Organismus (GVO)

Durch Mutagenese Züchtung manipulierte Pflanzen sind heute allgegenwärtig in landwirtschaftlichen und gartenbaulichen Erzeugnissen



Mutant variety database:  
<https://mvd.iaea.org/>



Die grüne Revolution hat eine genetische, eine chemische und eine technische Komponente

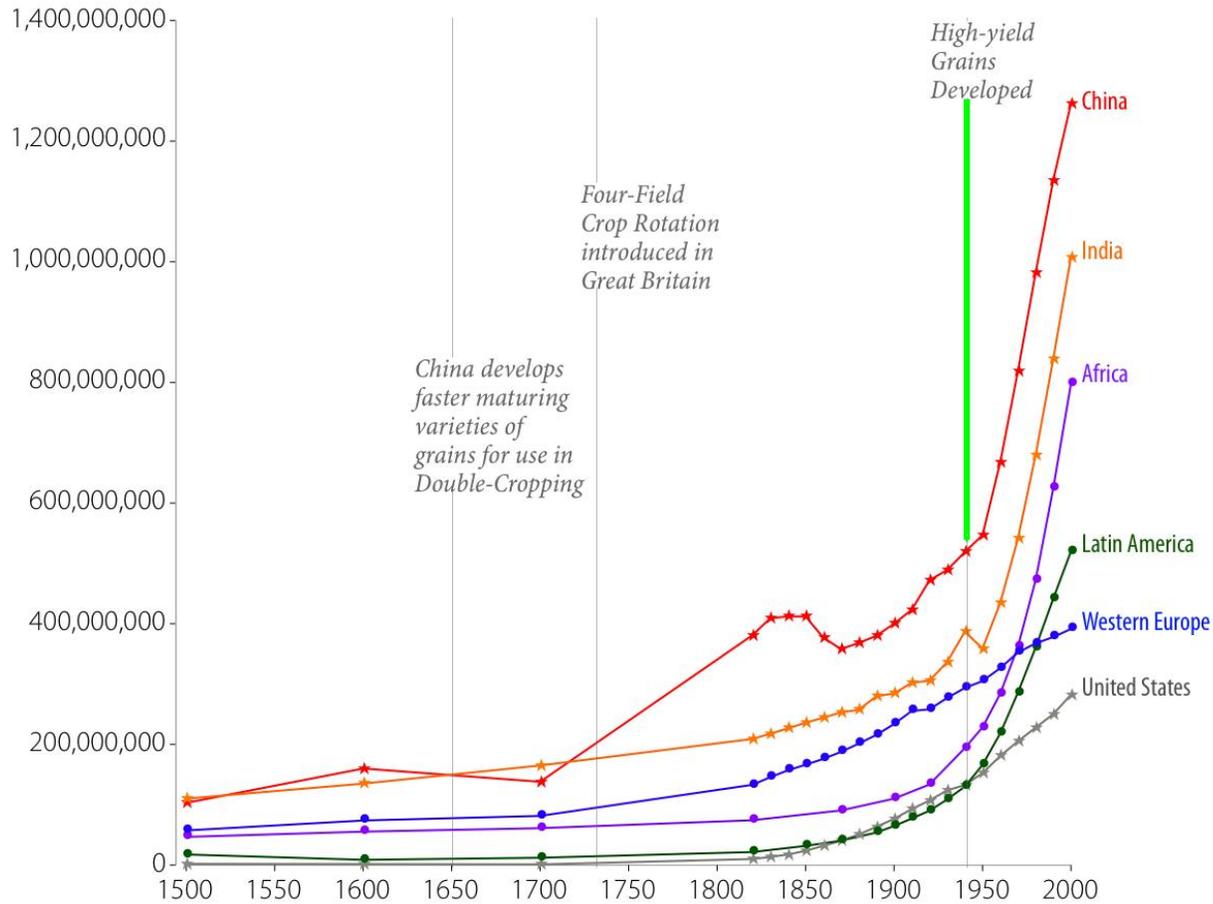


Rubrik Ökolandbau

Landwirtschaftskammer  
Nordrhein-Westfalen

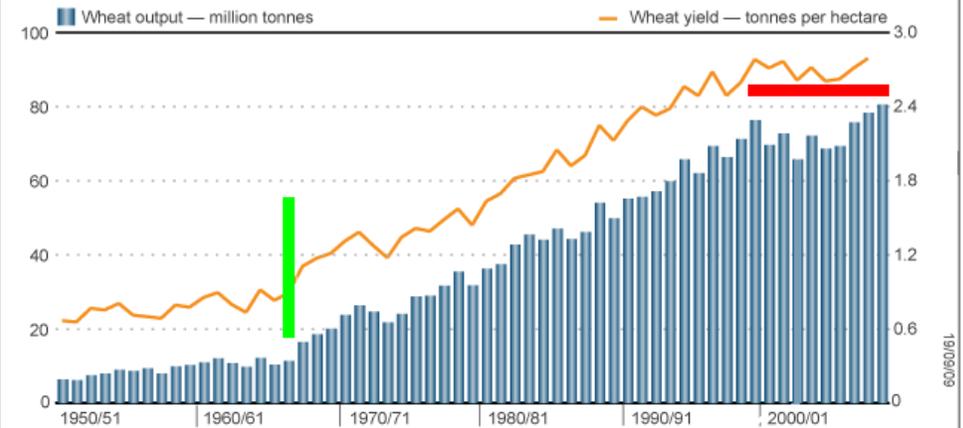
## Population Growth over the Last 500 Years

China, India, Africa, Latin America, Western Europe, and United States



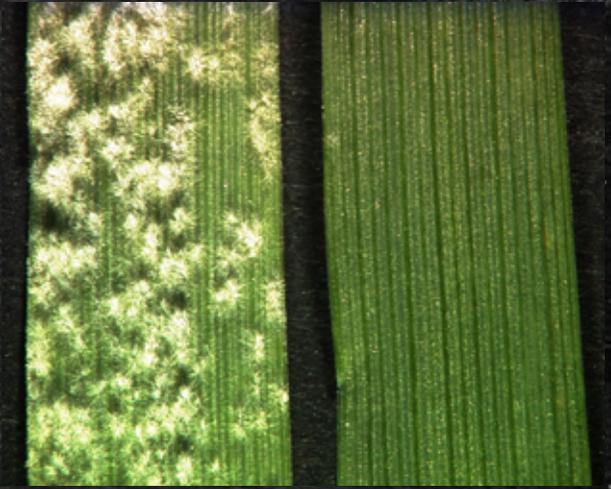
Source: Angus Maddison, University of Groningen

## India wheat output and yield



Source: India's Farm Ministry, 2008/2009 yield not available

Reuters graphic/Claire Morel



Mlo

*mlo*

## Zurück zu Mehltau und *mlo*

---

Funktioniert *mlo* Resistenz auch außerhalb der Gerste?



# Pressemitteilung von 2006

ÜBER UNS | FORSCHUNG | NEWSROOM | KARRIERE | INTERNATIONAL

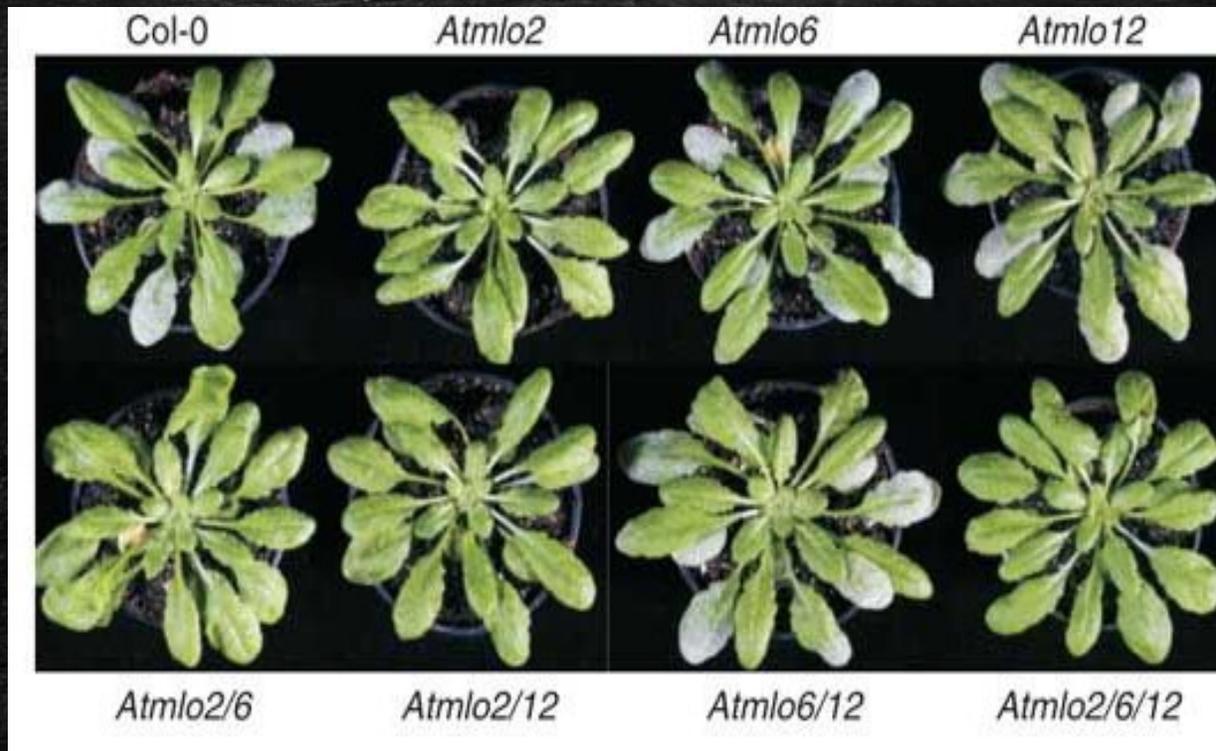
Startseite > Newsroom > Universeller Resistenzmechanismus bei Pflanzen entdeckt

> Veranstaltungen

> Wissenschaftsmagazin

## Universeller Resistenzmechanismus bei Pflanzen entdeckt

Anlagen für eine natürliche Mehltaresistenz bei der Modellpflanze Arabidopsis entdeckt



MLO basierte Resistenz gegen Mehltau ist universell

Consonni et al. Nat Gen, 2006

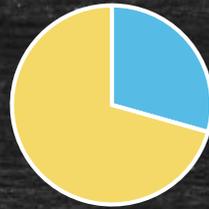
# Viele Pflanzen haben mehrere MLO Gene

---

Je mehr Gene, desto schwieriger ist es alle zufällig durch  
Mutagenese zu treffen



In Deutschland (2015)



■ Gerste ■ Weizen



Weizen und Gerste sind nahe Verwandte...

... dann sollte es doch einfach sein, Mehltau-resistenten Weizen zu erzeugen?

# Weizen: aus drei macht eins...



A Genom  
B Genom  
D Genom

Bild von der Webseite der MIPZ Wissenschaftsscheune, mehr Info unter <http://www.wissenschaftsscheune.de/station/evolution-des-weizens/>

**WISSENSCHAFTSSCHEUNE**

PFLANZEN ENTDECKEN  
ERFAHREN  
ERFORSCHEN



Drei Genome = dreifache Redundanz

---

Genome A = TaMLO A

Genome B = TaMLO B

Genome C = TaMLO D

# Mehltauresistenz durch *mlo* im Weizen auf der Ochsentour

Prof. Ralph Panstruga und Anja Reinstädtler



Prof. Ralph Panstruga, RWTH Aachen  
„In China hat man schon vor zwei Jahren resistente Weizensorten generiert. Aber dort gab es einen transgenen Ansatz. Und der ist hier in Europa nicht gewünscht.“

Chemische Mutagenese

Sommerweizenpopulation  
(Zusammenarbeit mit Pflanzenforschungsinstitut in Rothamsted)

Genomische DNA von 2020 M<sub>2</sub> Pflanzen

Suche nach induzierten Mutationen in 3 MLO Genen

Kombination der Allele durch mehrfache Kreuzung und Rückkreuzung

Acevedo-Garcia et al. Plant Biotechnol.J, 2017

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12631/abstract>

# Mehltauresistenz aus China ...

LETTERS

**nature  
biotechnology**

nature biotechnology VOLUME 32 NUMBER 9 SEPTEMBER 2014

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

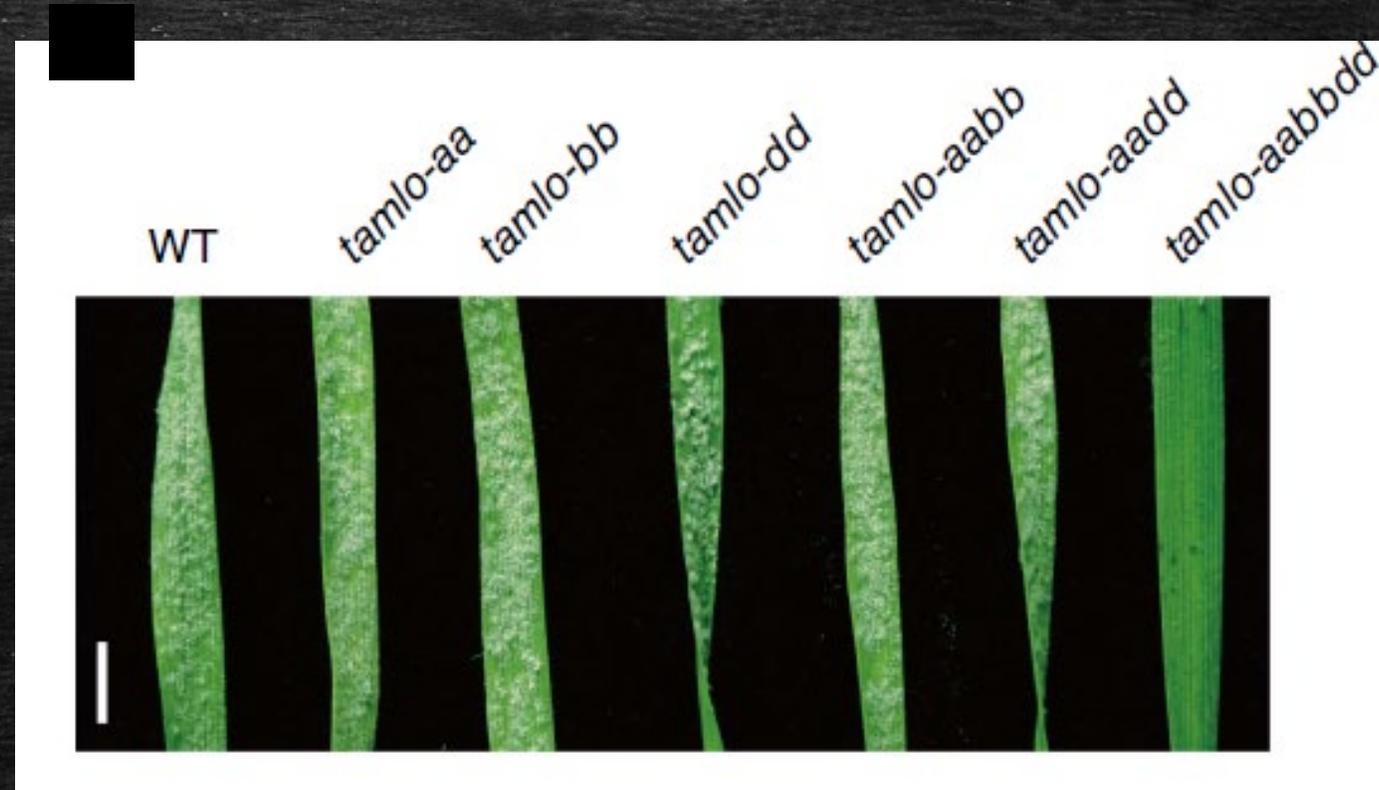
Yanpeng Wang<sup>1,3</sup>, Xi Cheng<sup>2,3</sup>, Qiwei Shan<sup>1</sup>, Yi Zhang<sup>1</sup>, Jinxing Liu<sup>1</sup>, Caixia Gao<sup>1</sup> & Jin-Long Qiu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China. <sup>2</sup>State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China.

... auf der Überholspur

TaMLO A  
TaMLO B  
TaMLO D

Alle drei Gene konnten  
in einem Rutsch ediert  
werden



Wang et al. Nature Biotech (2014)

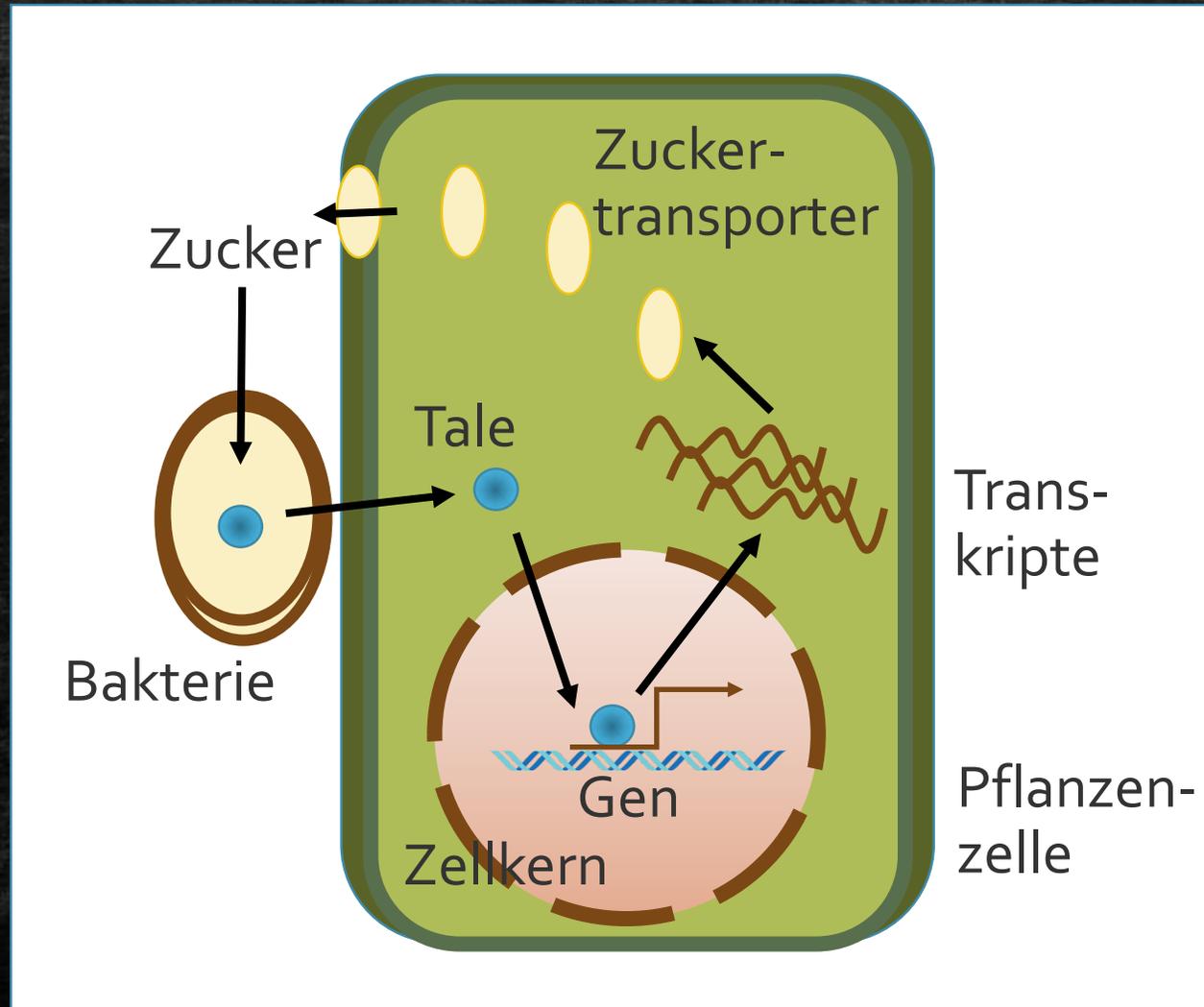
# Beistand für Pflanzen im Rüstungswettlauf mit Bakterien



Ernteausschlag durch bakterielle Infektion  
Xanthomonas und Pseudomonas Stämme



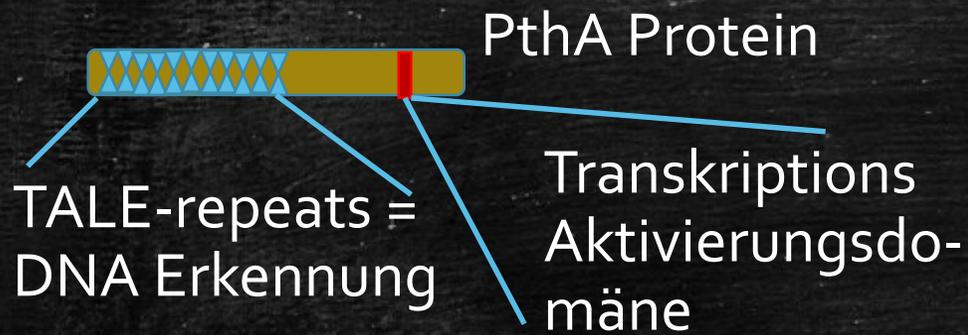
# Weitere bahnbrechende Ergebnisse aus öffentlich finanzierten Grundlagenforschung...



Prof. Ulla Bonas

# Was sind TALE Faktoren und wie schalten Bakterien damit pflanzliche Gene an?

*Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc)



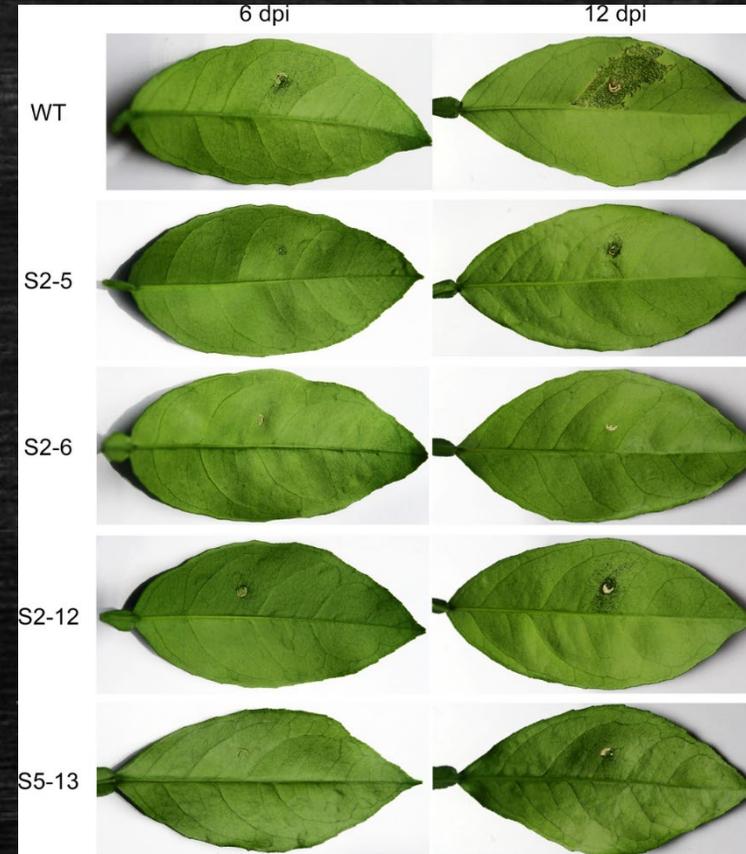
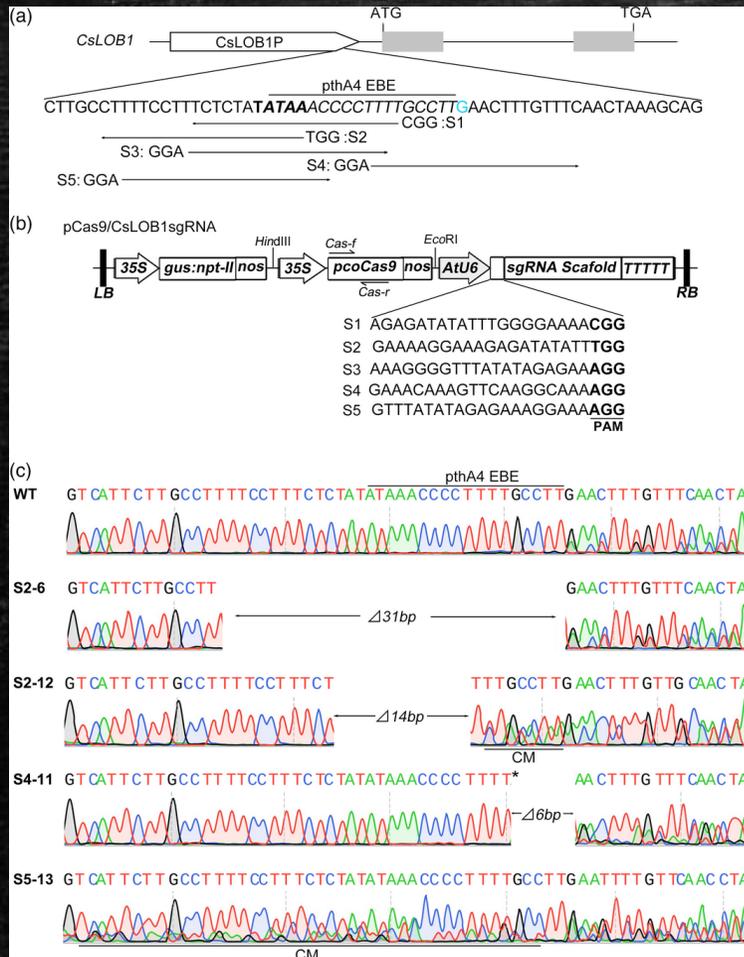
*Citrus sinensis* (süsse Orange)



# Veränderung der TALE Bindungsstellen durch CRISPR in Zitrus

4 verschiedene CRISPR/CAS Mutanten

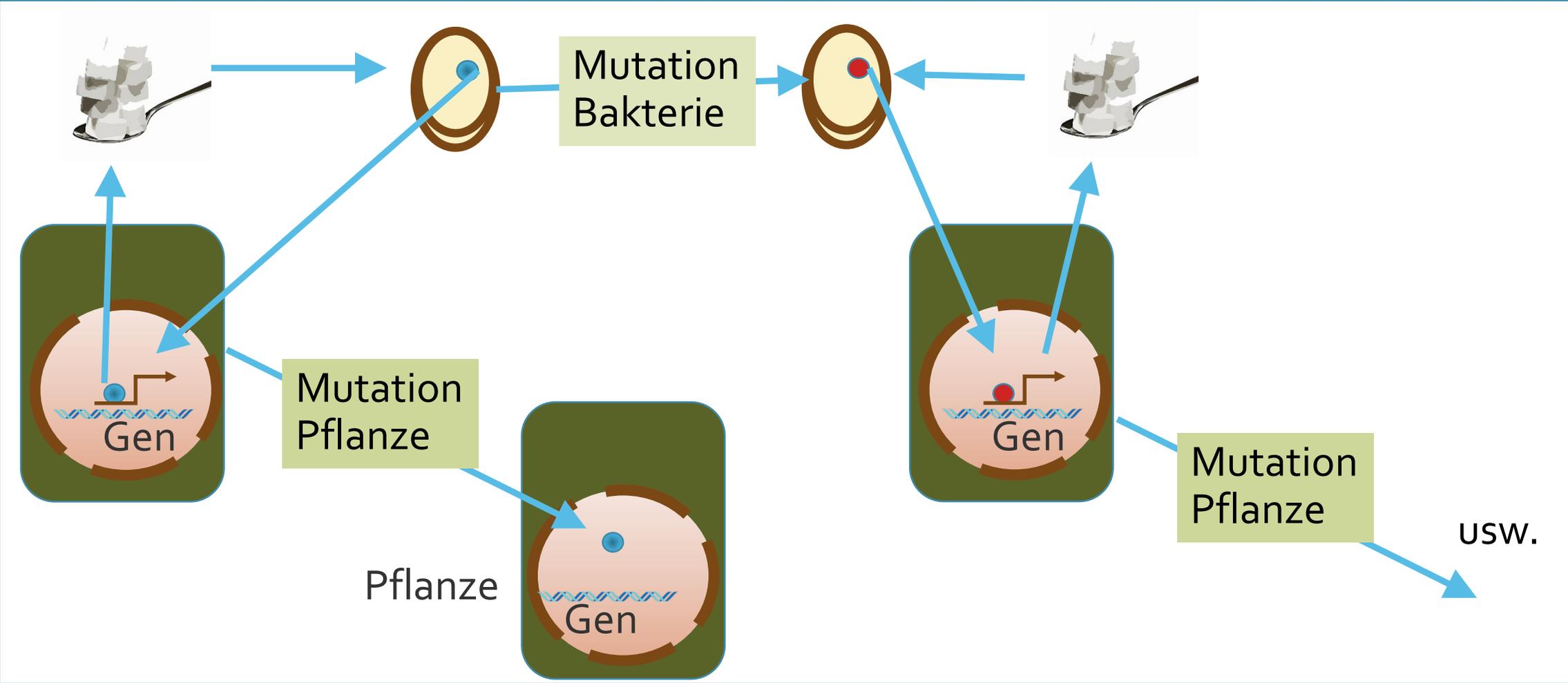
Anfälligkeitstest nach Tropfeninfektion mit Xanthomonas



Peng et al.,  
Plant Biotech  
Journal (2017)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12733/full>

# Rüstungswettlauf zwischen Xanthomonas Bakterien und Pflanzen



# Viele natürliche Resistenzgene sind „Gain-of-function“ Allele

Landrasse



Kaum Ertrag  
aber  
Resistenzgen

Elitesorte



Viel Ertrag aber  
kein  
Resistenzgen

Lösung 1  
Einkreuzen

5-8 Generationen,  
Einkreuzen und  
Rückkreuzen.  
Jede Generation  
muss bonitiert  
werden

Lösung 2  
CRISPR/CAS

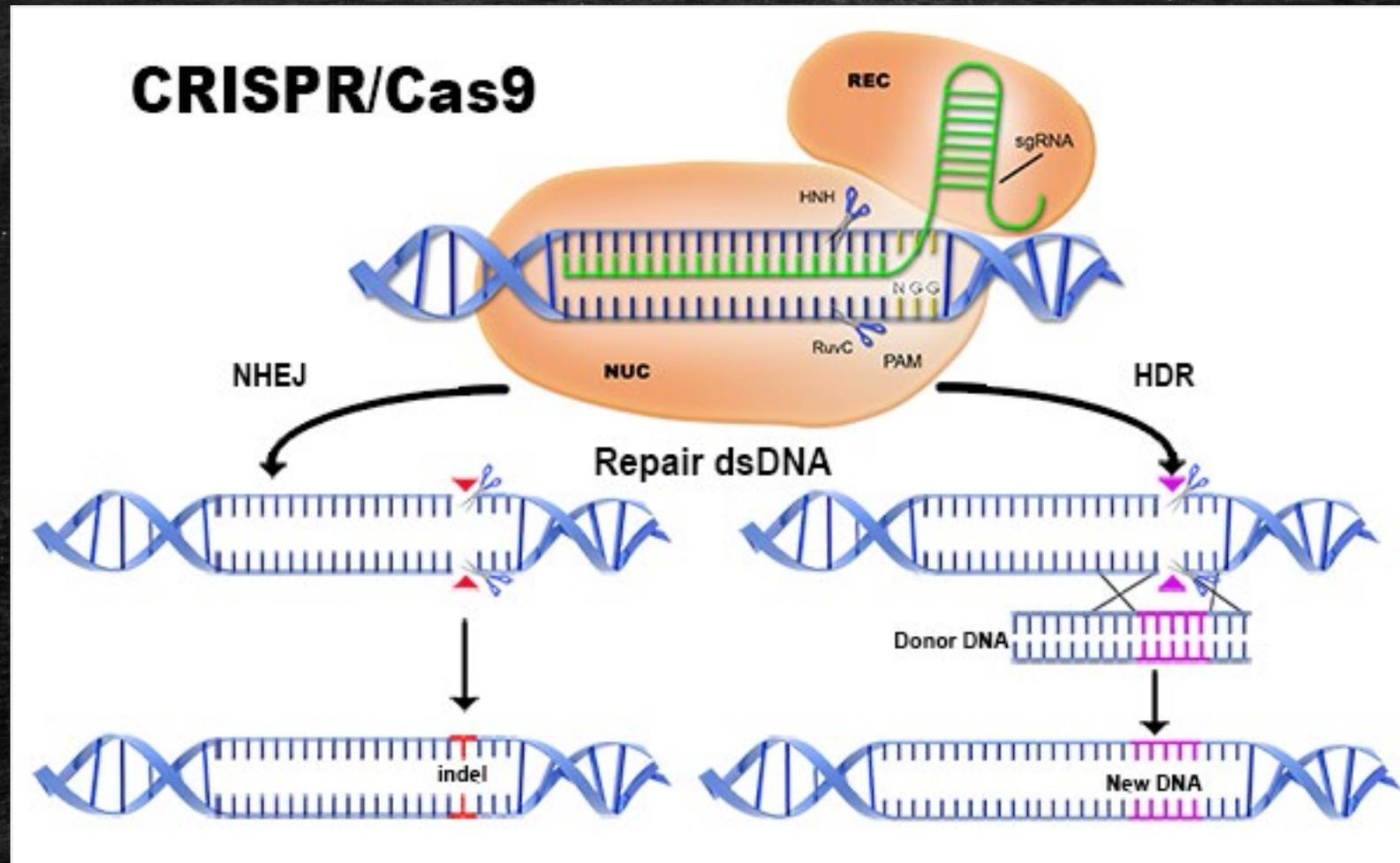
Präzises Einfügen  
des Resistenzgen  
aus der Landrasse  
an der orthologen  
Position im Genom  
der Elitesorte

„Cisgen“ statt „Transgen“

Wie bekommt man das Cisgen  
ins Genom?

---

# Präzisionseditierung CRISPR/CAS in Version 2.0

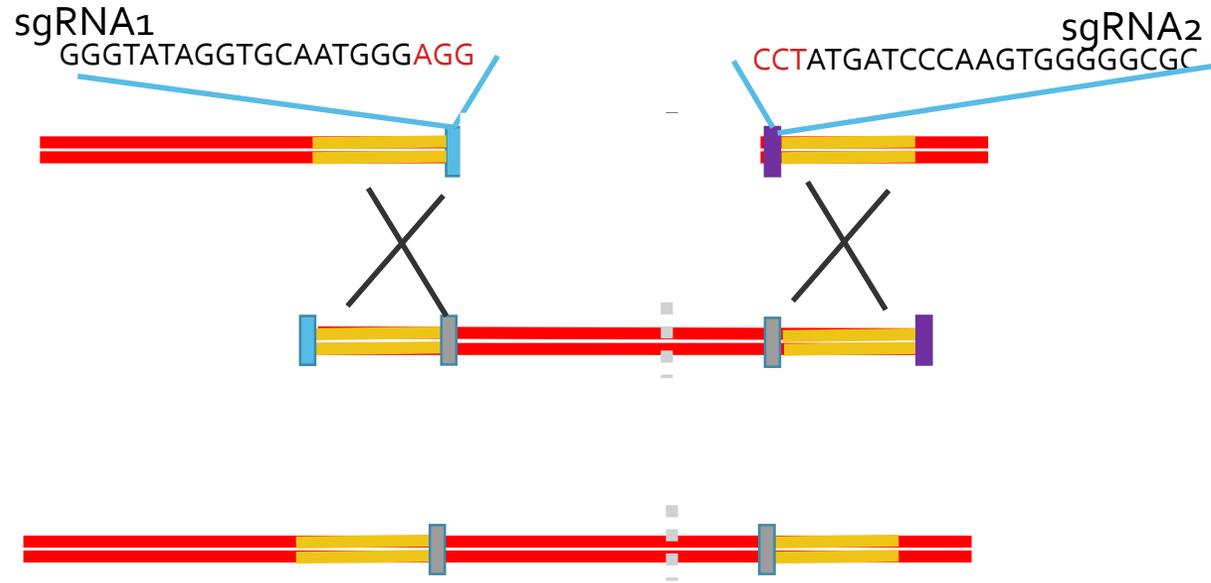


Gen-Editierung mit Vorlage  
ist in Pflanzen noch im  
Entwicklungsstadium

---

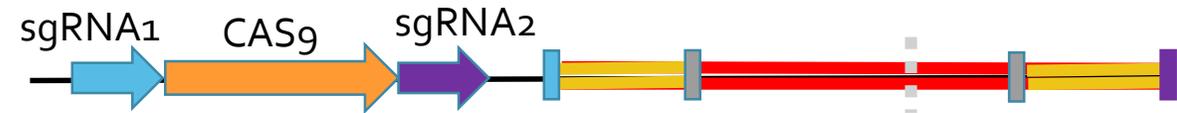
# ALS Herbizidresistenz als Helfer im Labor

## ALS Locus in Reis



## Editierter ALS Locus in Reis

## Editierungskonstrukt



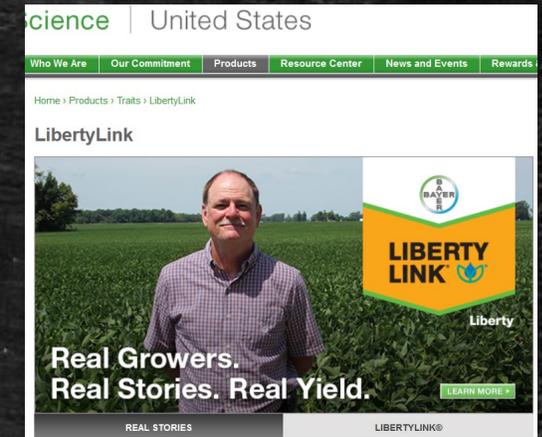
Herbizid  
resistenter  
Reis

# Herbizidresistenz durch Mutation des ALS Gens

Wirkweise von Herbiziden und Resistenzherzeugung			
Herbizid	Betroffener Syntheseweg	Zielenzym	Methode für Resistenz
Glyphosat	Synthese aromatischer Aminosäuren	5-Enol-Pyruvyl-shikimat-3-phosphat (EPSP)-Synthase	1. Überexpression der EPSP-Synthase 2. Einführung des Resistenzgens <i>aroA</i>
Glufosinat	Synthese von Glutamin	Glutaminsynthetase	1. Überexpression der Glutaminsynthetase 2. Einführung der Resistenzgene <i>bar</i> oder <i>pat</i>
Sulfonyle	Synthese verzweigter Aminosäuren	Acetolactat-Synthase	Einführung des <i>als</i> -Resistenzgens



RoundUp Monsanto



LibertyLink Bayer



# Herbizidresistenz durch Mutation des ALS Gens

Wirkweise von Herbiziden und Resistenzzerzeugung			
Herbizid	Betroffener Syntheseweg	Zielenzym	Methode für Resistenz
<b>Glyphosat</b>	Synthese aromatischer Aminosäuren	5-Enol-Pyruvyl-shikimat-3-phosphat (EPSP)-Synthase	1. Überexpression der EPSP-Synthase 2. Einführung des Resistenzgens <i>aroA</i>
<b>Glufosinat</b>	Synthese von Glutamin	Glutaminsynthetase	1. Überexpression der Glutaminsynthetase 2. Einführung der Resistenzgene <i>bar</i> oder <i>pat</i>
<b>Sulfonyle</b>	Synthese verzweigter Aminosäuren	Acetolactat-Synthase	Einführung des als-Resistenzgens

**BASF**  
We create chemistry

**Regionalisierung**  
Jetzt einmalig PLZ für regionale Infos speichern!  

- Ihr lokales Agrarwetter
- Ihre persönliche Regionalberatung
- Ihre regionalen Ansprechpartner

Website jetzt regionalisieren!

**Produkte**  

- Produktübersicht
- Produktneuheiten
- Zulassungen
- Kulturen
- Clearfield®
- EcoKanister
- Entsorgung
- Stickstoff-Management

**Clearfield®-Produktionssystem**  
 Mehr als nur Unkrautbekämpfung  
 » Das Clearfield®-System  
 » Bekämpfung wichtiger Ackerunkräuter und Ackergräser  
 » Clearfield®-Sorten  
 » Clearfield® ist mehr - Vorteile  
 » Produktverantwortung

**Mit Clearfield® 3-fach Punkte sichern**  
 Am Bonusprogramm BASF ist mehr anmelden, Extra-Punkte sichern und mehr vom Hektar holen!  
 » Mehr

# Herbizidresistenz durch Mutation des ALS Gens

Wirkweise von Herbiziden und Resistenzherzeugung			
Herbizid	Betroffener Syntheseweg	Zielenzym	Methode für Resistenz
<b>Glyphosat</b>	Synthese aromatischer Aminosäuren	5-Enol-Pyruvyl-shikimat-3-phosphat (EPSP)-Synthase	1. Überexpression der EPSP-Synthase 2. Einführung des Resistenzgens aroA
<b>Glufosinat</b>	Synthese von Glutamin	Glutaminsynthetase	1. Überexpression der Glutaminsynthetase 2. Einführung der Resistenzgene bar oder pat
<b>Sulfonyle</b>	Synthese verzweigter Aminosäuren	Acetolactat-Synthase	Einführung des als-Resistenzgens

## Sulfonyl Herbizide und Resistenzen

- 1.) Ursprüngliches Patent DuPont vor 30 Jahren
- 2.) inzwischen ca. 31 Derivate verschiedener Firmen, alle Inhibitoren des ALS Gens
- 3.) Meistverwendete Herbizidklasse weltweit
- 4.) Weltweit mehr als 100 Sulfonyl Resistente „Un“kräuter

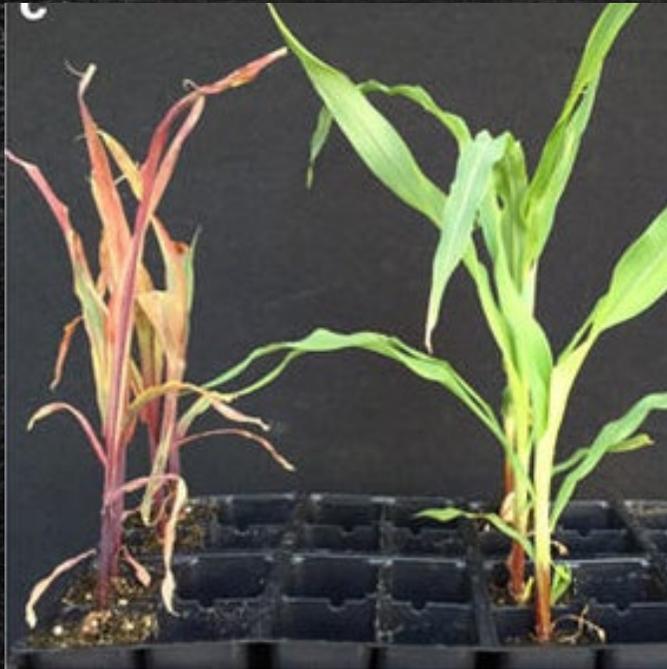
<http://www.weedscience.org/Mutations/MutationDisplayAll.aspx>

Auch die editierten Pflanzen  
waren einmal transgene  
Pflanzen – muss das sein?

---

# Wann ist eine transgene Pflanze (k)eine transgene Pflanze? CRISPR/Cas 3.0

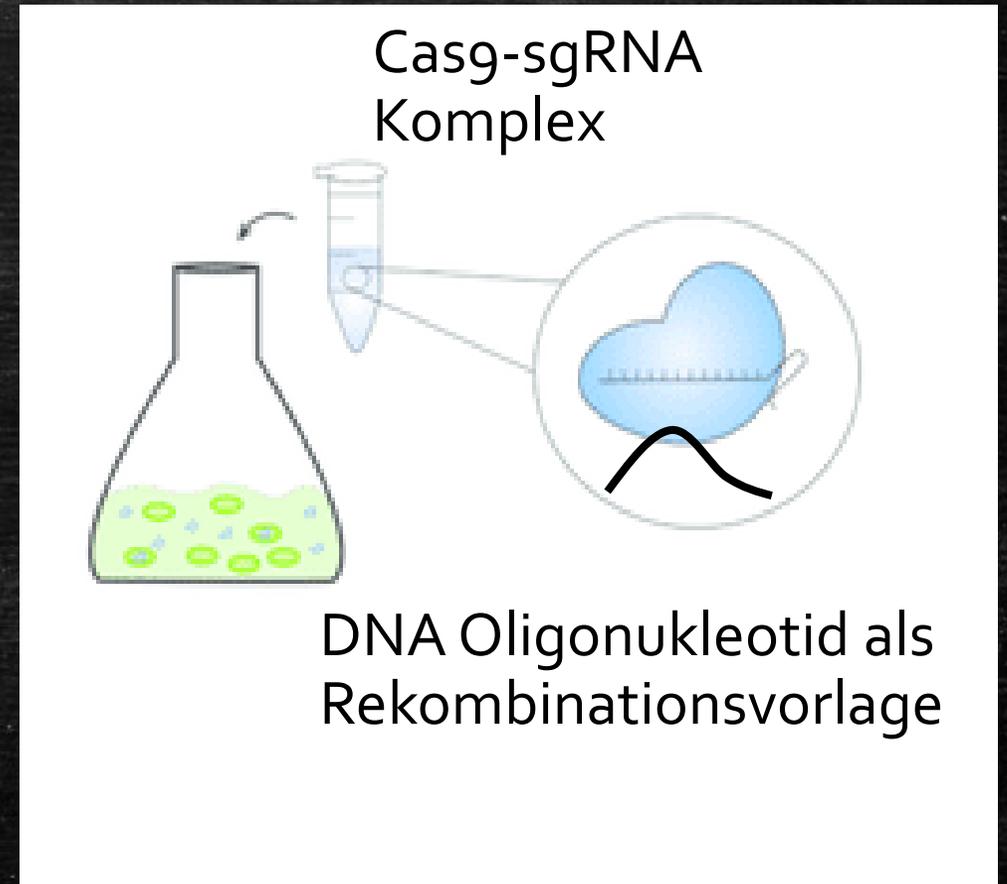
ALS Genedit



WT-ALS

R-ALS

Behandlung mit Sulfonyl Herbizid



CRISPR/Cas 3.0 war eine  
Entwicklung findiger  
Forscher, um  
Gentechnikregulierungen zu  
umgehen bzw. Kritik zu  
entkräften

---

Aber irgendwie hat der Europäische Gerichtshof die Lage eher noch komplizierter gemacht?

# Prozess versus Produkt basierte Regulierung

---

1990: Regulatorische Direktive unterscheidet zwischen konventionellen Methoden (inkl. chemisch induzierter Mutagenese) und Methoden, die rekombinante DNA verwenden (GMO).

2013: European Academies Science Advisory Council (EASAC) Bericht, in dem dafür plädiert wurde, zu einer produktbasierten Kategorisierung zu wechseln

2015: ESAC Empfehlung, Geneditierte Pflanzen ohne Fremd-DNA nicht zu regulieren

2015: Offener Brief der (NGOs), Geneditierte Pflanzen als GMO zu regulieren und die Regulierung zu verschärfen.



# Die legale Situation: Auszüge aus Nature Editorial Februar 2017

THIS WEEK EDITORIALS

## Legal limbo

*Europe is dragging its feet on gene-editing rules and scientists should push the issue.*

**“CRISPR technology has already led to many gene-edited plants that are ready for outdoor field trials.”**

European scientists are competing with countries such as the United States, where gene-edited products are not considered equivalent to GM products, at least for now.

Germans attach great value to public dialogue. So on 14 February, the Leopoldina, Germany’s national science academy, hosted a debate on the issue. Officials from the federal environment ministry and its office for nature protection spoke passionately in favour of ever-greater regulation, whereas the agriculture ministry and the office for consumer protection and food safety disagreed.

The debate might never have taken place if the European Union itself had been able to decide on the issue. But it is habitually paralysed whenever genetic modification is discussed. Two years ago the European Commission requested all member states to hold back on giving the all-clear on gene editing while it considered its options.

ECJ Entscheidung nicht vor 2018 erwartet  
Deutschland hat sich jetzt doch wieder dahinter  
gehängt mit der eigenen Entscheidung



Editierte Pflanzen ohne  
Fremd DNA werden  
erstmal nicht als GMO  
reguliert



Alle Organismen mit künstlich verändertem Genom sind grundsätzlich GVO

Ca. 15 Mio €

Alle mit neuen Technologien erzeugten GVO müssen einer Unbedenklichkeitsprüfung unterzogen werden

### 25.7.2018 EuGH Urteil zu GVO und Gentechnik



Foto: Gerichtshof der Europäischen Union

Mutagenese Züchtung ist Gentechnik, aber von der Unbedenklichkeitsprüfung ausgenommen aufgrund des Mangels an negativer Erfahrung

[Home](#) / [The Nutshell](#)

## USDA Will Not Regulate CRISPR-Edited Crops

Restrictions will remain on transgenic plants, which contain artificially inserted genes from other species.

Apr 2, 2018  
DIANA KWON



PIXABAY, ANALOGICUS

The US Department of Agriculture (USDA) will not regulate plants that have been modified through genome editing, according to [statement](#) released last week (March 28) by the agency.

# Russia joins in global gene-editing bonanza

*A US\$1.7-billion programme aims to develop 30 gene-edited plant and animal varieties in the next decade.*

Olga Dobrovidova



Sugar beet is one of four crops listed as a priority for Russian gene-editing research. Credit: Bloomberg/Getty

[PDF version](#)

#### RELATED ARTICLES

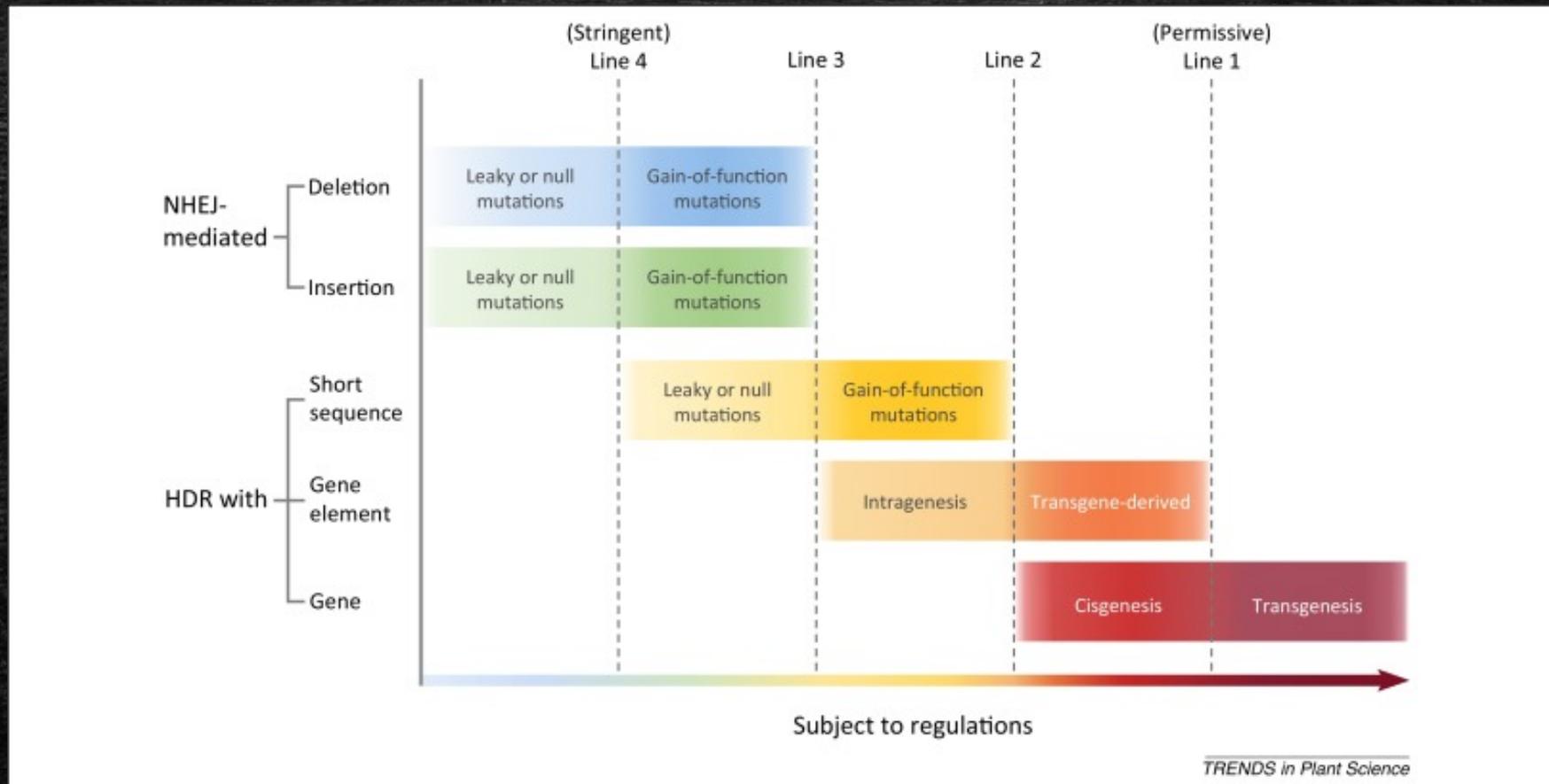
[CRISPR plants now subject to tough GM laws in European Union](#)

[Russian science chases escape from mediocrity](#)

[Australian gene-editing rules adopt 'middle ground'](#)

#### SUBJECTS

# Japanische Forscher schlagen folgende legale Rahmenbedingungen vor



Araki and Ishii, Trends in Plant Science(2015) <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138515000291?via%3Dihub>

SHARE



4K



237



In Japan, genetically modified products have to be labeled; an advisory panel did not say whether that should apply to gene-edited food as well. SHIHO FUKADA/BLOOMBERG/GETTY IMAGES

## Gene-edited foods are safe, Japanese panel concludes

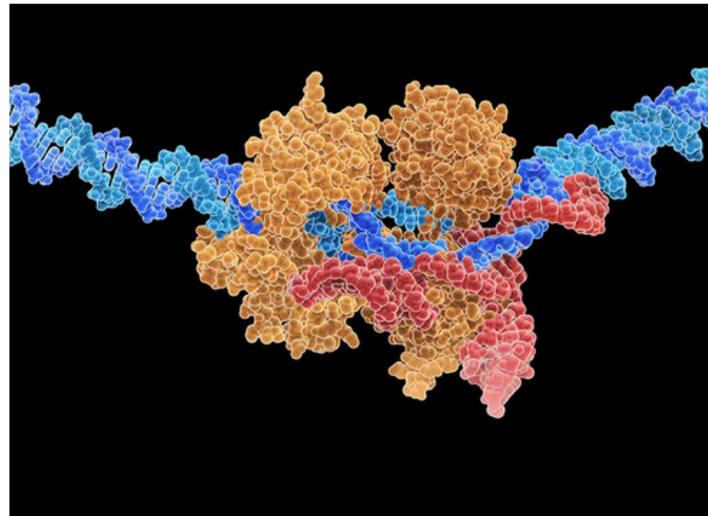
By Dennis Normile | Mar. 19, 2019, 1:15 PM

Japan will allow gene-edited foodstuffs to be sold to consumers without safety evaluations as long as the techniques involved meet certain criteria, if recommendations agreed on by an advisory panel yesterday are adopted by the Ministry of Health, Labour and Welfare. This would open the door to using CRISPR and other techniques on plants and animals intended for human consumption in the country.

# Australian gene-editing rules adopt 'middle ground'

Updated regulations allow scientists to use some genome-editing techniques in plants and animals without government approval.

Smriti Mallapaty



Some genome edits made using the CRISPR-Cas9 tool (illustrated) will be exempt from oversight in Australia. Credit: Carlos Clariven/SPL

The Australian government will not regulate the use of gene-editing techniques in plants, animals and human cell lines that do not introduce new genetic material.

The decision, announced on 10 April, is the result of a review of the country's gene technology regulations.

Previously, the use of such technologies, including CRISPR-Cas9, for research was restricted in practice because the techniques were governed by the same rules as conventional genetic modifications,

## RELATED ARTICLES

CRISPR plants now subject to tough GM laws in European Union

European court suggests relaxed gene-editing rules

Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation

Gene editing in legal limbo in Europe

## SUBJECTS

Genetics Government

 Get the most important science stories of the day, free in your inbox.

Sign up for Nature Briefing





Vielen Dank fürs Zuhören!

Dank auch an Prof. Sascha  
Laubinger für einige Ideen und  
Graphiken!

Dank an das Team von [transgen.de](https://transgen.de)  
für einige Graphiken