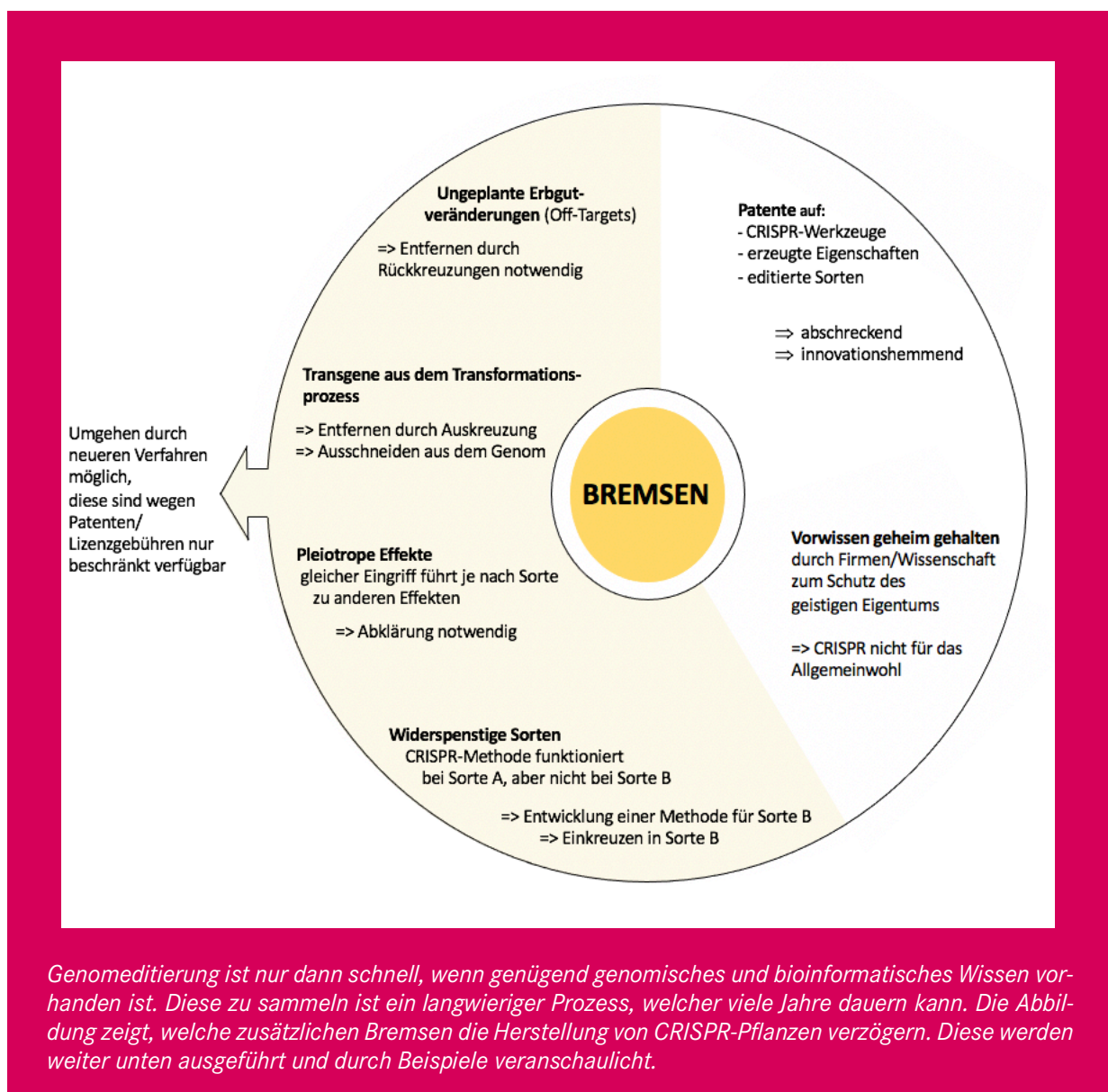


Wie schnell ist CRISPR?

Wenn es um CRISPR geht, ist die Pflanzenforschung begeistert. Vor allem das Tempo, mit dem sich im Labor Pflanzen verändern lassen, fasziniert die Forschenden. Doch ob sich diese Schnelligkeit im Labor auch in Züchtungsprogrammen wiederfinden lässt? Oft geht vergessen, dass mittels Genomeditierung von Pflanzen im Labor erst Varianten entstehen, die es dann noch – unter Umständen zeitaufwendig – in kommerzialisierbare Sorten umzuwandeln gilt. Und oft geht auch vergessen, dass es verschiedene zusätzlichen Bremsen gibt, welche den Weg vom Labor aufs Feld verlängern.



Bremsen

Lange dauernde Abklärungen

Im Vergleich zur herkömmlichen Züchtung setzt die Genomeditierung ein ungleich viel höheres Mass an genomischem und bioinformatischem Wissen voraus. Das CRISPRen kann denn auch nur dann schnell sein, wenn Züchtende wissen, welche(s) Gen(e) im Erbgut einer Sorte sie wie editieren müssen.

Wissen zu schaffen ist zeitaufwendig. Bei der GABA-reichen Tomate, die seit 2021 von der Firma Sanatech in Japan vermarktet wird, brauchte es zum Beispiel zehn Jahre Forschung, bis klar war, welches Gen der Tomate wie verändert werden muss. Auch beim viel beachteten mehltoleranten Weizen der Chinesischen Akademie der Wissenschaften dauerte es acht Jahre, bis die Forschenden wussten, mit welchen Erbgutveränderungen sie die Toleranz erreichen.

Geheimhaltung statt Schnelligkeit

Die Gene zu kennen, die einer bestimmten Pflanzeigenschaft zugrunde liegen, ist eine Voraussetzung für die Genomeditierung. Das in der Industrie und auch im akademischen Bereich übliche Geheimhalten von Gendaten und Ergebnissen von Genom-Editierungsexperimenten, um das geistige Eigentum zu schützen, bremst die Züchtung und steht im Widerspruch zur Botschaft der Akteur:innen, schnelles CRISPR diene dem Allgemeinwohl.

Widerspenstige Sorten

Eigenschaften direkt ins Erbgut jeder x-beliebigen Sorte einbringen können – das macht CRISPR in der Theorie zu einem schnellen Züchtungswerkzeug. Doch die Praxis sieht anders aus: Hier fehlt den Züchtenden oft ein CRISPR-Verfahren, das sich auf jede x-beliebige Sorte einer Kulturart anwenden lässt. Vielmehr treffen Züchtende oft auf sogenannte «widerspenstige Sorten», die sich mit den vorhandenen Verfahren nicht editieren lassen. Kurzum: CRISPR-Methoden, die bei Sorte A gelingen, können bei Sorte B versagen. Die Konsequenzen: Wollen Züchtende die anvisierte Eigenschaft dennoch in Sorte B einbringen, müssen sie entweder ein CRISPR-Verfahren für Sorte B entwickeln oder erst die Sorte A editieren und dann von dort mit herkömmlicher Züchtung die Eigenschaft in Sorte B einkreuzen.

Da beide Wege zeitaufwendig sind, können widerspenstige Sorten die Genomeditierung zu einem langwierigen Prozess machen.

Pleiotrope Effekte als Bremsklotz

Neben den widerspenstigen Sorten bremsen auch pleiotrope Effekte die Genomeditierung aus. Denn sie führen dazu, dass die Vorstellung, dass man Eigenschaften direkt ins Erbgut einer x-beliebigen Sorte einbringen kann, nicht zwingend der Realität entspricht. Pleiotrope Effekte führen nämlich dazu, dass die gleiche Erbguteditierung je nach Sorte zu verschiedenen Effekten führt. Kurzum: Die mit CRISPR erzeugte Mutation, die bei Sorte A zur erwünschten Eigenschaft führt, kann bei Sorte B versagen – entweder weil die anvisierte Eigenschaft ausbleibt oder weil zusätzlich unerwünschte Merkmale

auftreten. Wollten Züchtende bei Sorte B dennoch Erfolg haben, müssten sie weiter Grundlagenarbeit leisten und zeitraubend abklären, ob und wie sich die gewünschte Eigenschaft ohne pleiotrope Effekte mit CRISPR editieren lässt.

Zeitraubende Transgen-Entfernung

Mit CRISPR erzeugte Varianten enthalten prozessbedingt oft artfremde Gene (Transgene) oder Bruchteile davon in ihrem Erbgut. Wollen Züchtende aus der Variante eine kommerzialisierbare Sorte machen, müssen sie die artfremden Sequenzen entfernen. Bei manchen Kulturarten wie Reis, Mais, Soja oder Tomate gelingt dies durch Segregation, also durch Auskreuzung des ungewollten Erbmaterials. Je nach Lage der artfremden Sequenzen im Erbgut der Varianten kann die Segregation innerhalb einer Generation glücken. Sie kann aber auch zeitraubend sein und mehrere Generationen dauern – etwa dann, wenn im Erbgut der Varianten an mehreren Orten artfremde Sequenzen zu finden sind. Bei Kulturarten wie Kartoffeln, Maniok, Äpfeln, Bananen und Weinreben, die lange Generationszyklen oder eine asexuelle Vermehrung haben, ist die Transgen-Entfernung via Segregation so zeitaufwendig, dass sie nicht praktikabel ist. Hier müssen die Transgene – wiederum zeitraubend – aus dem Erbgut ausgeschnitten werden.

Langwierige Rückkreuzungen wegen ungeplanter Erbgutveränderungen

Mit CRISPR erzeugte Varianten enthalten prozessbedingt neben der gewünschten Veränderung zusätzlich auch ungeplante Änderungen in ihrem Erbgut (Off-Target-Mutationen und somaklonale Variationen). Während die meisten dieser ungeplanten Änderungen keine oder vernachlässigbare Auswirkungen auf die Sorteneigenschaften der Variante haben, können einige die Eigenschaften aber auch verschlechtern. Um diese unerwünschten Veränderungen zu entfernen und aus der mit CRISPR erzeugten Variante eine kommerzialisierbare Sorte zu machen, müssen die Züchtenden langwierige Rückkreuzungen durchführen.

Schnelles CRISPR nur für Extrageld

Pleiotrope Effekte, widerspenstige Sorten, das Entfernen von Transgenen und ungeplante Erbgutveränderungen – sie alle machen die Genomeditierung mit CRISPR zu einem mühseligen und zeitaufwendigen Unternehmen. Forschung und Industrie haben deshalb unlängst neuere CRISPR-Verfahren entwickelt, mit denen sich – zumindest bei einzelnen Kulturarten – die Engpässe überwinden und die Genomeditierung beschleunigen lassen. Doch wer von diesen optimierten Prozessen profitieren wird, ist offen. Da Firmen und auch akademische Einrichtungen ihre Verfahren patentieren lassen, werden auf jeden Fall nur die Züchtungsfirmen das schnellere CRISPR nutzen, die sich die Extrakosten für die Lizenzgebühren leisten können.

Ausgebremst im Patendickicht

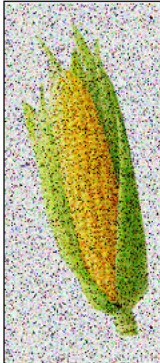
Nicht nur die Verfahren für schnelles CRISPR sind patentiert, auch CRISPR-Werkzeuge, mit ihnen erzeugte Eigenschaften und selbst die editierten Sorten unterliegen dem Patentschutz. Weltweit lassen sich mehr als 2000 Patentanträge für das CRISPR bei Pflanzen eruieren. Fachleute sprachen denn auch unlängst von einem riesigen

Dickicht von Patenten und warnen davor, dass die damit verbundenen Ansprüche der Firmen eine abschreckende und innovationshemmende Wirkung auf die Züchtungsfortschritte entfalten.

Beispiele

Wachsmais von Corteva und MLN-toleranter Mais von CIMMYT und Corteva

2015 hat Corteva mit CRISPR mehrere Elite-Maissorten so verändert, dass ihre Stärke keine Amylose enthält, und sie damit zu Wachsmaissorten gemacht. Im Vergleich zur

	Wachsmais (Corteva)	
	Zeiteinsparung im Vergleich zur herkömmlichen Züchtung	
	• laut Konzernangaben:	> 1 Jahr
	Zeitdauer von Herstellung bis Vermarktung	> 8 Jahre
	MLN-tolerante Maishybride (CIMMYT & Corteva)	
	Theoretische Einschätzung Zeiteinsparung	
	• Je nach Quelle:	1 bis 8 Jahre
	Zeitdauer von Herstellung bis Vermarktung	
	• 2019-2025 (Prognose Hersteller):	6 Jahre

Herstellung von Wachsmais mit markergestützter Züchtung hat der Konzern – nach eigenen Angaben – «mehr als ein Jahr» eingespart.

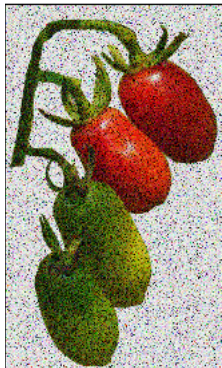
Obwohl mehrere Länder – darunter Kanada, Brasilien, Argentinien und die USA – den Wachsmais für den kommerziellen Anbau freigegeben haben,

ist die Hightech-Sorte bis heute nicht im Handel erhältlich. Die Zeit zwischen Herstellung und Vermarktung wird also mehr als 8 Jahre betragen.

MLN-toleranter Mais von CIMMYT und Corteva CIMMYT und Corteva begannen 2019 damit, CRISPR für die Herstellung von Maissorten einzusetzen, die tolerant gegen die Krankheit Maize Lethal Necrosis (MLN) sind. Bisher sind noch keine Sorten kommerzialisiert worden. Was es jedoch gibt, sind Spekulationen darüber, wie viel schneller CRISPR gegenüber der markergestützten Züchtung von MLN-toleranten Maissorten sein wird. In der Literatur sprechen die einen von bis zu 8 Jahren, die sich mit CRISPR einsparen lassen. Andere gehen von einer Zeiteinsparung von 6 Jahren aus. CIMMYT wiederum schätzt die Zeiteinsparung auf 1 bis 3 Jahre. CIMMYT geht davon aus, dass erste editierte MLN-tolerante Maishybride 2025 auf den Feldern sein werden.

High-GABA-Tomate von Sanatech

An der Universität von Tsukuba arbeiten Forschende seit 2007/2008 an der Herstellung von Gentech-Tomaten mit erhöhtem GABA-Gehalt. 2017 gelang es den Forschenden eine Labor-Tomatensorte so zu editieren, dass sie mehr GABA bildet. Ein Jahr später wandten sie die Methode erfolgreich an der von Pioneer zur Verfügung gestellten Elitesorte «Sicilian Rouge» an.



Sicilian Rouge High GABA

Zeitdauer von Herstellung bis Vermarktung

- mit Erarbeitung von Vorwissen (Entwicklung einer Labortomate): **14 Jahre**
- ohne das Sammeln von Vorwissen d. h. ab Anwendung an der Elitesorte «Sicilian Rouge»: **3–4 Jahre**

2018 gründeten die beteiligten Forschenden gemeinsam mit Pioneer die Firma Sanatech. 2021 startete Sanatech den Online-Verkauf der editierten Sorte «Sicilian Rouge High Gaba». Laut den japanischen Forschenden war es bei der experimentellen Sorte

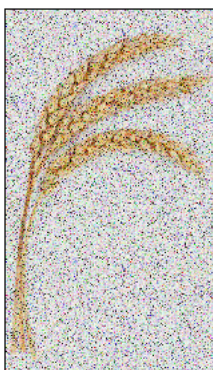
möglich, innerhalb eines halben Jahres transgenfreie, editierte Varianten herzustellen. Bei Elitesorten sei eine zusätzliche Rückkreuzung notwendig. Die Herstellung der Sanatech-Tomate dürfte also 1 bis 2 Jahre gedauert haben gegenüber den 3 bis 5 Jahren, die die herkömmliche Züchtung benötige.

Tomate ist nach Reis die am häufigsten editierte Pflanzenart. Das liegt einerseits an der ökonomischen Bedeutung der Tomate. Andererseits – und das dürfte vermutlich der wichtigere Grund sein – liegt es auch daran, dass das CRISPR bei Tomaten im Vergleich zu anderen Arten sehr einfach ist (leicht transformierbar, kurze Generationszeit, Genomsequenzen liegen in Goldstandard vor, erste CRISPR-Tomate bereits 2014). In der Literatur lassen sich denn auch mehrere Beispiele von transgenfreien, editierten Tomaten finden, die in weniger als einem Jahr erzeugbar waren.

CRISPR kann nur immer dann schnell sein, wenn man weiss, welche Gene wie zu verändert sind. Ist dieses Wissen da, ist CRISPR dann vor allem schnell, weil sich die Änderungen in mehreren Sorten ohne Kreuzungen/Rückkreuzungen erzeugen lassen. So betrachtet, hat zum Entstehen der Sanatech-Tomate auch ein langer Weg geführt, denn die Arbeiten zur Herstellung einer GABA-reichen Tomate bereits 2007/2008 starteten, aber erst 2021 zu einer kommerzialisierten Sorte führten.

Mehltautoleranter Weizen in 3 Monaten?

2022 beschreiben Forschende der Chinesischen Akademie der Wissenschaften, wie sie im Labor mit CRISPR in weniger als drei Monaten mehлтаutoleranten Weizen herstellen



Mehltautoleranter Weizen (CHINA)

Zeitdauer bis zur Elitesorte

- mit Erarbeitung von Vorwissen im Labor (Sorten mit minderen Erträgen): **14 Jahre**
- ohne das Sammeln von Vorwissen (ab dem Zeitpunkt, als die genetischen Ursachen der minderen Erträge gefunden wurden): **4–5 Jahre**

konnten. Laut swissfood.ch etwa ist dies deshalb ein Beispiel, wie superschnell CRISPR ist. Die Forschenden gehen davon aus, dass ihr Weizen in 4 bis 5 Jahren als Sorte auf die Felder kommen könnte.

Bereits 2014 hatte dieselbe Arbeitsgruppe mit

TALEN mehлтаutoleranten Weizen hergestellt. Da die Pflanzen damals jedoch mindere Erträge hatten, konnten sie nicht zu Sorten entwickelt werden. Erst jetzt – 8 Jahre später

und nach aufwendigen Untersuchungen zur Abklärung der genetischen Ursachen – soll es nun gelungen sein, Weizen so zu editieren, dass er ohne Ertragseinbussen tolerant gegen Mehltau ist.

Der mehlttauresistente Weizen ist also ein weiteres Beispiel dafür, dass CRISPR erst dann schnell sein kann, wenn das Wissen da ist, welche Gene wie verändert werden müssen. Falls das Wissen da ist, kann die Mehltautoleranz aber rasch in viele Elitesorten eingefügt werden.

Romanasalat GVR-110XL

Die Firma GreenVenus hat 2015 mit GVR-108XL und GVR-110XL zwei Romanasalatsorten hergestellt, die länger haltbar sind, weil sie nach der Ernte weniger schnell braun



Romanasalat GVR-110XL (GreenVenus)

Sortenentwicklung bis Vermarktung (2015–2021):

- laut Konzernangaben: **6 Jahre**

=> Grund: Transformationsmethoden für die Ausgangssorte bereits vorhanden

werden. Beide Sorten sind 2020 in den USA zum Sortenschutz angemeldet worden. Die Sortenentwicklung dauerte somit rund 5 Jahre.

Vor diesem Hintergrund scheint die Aussage der Firma aus einer Medienmitteilung von 2019 widersprüchlich. Dort steht: «We are pleased

to rapidly advance our GreenVenus™ lettuce with improved marketable yield and shelf-life from concept to commercial trials within 2 years.»

Die Sorte GVR-110XL wird gegenwärtig vermarktet. Der Start der Vermarktung war 2021. Die Herstellung von GVR-110XL dürfte aus zwei Gründen «schnell» gelungen sein. Einerseits ist Romanasalat in der Regel leicht mit Agrobakterien gentechnisch veränderbar, was auch die Genomeditierung erleichtert. Die Transformationsmethode für Green Forest, der Ausgangssorte von GVR-108XL und GVR-110XL, gibt es bereits seit 2005. Hinter der Entwicklung von GVR-108XL und GVR-110XL steckt andererseits der Milliardär Randal J. Kirk, Inhaber von TS Biotechnology Holdings. Das Budget für die Sortenentwicklung dürfte entsprechend kein limitierender Faktor gewesen sein.

Conscious Greens von Pairwise

Die Herstellung von Conscious Greens (knackige grüne und violette Blätter des Rutenkohls *Brassica juncea*) ist ein Beispiel dafür, dass CRISPRen schnell gehen kann. Die Sorte dürfte 2019/2020 hergestellt worden sein und wird ab 2023 vermarktet. Gründe, weshalb es schnell ging:

- Zu den Gründern von Pairwise gehören Forschende, die Patente auf CRISPR besitzen.
- Pairwise erhielt seit seiner Gründung im Jahr 2018 200 Millionen US-Dollar. Das Budget für die Sortenentwicklung dürfte deshalb auch hier kein limitierender Faktor gewesen sein.

Angaben zur Dauer der Sortenzüchtung mit herkömmlichen Methoden und mit CRISPR (in Jahren)

Herkömmliche Züchtung	CRISPR	Zeitersparnis	Quelle	
7–8	2–3	4–6	Dhugga (2002)	
8–10	2–5	3–8	Gao (2021)	
4–5	2–3	1–3	CIMMYT	
6–10	2–3	3–8	Johnmark et al. (2022)	
7–10	5	2–5	Grushkin (2016)	
8–10	3–4	4–7	Kock (2021)	
5–7	<1	4–6	swiss-food.ch	Tomate
10	1	9	swiss-food.ch	Weizen
10	3 Monate	>9	Swiss-food.ch	Weizen

Dhugga KS 2022 Gene editing to accelerate crop breeding. *Frontiers in Plant Science*, 13: 889995.

Gao C 2021 Genome engineering for crop improvement and future agriculture. *Cell*, 184 (6):1621-1635.

CIMMYT. MLN Gene Editing Project. <https://www.cimmyt.org/projects/mln-gene-editing-project/>

Johnmark O, Indieka S, Liu G, Gowda M, Suresh LM, Zhang W, Gao X 2022 Fighting death for living: Recent advances in molecular and genetic mechanisms underlying maize lethal necrosis disease resistance. *Viruses*, 14 (12): 2765.

Grushkin D 2016 DuPont in CRISPR-Cas patent land grab. *Nature biotechnology*, 34 (1): 13-14.

Kock MA 2021 Open intellectual property models for plant innovations in the context of new breeding technologies. *Agronomy*, 11 (6): 1218.

Von Firmen vor 2020 erzeugte CRISPR-Pflanzen, die wegen der «Schnelligkeit» von CRISPR schon auf dem Markt sein «sollten» und der Stand ihrer Kommerzialisierung. Standpunkt März 2023.

Verzögerungen zum angekündigten Kommerzialisierungszeitpunkt sind keine Seltenheit. Erfahrungen zeigen, dass CRISPR-Pflanzen oft ohne Begründung aus den Pipelines der Herstellerfirmen verschwinden oder nach der Kommerzialisierung zurückgezogen werden.

Pflanze	Sorten-Produktname	Eigenschaft	Firma	Jahr der Transformation	Jahr der Kommerzialisierung
Acker-Hellerkraut	Golden Pennycress		CoverCress	2018(?)	n. k.
Flachs	-	Herbizidresistenz	Cibus	2016	n. k.
Leindotter	E3008	hoher Ölgehalt	Yield 10 Bioscience	2016	n. k.
Leindotter	E3902	Hoher Ölgehalt	Yield 10 Bioscience	2017	n. k.
Mais	Waxy Corn	Amylose-freie Stärke	Corteva	2015	n. k.
Mais	-	NLB-Resistenz	Corteva	2016	n. k.
Romanasalat	GVR-110XL	längere Haltbarkeit	GreenVenus	2015	2021
Ruten-Kohl	Conscious Greens		Pairwise	2020	2023
Tomate	Sicilian Rouge High GABA	hoher GABA-Gehalt	Sanatech	2018	2018

n. k.: nicht kommerzialisiert

Glossar

Rückkreuzen: Bei der Rückkreuzung wird ein Nachkomme mit einem Elternteil gekreuzt, um über Rekombination bestimmte Genvarianten aus dem Genom wieder zu entfernen – beispielsweise ungeplante Veränderungen des Erbguts, die durch den CRISPR-Eingriff verursacht wurden.

Elitesorte: Elitesorten sind moderne Kulturpflanzensorten, die als Ergebnis eines langwierigen Züchtungsprozesses entstehen. Dabei werden verschiedene Sorten ausgepflanzt und miteinander gekreuzt. So werden durch jahrelange Kreuzung und Selektion alle erwünschten Eigenschaften der Ausgangspflanzen in einer Pflanze vereint. Diese wird dann weitervermehrt und aus ihren Nachkommen werden wiederum durch jahrelange Selektion die optimalen Pflanzen ausgesucht, welche alle Eigenschaften besitzen, um als Elitesorten auf dem Markt bestehen zu können. Da bei der Züchtung stark auf bestimmte Eigenschaften (z. B. Ertrag) selektiert wird, sind Elitesorten oft hochgezüchtet und ihre Fähigkeit zur Anpassung an Umweltveränderungen bleibt auf der Strecke. Mit der Gentechnik wird versucht, Eigenschaften aus Landsorten oder aus verwandten Wildarten punktuell und auf schnellem Wege in die Elitesorten einzufügen.