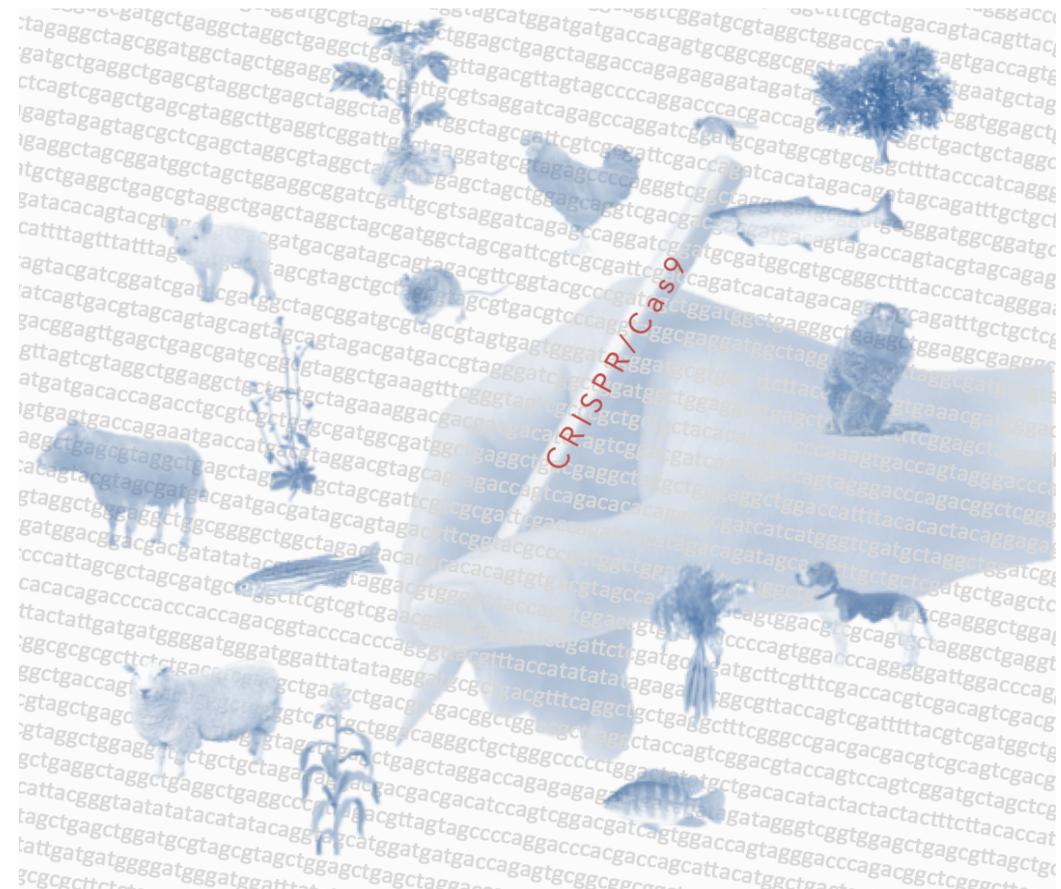


Schöne neue Gentechnik Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9



Seit 2012 steht Forschenden mit CRISPR/Cas9 ist ein neues Werkzeug zur Verfügung, das die Gentechnik revolutionieren dürfte, weil sich mit ihm das Erbgut von Lebewesen schneller, einfacher, präziser und preiswerter verändern lässt als mit bisherigen Techniken. Das neue Werkzeug löst einen Schub von Anwendungen der Gentechnik in der Pflanzen- und Tierzucht aus, verleiht Xenotransplantation und Gentherapie ein Comeback und rückt die Keimbahntherapie bei Menschen und die Genmanipulation wild lebender Tier- und Pflanzenpopulationen in den Bereich des technisch Möglichen. Akteure aus Forschung und Industrie versprechen nicht nur, mit CRISPR/Cas9 die Versprechen einzulösen, die mit der klassischen Gentechnik unerfüllt blieben, sie versuchen auch ethische Leitplanken neu zu setzen, den Gentechnik-Begriff aufzuweichen und die Regulierung des neuen Werkzeugs nach ihren Interessen zu formen. Damit beschert CRISPR/Cas9 der Gesellschaft neue Herausforderungen: Risiken sind ungeklärt, die Regulierung ist unklar oder anpassungsbedürftig, ethische Leitplanken sind zu finden und die Reichweite des Gentechnik-Begriffs ist zu diskutieren.

Basics

Was ist CRISPR/Cas9?

CRISPR/Cas9 ist ein im Jahr 2012 entwickeltes molekularbiologisches Werkzeug, das ursprünglich aus Bakterien stammt. Es besteht aus zwei Reagenzien: einem Protein namens Cas9 und einer Ribonukleinsäure namens gRNA. Werden Cas9 und gRNA in Zellen gebracht, bilden sie dort ein Ribonukleoprotein, das an das Erbgut der Zelle andockt (Abbildung 1). Den Ort im Erbgut, wo das Ribonukleoprotein an die DNA bindet, können Forschende vorbestimmen, weil die gRNA, die Cas9 zum Erbgut führt, programmierbar ist. Forschende können die Abfolge der Bausteine in einem Abschnitt der gRNA so gestalten, dass sie identisch ist mit dem Ort im Erbgut, an den das Cas9 andocken soll.

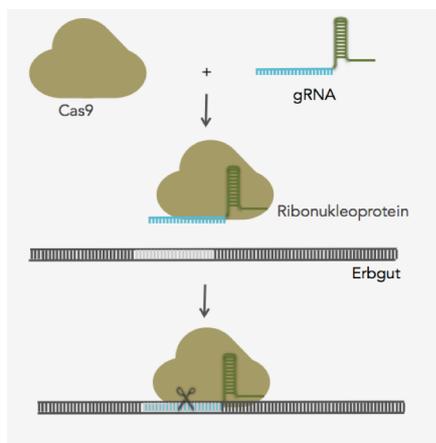


Abbildung 1: Die gRNA führt Cas9 an den vorbestimmten Ort im Erbgut.

Was passiert, nachdem das Ribonukleoprotein an das Erbgut andockt hat, hängt von der Funktion von Cas9 ab. In seiner ursprünglichen Form ist Cas9 eine Genschere – das heisst, das Protein schneidet den DNA-Strang an der Andockstelle durch. Diese Scheren-Funktion machen sich Forschende für die Genom-Editierung zu nutze (siehe unten). Die Funktion von Cas9 ist jedoch veränderbar und Forschende können sie so umwandeln, dass es neben der Genom-Editierung auch möglich wird, das Epigenom gezielt zu verändern, RNA zu schneiden oder die Aktivität von Genen zu steuern.

Was ist Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9?

Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 ist ein gentechnisches Verfahren, mit dem sich im Erbgut von Lebewesen Gene gezielt ausschalten, verändern, entfernen oder hinzufügen lassen (Abbildung 2). Es beruht auf dem Einsatz der Genschere Cas9 und einer oder mehrerer gRNA sowie der Ausnutzung zelleigener DNA-Reparatursysteme. Cas9 und gRNA werden in Zellen eingebracht, um die DNA des Erbguts an einem oder mehreren vorbestimmten Ort(en) durchzuschneiden. Dort, wo DNA-Stränge durchgeschnitten sind, reparieren die Zellen die durchgetrennte DNA wieder. Forschende können die Reparatur steuern und damit beeinflussen, ob Gene ausgeschaltet, verändert oder entfernt werden oder ob neue Gene hinzugefügt werden (Abbildung 2; Tabelle 1). Zu CRISPR/Cas9 ist momentan ein Patentstreit im Gange (de.wikipedia.org/wiki/CRISPR/Cas-Methode).

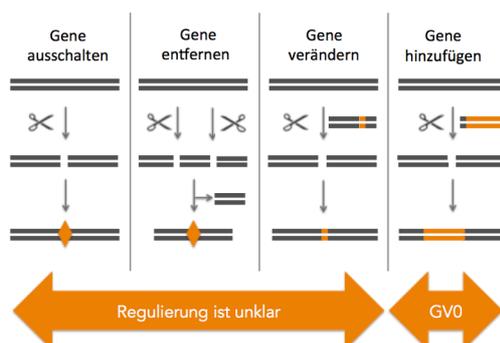


Abbildung 2: Mit CRISPR/Cas9 lassen sich Gene gezielt ausschalten, entfernen, verändern oder hinzufügen. Das Hinzufügen von Genen führt zu einem GVO. Wie das Ausschalten, Ändern und Entfernen von Genen reguliert wird, ist gegenwärtig unklar.

Tabelle 1: Erbgutveränderungen, die sich mit CRISPR/Cas9 erzeugen lassen.

Art der Erbgutveränderung	Notwendige Reagenzien	Beschreibung
Gen ausschalten	Cas9 + gRNA	Die Genschere Cas9 wird zusammen mit einer gRNA in Zellen eingeführt, wo Cas9 das Erbgut am vorbestimmtem Ort durchschneidet. Die Zelle repariert den Schnitt, indem sie die beiden Schnittenden wieder verbindet und dabei entweder einige wenige DNA-Buchstaben entfernt oder solche hinzufügt. Durch diese Reparatur geht die Funktion des Gens verloren – das Gen wird ausgeschaltet.
Gen verändern	Cas9 + gRNA + DNA-Matrize	Cas9 wird zusammen mit einer gRNA und einer DNA-Matrize in Zellen eingeführt. Die DNA-Matrize ist – abgesehen von den auszutauschenden DNA-Buchstaben – identisch mit dem Ort im Erbgut, den Cas9 entzweischneidet. Die Zelle repariert den Schnitt, indem sie die DNA-Matrize als Vorlage nutzt und deren Buchstabenabfolge ins Erbgut einschreibt.
Gen hinzufügen	Cas9 + gRNA + Gen	Cas9 wird zusammen mit einer gRNA und dem Gen, das ins Erbgut eingebaut werden soll, in Zellen eingeführt. Dort schneidet Cas9 das Erbgut am vorbestimmtem Ort durch. Die Zelle repariert das Erbgut, indem sie das eingeführte Gen an der Schnittstelle einfügt.
Gen entfernen	Cas9 + zwei gRNAs	Cas9 wird zusammen mit zwei verschiedenen gRNAs in Zellen eingeführt. Die gRNAs sind so programmiert, dass Cas9 ein Chromosom an zwei unterschiedlichen Orten entzweischneidet. Die Zelle repariert die Schnitte dann so, dass das Chromosomenstück zwischen den beiden Schnittstellen verloren geht. Das heisst, das Gen oder die Gene, die zwischen den Schnittstellen liegen, werden aus dem Erbgut entfernt.
Multiplexing	Cas9 + \geq zwei gRNAs	Der Begriff «Multiplexing» bezeichnet den Vorgang, wenn im Erbgut mehrere verschiedene Orte gleichzeitig verändert werden. Dazu wird Cas9 mit zwei oder mehreren verschiedenen gRNAs in Zellen eingeführt. Die gRNAs sind so programmiert, dass sie Cas9 an diejenigen Orte im Erbgut führen, die gleichzeitig verändert werden sollen. Gegenwärtig gelingt Multiplexing dann, wenn gleichzeitig mehrere Gene ausgeschaltet werden sollen.

Wie werden die Reagenzien Cas9 und gRNA in lebende Zellen eingebracht?

Damit das Erbgut von Lebewesen mit CRISPR/Cas9 verändert werden kann, müssen die beiden Reagenzien Cas9 und gRNA in die Zellen der Lebewesen eingebracht werden. Die Reagenzien können dabei entweder direkt als Ribonukleoprotein eingebracht werden oder indirekt in Form von DNA oder RNA, welche die genetische Information für die Herstellung von Cas9 und gRNA enthalten (Tabelle 2, Abbildung 3). Werden die Reagenzien via DNA eingebracht, erfolgt dies mit Methoden der klassischen Gentechnik. Das heisst: In gewissen Fällen ist die Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 nur in Kombination mit Methoden der klassischen Gentechnik möglich.

Ist Genom-Editierung auch mit anderen Werkzeugen möglich?

Genom-Editierung lässt sich zwar auch mit anderen Werkzeugen wie beispielsweise TALE- oder Zinkfinger-Nukleasen durchführen, aber CRISPR/Cas9 hat sich in der Grundlagenforschung innerhalb kurzer Zeit durchgesetzt. CRISPR/Cas9 ist das Werkzeug der Wahl geworden, weil es einfacher zu handhaben ist als die anderen Werkzeuge und die Genom-

Editierung im Vergleich schneller und kostengünstiger geht. Und noch ein Grund: Mit CRISPR/Cas9 wird das Multiplexing um einiges leichter, so nennen Forschende das Vorgehen, wenn sie während eines einzelnen Manipulationsvorganges gleichzeitig mehrere Orte im Erbgut verändern wollen.

CRISPR/Cas9 dürfte langfristig auch in der angewandten Forschung das Werkzeug der Wahl werden. Gegenwärtig scheuen einige Forschende/Firmen jedoch noch die Nutzung von CRISPR/Cas9 für die Produktentwicklung, weil es einen Patentstreit gibt und damit die Lizenzbedingungen für CRISPR/Cas9 unklar sind.

Tabelle 2: Mögliche Wege, die beiden Reagenzien Cas9 und gRNA in lebende Zellen einzubringen.

Weg	Beschreibung
Einbringen als DNA	Ausserhalb der Zelle wird ein Gen hergestellt, das die Anleitung für die Bildung von Cas9 und gRNA enthält. Dieses Gen wird mit Methoden der klassischen Gentechnik in die Zellen eingebracht. In der Zellen wird das Gen in die mRNA für Cas9 und die gRNA transkribiert. Aus der mRNA entsteht dann das Protein Cas9, welches gemeinsam mit gRNA seinen Job erfüllt und dann von der Zelle abgebaut wird. Wie das Cas9-gRNA-Gen wieder aus der Zelle entfernt wird, hängt von der Methode ab, mit der das Gen eingebracht wurde. Wird eine Methode gewählt, bei der das Gen stabil ins Erbgut eingebaut wird, so sind Nachkommen auszuwählen, welche das Gen <i>nicht</i> mitgeerbt haben. Wird eine Methode gewählt, bei der das Gen nicht stabil ins Erbgut eingebaut wird, so wird das Gen von der Zelle zerlegt.
Einbringen als mRNA	Ausserhalb der Zelle wird eine mRNA hergestellt, welche die Anleitung für die Bildung von Cas9 und gRNA enthält. Diese mRNA wird in die Zellen eingebracht, wo sie dazu führt, dass Cas9 und gRNA gebildet werden. Cas9 und gRNA erledigen ihren Job und werden dann wie die mRNA von der Zelle abgebaut.
Einbringen als Ribonukleoprotein	Ausserhalb der Zelle wird mit Cas9 und gRNA ein Ribonukleoprotein hergestellt. Dieses Protein wird in Zellen eingebracht, wo es seinen Job erfüllt und dann von der Zelle abgebaut wird.

Was sind die Unterschiede zwischen klassischer Gentechnik und CRISPR/Cas9?

Die Unterschiede zwischen Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 und klassischer Gentechnik sind nicht bei allen Organismenarten gleich. Grosso modo lässt sich aber Folgendes sagen:

- Die Veränderung im Erbgut erfolgt bei der klassischen Gentechnik meist an einem zufälligen Ort, bei CRISPR/Cas9 hingegen an einem vorbestimmten Ort.
- Mit CRISPR/Cas9 lassen sich nicht nur neue Gene hinzufügen, sondern im Erbgut vorhandene Gene auch ausschalten, verändern oder entfernen.
- Mit CRISPR/Cas9 wird es möglich, gleichzeitig mehrere Orte im Erbgut gezielt zu verändern (Multiplexing).
- Bei Organismen, deren Erbgut mit der klassischen Gentechnik nur schwer zu verändern war, sollen gentechnische Eingriffe dank CRISPR/Cas9 nun leicht gelingen.
- Mit CRISPR/Cas9 sollen Eingriffe ins Erbgut auch bei Arten möglich werden, bei denen dies mit den Methoden der klassischen Gentechnik bisher nicht gelang.

Kategorien/Typen von CRISPR/Cas9-Organismen

Die Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 kann zu verschiedenen Typen von Organismen führen. Zu unterscheiden sind dabei folgende beiden Kategorien:

- **Kategorie I: „Produkte mit CRISPR/Cas9 als Bestandteil“**

Organismen, die Gene mit der Anleitung für die Bildung von Cas9 und gRNA im Erbgut tragen. Organismen dieser Kategorie sind GVO. Beispiele:

- Tiere und Pflanzen mit CRISPR/Cas9-basiertem Genantrieb (siehe «Sonderfall Gene Drive»);
- Pflanzen mit der Anleitung für CRISPR/Cas9 im Erbgut werden in der Züchtung als neue Strategie erprobt, um Sorten robust gegen virale Krankheiten zu machen;
- Viren oder virale Vektoren mit Genen für CRISPR/Cas9 im Erbgut werden bei der somatischen Gentherapie erprobt oder auch als Mittel gegen antibiotikaresistente Keime entwickelt.

- **Kategorie II: „Produkte ohne CRISPR/Cas9 als Bestandteil“**

Organismen, bei denen CRISPR/Cas9 während des Herstellungsprozess zur Veränderung des Erbguts eingesetzt wird, am Ende des Prozesses aber kein Bestandteil des Erbguts ist.

Die Kategorie II lässt sich wiederum unterteilen in:

Kategorie IIA: Organismen, denen mit Hilfe von CRISPR/Cas9 neue Gene ins Erbgut eingefügt worden sind. Organismen dieser Kategorie sind nach geltendem Recht GVO.

Kategorie IIB: Organismen, bei deren Erbgut mit CRISPR/Cas9 Gene gezielt ausgeschaltet, verändert und/oder entfernt worden sind, ohne dass neue Gene hinzugefügt sind. Solche Organismen können als transgenfreie, editierte Organismen bezeichnet werden. Bei ihnen ist es gegenwärtig unklar, ob sie rechtlich GVO sind oder nicht.

Anwendungen

Wie die klassische Gentechnik ist auch die Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 eine Querschnittstechnik und damit in vielen verschiedenen Bereichen einsetzbar. Im Unterschied zur klassischen Gentechnik bietet Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 neue, vielseitigere Anwendungen (Für Anwendungen von Gene Drives siehe «Sonderfall Gene Drive»).

Tabelle 3: Bereiche, in denen CRISPR/Cas9 zur Anwendung kommt

Humanbereich	
Keimbahntherapie	Da die Methoden der klassischen Gentechnik zu ungenau und fehlerhaft sind, war es bisher nicht möglich, therapeutisch in die Keimbahn von Menschen einzugreifen. Zwar gilt auch CRISPR/Cas9 derzeit noch als zu ungenau, doch Forschende gehen davon aus, die Präzision des neuen Werkzeugs derart verbessern zu können, dass eine sichere Keimbahntherapie technisch möglich wird. In China ist Cas9 bereits an nicht lebensfähigen menschlichen Embryonen erprobt worden. In Grossbritannien und Schweden haben Wissenschaftler*innen die Erlaubnis erhalten, für Forschungszwecke gesunde Embryonen mit CRISPR/Cas9 zu verändern.
Somatische Genterapie	Im Vergleich zur klassischen Gentechnik eröffnet CRISPR/Cas9 neue Möglichkeiten, um therapeutisch ins Erbgut von Körperzellen des Menschen einzugreifen. So soll es mit der Genschere unter anderem möglich werden, krankmachende Gene gezielt auszuschalten oder zu korrigieren. Pharmafirmen wie Bayer oder Novartis zeigen grosses Interesse an CRISPR/Cas9 und weltweit sind bereits mehrere hundert Millionen Franken in Startups wie das in Basel ansässige Unternehmen <i>CRISPR Therapeutics</i> geflossen, die an der Entwicklung von Geneditierungstherapien arbeiten. In China und den USA sind 2016 erste CRISPR-basierte Genterapeutika an schwerkranken Menschen erprobt worden. In der Schweiz ist gegenwärtig kein Genterapeutika auf dem Markt. In der EU sind zwei Produkte bewilligt (Glybera und Strimvelis).
Organtransplantation	Laut Forschenden soll es dank CRISPR/Cas9 in Zukunft möglich werden, Schweineorgane oder Menschenorgane aus Tier-Mensch-Mischwesen in der Humanmedizin zu verwenden. <i>Siehe dazu unten «Xenotransplantation» und «Chimärenforschung»</i>
Ausserhumanbereich: Anwendungen an Tieren und Pflanzen	
Pflanzenzüchtung für Landwirtschaft und Ernährung	CRISPR/Cas9 hat sich in der Pflanzenbiotechnologie rasch verbreitet und ist bereits bei mehr als 20 Pflanzenarten erprobt worden. Konzerne wie Monsanto und Dupont Pioneer dürften ihre ersten CRISPR-Sorten in den nächsten fünf Jahre lancieren. Wird CRISPR/Cas9 für die Züchtung eingesetzt, können zwei Kategorien von Produkten unterschieden werden: Transgene Sorten und transgenfreie editierte Sorten. <u>Transgene Sorten:</u> Wie mit der klassischen Gentechnik lassen sich mit CRISPR artfremde Gene in das Erbgut von Pflanzen einfügen. CRISPR soll dabei den Vorteil bieten, dass das «gene stacking» leichter wird – das Herstellen von Sorten, die gleich mehrere artfremde Gene besitzen. Da mit CRISPR hergestellte transgene Sorten rechtlich GVO sind, wird die Marktsituation dieser Kategorie von CRISPR-Sorten vergleichbar sein mit der heutigen GVO-Situation: Die Sorten werden hauptsächlich von Konzernen auf den Markt gebracht und zwar bei Kulturarten mit weltweit grossen Anbauflächen wie Mais, Soja oder Baumwolle. <u>Transgenfreie, editierte Sorten:</u> Anders als mit der klassischen Gentechnik ist es mit CRISPR/Cas9 möglich, transgenfreie editierte Sorten herzustellen. Bisher gelingt dabei vor allem das Ausschalten und Entfernen von Genen. Das gezielte

Tierzüchtung für
Landwirtschaft,
Aquakultur und
Ernährung

Verändern von Genen, was aus züchterischer Sicht interessanter ist als das Ausschalten und Entfernen, erweist sich bisher als schwierig. Ob transgenfreie, editierte Sorten gleich reguliert werden wie transgene Sorten, ist derzeit in vielen Ländern unklar. Anwender*innen fordern eine Regulierung wie bei herkömmlich gezüchteten Sorten. In den Ländern, in denen sie sich damit durchsetzen, dürften CRISPR-Sorten rasch auf den Markt kommen – und zwar auch bei Kulturarten, bei denen es heute noch keine Gentech-Sorten auf dem Markt gibt. Zudem dürfte CRISPR in diesem Fall nicht nur für Konzerne interessant werden, sondern auch für kleinere und mittlere Zuchtunternehmen.

Beispiele für transgenfreie, editierte Pflanzen sind im Anhang aufgelistet.

CRISPR/Cas9 verleiht der Gentechnik in der Tierzucht einen neuen Schub. Wie in der Pflanzenzucht können zwei Kategorien von Produkten unterschieden werden: Transgene Tiere und transgenfreie, editierte Tiere.

Transgene Tiere: Im Vergleich zu den Methoden der klassischen Gentechnik macht CRISPR/Cas9 die Herstellung transgener Tiere zwar einfacher. Da diese Tiere aber rechtlich GVO sind, ist ihre Herstellung für Firmen kaum von Interesse – zu hoch sind die Zulassungskosten, zu tief ist die Akzeptanz bei den Konsument*innen. In den kommenden Jahren dürften deshalb kaum transgene CRISPR-Tiere auf den Weltmarkt kommen, die für die menschliche Ernährung bestimmt sind.

Transgenfreie, editierte Tiere: Die Möglichkeit, mit CRISPR/Cas9 einfach und kostengünstig transgenfreie, editierte Tiere zu züchten, hat unlängst das Interesse von Tierzüchter*innen geweckt. Sie setzen dabei darauf, dass solche Tiere bei den Konsument*innen nicht auf Ablehnung stossen, und fordern, dass die Regulierung wie bei herkömmlich gezüchteten Tieren ist. In den Ländern, in denen sie sich mit ihrer Forderung durchsetzen, ist in den kommenden Jahren mit der Marktlancierung von transgenfreien, editierten Tieren zu rechnen.

Beispiele für transgenfreie, editierte Tiere sind im Anhang aufgelistet.

Tierzüchtung für die
Humanmedizin

In der medizinischen Forschung wird CRISPR/Cas9 eingesetzt, um Tieren zu Krankheitsmodellen zu erzeugen oder zu Organlieferanten zu machen.

Krankheitsmodelle: Im Vergleich zur klassischen Gentechnik lassen sich Tiere mit CRISPR/Cas9 einfacher, schneller und kostengünstiger zu Krankheitsmodellen machen. Auch ermöglicht es CRISPR/Cas9, an den Tieren komplexere Kombinationen von Eigenschaften zu testen. Die Anzahl der in der Grundlagenforschung eingesetzten Gentech-Mäuse und -Ratten dürfte wegen CRISPR/Cas9 weiter steigen. Zudem dürfte CRISPR/Cas9 dazu führen, dass vermehrt Schweine und Affen als Krankheitsmodelle eingesetzt werden.

Xenotransplantation: Die Herstellung von Gentech-Schweinen für die Xenotransplantation erlebt mit CRISPR/Cas9 ein Comeback: Erstmals seit 15 Jahren fliesen wieder Industriegelder in das Gebiet. Im Vergleich zur klassischen Gentechnik lässt sich das Erbgut von Schweinen nämlich nicht nur schneller und günstiger verändern, sondern auch viel umfangreicher. Und umfangreiche Veränderungen im Erbgut dürften notwendig sein, um eine Transplantation von Schweineorganen in Menschen sicher und erfolgreich zu machen. Forschende der US-Firma eGenesis beispielsweise arbeiten daran, Schweine herzustellen, die an mehr als 60 Stellen im Erbgut Veränderungen aufweisen.

Chimärenforschung: Bei Schweinen und Schafen wird CRISPR/Cas9 eingesetzt, um die Tiere derart gentechnisch zu verändern, dass in ihnen menschliche Organe für Transplantationen gezüchtet werden können. Bei dieser Chimärenforschung kombinieren Forschende CRISPR/Cas9 mit der Stammzell-Technologie.

Risiko/Sicherheit

Wie bei der klassischen Gentechnik ist auch bei der Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 Sicherheit ein zentrales Thema. Die Sicherheits-relevanten Fragen und Bedenken die sich stellen, hängen dabei jeweils von der Art, dem Kontext und den Zielen der Anwendung von CRISPR/Cas9 ab. Im Vergleich zur Sicherheitsdiskussion bei der klassischen Gentechnik können die drei im Folgenden aufgeführten Punkte hervorgehoben werden:

Präzision

In den Medien wird CRISPR/Cas9 oft als Werkzeug dargestellt, mit dem sich präzise ins Erbgut eingreifen lässt. Auch wenn CRISPR/Cas9 im Vergleich zur klassischen Gentechnik hinsichtlich Präzision Vorteile bieten kann, so ist CRISPR/Cas9 aus drei Gründen nicht als *per se* präzises Werkzeug zu betrachten: (I) CRISPR/Cas9 kann so genannte *Off-target* Effekte verursachen. Solche Effekte treten auf, wenn Cas9 von der gRNA an eine falsche Stelle im Erbgut geführt wird und dort den DNA-Strang entzweischneidet; (II) Genom-Editierung ist immer mit einem Prozess verbunden, mit dem Cas9 und gRNA in Zellen eingebracht werden. Dieser Prozess kann unbeabsichtigte Veränderungen im Erbgut erzeugen; (III) Wie präzise CRISPR/Cas9 ist, hängt immer auch von der Sorgfalt der Anwender*innen ab. Sie können durch das Versuchsdesign Einfluss nehmen, in welchem Masse unbeabsichtigte Veränderungen auftreten.

Staatliche Sicherheitsprüfung versus Selbstkontrolle

Produkte aus der klassischen Gentechnik müssen nach geltendem Recht eine staatliche Sicherheitsprüfung durchlaufen – dies gilt sowohl für Produkte im Human- wie auch im Ausserhumanbereich. Bei CRISPR/Cas9 stellen Anwender*innen dieses Vorgehen nun in Frage und zwar im Ausserhumanbereich beim Umgang mit transgenfreien, editierten Tieren und Pflanzen. Anwender*innen fordern, solche Tiere und Pflanzen ohne staatliche Sicherheitsprüfung auf den Markt bringen zu können. Gegen diese Forderung sprechen folgende Aspekte:

- Auch kleine Veränderungen am Erbgut können zu Produkten führen, die direkt oder indirekt negativ auf Mensch, Tier, Umwelt oder die biologische Vielfalt wirken.
- Das Erbgut von Tieren und Pflanzen lässt sich mit CRISPR/Cas9 an mehreren Orten gezielt verändern – entweder durch Multiplexing oder durch serielle Manipulation. Mehrfach veränderte Tiere und Pflanzen könnten eine Kombination von Eigenschaften aufweisen, die auf natürlichem Wege oder durch Züchtung nicht zu erreichen sind.
- Transgenfreie, editierte Pflanzen und Tiere können unerwünschte Off-target Effekte (siehe oben) aufweisen.
- Bei Pflanzen: In den meisten Fällen ist die Anwendung von CRISPR/Cas9 mit einem In-Vitro-Schritt verbunden, bei dem unbeabsichtigte Veränderungen im Erbgut (Somaklonale Variationen) auftreten können.
- Bei Tieren: Die Genom-Editierung mit CRISPR/Cas9 erfolgt oft in Kombination mit Klonen, das wiederum sicherheitsrelevante Nebeneffekte haben kann.
- Bei Pflanzen: Bei der Herstellung transgenfreier editierter Pflanzen entsteht oft als Zwischenprodukt eine transgene Pflanze, welche das Cas9-Gen oder auch Antibiotikaresistenz-Gene im Erbgut besitzt. Falls die artfremden Gene der transgenen Pflanze versehentlich im Endprodukt doch noch enthalten sind, kann dies relevant für die Sicherheit sein.

Neue Risiken bei «Gene Drive»

Die neue Methode der CRISPR/Cas9-basierten Gene Drives birgt Risiken, die es bei der klassischen Gentechnik in der Form nicht gab. Siehe dazu «Sonderfall Gene Drive».

Ethik

Auch wenn sich CRISPR/Cas9 wegen der vielen möglichen Anwendungen einer pauschalen ethischen Bewertung entzieht, ist klar, dass die Nutzung der Genschere in etlichen Bereichen Anlass gibt, ethische Fragen und Bedenken sorgfältig und in einem breiten Diskurs zu erörtern.

Die ethischen Fragen und Bedenken die sich stellen, hängen vom Kontext der Anwendung von CRISPR/Cas9 sowie den jeweiligen Zielen, Risiken und Chancen ab. In vielen Bereich ruft CRISPR/Cas9 die gleichen Fragen und Bedenken hervor wie die klassische Gentechnik, verleiht ihnen aber neue Aktualität. Brisanz erhalten die Fragen dabei unter anderem auch, weil Akteure die Entwicklung von CRISPR/Cas9 nutzen, um bestehende, gesellschaftlich ausgehandelte Leitplanken zur Disposition zu stellen. Weil CRISPR/Cas9 die Grenzen des technisch Machbaren verschiebt, gibt es zudem auch Bereiche, die ethisch noch zu bewerten und für die ethische Leitplanken festzulegen sind.

Tabelle 4: Bereiche, in denen CRISPR/Cas9 eine ethische Debatte notwendig macht.

CRISPR/Cas9-Anwendung	Beschreibung
Keimbahntherapie beim Menschen	In der Schweiz sind Eingriffe ins Erbgut von Keimzellen und Embryonen des Menschen verboten. Da mit CRISPR/Cas9 die Keimbahntherapie in den Bereich des technisch Möglichen rückt, fordern Akteure aus Forschung und Medizin das Verbot zu lockern. Die Nationale Ethikkommission (NEK) hält intensive, kritische, offene und transparente gesellschaftliche Auseinandersetzung mit den technischen Entwicklungen und ihren ethischen Implikationen für unabdingbar.
Herstellung von Tier-Mensch-Mischwesen	Mit CRISPR/Cas9 wird daran gearbeitet, Schweine und Schafe so zu verändern, dass sie Menschenorgane bilden können. Damit bekommt die Debatte über die Vertretbarkeit der Erzeugung von Tier-Mensch-Mischwesen in der biomedizinischen Forschung neue Brisanz.
Veränderung des Erbguts von Wirbeltieren	Aus Achtung der Würde der Kreatur ist der Einsatz der Gentechnik an Wirbeltieren in der Schweiz restriktiv geregelt. So sind gentechnische Veränderungen an Wirbeltieren untersagt, wenn diese als Haustiere oder als Nutztiere in der Land- und Ernährungswirtschaft genutzt werden. Da Akteure aus Forschung und Industrie fordern, transgenfreie, editierte Wirbeltiere wie herkömmlich gezüchtete Tiere zu regulieren, stellen sie den Geltungsbereich der restriktiven Regelung und damit die ethische Bewertung von CRISPR/Cas9-Anwendungen an Wirbeltieren zur Debatte.
Züchtung transgenfreier, editierter Pflanzen	Die Wahlfreiheit ist im Bereich Gentechnik und Ernährung eine breit akzeptierte Maxime. Akteure aus Forschung und Industrie stellen diese Maxime zur Debatte, indem sie fordern, transgenfreie, editierte Pflanzen gleich zu regulieren wie herkömmlich gezüchtete Pflanzen.
Tiere als Krankheitsmodelle	Da CRISPR/Cas9 die Anzahl der in Versuchen eingesetzten genmanipulierten Tiere steigern dürfte, bekommen Fragen zur Würde und Integrität der Tiere neue Aktualität. Zudem ist CRISPR/Cas9 im Hinblick auf die in der Schweiz etablierte 3R-Kultur [*] zu bewerten.
Gentechnische Veränderung von Wildpopulationen (Gene Drive-Technik)	Mit CRISPR/Cas9 könnte es möglich werden, wild lebende Populationen von Tieren und Pflanzen gentechnisch zu verändern. Die damit einhergehenden ethischen Bedenken bedürfen einer breiten Debatte.

^{*} 3R-Kultur steht für das Vorhaben die Anzahl Tierversuche nachhaltig zu reduzieren, das Leiden der Tiere auf ein Minimum zu beschränken und Alternativen zu Tierversuchen zu entwickeln.

Rechtliche Regulierung

Rechtliche Regulierung im Humanbereich

Die Gesetzgebung gentechnischer Anwendungen beim Menschen im Bereich der Biomedizin ist in den letzten Jahren durch mehrere Bundesgesetze vervollständigt und konkretisiert worden. Die bestehenden Gesetze zeichnen sich durch klare ethische Leitplanken und hohe Sicherheitsstandards aus. CRISPR/Cas9-Anwendungen dürften von den geltenden Gesetzen erfasst sein, wobei eventuell zu klären sein könnte, ob in den Details Anpassungen notwendig sind. Ein Bereich, bei dem derzeit Rechtsunsicherheit herrscht, ist die Herstellung von CRISPR-Schafen und -Schweinen zur Gewinnung von Menschenorganen. Die Unsicherheit wird dabei nicht durch CRISPR/Cas9 ausgelöst, sondern geht auf die Verwendung menschlicher pluripotenter Stammzellen zurück, deren Einsatz für diesen Zweck gesetzlich nicht verankert ist (Tabelle 5).

Tabelle 5 : Zulässigkeit von CRISPR/Cas9-Anwendungen beim Menschen in der Schweiz und geltende Gesetze und Verordnungen

CRISPR/Cas9-Anwendung beim Menschen	Zulässigkeit in der Schweiz	Gesetze, Verordnungen
Grundlagenforschung		
Genom-Editierung an Körperzellen	zulässig	?
Genom-Editierung an Embryonen	verboten	Fortpflanzungsmedizingesetzes
Keimbahntherapie	verboten	Fortpflanzungsmedizingesetzes
Somatische Gentherapie	zulässig	Humanforschungsgesetz, Heilmittelgesetz, Verordnung für klinische Versuche
Transplantation von Organen oder Geweben aus CRISPR-Schweinen	zulässig	Transplantationsgesetz, Xenotransplantationsverordnung
Herstellung von CRISPR-Tier-Mensch-Mischwesen	unklar	Stammzellenforschungsgesetz, Fortpflanzungsmedizingesetz

Rechtliche Regulierung im Ausserhumanbereich

Im Bereich der Gentechnik im Ausserhumanbereich hat die Schweiz mit dem Gentechnikgesetz (GTG) ein modernes Gesetz, das auf Vorsorge, Sicherheit, Transparenz, Öffentlichkeitsbeteiligung und ethische Standards setzt. Ob und wie CRISPR-Tiere und Pflanzen vom GTG erfasst sind, ist gegenwärtig nicht in allen Fällen klar.

- **Regulierung transgener Pflanzen und Tiere:** Werden mit CRISPR/Cas9 artfremde Gene ins Erbgut von Tieren oder Pflanzen eingeführt, so sind die resultierenden Lebewesen GVO, die vom GTG erfasst sind.
- **Regulierung transgenfreier, editierte Pflanzen und Tiere:** Ob editierte Pflanzen und Tiere, die keine artfremden Gene besitzen, vom GTG erfasst sind, ist derzeit unklar. Über die Art der Regulierung ist somit politisch zu entscheiden. Da die Schweiz im Agrarbereich von Einfuhren abhängig ist, spielt bei der Diskussion eine wichtige Rolle, wie transgenfreie, editierte Pflanzen und Tiere im Ausland, insbesondere in der EU, reguliert werden (siehe dazu unten). In den Tabellen 6 und 7 sind einzelne Folgen einer GVO-Klassierung aufgezeigt.
- **Regulierung von Organismen mit Gene Drives:** Tiere und Pflanzen mit Gene Drives sind nach geltendem Recht GVO und fallen in den Geltungsbereich des GTG. Handlungsbedarf besteht hier jedoch, weil es die besonderen Risiken solcher Tiere und Pflanzen notwendig

machen, die Einschliessungsverordnung und die Freisetzungsverordnung anzupassen. Siehe dazu auch «Sonderfall Gene Drive».

Tabelle 6 : Konsequenzen der GVO-Klassierung von transgenfreien, editierten Pflanzen.

	Transgenfreie, editierte Pflanzen sind GVO	Transgenfreie, editierte Pflanzen sind keine GVO
Bewilligungspflicht für Freisetzungsversuche	ja	nein
Bewilligungspflicht für Inverkehrbringen als Lebensmittel	ja	nein
Staatliche Risikoprüfung vor Umgang in der Umwelt	ja	nein
Pflicht zur Kennzeichnung des Einsatzes der Gentechnik	ja	nein
Öffentliches Register bewilligter Produkte	ja	nein
Beteiligung der Öffentlichkeit bei Bewilligungsverfahren	ja	nein
Rückverfolgbarkeit vom Acker bis zum Teller	ja	nein
Beschwerderecht für Umweltschutzorganisationen	ja	nein
Schutz von Bio-Produkten vor Vermischungen	ja	nein
Verbot des Inverkehrbringens bis Ende 2017 (Moratorium)	ja	nein

Tabelle 7: Konsequenzen der GVO-Klassierung von transgenfreien, editierten Wirbeltieren.

	Transgenfreie, editierte Wirbeltiere sind GVO	Transgenfreie, editierte Wirbeltiere sind keine GVO
Bewilligungspflicht für Herstellung und Handel	ja	nein
Verbot der Herstellung für Lebensmittelzwecke	ja	nein
Verbot der Herstellung als Haustier	ja	nein

Tierschutzgesetzgebung

Die Herstellung und Nutzung von CRISPR-Tieren fällt unter die Tierschutzgesetzgebung. Zu klären ist hier, ob transgenfreie, editierte Tiere von den Bestimmungen, die für GVO-Tiere gelten, erfasst werden oder nicht.

Geltungsbereich/Reichweite Moratorium

Da es gegenwärtig unklar ist, ob transgenfreie, editierte CRISPR-Tiere und Pflanzen rechtlich GVO sind, bleibt es auch zu klären, ob sie vom geltenden Moratorium erfasst sind. Tiere und Pflanzen mit CRISPR/Cas9-basierten Gene Drives sind zwar GVO, dennoch müssen sie nicht zwingend unter das geltende Moratorium fallen. Denn vom Moratorium werden nur GVOs erfasst, die in der Landwirtschaft, im Gartenbau oder in der Waldwirtschaft eingesetzt werden.

Bundesrechtliche Regulierung von CRISPR/Cas9 im Biolandbau

Bundesrechtlich ist der Einsatz von GVO im Biolandbau – abgesehen von wenigen Ausnahmen – verboten. Da gegenwärtig unklar ist, ob transgenfreie, editierte Pflanzen und Tiere GVO sind oder nicht, bleibt es zu klären, ob der Einsatz solcher Tiere und Pflanzen im Biolandbau im Einzelfall bundesrechtlich erlaubt ist oder nicht.

Regulierung transgenfreier, editierter Pflanzen und Tiere im Ausland

- **Regulierung in der EU:** Wie transgenfreie, editierte Pflanzen und Tiere reguliert sind, ist gegenwärtig unklar. Die EU-Kommission wollte bis Ende 2016 ihre Meinung darüber veröffentlichen, ob solche Tiere und Pflanzen unter die EU-Gentechnikgesetzgebung fallen oder nicht. Diese Veröffentlichung dürfte jedoch verschoben werden. Anfangs Oktober hat sich der französische Staatsgerichtshof mit der Frage nach der Regulierung von transgenfreien, editierten Pflanzen und Tieren an den Europäischen Gerichtshof (EUGH) gewandt. Dieser dürfte die Fragen innerhalb der kommenden 18 Monate eine Antwort liefern. Es ist anzunehmen, dass die EU-Kommission die Antwort des EUGH abwarten wird.
- **Regulierung in den USA:** In den USA hat es bisher keinen Pauschalentscheid darüber gegeben, wie transgenfreie, editierte Organismen zu regulieren sind. Die Regierung hat die zuständigen Behörden damit beauftragt, das bestehende System der Biotechnologieregulierung zu überarbeiten und an CRISPR/Cas9 anzupassen. Das Landwirtschaftsministerium hat bisher zwei Regulierungsanfragen von Anwender*innen behandelt: Die eine betrifft einen Wachsmais, die andere einen Champignon. In beiden Fällen ist mit CRISPR jeweils ein Gen ausgeschaltet worden und in beiden Fällen hat das Landwirtschaftsministerium geantwortet, dass die Organismen nicht wie GVO reguliert werden.

Gesellschaft

Seit es die Gentechnik gibt, führt die Gesellschaft eine kontroverse Diskussion über deren Anwendungen. In der Schweiz hat die Diskussion zu einer strengen rechtlichen Regulierung mit klaren Grenzen und Leitplanken geführt. Da CRISPR/Cas9 neue ethische Fragen und Sicherheitsprobleme mit sich bringt und Forschende das Werkzeug zum Anlass nehmen, den Gentech-Begriff aufzuweichen und ethischen Leitplanken neu zu setzen, ist eine breite gesellschaftliche Debatte notwendig, damit Forschende keine *faits accomplis* schaffen und die Öffentlichkeit Stellung nehmen kann.

SAG, Zürich, Oktober 2016*

* Dieses Dokument entstand mit der fachlichen Unterstützung durch Benno Vogel

Anhang – Beispiele von CRISPR/Cas9-Projekten zur Herstellung von transgenfreien, editierten Tieren, Pflanzen und Speisepilzen.

Art	Ziel	Land	Entwicklungsstand
Nutztiere			
Gabelwels	Schnelleres Wachstum	USA	Studie publiziert
	Geschlechtskontrolle	USA	Projektidee publiziert
Huhn	Allergenarme Eier	Japan	Studie publiziert
Kuh	Mehr Milch	USA	Projektidee publiziert
	Allergenarme Milch	Neuseeland	Projektidee publiziert
	Hitzetoleranz	USA	Projektidee publiziert
Lachs	Keimzellosigkeit	Norwegen	Studie publiziert
Schaf	Mehr Fleisch	China	Studie publiziert
	Längeres Fell	China	Studie publiziert
	Geschlechtskontrolle	USA	Studie publiziert
Schwein	Mehr Fleisch	China	Studie publiziert
	PRRS-Resistenz	England, USA	Studie publiziert
Tilapia	Geschlechtskontrolle	China	Studie publiziert
Ziege	Mehr Fleisch	China, USA	Studie publiziert
	Mehr Fleisch + längeres Fell	China	Studie publiziert
	Allergenarme Milch	China, USA	Studie publiziert
Nutzpflanzen			
Erdnuss	Allergenfrei	England	Projektidee publiziert
Gurke	Virus-Resistenz	Israel	Studie publiziert
Kartoffel	Weniger Acrylamid	USA	Projektidee publiziert
	Resistenz gegen Kartoffelschorf	Deutschland	Projektidee publiziert
Mais	Amylose-freie Stärke	USA	Freisetzungsversuche
Raps	Resistenz gegen Rapswelke	Deutschland	Projektidee publiziert
Reis	Resistenz gegen Reisbräune	China, USA	Studie publiziert
	Resistenz gegen Weissblättrigkeit	USA	Studie publiziert
Tomate	Reifeverzögerung	England	Studie Publiziert
	Resistenz gegen Echten Mehltau	England	Projektidee publiziert
Weintraube	Resistenz gegen Falschen Mehltau	USA	Projektidee publiziert
Weizen	Resistenz gegen Echten Mehltau	China	Studie publiziert
Speisepilze			
Champignon	Verlängerte Haltbarkeit	USA	marktreif