



**WISSEN UND
NICHTWISSEN**

IN DER WISSENSCHAFT

Genom-Editierung: Großer Wurf oder Grenzüberschreitung?

Die »Genschere« CRISPR/Cas stellt uns vor grundlegende Entscheidungen

von Joachim Pietzsch

CRISPR/Cas ist nicht die erste Genschere, mit der man DNA-Stränge schneiden kann, aber sie ist wesentlich leichter zu handhaben als ihre Vorläufer. Das verstärkt einerseits die Hoffnung auf verbesserte Gentherapien, andererseits aber auch die Angst vor Missbrauch und unvorhersehbaren Nebenwirkungen. Ethische Debatten und politische Entscheidungen sind gefordert.

Metaphern beflügeln die Fantasie und trüben den Blick. Genom-Editierung ist eine solche Metapher. Sie suggeriert, dass sich unser Genom – also die Gesamtheit unserer Erbinformation – wie ein Text im Cut-and-paste-Verfahren bearbeiten lasse, um ihn nach Belieben zu korrigieren. Sie verschleiern, dass der Sinn dieses Textes sich unserem Verständnis noch weitgehend entzieht, das Zusammenspiel aller Buchstaben, Wörter und Satzzeichen unseres Genoms also erst ansatzweise verstanden wird. Zwar durchschneidet CRISPR/Cas, das jüngste der drei Genom-Editierungs-Verfahren, den Doppelstrang der DNA tatsächlich mit einer Eleganz, die das Ausschalten oder Einfügen bestimmter Gene enorm beschleunigt, doch lässt sich kaum vorhersagen, welchen Effekt das im lebenden Menschen haben wird. »Wir müssten extrem viel mehr wissen als heute, um mithilfe von CRISPR/Cas komplexe Krankheiten zu behandeln oder gar Eigenschaften wie etwa Intelligenz durch genetisches Enhancement zu verbessern«, sagt Dr. Arnold Sauter. Er leitet das aktuelle Projekt »Genome Editing am Menschen« des Büros für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag. Für ihn sei CRISPR/Cas zunächst nichts weiter als »ein quantitativer Schritt«, betont er, »das sagen alle Biologen, die keine Public Relations dafür betreiben.« Ähnlich nüchtern

sieht das Dr. Manuel Kaulich. »Um einem Patienten ein auf CRISPR/Cas-basierendes Medikament in die Blutbahn zu spritzen, sollte man ganz sicher sein, was man da macht«, sagt der Gruppenleiter am Institut für Biochemie II der Goethe-Universität. »So weit sind wir noch nicht. Für die Grundlagenforschung ist es aber ein tolles Werkzeug, das neue Horizonte eröffnet.«

Kaulichs Gruppe verwendet dieses Werkzeug, um Resistenzen gegen Krebsmedikamente zu erforschen. »Egal, welches Medikament Sie sich anschauen: Früher oder später wird es bei jedem Krebspatienten unwirksam, weil die Krebszellen durch Mutation einen Ausweg finden. Welche Mutationen die Therapie unwirksam machen, ist meist nur unvollständig bekannt.« Erst im Nachhinein könne man das in Gewebeproben analysieren. »Wir wollen dagegen von vorneherein wissen, woher die Resistenzen kommen.«

Mächtiges Werkzeug für die patientenspezifische Krebsforschung

Zu diesem Zweck unternimmt Kaulich Hochdurchsatzexperimente in Zellkulturen. Er macht sich dabei die einem Generalschlüssel gleichende Universalität der CRISPR-assoziierten Nuklease Cas zunutze. Nukleasen sind Enzyme, die den DNA-Strang durchtrennen. Zinkfinger- und

CRISPR/CAS: EINE KLEINE ENTDECKUNGSGESCHICHTE

Bakterien enthalten in ihrem Genom Regionen, in denen sich, von unauffälligen Basenfolgen unterbrochen, kurze Palindrome häufig wiederholen. Palindrome wie beispielsweise ABBA lesen sich vorwärts und rückwärts gleich. Im Genom sind es Basenfolgen, die auf den gegenüberliegenden Strängen der DNA in umgekehrter Richtung identisch sind. Solche Palindrome wurden erstmals 1987 von einer japanischen Arbeitsgruppe in *E. Coli*-Bakterien entdeckt. In den folgenden Jahren wies Francisco Mojica sie auch in anderen Bakterien nach. Ihren Namen CRISPR als Akronym für »Clustered regularly interspaced short palindromic repeats« erhielten sie 2002 von einer niederländischen Arbeitsgruppe. Ihre Funktion wurde 2007 in der Milch verarbeitenden Industrie entdeckt. Dort sollten Stämme des für die Joghurt- und Käseproduktion benötigten Bakteriums *Streptococcus thermophilus* resistent gegen Viren (Bakteriophagen) gemacht werden. Dabei fanden Rodolphe Barrangou und Philippe Horvath heraus, dass Phagen das Bakterium nicht infizierten, wenn es in den Zwischenräumen seiner CRISPR-Region Teile des viralen Genoms als »Spacer« trug.

Diese Region ist also einem immunologischen Gedächtnis vergleichbar: Wenn ein Bakterienstamm erstmals von einem Virus befallen wird, gelingt es einigen Bakterien, den Angriff zu überleben. Sie behalten Bruchstücke des viralen Genoms zurück, um sie in die CRISPR-Region ihres Genoms einzubauen. Die Information dieser Immundatenbank übersetzt das Bakterium in Boten-RNA-Moleküle, die komplementär zur viralen DNA sind. Diese Moleküle erkennen das

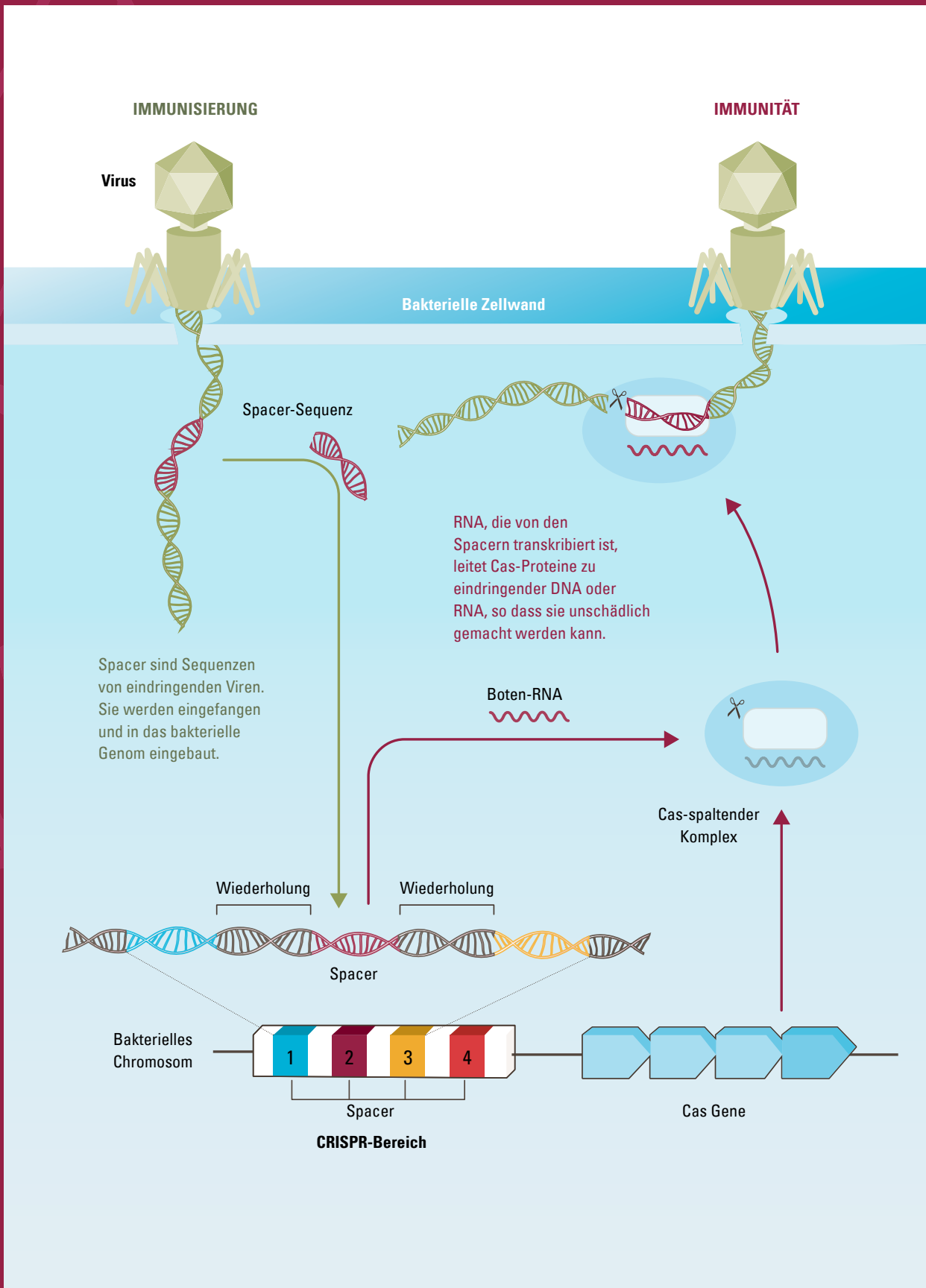
betreffende Virus beim zweiten Angriff sofort und zerstören es, weil das Bakterium sie mit dem CRISPR-assoziierten Enzym Cas9 verknüpft hatte, das die virale DNA zerschneidet. Auf diesen Erkenntnissen aufbauend, zeigten Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna 2012, wie das bakterielle CRISPR/Cas-System als Vorbild dienen kann, um RNA-gesteuerte Werkzeuge zur gezielten Durchtrennung von DNA herzustellen. Prinzipiell reicht es, ein beliebiges Ziel auf der DNA zu definieren, dessen komplementäre RNA abschreiben zu lassen und mit einem zum Andocken erforderlichen RNA-Stück zu einer einzigen Leit-RNA zu verbinden. Diese wiederum wird an ein Cas9-Protein gekoppelt, das dann als »Genschere« fungiert. Anfang 2013 wiesen Feng Zhang und George Church in parallelen Publikationen nach, dass diese Art der Genom-Editierung auch in menschlichen Zellen möglich ist.

Seitdem löst CRISPR/CAS zunehmend die beiden 2000 bzw. 2010 erstmals angewandten Verfahren der Genom-Editierung mit Zinkfinger- und TALE-Nukleasen ab. Das sei leicht zu begründen, sagt Manuel Kaulich: »Für Zinkfinger dauert die Validierung Monate, für TALENs Wochen, für CRISPR wenige Minuten.« Würden doch die Ersteren nicht durch eine einfach vom Zielort abzulesende RNA dorthin gesteuert, sondern durch schwierig herzustellende Proteine. Sehr ärgerlich sei es jedoch, dass die CRISPR-Protagonisten seit Jahren in einen zähen Patentstreit verwickelt sind. »Momentan erschwert diese Situation vor allem anderen Firmen, die Forschung voranzubringen.«

CRISPR/Cas-Systeme erweisen sich als genetisches Universalwerkzeug, das bei Mikroben, Pflanzen, Tieren und Menschen einsetzbar ist. Sie finden in allen Sparten der Biotechnologie Anwendung. Beim Menschen wecken sie einerseits Hoffnungen auf die Heilung bisher unheilbarer Krankheiten, andererseits Befürchtungen, Aldous Huxleys Dystopie einer »schönen neuen Welt«, in der Menschen nach Maß gezüchtet werden, könne mit ihnen Wirklichkeit werden. Denn Genom-Editierung lässt sich in Körperzellen wie auch in der Keimbahn vollziehen.



SO FUNKTIONIERT CRISPR/CAS



TALE-Nukleasen – die ersten Werkzeuge der Genom-Editierung – konnten das nur an jeweils einer Stelle des Strangs leisten. Ihre Nuklease war zugleich das Steuerelement, das sie zu ihrer Zielsequenz brachte, und musste für jede Anwendung neu designt werden. Eine Cas-Nuklease dagegen bleibt immer dieselbe. Immer anders ist nur die DNA-Adresse, an die sie verschickt wird – nicht über ein kompliziert zu konstruierendes Protein, sondern über eine Boten-RNA, die komplementär zu der jeweiligen Zielsequenz ist und dort bequem abgelesen werden kann. »Wir können heute bis zu 250 000 Boten-RNAs parallel synthetisieren und wie molekulare Postleitzahlen verwenden«, sagt Manuel Kaulich. Jede Boten-RNA, die mit einer Cas-Nuklease verknüpft ist, kann die DNA an einer bestimmten Stelle durchtrennen. So lassen sich dort entweder neue Gene einfügen oder vorhandene Gene ausschalten. Kaulich konzentriert sich auf das Knock-out von Genen.

In seinem Labor werden »Bibliotheken« erstellt, die mit Cas-Nukleasen verbundene Boten-RNAs verpackt in ringförmige DNA-Plasmide enthalten. Solche Plasmide können von Viren in Zellen transportiert und mit deren DNA verschmolzen werden. »Wenn wir ein Gemisch aus Plasmiden mit verschiedenen Boten-RNAs, die das gesamte humane Genom adressieren, auf eine Zellkultur geben, berechnen wir vorher, wie viele Zellen wir aussäen müssen, damit

in jede Zelle nur genau ein Plasmid eintritt. Wir haben damit in der Zellkultur wirklich alle Gene ausgeschaltet, in jeder individuellen Zelle aber jeweils nur eines.« Dieses Prinzip wird nun auf Kulturen von Krebszellen angewendet. Normalerweise sterben diese Zellen ab, wenn man sie mit einem Krebsmedikament versetzt. »Wenn aber nach ein, zwei Wochen bestimmte Zellen anfangen, kleine Kolonien zu bilden und auszuwachsen, ist das ein Zeichen für eine Resistenzentwicklung gegen das Medikament, die vermutlich mit Genen zusammenhängt, die in diesen Zellen durch unsere Boten-RNA ausgeschaltet wurden.« Ob diese Vermutung zutrifft, lässt sich mit ultraschnellen Sequenzierverfahren und bioinformatischen Analysen verifizieren. »Dann wissen wir genau: Dieses eine Molekül aus unserer Bibliothek hat die Resistenz herbeigeführt.« Kennt man die Gene, deren Mutation oder Abwesenheit bei der Behandlung einer bestimmten Krebsart mit einem bestimmten

Medikament Resistenz induzieren, kann man das Krebsgewebe eines Patienten vor der Behandlung mit einer Resistenzdatenbank abgleichen, um zu erkennen, welche Medikamente bei ihm langfristig wirken. »So kommen wir von einer krankheitsspezifischen zu einer patientenspezifischen Therapie.«

Mit Genom-Editierung Krankheiten heilen?

Manuel Kaulich nutzt CRISPR/Cas für den Menschen. Wie aber ist Genom-Editierung am Menschen zu bewerten? Das untersucht derzeit ein Projekt des Büros für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB). »Wir geben keine Handlungsempfehlungen ab, sondern zeigen dem Gesetzgeber Handlungsoptionen auf«, sagt Projektleiter Arnold Sauter. »Wir sind damit beauftragt, die aktuellen Debatten so aufzuarbeiten, dass die Parlamentarier sie verstehen können.«

Das TAB sei die einzige Institution, die das Parlament dauerhaft in Fragen des wissenschaftlich-technologischen Wandels berät, auch um damit den großen Informationsvorsprung der Bundesregierung auszugleichen. »Gerade bei der Genom-Editierung wird es für den Gesetzgeber wichtig sein, rechtzeitig zu wissen, an welchen Punkten bestimmte Entscheidungen bestimmte Handlungsmöglichkeiten determinieren.« Die wissenschaftliche Entwicklung von CRISPR/Cas sei ja kaum mehr als fünf Jahre alt und die ethisch-politische Debatte darüber habe erst vor etwa drei Jahren begonnen. »Mich überrascht vor allem, dass dabei die Themen Keimbahntherapie und Enhancement eine solche Dynamik gewonnen haben, obwohl es dafür wahnsinnig wenig naturwissenschaftliche Grundlagen und keine realistischen Szenarien gibt.« Selbst die Behandlung multifaktorieller Krankheiten liege noch in weiter Ferne, seien diese doch »noch nicht einmal analytisch erschlossen«. Im Vordergrund der Bestandsaufnahme des TAB, die von externen Gutachten unterfüttert werde, stünden deshalb praxisnähere Aspekte der Genom-Editierung, wie die somatische Gentherapie, ohne dabei jedoch deren theoretisch denkbare Möglichkeiten aus dem Blick zu verlieren.

Das Ziel somatischer Gentherapien ist es, krankheitsverursachende Gene in bestimmten Körperzellen eines Patienten, die die Vererbung nicht beeinflussen, so zu verändern, dass er geheilt werden kann. Bisher sind nur sehr wenige und extrem teure Gentherapien zugelassen. Sie richten sich meist gegen seltene Krankheiten und sind oft mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden, die von Immunreaktionen ausgelöst werden. Die Genom-Editierung könnte das ändern, weil sie zelleigene Gene modifiziert und keine körperfremden ein-

AUF DEN PUNKT GEBRACHT

- Wissenschaftler sehen CRISPR/Cas derzeit vor allem als ein Werkzeug für die Grundlagenforschung. An der Goethe-Universität wird es zur Entwicklung zukunftsweisender Krebstherapien eingesetzt.
- Auch für Dr. Arnold Sauter vom Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag ist CRISPR/Cas in erster Linie »ein quantitativer Schritt«. Gleichwohl hält er eine ethische Debatte, z. B. über Embryonenforschung, für erforderlich.



1

2

schleusen muss. Allerdings können etwa auch Cas-Nukleasen immunogen wirken, weil sie bakteriellen Ursprungs sind. In klinischen Versuchen mit geno-meditorischen Gentherapien wurden Zellen deshalb bisher vorwiegend außerhalb des Patienten verändert und ihm nach dieser Veränderung wieder injiziert. Auf diese Weise wurde z.B. schon mit Zinkfinger-Nukleasen in Blutstammzellen von HIV-Patienten der CCR5-Rezeptor ausgeschaltet. Das ist einer der beiden Rezeptoren, die das HI-Virus zum Eintritt in eine T-Zelle braucht. Die veränderten Stammzellen bilden nach Re-Infusion im Patienten T-Zellen, die von einem Großteil der HIV-Stämme nicht mehr befallen werden können. Die Hälfte der zwölf in diese Phase-I-Studie aufgenommenen Patienten konnte ihre Medikamente deshalb vollständig absetzen. Den ersten klinischen Versuch mit CRISPR/Cas unternahm ein chinesischer Arzt im November 2016. Er entnahm einem Patienten mit Lungenkrebs T-Zellen und schaltete darin das Gen für den Rezeptor PD-1 aus, um so die Immunabwehr der Krebszellen zu reaktivieren. Während in China seitdem bereits annähernd 100 Patienten genomeditorisch behandelt worden sein sollen, ist man anderswo vorsichtiger: Ende Mai stoppte die amerikanische Zulassungsbehörde vorläufig eine der ersten in den USA geplanten CRISPR-Studien an Patienten mit der Sichelzellenkrankheit kurz vor deren Beginn.

Soll Forschung an Embryonen erlaubt werden?

Diese Vorsicht hat mit der Ungewissheit zu tun, was CRISPR/Cas im Menschen bewirkt. »Es mehren sich die Hinweise auf Off-target-Effekte, also auf DNA-Schnitte an unerwünschten oder unbekanntenen Stellen«, sagt Arnold Sauter. »In der Pflanzenzucht sind solche Effekte weniger relevant, aber somatische Gentherapie erfordert unbedingte Präzision.« Darüber hinaus hat sich – zusätzlich zu den bekannten Risiken von Immunreaktionen – der Verdacht ergeben, dass CRISPR-Behandlungen Krebs begünstigen könnten.

Möglicherweise werden CRISPR-Eingriffe nämlich vom selben Wächtergen abgewehrt wie Krebs, dem Tumorsuppressor p53. Sie funktionieren also eventuell bevorzugt in Zellen mit geschwächtem p53 und selektionieren damit krebsanfällige Zellen.

Für den Umgang mit solchen Ungewissheiten gelten dieselben international verbindlichen Standards »Guter Klinischer Praxis« wie für die Prüfung aller anderen Arzneimittel am Menschen auch. Für den Umgang mit möglichen CRISPR-Eingriffen in die Keimbahn gibt es in Deutschland das Embryonenschutzgesetz. »Wenn man diesen Schutz aufrechterhalten will, ist es klar, dass weder präklinische Forschung an Embryonen noch eine generationenübergreifende Therapie von Erbkrankheiten möglich sein wird«, sagt Sauter. »Will man andererseits in Deutschland eine Wissensbasis für diese Felder schaffen, dann sollte man eine verbrauchende Embryonenforschung ehrlicherweise ermöglichen.« Das TAB werde für keine der beiden Optionen votieren, aber die Argumente dafür und dagegen sorgfältig zusammenstellen.

So hatten beispielsweise die drei deutschen Wissenschaftsakademien in einer gemeinsamen Stellungnahme im Herbst 2015 »im Hinblick auf sämtliche Formen der künstlichen Keimbahnintervention beim Menschen, bei der Veränderungen des Genoms an Nachkommen weitergegeben werden können, für ein internationales Moratorium« plädiert. Anderthalb Jahre später forderten elf Mitglieder der Leopoldina dagegen in einem Diskussionspapier: »Auch in Deutschland sollten Embryonen für medizinische Forschungszwecke verwendet werden dürfen«, wobei es sich um »verwaiste« Embryonen handeln müsse, »die für Fortpflanzungszwecke erzeugt wurden, von den Spendern hierfür aber endgültig nicht mehr verwendet werden«. Einig bleiben sich die Autoren beider Papiere nur darin, dass der Einsatz der Genom-Editierung für ein Enhancement des Menschen kategorisch abzulehnen sei.

1 Prof. Jochen Maas, (Geschäftsführer Forschung und Entwicklung der Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) und Prof. Christiane Woopen, (Vorsitzende des Europäischen Ethikrates) bei einer Diskussionsveranstaltung des House of Pharma zur Genom-Editierung.

2 Dr. Arnold Sauter, Projektleiter des Büros für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag.

Diskurs mit professionellen Ethikern gefordert

»Bei der Keimbahntherapie stellt sich vor allem die Frage nach der internationalen Haltung dazu«, sagt Sauter. »Dort erscheint ein Konsens aber praktisch ausgeschlossen.« Einen breiten gesellschaftlichen Konsens über alle Anwendungen der Genom-Editierung im Rahmen einer »kosmopolitischen Ethik« herzustellen, hält Prof. Christiane Woopen jedoch für dringend geboten. Die Vorsitzende des Europäischen Ethikrates macht sich gemeinsam mit zahlreichen anderen Wissenschaftlern für die Einrichtung eines Globalen Observatoriums stark, das als Zentrum des internationalen und interdisziplinären Diskurses über die Genom-Editierung dient. Wie dringend notwendig das sei, begründet sie am Beispiel der chinesischen Forscher, die 2017 pathogene Mutationen in eigens zu diesem Zweck gezüchteten menschlichen Embryonen mithilfe von CRISPR/Cas zu korrigieren versucht hatten. »Was mich an dieser Publikation erstaunt«, sagt Woopen, »ist die völlige Gesellschaftsvergessenheit der Forscher, die in keinem einzigen Satz irgendeine ethische Problematik überhaupt nur thematisieren und wie selbstverständlich davon ausgehen, dass ihre Methode, wenn sie irgendwann einmal sicher ist, auch breit eingesetzt wird«.

Dem stimme er nur teilweise zu, meint Manuel Kaulich. Die angesprochenen Forscher hätten wissenschaftlich sauber gearbeitet und ihre Ergebnisse in ihrer Publikation dokumentiert. Es sei nicht deren Aufgabe als Zellbiologen, ein ethisches Grundproblem zu adressieren. Damit müssten sich professionelle Ethiker im Austausch mit den Naturwissenschaftlern befassen. Insofern sei ein intensiverer Diskurs tatsächlich wünschenswert.



Der Autor

Joachim Pietzsch, Jahrgang 1959, ist freier Wissenschaftsjournalist. Als Öffentlichkeitsarbeiter der Hoechst AG hat er einst prägende Erfahrungen im Umgang mit Ungewissheit gesammelt, ohne sich dadurch auf Dauer verunsichern zu lassen.

www.wissenswort.com

Der Druck kommt aus der Wissenschaft

Für seine eigene Forschung wünscht sich Manuel Kaulich vor allem, dass die von ihm entwickelten Verbesserungen der CRISPR/Cas-Technologie bald breite Akzeptanz finden. »Hier in Frankfurt haben viele Kollegen das Potenzial der verbesserten Technologien längst erkannt und wir nutzen diese gemeinsam, so etwa im Rahmen des kürzlich bewilligten Frankfurt Cancer Institutes, um neue Strategien für Krebspatienten zu entwickeln.« International habe man es als

Newcomer im CRISPR/Cas-Feld nicht ganz so leicht. Dennoch ist Kaulich zuversichtlich, denn die in Frankfurt entwickelte Technologie zur Durchführung von hochkomplexen Experimenten mit CRISPR/Cas hebe die biologische Forschung auf eine neue Ebene. Sie erlaube einen unvoreingenommenen Blick auf Signalkaskaden und molekulare Netzwerke.

»Klassischerweise hat ein Wissenschaftler ein Protein untersucht und all dessen Interaktionen und dann ein Dutzend Doktoranden darauf angesetzt, um alle Interaktionsproteine zu charakterisieren.« Ein bestimmtes Erscheinungsbild der Zelle, z. B. ein übermäßiges oder unkontrolliertes Wachstum, habe man dann versucht, über dieses Protein oder einen seiner Partner zu erklären. »Heute können wir dieses Erscheinungsbild in einer Zellkultur induzieren, die Zelle mit einer CRISPR-Bibliothek versetzen und dann feststellen, welches Protein diesen Phänotyp aufhebt oder verstärkt, unabhängig davon, was man vorher von ihm wusste.« So sei man mit den in der Vergangenheit oft als »fishing expeditions« geschmähten Hochdurchsatz-Screens heute auch in der Lage, die Analyse verschiedener Signalwege miteinander zu kombinieren und z. B. den Zusammenhang zwischen Zellzyklus und Entzündung zu erforschen. Zukunftsweisend seien insbesondere solche CRISPR/Cas-Screens, die darauf abzielten, alle Gene zu identifizieren, die ein bestimmtes Gewebe benötigt, um zu überleben. So sei geplant, alle bekannten Krebszelllinien auf diese Gene hin zu untersuchen, um für jede bekannte Krebsart die medizinisch relevanten Gene und damit effektive Ansatzpunkte für ihre Behandlung zu finden.

Das sind Perspektiven, die der Genom-Editierung in der öffentlichen Debatte über die mit ihr verbundene Ungewissheit Pluspunkte eintragen werden. Wie aber kann die Öffentlichkeit in die Diskussion eines so komplexen Themas überhaupt eingebunden werden? »Wenn man sich zum Vergleich die Präimplantationsdiagnostik anschaut«, sagt Arnold Sauter, »dann war es im Endeffekt der Bundestag, der die Debatte quer durch alle Fraktionen so kontrovers und konzentriert geführt hat, dass die breite Öffentlichkeit daran teilnahm.« Zuvor habe es nur Diskurse in den Fachwissenschaften gegeben. Dabei sei der Druck zur Nutzung dieses Verfahrens aber aus der Bevölkerung gekommen, »weil bestimmte Betroffene diese Möglichkeit haben wollten, die Sache dann über die Selbstanklage eines Arztes ins Rollen kam und das Parlament dadurch gezwungen war, sich damit zu befassen«. Bei Keimbahninterventionen wüsste er dagegen nicht von irgendeinem absehbaren Anwendungsfall auch nur in einer kleinen Bevölkerungsgruppe. »Da kommt der Druck klar aus der Wissenschaft.« ●