

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

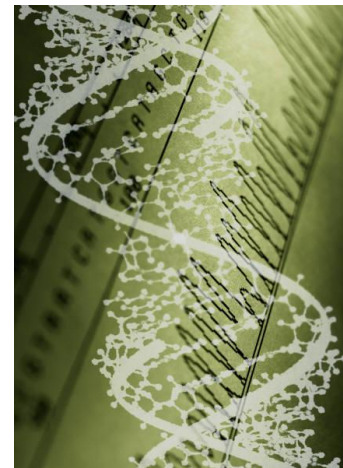
6. Konferenz der Gentechnikfreien Regionen am Bodensee

Götzis, 20.11.2014

Überblick



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

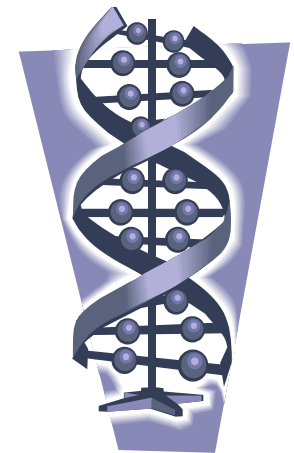


DNA, Gene, Proteine....

- 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



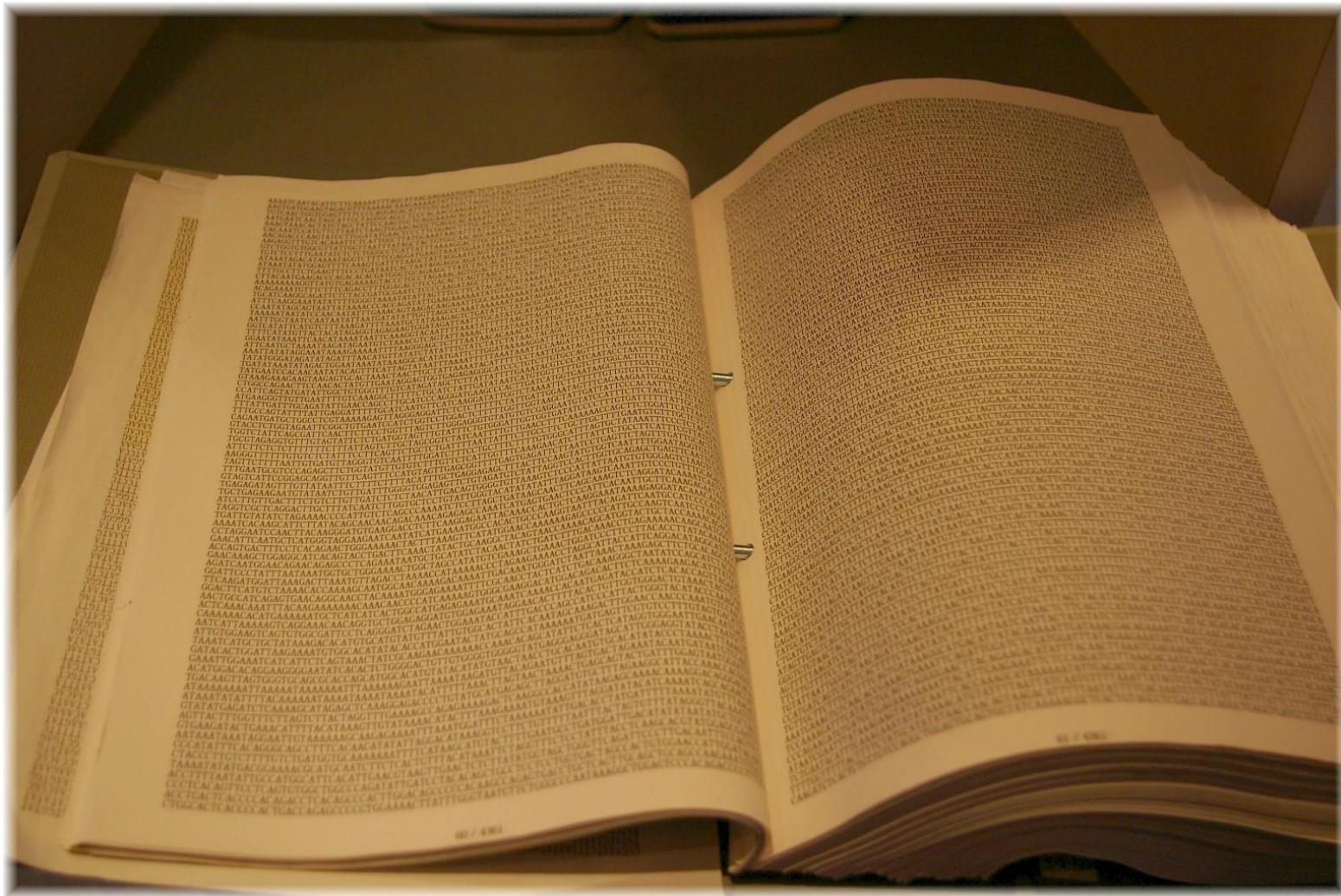
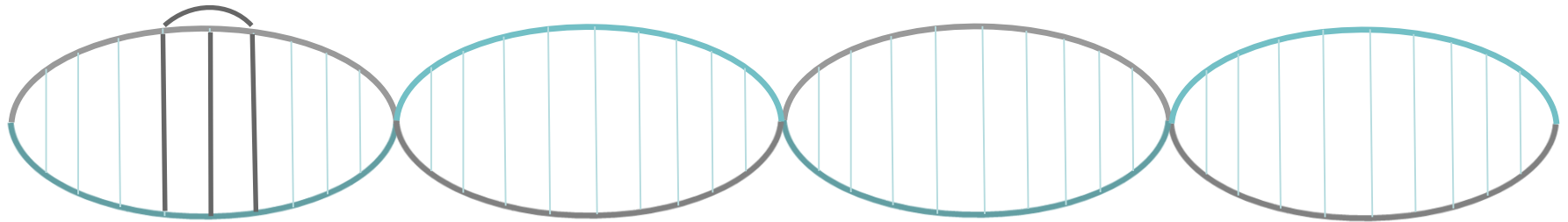


Foto: Ben Casey (<http://commons.wikimedia.org/wiki/DNA>)

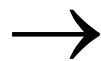
Genom – genetischer Code

DNA

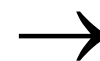
Gene



RNA



Aminosäuren



Proteine

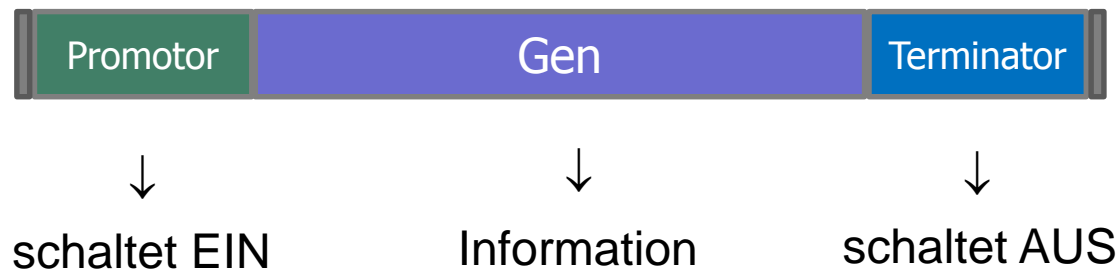


Grüne Gentechnik

Gene werden

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

• Grundprinzip:



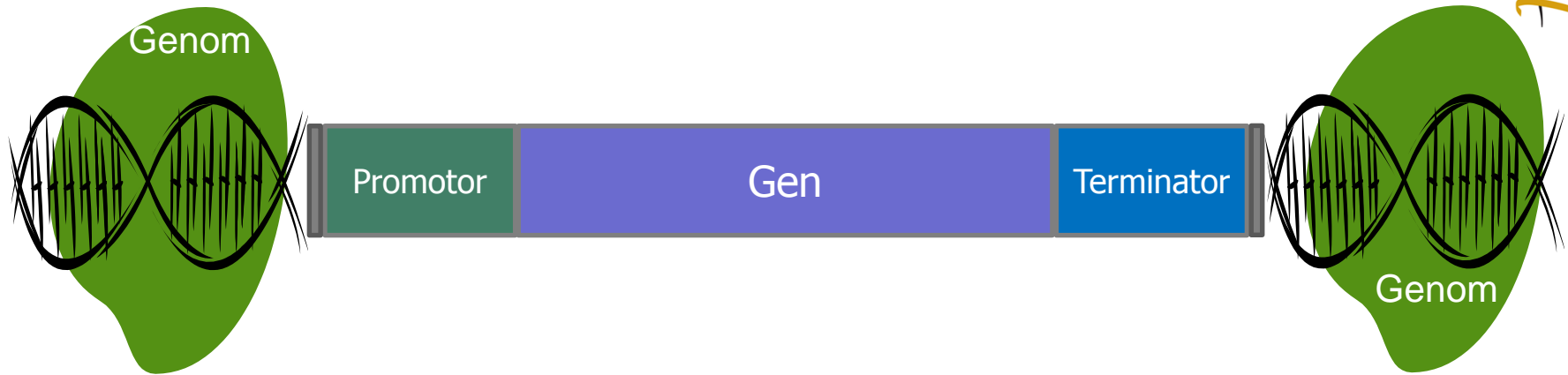
Was ist ein gentechnisch veränderter Organismus (GVO)?

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



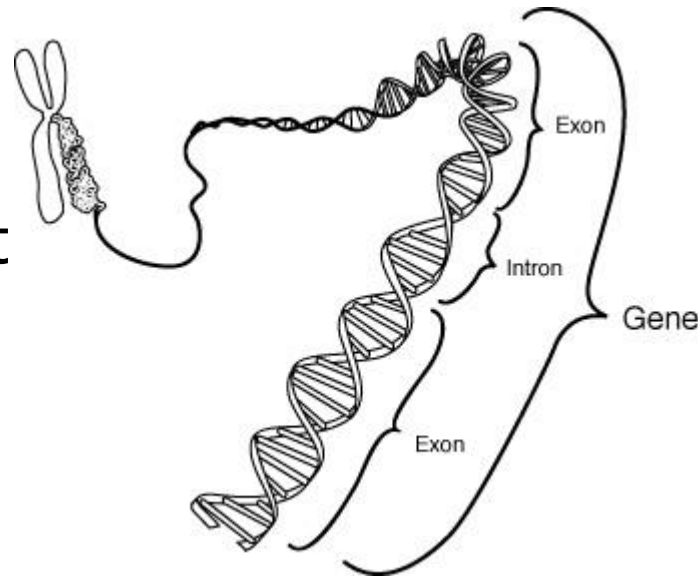
Grüne Gentechnik/Transgenetik



- 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

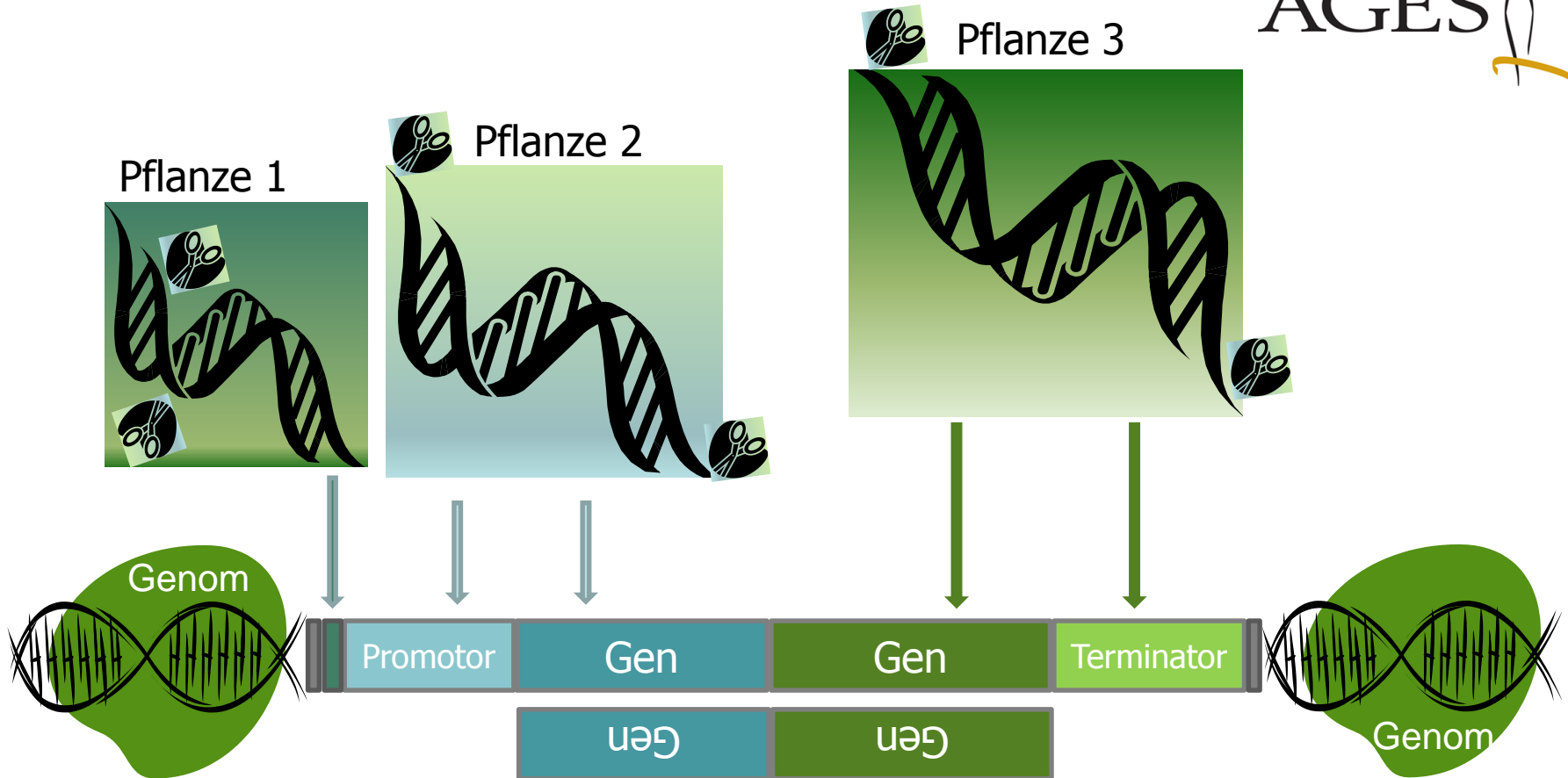


Foto:
BMFLUW/Kern
Bernhard

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

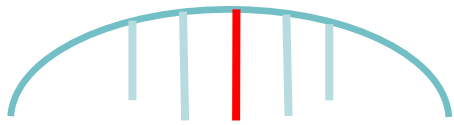
Transport- und
Lagereigenschaften



Foto: BMFLUW

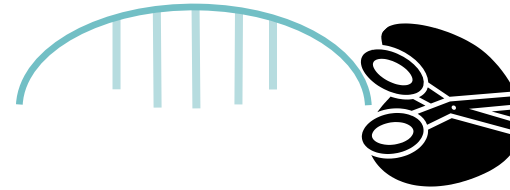
Qualität von frittierten
Kartoffelerzeugnissen

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



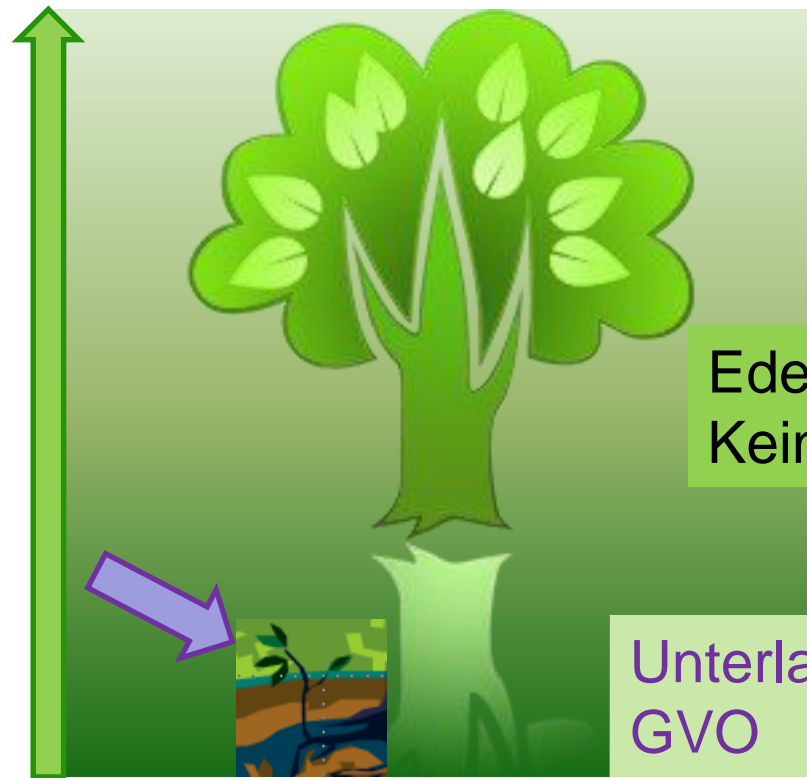
Maishybrid Kopie

Elternlinien und Hybride entsprechen den Ausgangspflanzen
In den ausgewählten Pflanzen ist keine fremde DNA

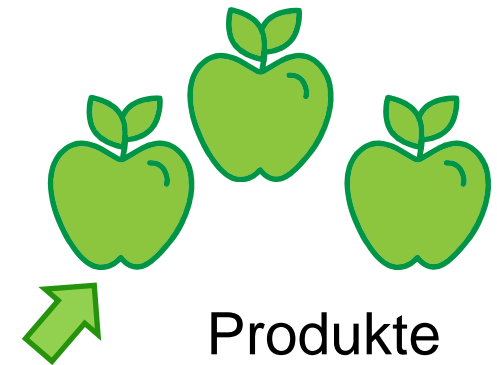
Pfropfen (auf GV-Unterlage)

Veränderte
Eigenschaften

RNA
Proteine
Stoffwechsel-
produkte
...



Edelreis
Kein GVO



Produkte
Keine GV
nachweisbar

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“

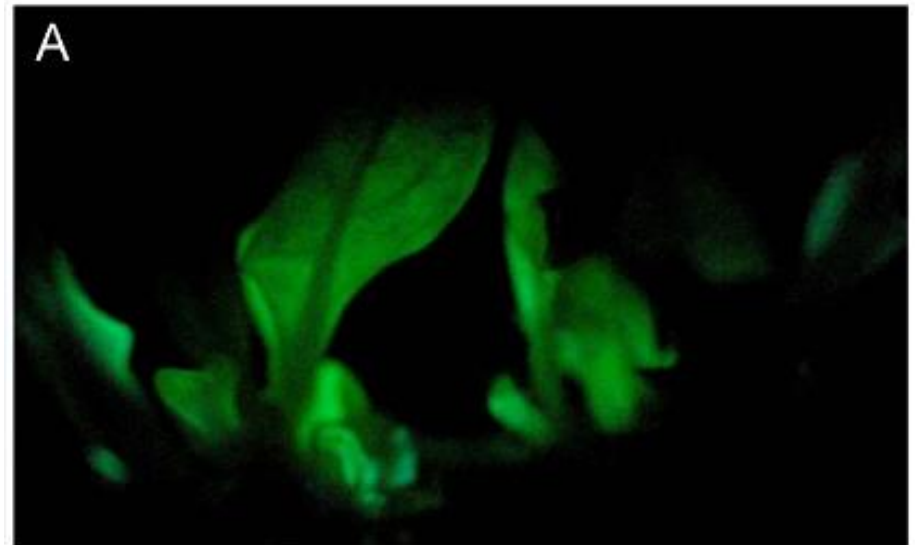


Foto: Krichevsky et al. (2010) PLoS ONE 5(11): e15461.

„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



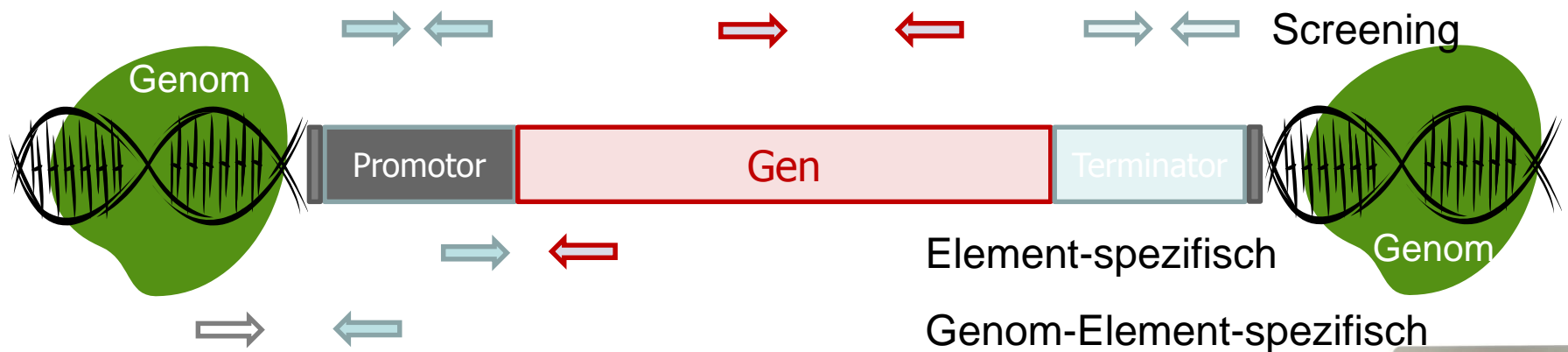
Foto: AGES/Engel



[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)

