



Julius Kühn-Institut

Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Federal Research Centre for Cultivated Plants

18. InnoPlanta-Forum:

Genome Editing: Technische Grundlagen und Anwendungen

06.12.2019

Dominik Modrzejewski

Institute for Biosafety in Plant Biotechnology



1. Einordnung von Genome Editing im Kontext der Pflanzenzüchtung
2. Basics zur systematischen Literatursuche (Systematic Map)
3. Genome Editing
 - 3.1. Allgemeiner Überblick (Zeitraum 1996 – Mai 2018)
 - 3.2. Marktorientierte Anwendungen (Zeitraum 1996 – Juni 2019)

Ziel der Vereinten Nationen (UN):

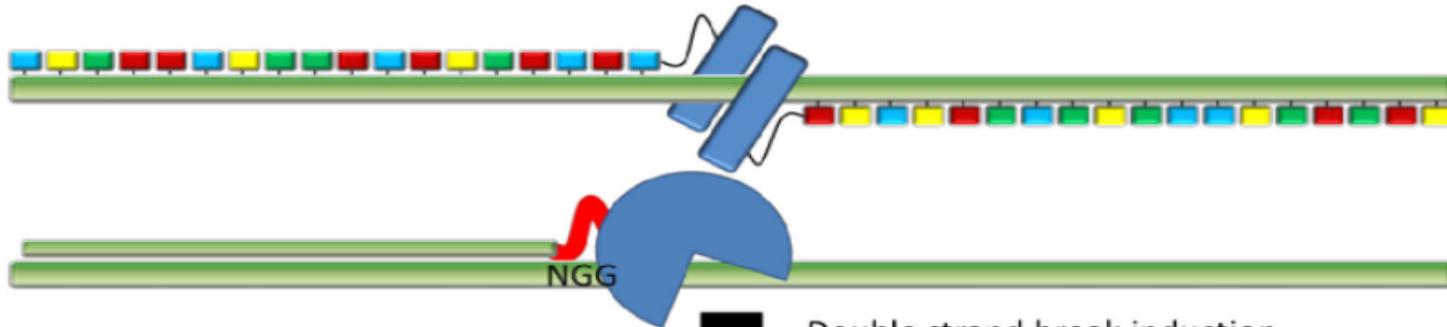
Weltweiter **wirtschaftlicher Fortschritt** im Einklang mit **sozialer Gerechtigkeit** und im Rahmen der **ökologischen Grenzen der Erde**



Welchen konkreten Beitrag kann Genome Editing für eine nachhaltige Entwicklung in der LWS leisten?

2. Basics Genome Editing

ZFN-;TALEN-;CRISPR/Cas9- Nuclease



Double strand break induction



No template added



SDN 1:
Targeted mutagenesis

Added homologous template



SDN 2:
Targeted mutagenesis

Added template with homologous ends



SDN 3:
Targeted mutagenesis
Targeted gene replacement

Mutationszüchtung

Vergleichbar mit klassischer Gentechnik

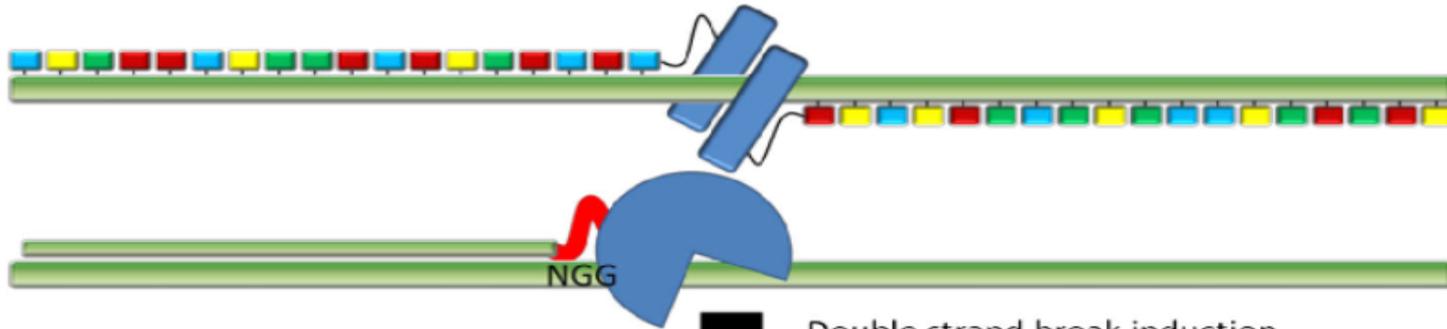
2. Basics Genome Editing



	Genome Editing	Ungerichtete Mutagenese
Anzahl Mutationen	Eine	Sehr viele
Spezifität der Mutation(en)	An einer spezifischer Stelle im Genom	An (vielen) unspezifischen Stellen im Genom
Ungewollte Mutationen	(meist) keine ungewollten Mutationen	Viele ungewollte Mutationen an anderen Stellen im Genom
Benötigte Zeit	Monate	Viele Jahre

2. Basics Genome Editing

ZFN-;TALEN-;CRISPR/Cas9- Nuclease



Double strand break induction

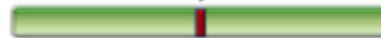


No template added



SDN 1:
Targeted mutagenesis

Added homologous template



SDN 2:
Targeted mutagenesis

Added template with homologous ends



SDN 3:
Targeted mutagenesis
Targeted gene replacement

Vergleichbar mit
Mutationszüchtung

Vergleichbar mit
klassischer Gentechnik

2. Systematic Map



Systematic Map (SM):

Zielt darauf ab einen breiten Überblick der zur Verfügung stehenden Literatur zu bekommen.

→ Identifizierung von bereits **vorhandenem Wissen** und **Wissenslücken**

- Stakeholder informieren
- Vollständige Transparenz
- Aktualisierung möglich



Systematic Map Frage 1:

“What are the **traits modified by genome editing** in model plants as well as in crops produced for agricultural production?”

Systematic Map Frage 2:

“What is the available **evidence** for the potential **occurrence of associated off-target effects** due to the use of genome editing in model plants as well as in crops produced for agricultural production?”

Systematic Map – Ergebnisse Übersicht



Zeitraum: 1996 – Mai 2018

Literatursuche
n=6000

Kriterien: - **Modellpflanze oder Kulturpflanze**
- **Genome Editing** Technik
- **Primärdaten**

Relevante Veröffentlichungen: n= 555
Beinhaltete Studien: n= 1328

➤ Datengrundlage

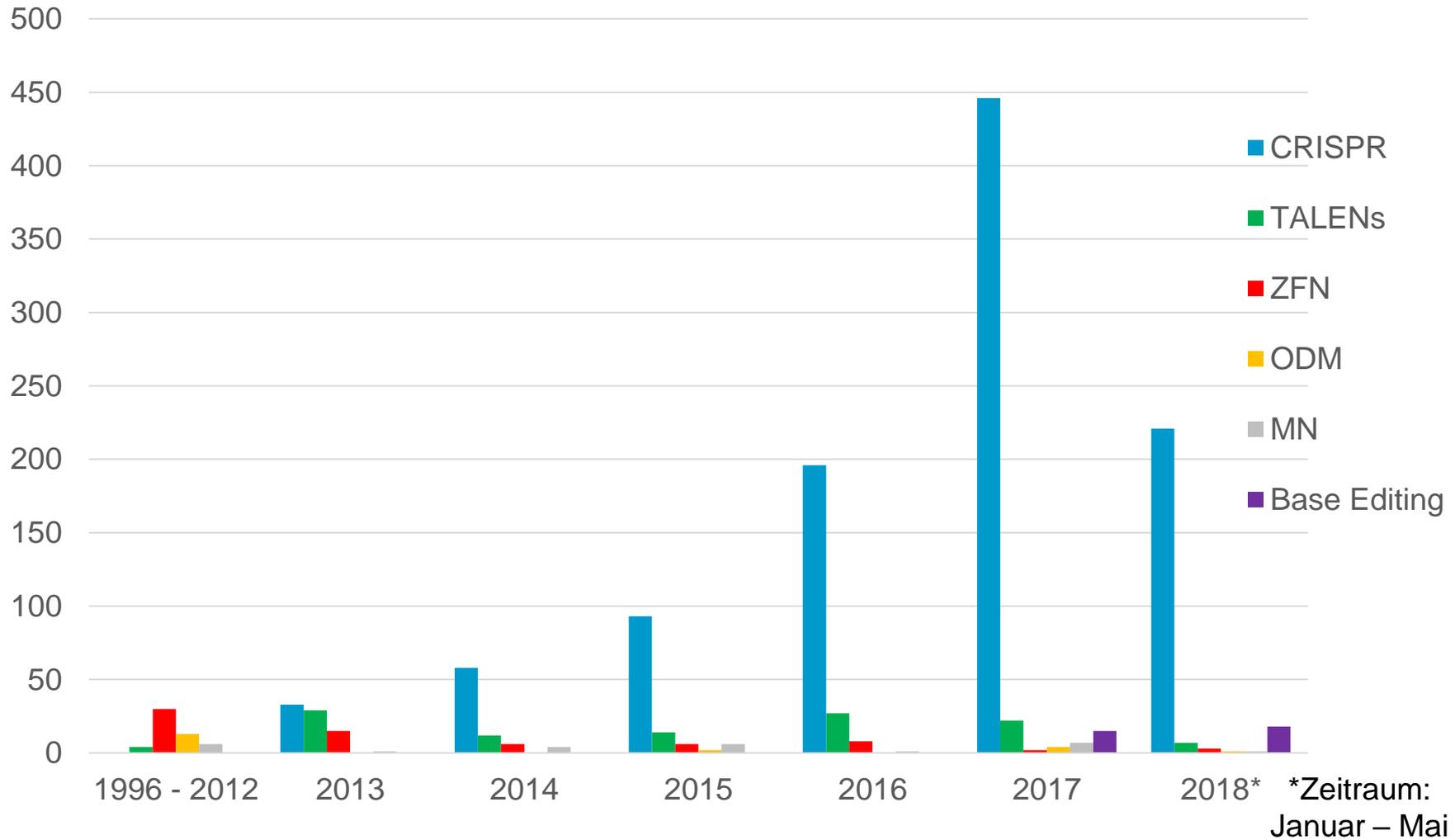
Beispiel: Baltes et al. (2014):

- **Eine** Veröffentlichung
- Einsatz von **drei Genome Editing Techniken**
- Anwendung in **zwei Modellpflanzen**
- **Drei Sequenzen** bearbeitet

=> **Eine Publikation enthält vier Studien**

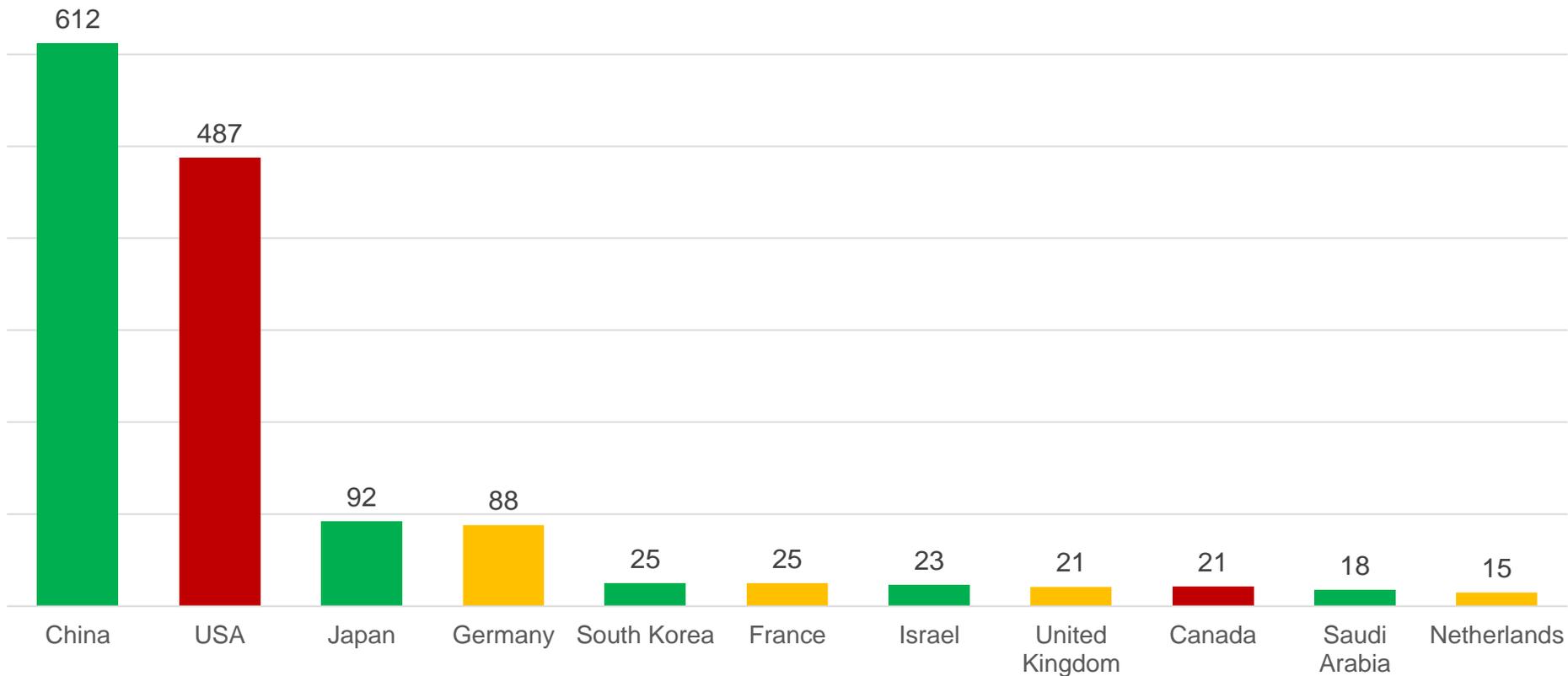
ZFN	Arabidopsis	ADH1
ZFN	Tobacco	Zif268
TALENs	Tobacco	ALS
CRISPR/Cas9	Tobacco	ALS

Zeitliche Entwicklung von Genome Editing Studien



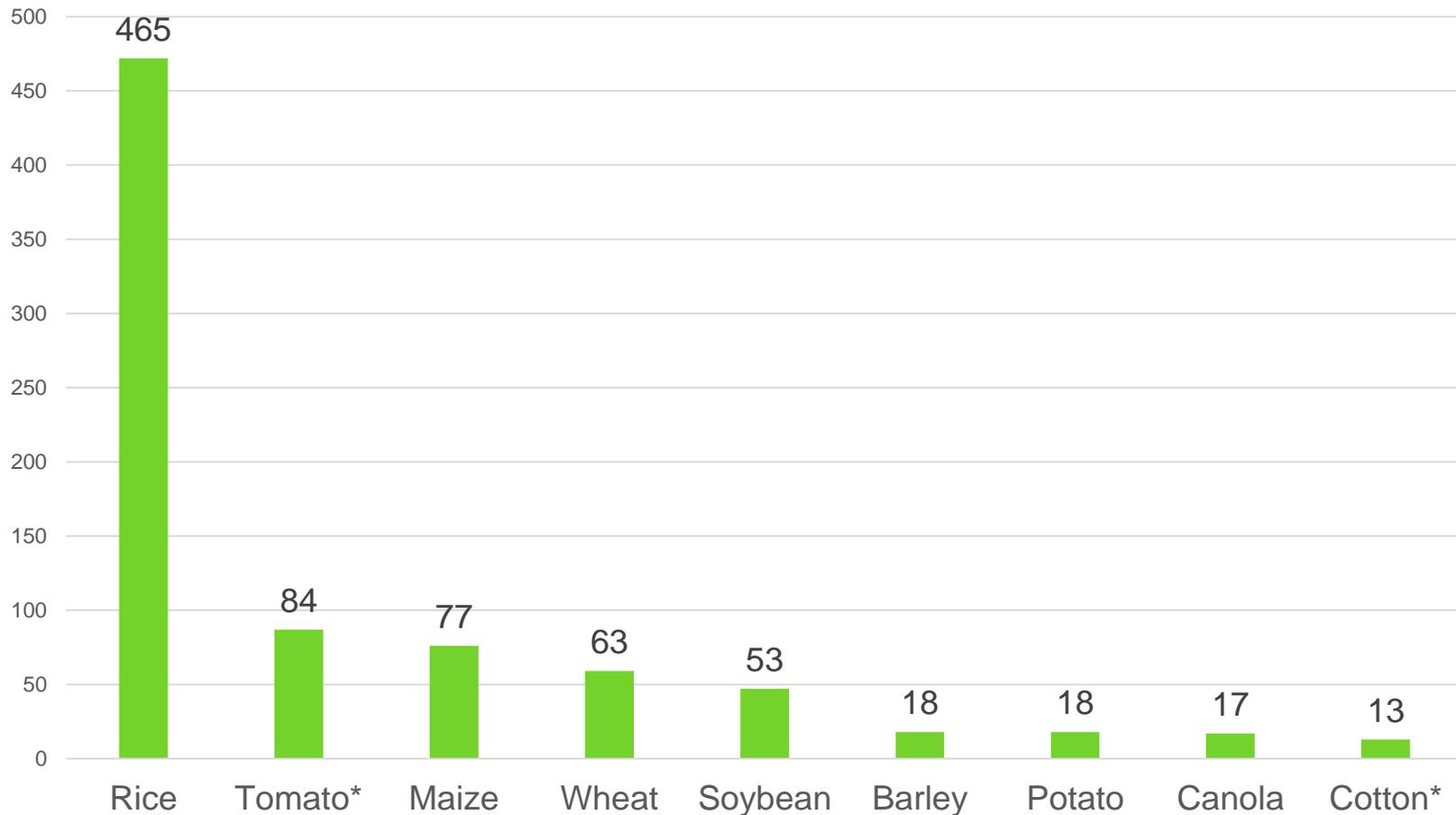
Globale Anwendung von Genome Editing*

* Nach dem korrespondierenden Autor
(Mehrfachnennungen möglich)



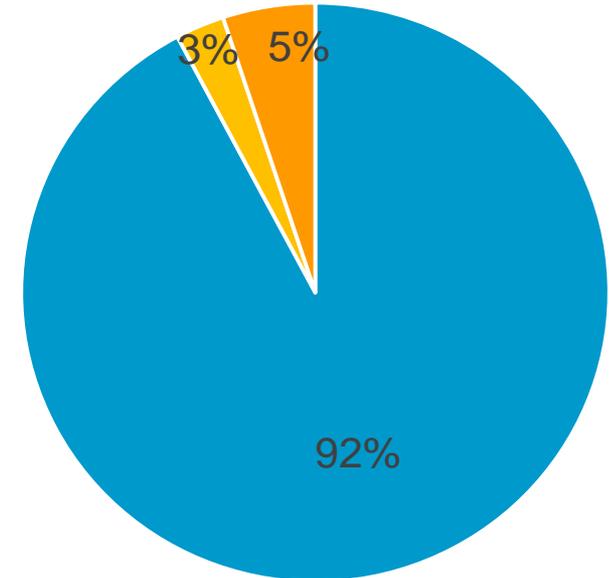
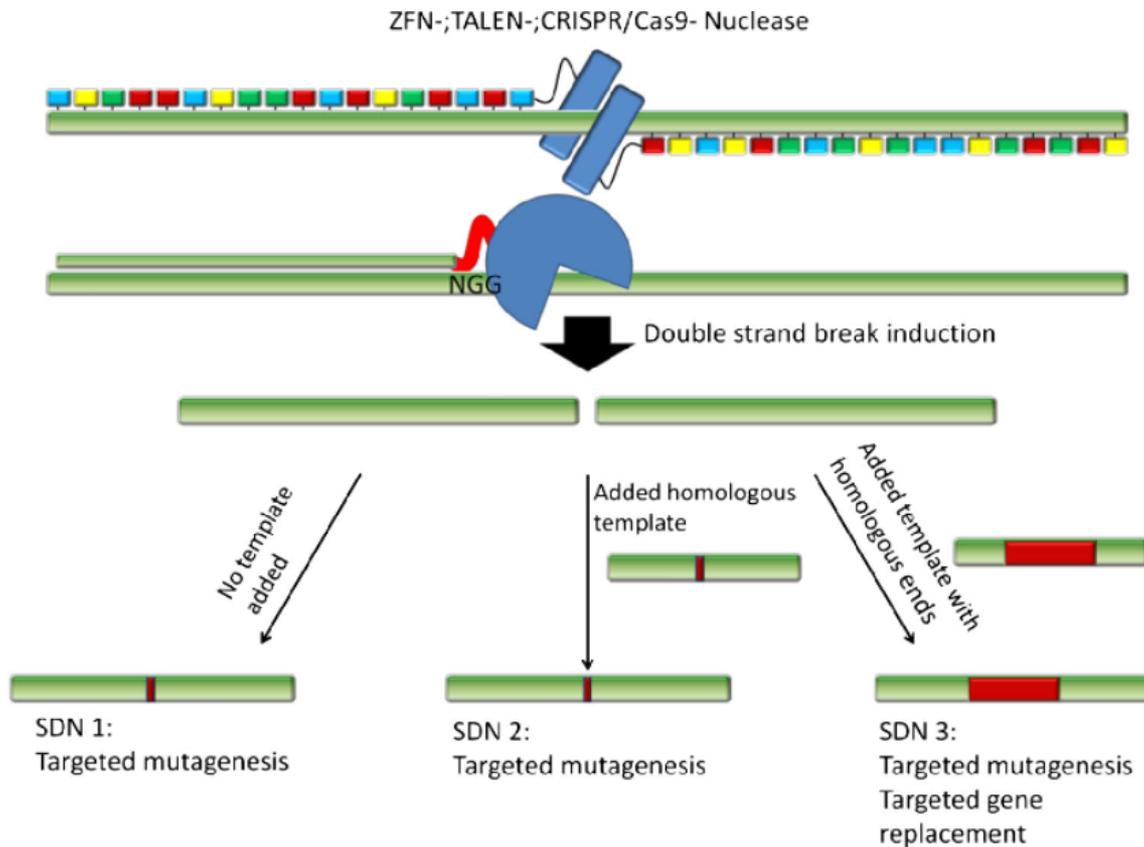
→ Studien aus 33 Ländern

Anzahl an Studien in Kulturpflanzen



➤ Anwendungen in: **68 Modellorganismen und Kulturpflanzen**

Art der Veränderung im Pflanzengenom:



- SDN1/ PM/ BE
- SDN2
- SDN3

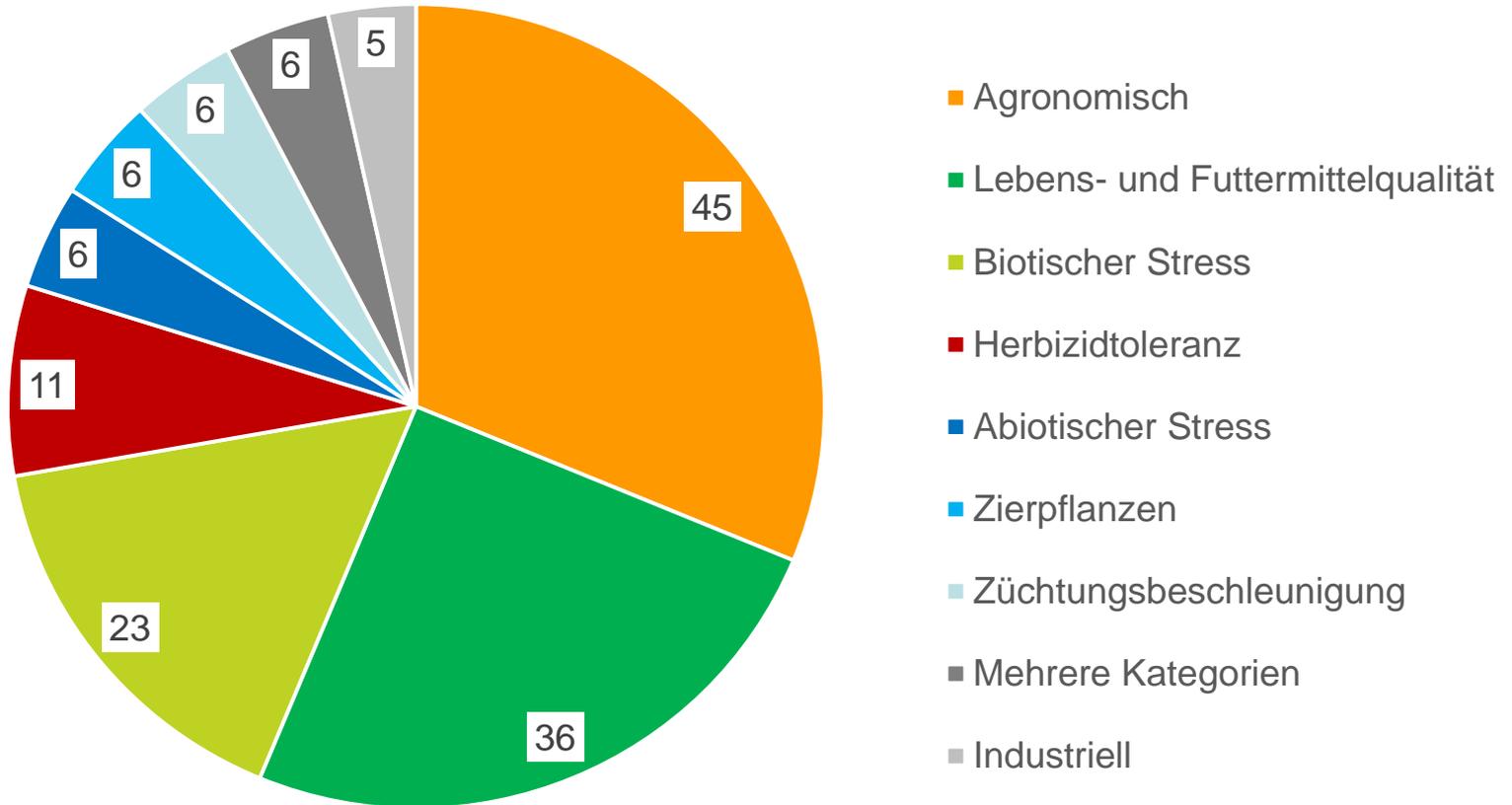
➤ In den meisten Studien werden **lediglich Punktmutationen** erzeugt

→ Marktorientierte Anwendungen:

1. Genome Editing wurde in einer Kulturpflanze eingesetzt (+ Zierpflanzen).
2. Ein Merkmal wurde bearbeitet, das für die Kommerzialisierung von Interesse sein könnte.
3. Es wurde untersucht, ob die bearbeitete Eigenschaft in der editierten Pflanze ausgeprägt ist.

➤ 144 marktorientierte Anwendungen in 41 Kultur- und Zierpflanzenarten

Überblick über marktorientierte Anwendungen



Raps: Erhöhte Schotenfestigkeit

- Raps ist die wichtigste Ölpflanze in unseren Breiten
- Problem, wenn Schoten vor der Ernte aufplatzen (Ernteverlust 15-20%)
- Höhere Temperaturen verschärfen dieses Problem
- **Punktmutation durch CRISPR/Cas führte zu erhöhter Schotenfestigkeit**

Weizen: Größere Körner, höheres
TKG

Gurke: Nur weibliche Blüten

Kiwi: Kompakter Wuchs, frühe Blüte

Kartoffel: Reduzierte Schwarzfleckigkeit

- Schwarzfleckigkeit ist eine Knollenschädigung
- Verursacht durch Druck
- Ungewünscht für Verarbeiter und Verbraucher → Verluste
- **Punktmutation durch CRISPR/Cas reduzierte das Auftreten von schwarzen Flecken**

Mais: Erhöhter Stärkegehalt in
Blättern und Stängeln

Salat: Erhöhter Vitamin C-Gehalt,
erhöhte Oxidationsstresstoleranz

Erdnuss, Leindotter, Raps, Soja:
Verbesserte Ölqualität

Maniok: Erhöhte Toleranz gegen die Braunstreifenkrankheit

- Maniok ist ein wichtiges Grundnahrungsmittel in afrikanischen Ländern
 - Braunstreifenkrankheit wird von einem Pflanzenvirus verursacht
 - Verfärbt die Knolle bräunlich → ungenießbar
 - Problem: Schaden vor Ernte nicht sichtbar
- **Ausschalten mehrerer Gene erhöhte die Toleranz gegen die Braunstreifenkrankheit**

Grapefruit: Toleranz gegen
Zitronenkrebs

Kartoffel:
Toleranz gegen PVY

Wein: Toleranz gegen
Grauschimmelfäule

Wassermelone: Herbizidtoleranz

- Wassermelone gehört zu den Kürbisgewächsen
- Benötigen viel Platz zum wachsen → Geringe Pflanzdichte
- Hohes Unkrautauflkommen
- **Gezielte Punktmutation führte zu Herbizidtoleranten Pflanzen**

Baumwolle

Flachs

Maniok

Russischer Löwenzahn: Verbessertes Wurzelwachstum

- Kautschuk steckt in vielen alltäglichen Dingen
- Bisherige Kautschukgewinnung: Kautschukbaum

- Alternative: Russischer Löwenzahn (Kautschuk in Wurzel)
- Probleme: Domestikation schwierig

- **Gezielte Punktmutation beeinflusste das Wurzelwachstum positiv**
 - **Mehr Wurzelbiomasse, verbesserte Wurzelform, erhöhter Ertrag**

Kartoffel: Veränderte
Stärkezusammensetzung

Rutenhirse: Ligninreduktion

Reis: Salztoleranz

- Zu hohe Salzkonzentrationen im Boden belasten das Pflanzenwachstum
- Versalzung wird durch jahrelange Bewässerung verursacht
- Machen Böden unbrauchbar für landw. Nutzung
- **Gezieltes Ausschalten eines Gens führte zu einer verbesserten Salztoleranz**

Mais: Trockentoleranz

Reis: Arsentoleranz

Petunie: Längere Blütezeit

- Beliebte Zierpflanzen aufgrund ihrer Vielfalt an Blütenformen und -farben
- Bilden kontinuierlich neue Blüten, aber diese verblühen schnell
- **Gezielte Punktmutation hemmte die Produktion von Ethylen**
 - **Längere Blütezeit der einzelnen Blüten**

Wildtomate:

- Mehr Blüten
- Größere Früchte
- Kompakterer Wuchs
- Veränderte Inhaltsstoffe
(Lycopin)

Mais, Weizen: Trockentoleranz

- *Solanum pimpinellifolium* ist ein Vorfahre der Tomate
- Typische Merkmale einer Wildpflanze (z.B. sehr kleine Früchte)
- **Gleichzeitige Mutation mehrerer Gene**

- Genome Editing hat das Potential einen Beitrag für eine nachhaltige Entwicklung in der LWS zu leisten
- Aber: Innovationsoffene Rahmenbedingungen nötig:
 - Rechtliche Regulierung
 - Freilandversuche ermöglichen
 - Verhinderung von (noch stärkerer) Monopolbildung (Zulassungskosten/ Patente)
- Akzeptanz in der Bevölkerung muss erhöht werden!



<https://progressive-agrarwende.org/>

Vielen Dank für die Aufmerksamkeit!



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Review Team:

Dominik Modr., Dörthe Krause,
Frank Hartung, Thorben Sprink,
Christian Kohl, Ralf Wilhelm



Systematic Map:

Modrzejewski et al. (2019): **What is the available evidence for the range of applications of genome editing as a new tool for plant trait modification and the potential occurrence of associated off-target effects: a systematic map.** In: Environ Evid 7 (1), S. 11. DOI: 10.1186/s13750-019-0171-5