

# Neue Techniken der Pflanzenzüchtung

Cisgenetik, Intragenetik, Zink-Finger-Nukleasen (ZFN), Oligonukleotid-gerichtete Mutagenese (ODM), Agroinfiltration, RNA-abhängige DNA Methylierung (RdDM), Umkehrzüchtung (Reverse breeding) und Veredelung (auf GV-Unterlage),  
Entwicklungen in der Synthetischen Biologie

## Stellenwert und Risikoanalyse

Alexandra Ribarits

Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen

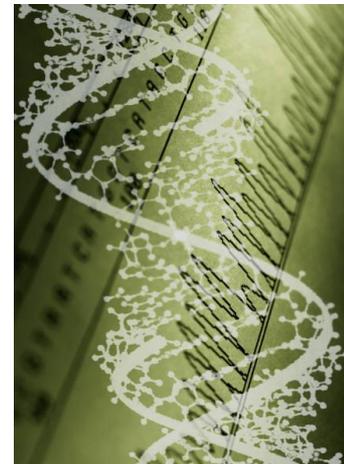
6. Konferenz der Gentechnikfreien Regionen am Bodensee

Götzis, 20.11.2014

# Überblick

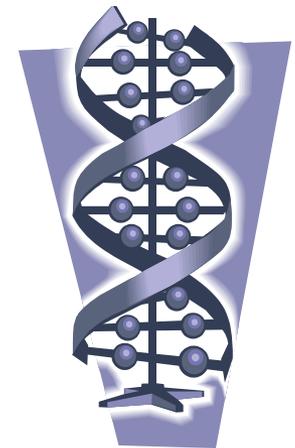
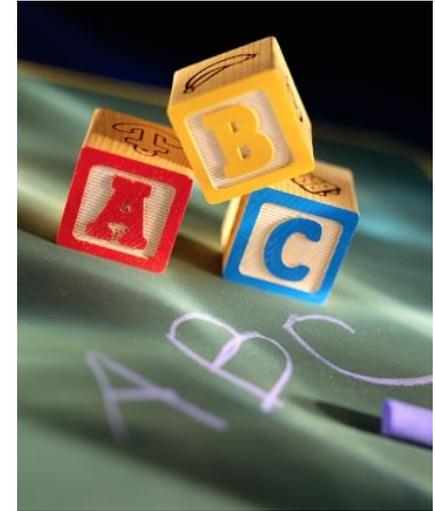


- DNA, Gene, Proteine...
- Der genetische Code
- Die grüne Gentechnik – Transgenetik, GVO
- Neue Techniken
  - Cisgenetik, Intragenetik
  - Ortsgerichtete Genomveränderung
  - Agrofiltration/Agroinokulation
  - RNA-abhängige DNA Methylierung
  - Reverse Breeding
  - Pfropfen auf GV-Unterlage
  - Synthetische Biologie
- Schlussfolgerungen



# DNA, Gene, Proteine....

- Die **DNA-Sequenz** ist die Abfolge von Buchstaben
- Je drei Buchstaben ergeben einen **Baustein** (Aminosäure)
- **Eiweisse (Proteine)** sind aus diesen Bausteinen aufgebaut
  
- Ein **Gen** ist ein Eiweiss-Bauplan
  - Die Gene werden in Proteine übersetzt
  
- Ein **Genom** ist die Gesamtheit aller Gene eines Lebewesens



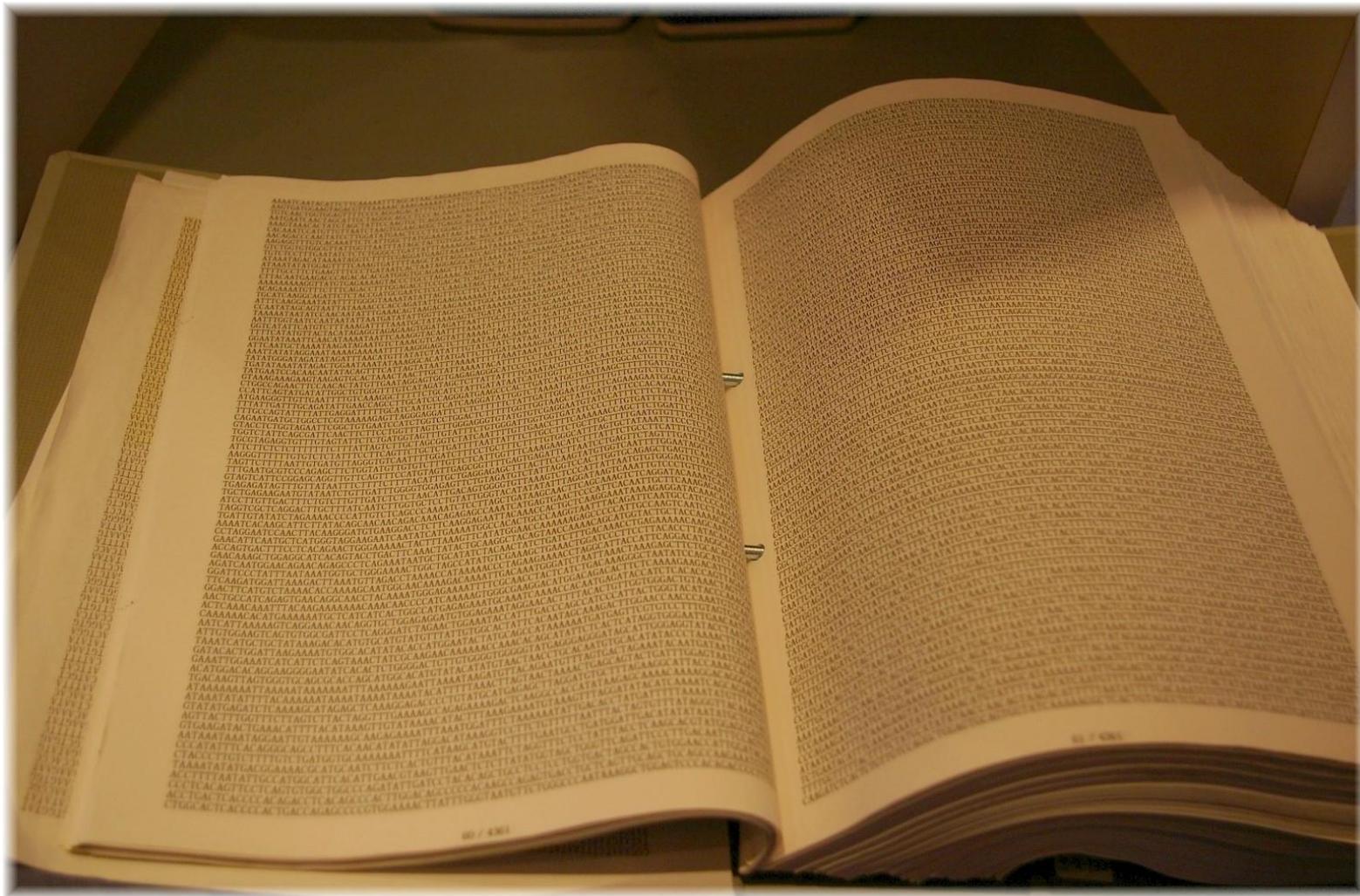
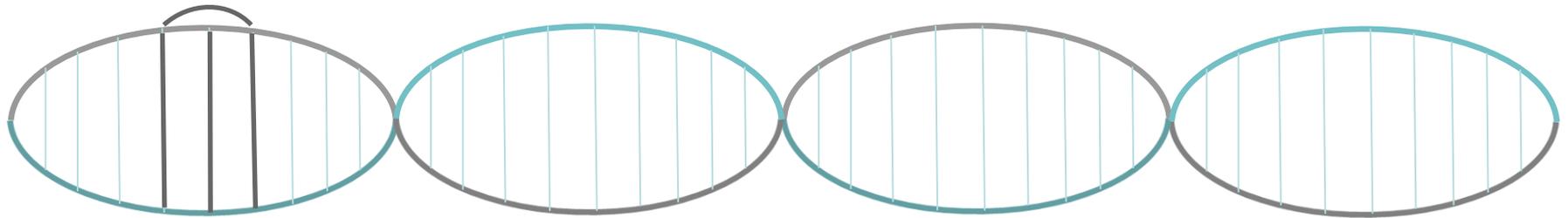


Foto: Ben Casey (<http://commons.wikimedia.org/wiki/DNA>)

# Genom – genetischer Code

DNA

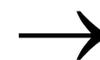
Gene



RNA



Aminosäuren



Proteine

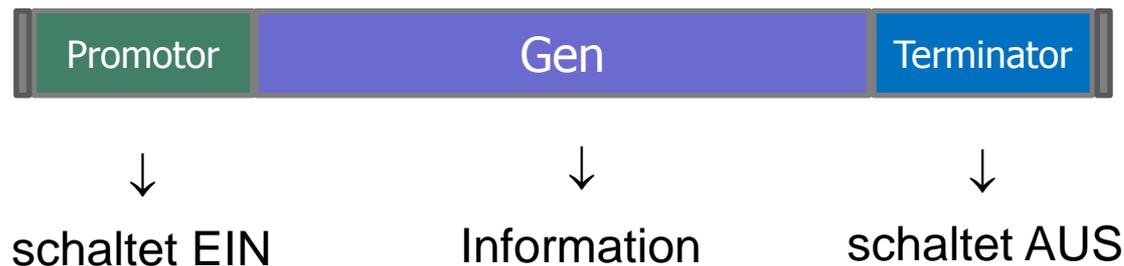


# Grüne Gentechnik

Gene werden

- ausgewählt
- isoliert oder kopiert
- eventuell verändert und neu kombiniert

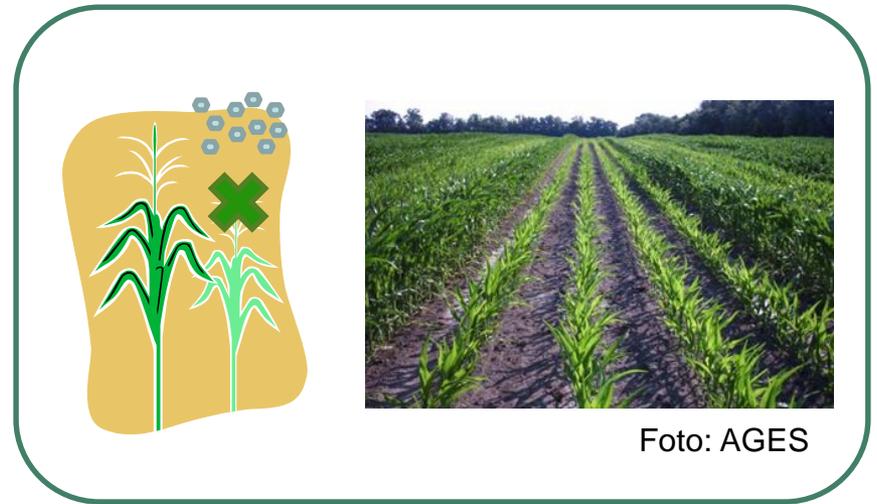
• Grundprinzip:



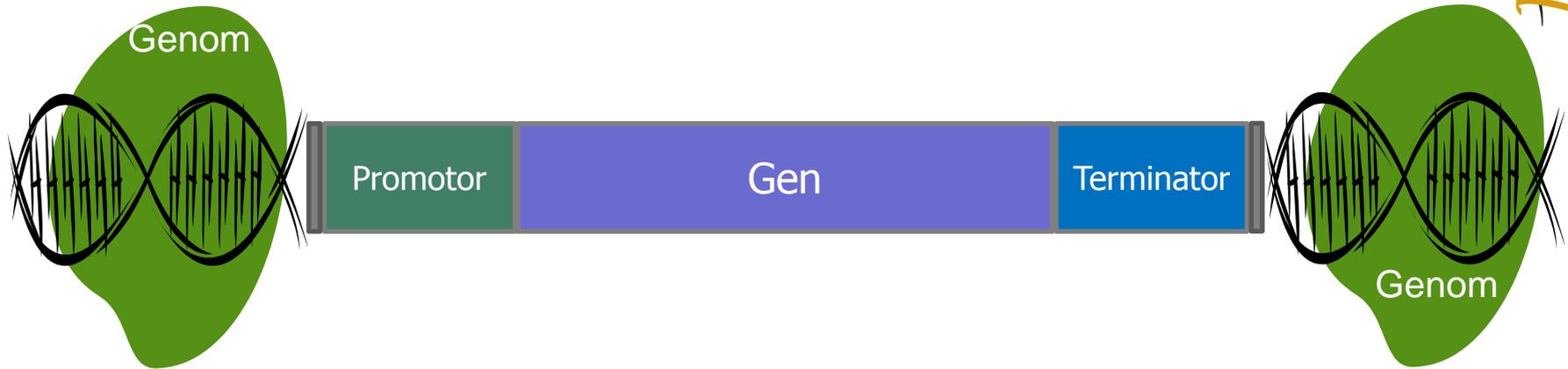
# Was ist ein gentechnisch veränderter Organismus (GVO)?

Organismen, deren genetisches Material so verändert worden ist, wie dies unter **natürlichen Bedingungen** durch **Kreuzen** oder natürliche Rekombination oder andere **herkömmliche Züchtungstechniken** nicht vorkommt.

Gentechnikgesetz, § 4



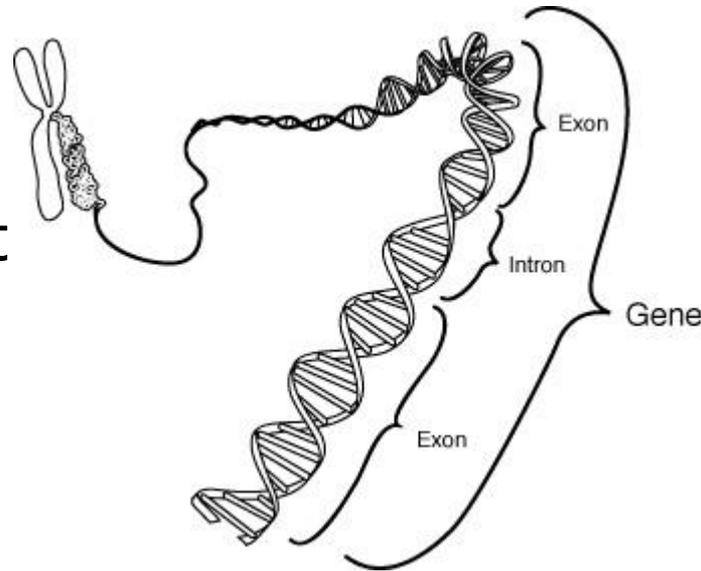
# Grüne Gentechnik/Transgenetik



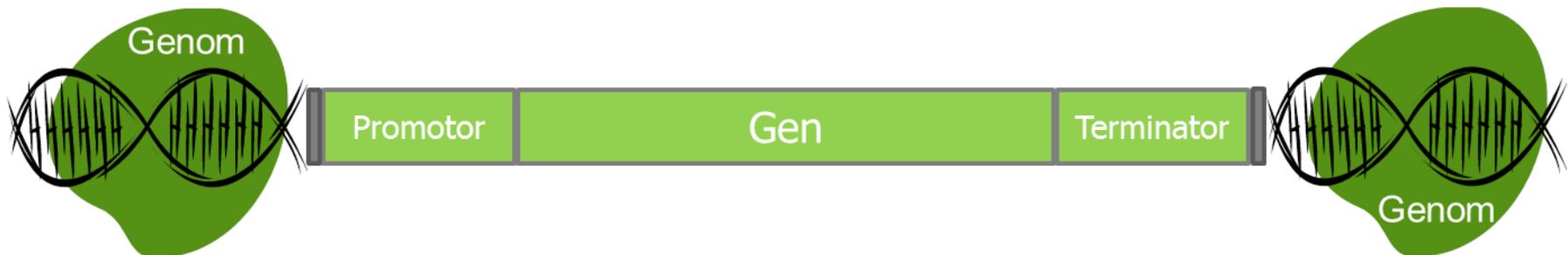
- Gen und andere Elemente sind aus beliebigen Organismen
- Nach dem Grundprinzip Promoter – Gen – Terminator frei kombinierbar
- Gen wird von einem Lebewesen auf ein anderes übertragen
- Gen-Einbau passiert an zufälliger Stelle im Genom
- Kann natürlich/durch herkömmliche Züchtung nicht erreicht werden

# Cisgenetik

- Unverändertes Gen
- Eigene oder kreuzbare Art
- Gen wird mit herkömmlichen Methoden der Transgenetik übertragen



Quelle: National Human Genome Research Institute (NHGRI) [Genetic Illustrations](#).



# Was kann Cisgenetik?



Foto: BMFLUW

Apfelschorf  
Feuerbrand



Foto: BMFLUW

Kraut- und Knollenfäule



Foto:  
BMFLUW/Hofmann

Grauschimmel

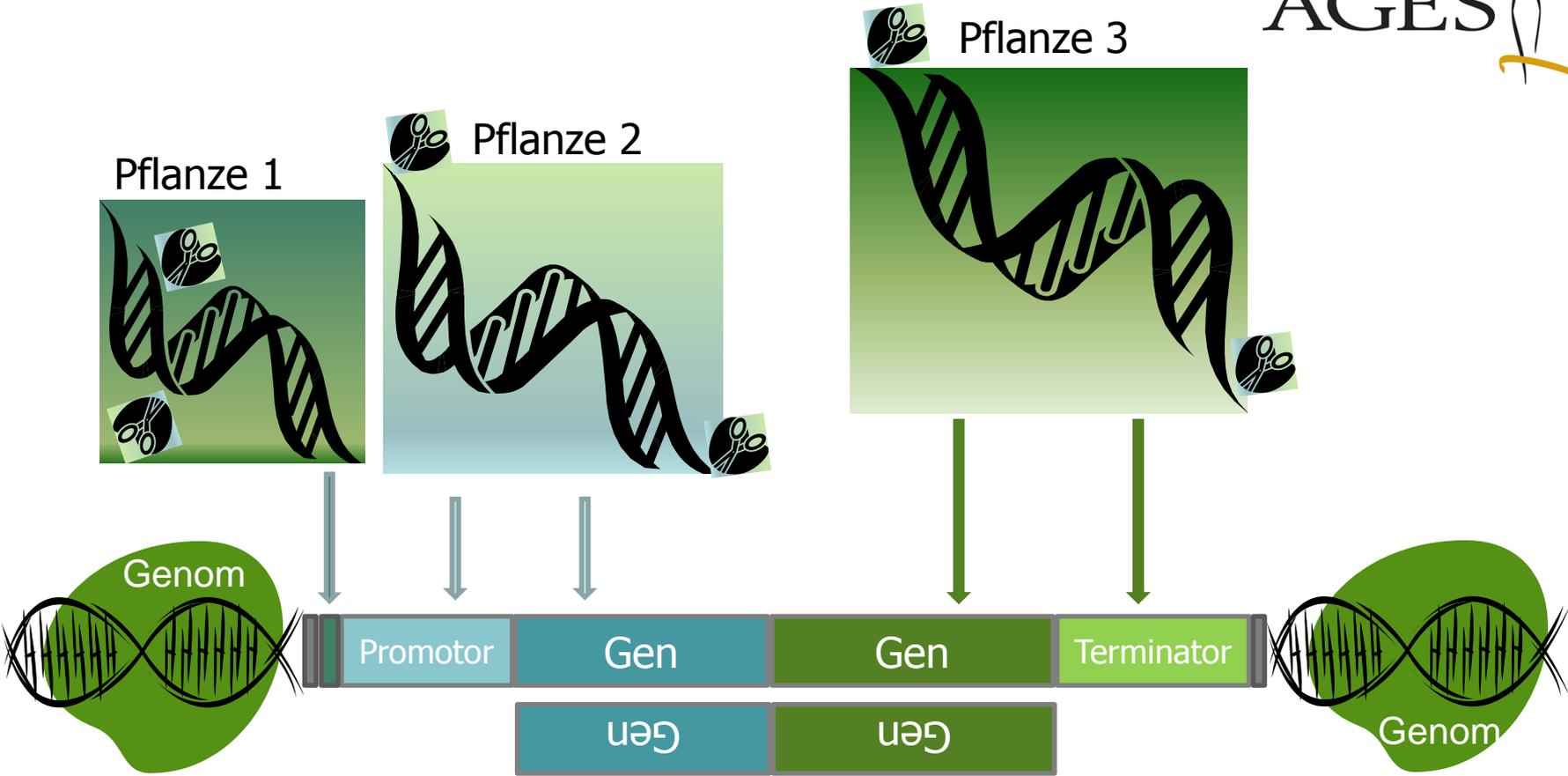


Foto:  
BMFLUW/Kern  
Bernhard

Futterqualität

- kreuzbare Arten
- raschere Züchtung
- Geschmack und Aussehen bleiben unverändert

# Intragenetik



- Elemente aus eigener Art oder aus kreuzbaren Arten

# Was kann Intragenetik?

- Gene
  - verstärken
  - ausschalten



Foto: BMLFUW

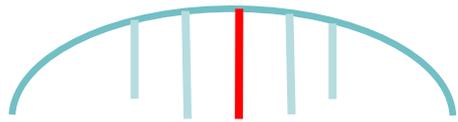
Transport- und  
Lagereigenschaften



Foto: BMFLUW

Qualität von frittierten  
Kartoffelerzeugnissen

# Ortsgerichtete Genom-Veränderung (Mutagenese)



Oligonukleotide

Austausch



Zink-Finger-  
Nukleasen

Brüche in der DNA

## • Gene

- punktgenau verändert
- ausgeschaltet

## • Sequenzen

- neu eingebracht
- entfernt



- Pflanzeigene Reparaturmechanismen
- Kein Einbau fremder DNA
- Gegebenenfalls Herauskreuzen

# Was kann ortsgerichtete Mutagenese?

- Gene verändern (Mutationszüchtung)
  - Gene ausschalten
  - Neue Sequenzen zielgerichtet einbringen
- ⇒
- Eigenschaften werden verändert
    - z.B. Toleranzen und Resistenzen gegen Pflanzenschutzmittel oder Krankheiten
    - Längere Haltbarkeit



Foto: BMLFUW/UBA/Gröger



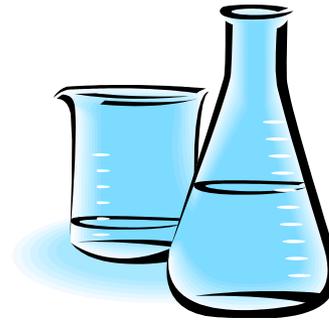
Foto: BMLFUW/Kern Bernhard



Foto: BMLFUW

- Auswahl der Pflanzen mit den gewünschten Eigenschaften

# Agroinfiltration/Agroinokulation



Erzeugung  
von  
Proteinen



Forschung

- Vorübergehender Effekt
- DNA wird nicht stabil in das Genom übertragen

# Agroinfiltration/Agroinokulation: Anwendungen



z.B. Verhalten von  
Genen in einer Pflanze



z.B. Erzeugung von Proteinen für die medizinische  
oder kosmetische Anwendung

Fotos: Chen et al. (2013) Adv Tech Biol Med. 1(1):103.

# RNA-abhängige DNA Methylierung

- Promotoren werden durch kurze RNA-Stücke stillgelegt
- Veränderung von Eigenschaften ohne Veränderung der DNA-Sequenz
- Veränderungen sind vererbbar
- Effekt kann auch wieder verloren gehen



Foto: BMLFUW/Kern Bernhard

Mais: Männliche  
Sterilität



Foto: BMLFUW

Kartoffeln: Veränderte  
Stärkezusammensetzung

# Reverse Breeding (Umkehrzüchtung)



Maishybrid

Foto: AGES/Felder

Herstellung einer transgenen Pflanze oder transient (RNA) oder chemisch



Regeneration von Pflanzen aus unreifen Pollenkörnern



Reinerbige Pflanzen



Auswahl nicht transgener Pflanzen



Elternlinien

Foto: AGES



Maishybrid Kopie

Elternlinien und Hybride entsprechen den Ausgangspflanzen

In den ausgewählten Pflanzen ist keine fremde DNA

# Pfropfen (auf GV-Unterlage)

Veränderte  
Eigenschaften

RNA  
Proteine  
Stoffwechsel-  
produkte  
...



Edelreis  
Kein GVO

Produkte  
Keine GV  
nachweisbar

Unterlage  
GVO

Gepfropfte  
Pflanze  
GV- und nicht-GV-  
Teil

# Pflanzen und Ziele...



Foto: BMLFUW/AMA-Bioarchiv

Foto: BMLFUW/Kern Bernhard



Foto: BMLFUW/Hofmann

Foto: BMLFUW/Hofmann

Foto: BMLFUW/LFZ/Buchgraber

- Krankheitsresistenzen
- Wachstum, bessere Bewurzelung
- Salztoleranz
- Inhaltsstoffe

# Synthetische Biologie

- Synthetisierte DNA-Sequenzen werden wie Bausteine zusammengesetzt
- Ziel: neue biologische Einheiten mit nutzerdefinierten Eigenschaften
- Mehrere wissenschaftliche Fachgebiete arbeiten zusammen (u.a. Chemie, Molekularbiologie, Biotechnologie, Informatik)
- Ingenieurwissenschaftliche Prinzipien
  - Planung/Design
  - Konstruktion
- Standardisierung der Bausteine



# Derzeitiger Stand

- F&E-Schwerpunkt auf der Produktion von wertvollen Substanzen
  - Mikroalgen für Biotreibstoffproduktion
  - Pflanzeigene Stoffe in Bakterien oder Hefen
  - Produktion von Arzneimitteln oder Kosmetika
- „Leuchtende Pflanzen“

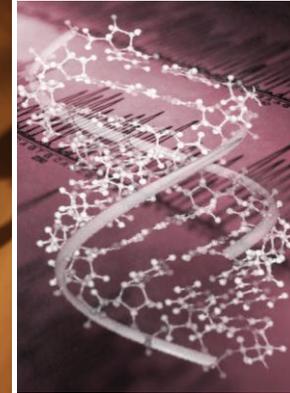


Foto: Krichevsky et al. (2010) PLoS ONE 5(11): e15461.

# „Synthetische Biologie“ heute

- Keine klare Trennung „GVO“ – „Synthetische Biologie“
- Für geschlossene Systeme vorgesehen



- Durch geltende Regelungen für GVO (national/EU) abgedeckt



# Und zum Schluss...

- Keine Produkte in Österreich zugelassen
- Viele Produkte können von herkömmlich gezüchteten nicht unterschieden werden
- Debatte über die Einordnung
- Erste Schlussfolgerungen der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA)
- Fall-zu-Fall-Prinzip
  - Zulassung von GVO nach strengen Regeln
  - Risikobewertung nach Vorgaben für GVO
  - Fall-zu-Fall-Beurteilung
- Harmonische Standards
  - Rechtssicherheit
  - Sicherheit für Konsumentinnen und Konsumenten



# Danke an das AGES-Team!



Werner Brüller  
Markus Gansberger  
Josef Hartmann  
Rupert Hochegger  
Melanie Kuffner  
Horst Luftensteiner  
Klemens Mechtler  
Verena Peterseil  
Josef Söllinger  
Robert Steffek  
Walter Stepanek  
Christina Topitschnig  
Ingomar Widhalm  
Markus Wögerbauer  
Charlotte Leonhardt



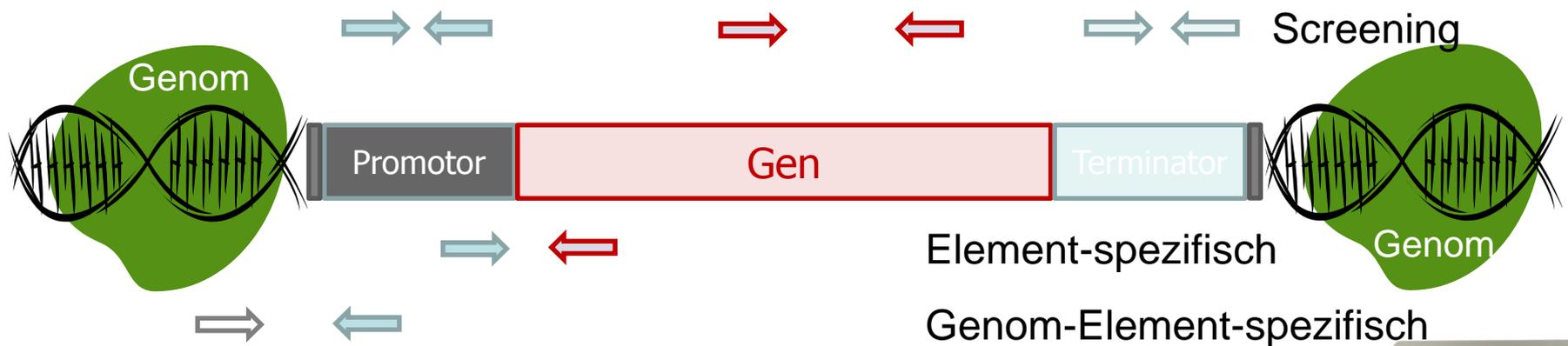
Foto: AGES/Engel



[http://bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/Gentechnik/  
Fachinformation\\_Gruene\\_Gentechnik/](http://bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/Gentechnik/Fachinformation_Gruene_Gentechnik/)

# Nachweismöglichkeiten

- Screening (allgemeiner Nachweis) über Standardelemente
- Spezifische Nachweise über die eingebrachten Elemente
  - Innerhalb der Elemente
  - Zwischen Genom und Elementen



- Standard: Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

