



# Diskussionspapier zur wissenschaftlichen Bedeutung der Genom-Editierung und zu den potenziell damit verbundenen ethischen, rechtlichen und gesellschaftlichen Fragen

HERAUSGEGEBEN VOM ETHIKRAT DER MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

## 1. Einführung und Begründung für das Diskussionspapier

Christiane Walch-Solimena

Als Organisation der Grundlagenforschung trägt die Max-Planck-Gesellschaft (MPG) eine besondere Verantwortung zur kritischen Beurteilung neuer wissenschaftlicher Entwicklungen und ist bestrebt, sich Themen an den Grenzen des aktuellen Wissens zu widmen. Diese Einschätzung umfasst sowohl das wissenschaftliche Potenzial als auch die Risiken, die mit einer zukünftigen Anwendung der wissenschaftlichen Ergebnisse verbunden sein können. Zu diesem Zweck wurde der MPG-Ethikrat gebeten, eine Arbeitsgruppe einzurichten, die Fragen im Zusammenhang mit einer revolutionären Technologie umreißt und diskutiert, die in den letzten Jahren unvorhergesehene Möglichkeiten in der Veränderung von Genen und Genomen eröffnet hat: der Gen-Editierungs- und Genom-Engineering-Technologie CRISPR-Cas9. Diese programmierbare Nuklease stellt das jüngste molekulare Werkzeug der Genetik dar und wird als vielseitige, präzise und leistungsstarke Technologie genutzt, nicht nur um Gene zu verändern (z. B. Mutationen korrigieren, Mutationen einbringen oder genetische Informationen ausschneiden und in ein Genom einfügen), sondern auch deren Expression zu regulieren. Der vorliegende Bericht befasst sich jedoch auch, soweit bereits in diesem frühen Stadium möglich, mit den potenziellen Risiken, die sich aus einer möglichen Umsetzung dieser neuen Technik ergeben

können. Betrachtet werden darüber hinaus rechtliche und ethische Erwägungen im Zusammenhang mit dieser neuen Technologie und ihren möglichen Anwendungen.

Wenngleich die Fortschritte beim Einsatz der CRISPR-Cas9-Technologie den Forschungsbereich der Genom-Editierung revolutioniert haben, entstanden um einige ihrer Anwendungen heftige Kontroversen. So wurden bereits seit 2015 in China<sup>1</sup> erste Experimente an menschlichen Embryonalzellen durchgeführt, um bestimmte krankheitsverursachende Mutationen zu korrigieren. Diese Veröffentlichungen haben Diskussionen zu ethischen und sicherheitsrelevanten Aspekten dieser Forschung in der gesamten wissenschaftlichen Gemeinschaft und darüber hinaus ausgelöst. Ein internationaler Gipfel zur Zukunft der Editierung von Humangenomen, der von der US-amerikanischen *National Academy of Medicine*, der britischen *Royal Society* und der *Chinese Academy of Sciences* im Dezember 2015 einberufen wurde, betonte die Notwendigkeit eines ständigen globalen Forums. Stellungnahmen zu ethischen und gesellschaftlichen Fragen der Genom-Editierung, die auch andere Anwendungsbereiche abdecken, folgten seither, z. B. von der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften<sup>2</sup>, der Nationalen Akademie der Wissenschaften (Leopoldina)<sup>3</sup>, der US-amerikanischen

<sup>1</sup> Liang, P., Xu, Y., Zhang, X., Ding, C., Huang, R., Zhang, Z., Lv, J., Xie, X., Chen, Y., Li, Y., Sun, Y., Bai, Y., Songyang, Z., Ma, W., Zhou, C. & Huang, J. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell* 6, 363–372 (2015).

<sup>2</sup> BBAW (Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften). Genomchirurgie beim Menschen. Zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie (2015). Abrufbar unter [https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user\\_upload/Webseitendateien/Publikationen/deutsch\\_Genomchirurgie-beim-Menschen\\_2015.pdf](https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user_upload/Webseitendateien/Publikationen/deutsch_Genomchirurgie-beim-Menschen_2015.pdf)

<sup>3</sup> Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, Deutsche Forschungsgemeinschaft, acatech – Deutsche Akademie der Technikwissenschaften, Union der deutschen Akademien der Wissenschaften. Chancen und Grenzen des genome editing (2015). Abrufbar unter [https://www.leopoldina.org/uploads/tx\\_leopublication/2015\\_3Akad\\_Stellungnahme\\_Genome\\_Editing.pdf](https://www.leopoldina.org/uploads/tx_leopublication/2015_3Akad_Stellungnahme_Genome_Editing.pdf)



National Academy of Sciences<sup>4</sup>, dem britischen *Nuffield Council on Bioethics*<sup>5</sup> und anderen. Der Diskurs über den Einsatz von Genom-Modifikationstechnologien sowohl beim Menschen als auch in anderen Organismen wird dadurch kompliziert, dass diese bereits direkt oder indirekt gesetzlich geregelt sind, wobei sich diese Rechtsvorschriften in den betroffenen Wissenschafts- und Rechtskulturen unterscheiden.

Im Laufe ihrer Geschichte entwickelten Menschen Methoden zur Veränderung des Genoms, indem sie bestimmte Tierarten domestiziert sowie Pflanzen und Tiere zu Kulturpflanzen und Nutztieren mit vorteilhaften Eigenschaften züchteten, um ihre eigenen Lebensgrundlagen und die ihrer Gemeinschaft zu verbessern. Seit den 1970er Jahren machten die Fortschritte beim Verständnis der Erbmechanismen und ihrer Grundlage, der Molekulargenetik, eine gezieltere Manipulation von Genen und die Entwicklung der Gentechnologie möglich.

In den vergangenen Jahren wurden neue molekulare Werkzeuge wie Zinkfinger-Nukleasen, TAL-Effektor-Nukleasen (engl. *Transcription activator-like effector nucleases*, TALENs) und CRISPR-Cas9 entwickelt, die es nun erlauben, Gene gezielt zu verändern, und zwar durch ein Verfahren, das gemeinhin mit der Bearbeitung von Text verglichen und daher Gen- oder Genom-Editierung genannt wird<sup>6</sup>. Die jüngste Technologie – CRISPR-Cas9 – revolutioniert die Gentechnik in rasantem Tempo und ist auf jede Zelle und jeden Organismus anwendbar, auch jenseits der klassischen Modellorganismen wie der Fruchtfliege *D. melanogaster*, dem Fadenwurm *C. elegans* oder der Maus *M. musculus*. Sie ist vielseitiger, präziser, einfacher, schneller, aber auch kostengünstiger als bisherige Technologien und erweitert die Bandbreite der möglichen Experimente erheblich. Infolgedessen wird die Technologie inzwischen in unzähligen Labors auf der ganzen Welt erfolgreich eingesetzt.<sup>7</sup>

In der MPG führen viele Forschungsteams der 33 Max-Planck-Institute innerhalb der Biologisch-Medizinischen Sektion die Genom-Editierung in einer Vielzahl von Zellarten und Lebewesen aller Organismenreiche durch, insbesondere mit CRISPR-Cas9. Gemäß einer Umfrage unter den Max-Planck-Instituten wird diese Technologie allgemein als eine große Chance für schnellere Fortschritte in der

Grundlagenforschung angesehen. Nachfolgend werden Beispiele für aktuelle Veröffentlichungen auf Basis von CRISPR-Cas9 gezeigt, um diese Fortschritte an verschiedenen experimentellen Modellen zu veranschaulichen (Kasten 1–3). Wissenschaftler der MPG brachten potenzielle ethische, rechtliche und gesellschaftliche Fragen auf, die während der Beratungen der Arbeitsgruppe des Ethikrates behandelt wurden.

Genom-Editierung mit CRISPR-Cas9 wird derzeit in den Medien nicht nur als revolutionäres Forschungswerkzeug dargestellt, sondern es werden gleichzeitig große Hoffnungen geweckt, zum Beispiel auf Heilung genetischer Störungen durch direkten Eingriff in die menschliche Keimbahn. Während einiges davon aufgrund bahnbrechender Forschungsarbeiten wie der kürzlich veröffentlichten CRISPR-Cas9-vermittelten Genom-Editierung zur Untersuchung der Genfunktion in der menschlichen Embryogenese<sup>8</sup> gerechtfertigt erscheint, haben Wissenschaftler bereits 2015 begonnen, einen intensiven Diskurs über aufkommende ethische, rechtliche und gesellschaftliche Fragen zu führen. Dies scheint notwendig, da die Genom-Editierung in großer Geschwindigkeit neue Wege zur gezielten Veränderung von Genomen ebnet.

Die MPG möchte sich als prominente Organisation der Grundlagenforschung in diesen Diskurs einbringen, ihren eigenen Standpunkt in Bezug auf die Nutzung der Genom-Editierung für die Grundlagenforschung erläutern und auf die Notwendigkeit hinweisen, ethische, rechtliche und gesellschaftliche Fragen der Genomforschung unter Einsatz hocheffizienter Werkzeuge wie der CRISPR-Cas9-Technologie zu diskutieren und neu zu gestalten. Es ist dringend erforderlich, nicht nur mit anderen Akteuren der Wissenschaft, sondern auch mit der breiten Öffentlichkeit in den Dialog zu treten, um die Vorteile und Risiken der Genom-Editierung in verschiedenen Anwendungsbereichen zu bewerten. Die anstehende Aufgabe besteht darin, zu einem solchen Diskurs durch mehr Wissen über die Technologie selbst und ihre Risiken beizutragen, eine faktengestützte Politikberatung zu ermöglichen und sich mit Eingriffen ins Genom verbundenen Werten, den damit verbundenen Interessen und Zukunftsvisionen auseinanderzusetzen. Es lohnt sich, in diesem Zusammenhang auf den *Nuffield Council on Bioethics* hinzuweisen, der in seiner Veröffentlichung über

<sup>4</sup> National Academies of Sciences, National Academy of Medicine, National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Committee on Human Genome Editing. *Human Genome Editing: Science, Ethics, and Governance* (2017). <https://www.nap.edu/catalog/24623/human-genome-editing-science-ethics-and-governance> (letzter Zugriff 28. August 2017).

<sup>5</sup> Nuffield Council on Bioethics. *Genome editing: An ethical review* (2016). <http://nuffieldbioethics.org/project/genome-editing/ethical-review-published-september-2016> (letzter Zugriff 28. August 2017).

<sup>6</sup> Nuffield Council on Bioethics (2016) *Genome editing: An ethical review*; Vgl. S. 20: „(...) Allerdings scheint es, dass die Metapher [die sogenannte Genom-Editierung] tief verwurzelt ist. Dazu trägt auch die Vertrautheit, die Ergiebigkeit und die scheinbare Leichtigkeit bei, mit der die Metapher erweitert werden kann. Die Gefahr der Metapher liegt nicht darin, dass es sich um eine Metapher handelt, und damit um eine nicht reduzierbare Art, sich auf komplexe Realitäten zu beziehen; sie liegt vielmehr in der Möglichkeit, dass die Metapher entweder bedeutende ethische Fragen durch Euphemismus verbergen oder durch Überstrapazieren der Analogie in die Irre führen könnte“. <http://nuffieldbioethics.org/project/genome-editing/ethical-review-published-september-2016> (letzter Zugriff 1. September 2017).

<sup>7</sup> Doudna, J. A. & Charpentier, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 346, 1258096 (2014). DOI: 10.1126/science.1258096.

Wang, F. & Qi, L. S. Applications of CRISPR Genome Engineering in Cell Biology. *Trends Cell Biol.* 26, 875–888 (2016). DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2016.08.004>.

<sup>8</sup> Fogarty, N.M. E., McCarthy, A., Snijders, K.E., Powell, B.E., Kubikova, N., Blakeley, P., Leo, R., Elder, K., Wamaitha, S.E., Kim, D., Maciulyte, V., Kleinjung, J., Kim, J.-S., Wells, D., Vallier, L., Bertrero, A., Turner, J.M.A. & Niakan, K.K. Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis *Nature* 550, 67–73 (2017). doi:10.1038/nature24033.



ethische Herausforderungen der Genom-Editierung<sup>9</sup> vier Gründe nennt, warum es zwingend notwendig ist, sich mit den ethischen Fragen der Genom-Editierung zu befassen:

- Genom-Editierung stellt die geltenden normativen Systeme in Frage;
- eine größere Anzahl von Nutzern, auch außerhalb traditioneller institutioneller Umgebungen und akademischer Gemeinschaften; daher stellt die CRISPR-Cas/Genom-Editierung besondere Herausforderungen an die Frage, wie ethische Reflexion und Governance Systeme effektiv in die Nutzung von Technologien eingreifen können;
- Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit von Forschung und Innovation im Vergleich zum Entwicklungstempo angrenzender Systeme, einschließlich normativer Systeme (z. B. Änderungen der Gesetze, der institutionellen Strukturen, der Richtlinien und Verfahren sowie der Entwicklung eines breiten Konsens über moralische Werte), können konzeptionelle Inkonsistenzen verschärfen, die Angst steigern und Misstrauen (zwischen verschiedenen Interessengruppen) verursachen;
- CRISPR-Cas als Wegbereiter der zukünftigen synthetischen Biologie könnte etablierte Arten-Spezifikationen durchbrechen (z. B. durch die Möglichkeit der Schaffung synthetischer Gene oder analoger Transgene, komplexer synthetischer organischer Komponenten oder sogar von Organismen).

Das hier vorliegende Diskussionspapier wurde durch Beiträge einer Arbeitsgruppe des MPG-Ethikrates und des Ethikrates selbst initiiert: Emmanuelle Charpentier und Christina Gross führen ein in die Genom-Editierungstechnologien und beleuchten insbesondere die Leistungsfähigkeit von CRISPR-Cas9. Detlef Weigel weist in einem Kapitel über die Genom-Editierung bei Pflanzen auf neue Möglichkeiten für die Pflanzenforschung und Nutzpflanzenzüchtung hin und betont, wie wichtig es ist, die biologischen Prozesse hinter dieser Technologie zu verstehen, um die laufende Diskussion über regulatorische Aspekte zu verstehen und voranzubringen. Durch den sogenannten Gene Drive (engl. für *Gen-Antrieb*), gentechnisch veränderte Viren und deren mögliche Freisetzung in die Umwelt werden von Guy Reeves mit der Absicht

erläutert, zwischen verschiedenen Konzepten und ihren möglichen Anwendungen zu unterscheiden. Genom-Editierung in der Stammzellforschung sowie labortechnische Verfahren, mit denen das Verständnis biologischer Prozesse verbessert werden kann, werden von Hans R. Schöler und Thomas Rauen vorgestellt. Stefan Mundlos und Hans Schöler diskutieren im Anschluss neue Wege der Forschung und Therapieentwicklung am Menschen. Die derzeitigen rechtlichen Rahmenbedingungen der Genom-Editierung ist Thema eines von Silja Vöneky verfassten Kapitels. Schließlich werden die Ethik der Genom-Editierung und die damit verbundenen gesellschaftlichen Möglichkeiten und Herausforderungen von Klaus Tanner und Christiane Walch-Solimena erörtert.

Die Autoren sind sich bewusst, dass viele Fragen zur Genom-Editierung derzeit ungeklärt sind und mehr Zeit und Überlegungen erfordern, um vollständig analysiert zu werden. Im Interesse der Transparenz und eines allgemeinen öffentlichen Diskurses über neu entstehende Forschungsgebiete zielt das vorliegende Diskussionspapier darauf ab, diese Fragen in den weiteren Kontext von Recht, Ethik und Gesellschaft zu stellen. Die Debatte, insbesondere auf einem dieser Gebiete, nämlich der erblichen Genom-Editierung beim Menschen, hat sich seit November 2018 drastisch verschärft, als He Jiankui aus China die Geburt von Zwillingen bekanntgab, deren Genome er mit CRISPR-Cas9 verändert hatte, um AIDS-Resistenz zu erzeugen.

In einer kürzlich in *Nature*<sup>10</sup> erschienenen Veröffentlichung forderte eine prominente Gruppe von 18 Wissenschaftlern und Bioethikern ein weltweites Moratorium für die Einbringung vererbbarer Veränderungen in die DNA-Sequenz (in menschliche Spermien, Eier oder Embryonen), um gentechnisch veränderte Kinder zu erzeugen. Wir haben diese Initiative zur Kenntnis genommen, werden sie aber hier nicht kommentieren, da sie nach Abschluss der Beratungen unserer Arbeitsgruppe entstanden ist. Wir halten weitere Diskussionen über die erbliche Editierung des menschlichen Genoms für notwendig.

<sup>9</sup> Nuffield Council on Bioethics. Genome editing: An ethical review (2016). <http://nuffieldbioethics.org/project/genome-editing/ethical-review-published-september-2016> (letzter Zugriff 13. April 2018).

<sup>10</sup> Lander, E., Baylis, F., Zhang, F., Charpentier, E. et al. Adopt a moratorium on heritable genome editing. *Nature* 567, 165–168 (2019).



## 2. Entwicklung und Auswirkungen von Genome-Editierungstechnologien

Christina Gross und Emmanuelle Charpentier

Seit der Entdeckung der DNA als Vererbungsmolekül und der Aufklärung des genetischen Codes haben Wissenschaftler nach Möglichkeiten gesucht, DNA zu erzeugen und zu modifizieren, um die Funktionen von Genen und ihren Produkten zu verstehen. Die Grundlagenforschung in der Mikrobiologie statete die Wissenschaftler mit Methoden und Werkzeugen aus, wie z. B. die Polymerase-Kettenreaktion und Restriktionsenzyme zur Modifikation der DNA, die zur modernen Molekulargenetik führten und damit die Biowissenschaften revolutionierten. Gen-Targeting-Technologien, die die Modifikation der DNA an präzisen Stellen in Chromosomen von Zellen und lebenden Organismen ermöglichen, beschleunigten die biologische Forschung weiter.<sup>11</sup> Dabei wird eine homologe DNA, die ein Gen oder eine mutierte bzw. reparierte Variante davon enthält, an der gewünschten Stelle im Genom unter Ausnutzung der endogenen homologen Rekombinationsmaschine integriert. Die geringe Effizienz des Gen-Targeting schränkt jedoch seine Anwendung in vielen Zellen und Organismen ein. Die Beobachtung, dass ortsspezifische Doppelstrangbrüche in der DNA die homologe Rekombination fördern, ließ ein mögliches Verfahren zur Verbesserung dieser Technologien annehmen,<sup>12,13</sup> aber dies blieb mehrere Jahre lang kaum mehr als eine theoretische Möglichkeit, da es keine Methoden gab, um Nukleasen auf bestimmte Stellen im Genom zu richten.

Die Entwicklung programmierbarer Nukleasen vereinfachte die Modifikation von Genen erheblich und leitete die Ära der präzisen Genom-Editierung ein. Zinkfinger-Nukleasen (ZFNs)<sup>14</sup> und TAL-Effektor-Nukleasen (TALENs)<sup>15</sup> waren die ersten programmierbaren Nukleasen. Diese chimären Moleküle verschmelzen eine DNA-schneidende Nuklease-Domäne mit einer programmierbaren DNA-Bindedomäne, um auf die DNA mit hoher Genauigkeit und Effizienz gezielt einzuwirken. Durch die Steigerung der Effizienz der homologen Rekombination konnten sie die Gen-Targeting-Strategien erheblich vereinfachen und ihre Anwendung auf weitere Zelltypen und Organismen ausweiten.<sup>16</sup> Bei alleiniger Verwendung erzeugen ZFNs und TALENs Doppelstrangbrüche in der DNA, die mittels nicht-homologer Endverknüpfung durch die DNA-Reparaturmechanismen der

Wirtszelle repariert werden. Da diese Strategie kleine Insertionen (Einschübe), Deletionen (Löschungen) oder Punktmutationen erzeugt, die oft die Genfunktion zerstören, ermöglichten ZFNs und TALENs die schnelle Generierung von Gen-Knock-outs in verschiedenen Zellen und Organismen.

Trotz ihrer Genauigkeit und Effizienz haben ZFNs und TALENs den erheblichen Nachteil, dass die Spezifität durch ihre Aminosäuresequenz kodiert wird, so dass diese für jedes DNA-Ziel neu konstruiert werden müssen. Die Forschung an dem bakteriellen, RNA-geleiteten CRISPR-Cas (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR-associated*), einem adaptiven Immunsystem, das bewegliche genetische Elemente wie Bakteriophagen und Plasmide bekämpft, deutete auf die Existenz von RNA-geleiteten Nukleasen hin.<sup>17,18</sup> Die Entdeckung und Umrüstung von Cas9 als programmierbare, RNA-geleitete Nuklease wurde als Durchbruch in der Genom-Editierung verkündet.<sup>19</sup> Im Gegensatz zu früheren Technologien können Cas9 und andere RNA-geleitete Cas-Proteine wie Cas12a/Cpf1<sup>20,21</sup> einfach programmiert werden, um neue DNA-Sequenzen gezielt anzusteuern, indem das Enzym mit einer Guide-RNA als molekulare Sonde versehen wird, die komplementär zum gewünschten Zielort ist. Die CRISPR-Cas9-Technologie ermöglicht nicht nur die Editierung von Genen in menschlichen Zellen, Tieren und Pflanzen, sondern macht es auch möglich, mehrere Gene gleichzeitig anzusteuern. Wie bei ZFNs und TALENs schneidet Cas9 einfach die DNA; die eigentliche Veränderung der Sequenz der DNA wird durch die endogenen DNA-Reparatur- und Rekombinationsmaschinen erreicht. Eine Ausnahme bilden die neu entwickelten programmierbaren Basen-Editoren, die eine katalytisch inaktive programmierbare Nuklease (z. B. dCas9) mit einem Basen-Editor (z. B. Cytidin-Deaminase) kombinieren.<sup>22</sup> Diese Enzyme verändern direkt einzelne Nukleotide in der DNA und haben das Potenzial, krankheitserzeugende Punktmutationen zu korrigieren. Die programmierbare DNA-Bindung von dCas9 kann auch zur Steuerung der Genexpression genutzt

<sup>11</sup> Capecchi, M.R. Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. *Nat. Rev. Genet.* 6, 507–512 (2005).

<sup>12</sup> Rouet, P., Smih, F. & Jasin, M. Introduction of double-strand breaks into the genome of mouse cells by expression of a rare-cutting endonuclease. *Mol. Cell. Biol.* 14, 8096–8106 (1994).

<sup>13</sup> Rudin, N. & Haber, J.E. Efficient repair of HO-induced chromosomal breaks in *Saccharomyces cerevisiae* by recombination between flanking homologous sequences. *Mol. Cell. Biol.* 8, 3918–3928 (1988).

<sup>14</sup> Kim, Y.G., Cha, J. & Chandrasegaran, S. Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 1156–1160 (1996).

<sup>15</sup> Miller, J.C. *et al.* A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat. Biotechnol.* 29, 143–148 (2011).

<sup>16</sup> Gaj, T., Gersbach, C.A. & Barbas, C.F., III. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 31, 397–405 (2013).

<sup>17</sup> Barrangou, R. *et al.* CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315, 1709–1712 (2007).

<sup>18</sup> Deltcheva, E. *et al.* CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature* 471, 602–607 (2011).

<sup>19</sup> Jinek, M. *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337, 816–821 (2012).

<sup>20</sup> Zetsche, B. *et al.* Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. *Cell* 163, 759–771 (2015).

<sup>21</sup> Fonfara, I., Richter, H., Bratovič, M., Le Rhun, A. & Charpentier, E. The CRISPR-associated DNA-cleaving enzyme Cpf1 also processes precursor CRISPR RNA. *Nature* 532, 517–521 (2016).

<sup>22</sup> Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A. & Liu, D.R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 533, 420–424 (2016).



werden, indem dCas9 mit Hemmern oder Aktivatoren der Transkription bzw. mit DNA-(De-)Methylasen oder Histon-(De-)Acetylasen fusioniert wird.<sup>23</sup>

Aufgrund seiner Vielseitigkeit und dem einfachen Design im Vergleich zu früheren Technologien wurde das RNA-programmierbare Cas9 zügig und universell eingesetzt, um Mutationen einzuführen oder zu korrigieren, die Genexpression zu modulieren und die DNA in einer Vielzahl von Zelltypen und Organismen der drei Domänen des Lebens zu markieren.<sup>24</sup> Diese leistungsstarke Technologie hat nicht nur die biowissenschaftliche Forschung durch die Erweiterung der Genom-Editierung revolutioniert, sondern ist auch für ihre vielversprechenden

und potenziell transformativen Anwendungen in Biotechnologie, Medizin und Landwirtschaft anerkannt, die auf den folgenden Seiten erläutert und mit den unten aufgeführten Beispielen aus MPG-Forschungsprojekten veranschaulicht werden (Kasten 1–3). Natürlich wirft die Fähigkeit, Genome im Menschen und anderen Arten leicht zu editieren und zu verändern, ethische Fragen auf, die besondere Aufmerksamkeit und Diskussion innerhalb und außerhalb der wissenschaftlichen Gemeinschaft erfordern. Was wären etwa die Auswirkungen der Genom-Editierung auf die reproduktionsmedizinische Behandlung von Menschen bei der Einbringung von Veränderungen, die an zukünftige Generationen weitergegeben werden?

---

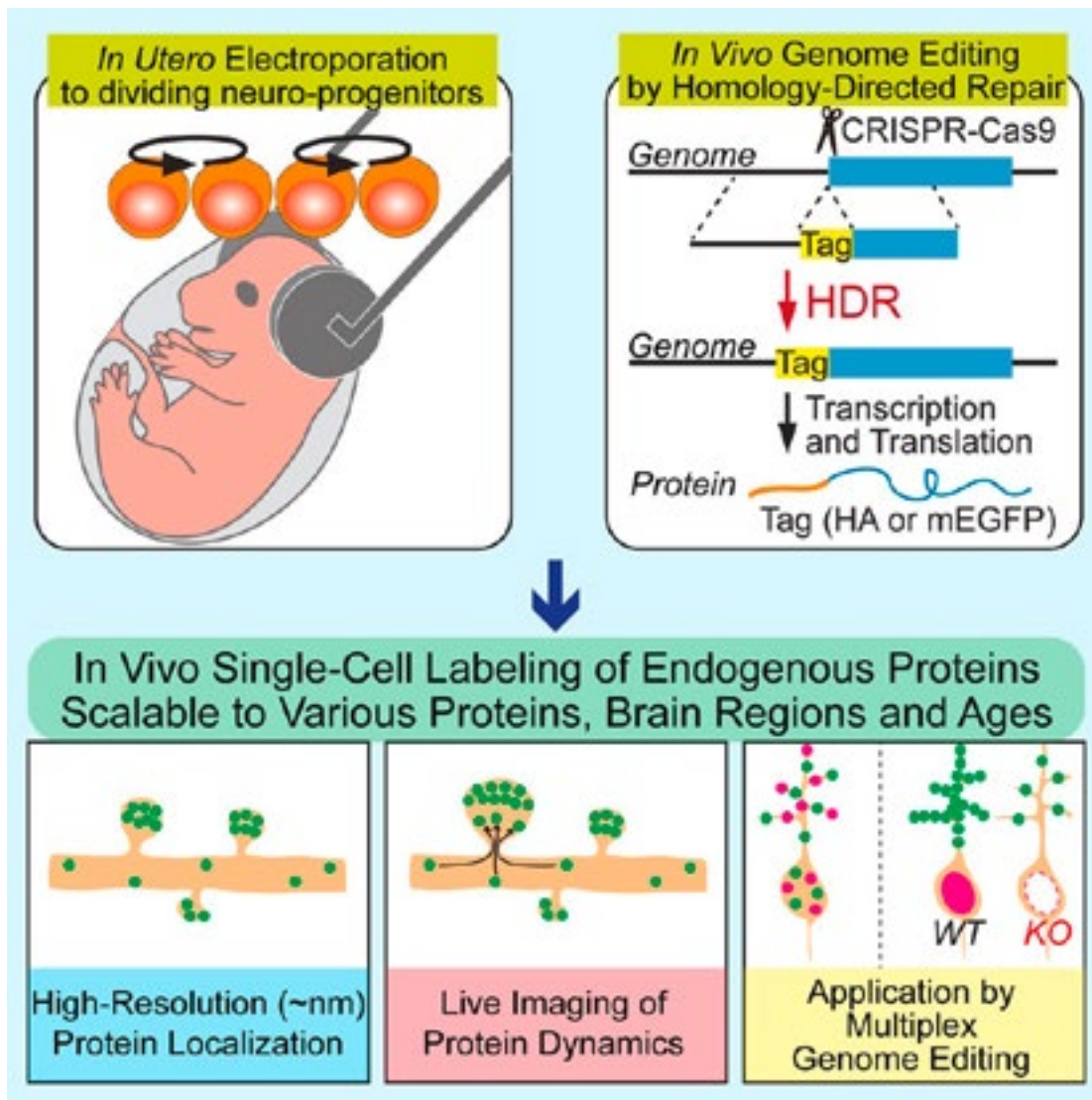
<sup>23</sup> Dominguez, A.A., Lim, W.A. & Qi, L.S. Beyond editing: repurposing CRISPR-Cas9 for precision genome regulation and interrogation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 17, 5–15 (2016).

<sup>24</sup> Doudna, J.A. & Charpentier, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 346, 1258096–1258096 (2014).



Kasten 1

## Genom-Editierung in der Grundlagenforschung: Proteinmarkierung in der Hirnentwicklung der Maus



Mikuni T et al., Cell 165:1803–1817 (2016) © 2016 Elsevier Inc.

Um kognitive Funktionen des Gehirns wie Lernen und Gedächtnis besser zu verstehen, müssen Wissenschaftler Technologien zur Beobachtung zellulärer Prozesse bei lebenden und sich verhaltenden Tieren entwickeln. Bisher gab es noch keine Techniken zur Beobachtung individueller Proteine in einzelnen Neuronen. Wissenschaftler des *Max Planck Florida Institute for Neuroscience* haben nun eine solche Methode namens SLENDER entwickelt (*single-cell labeling of endogenous proteins by CRISPR-Cas9-mediated homology-directed repair*). Dabei wird mit Hilfe der Genom-Editierung eine bestimmte genetische Markierung genau an einem Ende eines zu untersuchenden Gens eingeschleust. Werden mit diesem Verfahren sich

teilende neuronale Vorgängerzellen in Embryonen angesteuert, wird in den sich entwickelnden Neuronen ein fluoreszierendes Protein erzeugt. Dieser Ansatz ist auf verschiedene Proteine, Hirnregionen und Altersgruppen skalierbar und ermöglicht so die Beobachtung der subzellulären Lokalisation von Proteinen durch Fluoreszenzmikroskopie im lebenden Gehirn als wichtiges Maß für ihre Funktion.

**Quelle:** Mikuni, T., Nishiyama, J., Sun, Y., Kamasawa, N. & Yasuda, R. High throughput, high resolution mapping of protein localization in mammalian brain by in vivo genome editing. *Cell* 165,1803–1817 (2016). Online-Veröffentlichung 12. Mai 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.044.



### 3. Genom-Editierung bei Pflanzen

Detlef Weigel

Die Genom-Editierung bei Pflanzen wird seit über einem Jahrzehnt kommerziell genutzt, zunächst auf Basis der Oligonukleotid-gerichteten Mutagenese (ODM) und dann auf Basis von Zinkfinger-Nukleasen und TAL-Effektor-Nukleasen. Das vermutlich erste kommerzielle Anwendungsbeispiel für eine genom-editierte Nutzpflanze war SU-Raps, eine Rapsorte, die gegenüber Sulfonylharnstoff (engl. *Sufonylhurea*, SU)-Herbiziden tolerant ist. SU-Raps wird von dem US-amerikanischen Biotech-Unternehmen *Cibus* vermarktet und erhielt 2016 die Zulassung in den USA. Ein weiteres Biotech-Start-up-Unternehmen, *Calyxt*, entwickelte mehrere Kulturpflanzenarten mit unmittelbarem Nutzen für die Verbraucher, wie z. B. transfettreduzierte Sojabohnen, Raps mit weniger gesättigten Fettsäuren oder glutenreduzierten Weizen, von denen einige bereits Feldversuche durchlaufen haben. Dies ist wichtig, denn die weit verbreitete Skepsis gegenüber konventionellen transgenen Nutzpflanzen rührt auch daher, dass sie vor allem den Landwirten Vorteile bringen. Mit der Genom-Editierung soll sich dies drastisch ändern.

Bis zur Einführung der CRISPR-Cas9-Technologie setzten Unternehmen wahrscheinlich häufiger Genom-Editierung ein als Wissenschaftler, da die frühen Methoden aufwändig und teuer waren. Wie in der biomedizinischen Grundlagenforschung hat die Genom-Editierung mit CRISPR-Cas9 die Community der Pflanzenwissenschaftler im Sturm erobert. Sie ermöglicht die schnelle Erzeugung von Einzel- und Mehrfachmutanten in unterschiedlichem genetischen Hintergrund und macht Nicht-Modellorganismen, einschließlich polyploider (solche mit mehreren Sätzen nahezu identischer Chromosomen), für die Grundlagenforschung viel leichter zugänglich. Darüber hinaus stellen Feldversuche eine wichtige Perspektive dar, da die durch Genom-Editierung einführbaren Mutationen physiologisch relevanter sein können als Transgene. Dies kann helfen, den Anpassungswert (engl. *fitness value*) verschiedener Gene und Stoffwechselwege in der realen Welt zu beurteilen. Es wird jedoch sehr stark von den rechtlichen Rahmenbedingungen abhängen, ob Feldversuche problemlos möglich sind.

Ähnlich wie im biomedizinischen Bereich haben alle großen Akteure in der Saatgutindustrie die lizenzierte Technologie von akademischen Institutionen erworben, was das Potenzial widerspiegelt, das die Industrie in der Technologie sieht.

Ein Hauptgrund für die Begeisterung über die Genom-Editierung bei Pflanzen ist, dass viele wünschenswerte Eigenschaften, die während der Domestizierung und Zucht ausgewählt wurden, auf Knockout-Mutationen zurückzuführen sind, wohl die am einfachsten herzustellenden Mutationen und auch diejenigen, die mit geringster Wahrscheinlichkeit auf regulatorische Hürden stoßen werden. Solche Varianten können nun schnell in die Genome vieler verschiedener Arten und Sorten

eingebraucht werden. Darüber hinaus ist oft auch der Ersatz von Nutzpflanzengenen durch die homologen Gene von wildwachsenden verwandten Arten wünschenswert.

Die Genom-Editierung kann auch dazu beitragen, die genetische Vielfalt in Nutzpflanzen zu erhalten, da es viel einfacher und schneller ist, eine wünschenswerte Mutation durch Genom-Editierung in verschiedene Sorten einzubringen als durch konventionelle Kreuzung. Ein weiterer Vorteil ist, dass man viel schneller erkennen kann, ob eine potenziell vorteilhafte Mutation bei verschiedenen Sorten den gleichen positiven Effekt hat.

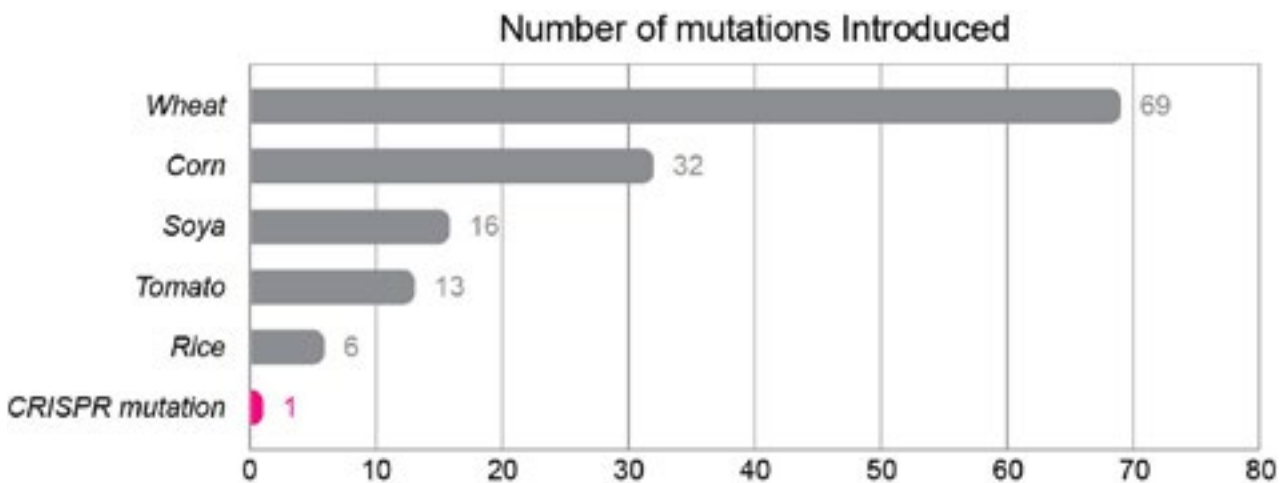
Im Gegensatz zu menschlichen Zellen wurden bei der Genom-Editierung in Pflanzen zur Expression der Genom-Editierungsmaschinen wie TALENs oder Cas9 und ihrer Guide-RNAs typischerweise Transgene verwendet. Dies führt auch dann zu gewissen Einschränkungen, wenn die *Richtlinie 2001/18/EG* über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt dahingehend geändert wird, dass gentechnisch veränderte Pflanzen mit geringfügigen Änderungen davon ausgenommen werden oder einem niedrigeren Regulierungsgrad unterliegen als herkömmliche genetisch veränderte Organismen (GVO). Eine erste Voraussetzung dafür, dass solche genom-editierten Pflanzen nicht unter den gleichen regulatorischen Rahmen wie konventionelle GMO fallen, wäre die Entfernung der Transgene durch Kreuzung. Dies ist zwar prinzipiell nicht schwierig, aber der Nachweis, dass es keine fremden DNA-Sequenzen mehr im Genom gibt, ist nicht trivial. Aus diesem Grund verfolgen einige der großen Unternehmen transgenfreie Ansätze, bei denen Cas9-Protein-Guide-RNA-Komplexe *in vitro* produziert und dann direkt in Pflanzenzellen eingeschleust werden (der Standardansatz in biomedizinischen Anwendungen). Dieser Ansatz erfordert jedoch ein wesentlich anspruchsvolleres technologisches Know-how. Im Falle einer Änderung der *Richtlinie 2001/18/EG* ist es wichtig zu prüfen, ob sich die regulatorischen Hürden für genom-editierte Pflanzen, die auf dem transgenen Weg gewonnen werden, von denen unterscheiden sollten, die durch die direkte Einschleusung von Protein/RNA-Komplexen erzeugt werden. Solche Unterschiede werden sich auf die Nutzung durch Grundlagenforscher (z. B. Feldversuche) und kleinere Züchtungsunternehmen auswirken, die sich die für die Zulassung konventioneller transgener Pflanzen erforderlichen Investitionen nicht ohne weiteres leisten können.

Punktmutationen, die durch die Genom-Editierung über CRISPR-Cas9 eingebracht werden, wie z. B. Austausch (Substitution), Entfernen (Deletion) oder Einschub (Insertion) einzelner Basenpaare, sind bezüglich der Veränderung der DNA-Sequenz den natürlichen, spontanen Mutationen oft sehr ähnlich. Mutationen, die natürlich in einer Sorte vorkommen, können durch Genom-Editierung in einer anderen Sorte wiederhergestellt werden, und das ist sowohl für die Grundlagenforschung



als auch für die Nutzpflanzenzüchtung von Interesse. Die Rate solcher spontanen Mutationen ist überraschend hoch (*Abbildung 1*); in einem Genom so groß wie das eines Menschen, treten viele Dutzend spontane Mutationen pro Generation auf. (Dabei ist zu beachten, dass viele Pflanzen Genome haben, die wesentlich größer sind als das des Menschen). Ähnlich wie bei spontanen Mutationen schädigt bzw. schneidet CRISPR-Cas9 lediglich die DNA; die zelleigene Proteinmaschinerie repariert dann die Schäden, die zu einer Mutation führen können

oder auch nicht. Aufgrund der ohnehin hohen Rate spontaner Mutationen würde die Einführung einzelner Mutationen, insbesondere von Punktmutationen, aber auch der Chromosomenumlagerungen (engl. *chromosome rearrangements*) über CRISPR-Cas9 die Gesamtmutationsrate kaum erhöhen, so dass sie sich stark von der klassischen, ungerichteten, genomweiten Mutagenese durch mutagene Substanzen oder Bestrahlung unterscheidet, die typischerweise Hunderte, wenn nicht Tausende von Mutationen auf einmal einbringt.



**Abbildung 1: Geschätzte Anzahl der natürlichen spontanen Mutationen, die in jeder einzelnen Pflanze auftreten (grau), im Vergleich zu einer hypothetischen einzelnen Base, die mittels Gen-Editierung mit CRISPR eingebracht wurde (rosa).**

Es ist wichtig zu beachten, dass die angegebene Anzahl spontaner Mutationen bei jedem Individuum in jeder Generation auftritt, während die CRISPR-Mutation nur einmal bei der Entwicklung einer Handels- oder Forschungsvariante eingebracht wird.

Da der derzeitige Rechtsrahmen für gentechnisch veränderte Pflanzen in der EU (*Richtlinie 2001/18/EG*) keine gezielte Genom-Editierung voraussehen konnte, wirkt die Formulierung im Hinblick auf genom-editierte Pflanzen mehrdeutig. Es kann vernünftigerweise argumentiert werden, dass genom-editierte Pflanzen (und andere Organismen) nicht unter die Richtlinie fallen, auch wenn der Europäische Gerichtshof (EuGH) anders entschieden hat. In der Richtlinie heißt es, dass der Begriff genetisch veränderter Organismus (GVO) mit Ausnahme des Menschen einen Organismus bezeichnet, dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist.<sup>25</sup> Wie bereits erwähnt, sind Punktmutationen sowie strukturelle Chromosomenumlagerungen, die durch gezielte Genom-Editierung eingebracht werden, hinsichtlich der Veränderung der DNA-Sequenz in der Regel nicht von spontanen Mutationen zu unterscheiden. Es erscheint ratsam, die *Richtlinie 2001/18/EG* zu aktualisieren, um entweder genom-editierte Pflanzen von den Vorschriften der Richtlinie

auszunehmen, oder zumindest eine im Vergleich zu konventionellen GVO niedrigere Schwelle für die Freisetzung genom-edierter Pflanzen einzuführen.

Schließlich muss die Frage, ob die Regulierung genom-edierter Pflanzen verfahrens- oder produktbezogen erfolgen soll, sorgfältig behandelt werden. Wir befürworten vollständige Transparenz, und dass die Zulassung von genom-edierten Varianten die Offenlegung der vorgenommenen genetischen Veränderungen voraussetzt, einschließlich der Gründe für diese Änderungen und der Methoden, wie das Hintergrundwissen erlangt wurde. Unserer Meinung nach ist dies wichtig, um zu verhindern, dass genetisches Wissen, das unter Verstoß gegen das Nagoya-Protokoll<sup>26</sup> erworben wurde, illegal missbraucht wird.

<sup>25</sup> Art.3 Nr.2 RL 2001/18/EG: In der Richtlinie heißt es, der Begriff genetisch veränderter Organismus (GVO) bezeichne einen „Organismus mit Ausnahme des Menschen, dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist.“

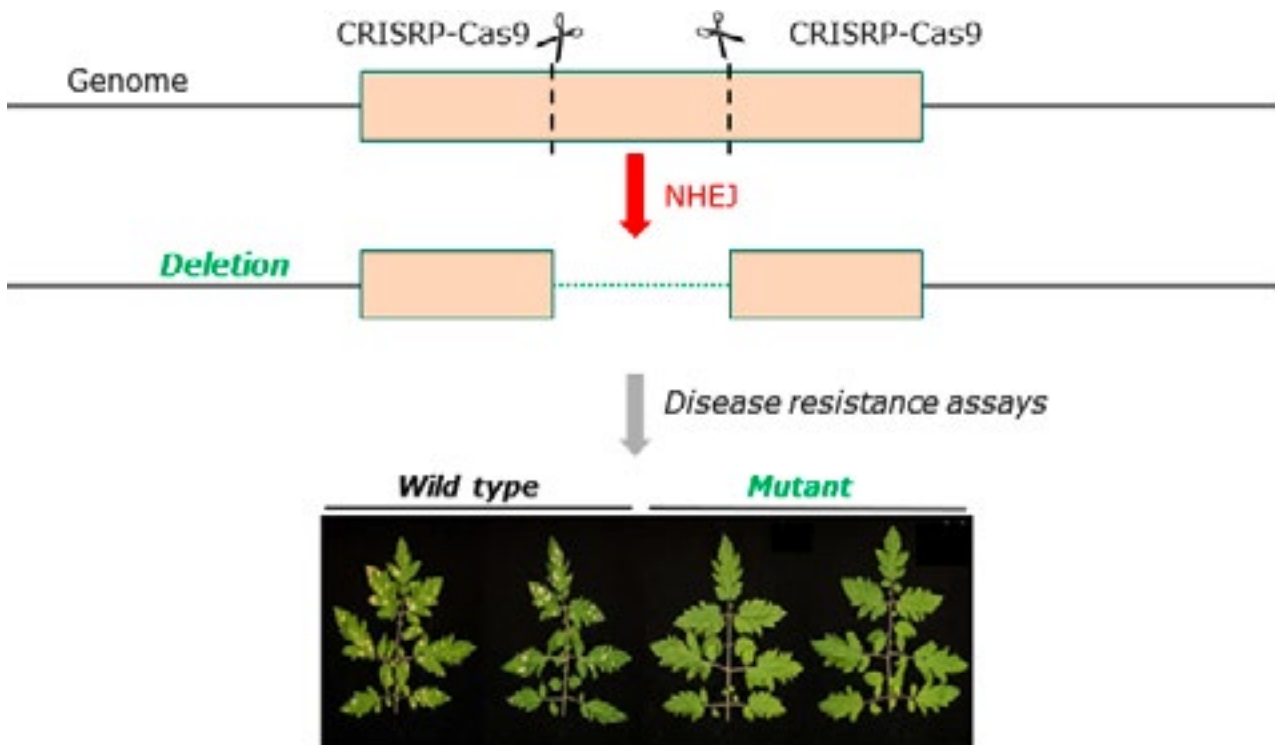
<sup>26</sup> Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of Benefits Arising from their Utilization to the Convention on Biological Diversity.





Kasten 2

## Genome-Editierung bei Pflanzen: Transgenfreie, gegen Mehltau resistente Tomate



© Foto: Scientific Reports ISSN 2045-2322 (online)

Angesichts der steigenden Nachfrage nach Lebensmitteln einer wachsenden Weltbevölkerung und sich ändernder Wachstumsbedingungen für Nutzpflanzen im Zeitalter des Klimawandels besteht die Notwendigkeit, neue Pflanzenarten mit nützlichen Eigenschaften zu entwickeln. Wünschenswert sind höhere Erträge, bessere Krankheitsresistenz oder verbesserte Salz- und Dürretoleranz. Wissenschaftler am *Sainsbury Laboratory* (UK), am *Institute of Digital Agriculture* (China) und am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie erzeugten mit Hilfe der Genom-Editierung auf Basis von CRISPR-Cas9 in weniger als zehn Monaten eine gegen Mehltau resistente Tomatensorte. Dazu wurde das für die Anfälligkeit gegen den Pilzerreger verantwortliche Gen der Wildform zerstört (engl. *deleted*). Die Komponenten des CRISPR-Cas9-Systems wurden in der nächsten Pflanzengeneration durch Segregation

entfernt, so dass nicht-transgene Pflanzen mit einer Deletion zurückblieben, wie sie auch in der Natur vorkommen könnten. Das Verfahren funktionierte sehr präzise, da an unerwünschten Stellen des Genoms keine Mutationen, sogenannte Off-Target-Effekte, festgestellt wurden. Diese Technologie hat großes Potenzial, die Pflanzenzüchtung zu revolutionieren, da Mutationen mit relativ geringem Aufwand und Investitionen in weniger als einem Jahr in andere Tomatensorten eingebracht werden können.

**Quelle:** Nekrasov, V., Wang, C., Win, J., Lanz, C., Weigel, D. & Kamoun, S. Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Scientific Reports* 7, 482 (2017). Online-Veröffentlichung 28. März 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-00578-x.



## 4. Gene Drive und Vorüberlegungen zur Freisetzung in die Umwelt

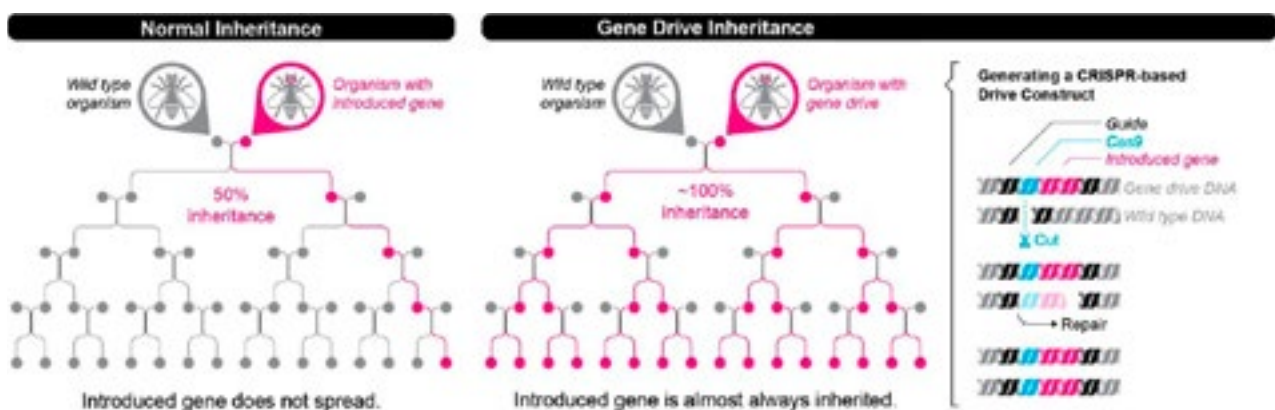
Guy Reeves

Gene Drive ist eine Reihe von experimentellen Techniken, die darauf abzielen, fremde Gene in das Genom von Wildpopulationen einzuschleusen. Obwohl die Idee des Gene Drive schon vor den 1970er<sup>27</sup> Jahren entwickelt wurde, gibt es bis heute noch keine praktische Anwendung dieser Ansätze in der Umwelt. Die hauptsächlich diskutierte Verwendung von Gene Drive soll die Fähigkeit von Wildtierarten einschränken, gefährliche Krankheiten zu verbreiten. Ein häufig verwendetes Beispiel ist die genetische Veränderung einer bestimmten Mückenart, die dadurch ihre Fähigkeit verliert, die menschliche Malaria zu verbreiten. Weitere Anwendungen im Nutzpflanzen- und Umweltschutz wurden ebenfalls als Einsatzgebiete für Gene Drive vorgeschlagen.

Der ursprüngliche Ansatz für Gene-Drive-Anwendungen bestand darin, gezielt bestimmte genetische Veränderungen in die Zielpopulationen/Arten einzuschleusen, die Populationsgröße und Dynamik dieser Zielpopulationen/Arten aber unverändert zu lassen. Der besondere Wert eines solchen Ansatzes besteht darin, dass sich die entsprechende Veränderung, welche die Kontrolle von Krankheiten bewirkt, selbsttätig in die Zielpopulation/Art verbreitet. Diese Eigenschaft könnte für die Bekämpfung von tropischen Krankheiten von enormer Bedeutung sein, selbst dann, wenn andere wirksame Maßnahmen zur Krankheitsbekämpfung zur Verfügung stehen. Während

beispielsweise Prophylaxemittel, Impfstoffe, Insektizide und Moskitonetze im Kampf gegen Malaria wirksam sind, erfordern sie dennoch alle einen nachhaltigen Ressourceneinsatz und Koordinationsaufwand, im Gegensatz zu den vorgeschlagenen Gene-Drive-Systemen.

Wie in *Abbildung 2* dargestellt, wird der Gene Drive durch die Freisetzung von Individuen mit einem oder mehreren in ihren Chromosomen integrierten Gene-Drive-Konstrukten initiiert. Nach Paarung von freigesetzten und wilden Individuen integrieren diese Konstrukte auch in die vom wildlebenden Elternteil stammenden Chromosomen, und die Häufigkeit der veränderten Chromosomen in nachfolgenden Generationen steigt daher überproportional stark an. Kleine Unterschiede in der technischen Ausgestaltung ermöglichen die Herstellung von verschiedenartigen Drive-Konstrukten. Diese Vielfalt von möglichen Konstrukten, als auch die verschiedenartigen Eigenschaften der Zielpopulationen/Arten, können zu großen Unterschieden in den Schlüsseleigenschaften und Auswirkungen eines Drives führen. Im Allgemeinen können die Drive-Konstrukte jedoch im Laufe mehrerer Generationen theoretisch ihre Häufigkeit so weit erhöhen, dass alle Individuen in den Zielpopulationen diese Konstrukte besitzen (dies könnte möglicherweise in weniger als fünf Generationen geschehen, obwohl es in der Regel länger dauert).



**Abbildung 2: Wie wirkt Gene Drive?**

Ein eingeführtes Gen (**rosa**) ohne Gene-Drive-Eigenschaften wird nach den genetischen Gesetzmäßigkeiten nur an einen kleinen Teil der Nachkommen vererbt (linke Spalte). Ein eingeführtes Gen mit Gene-Drive-Eigenschaften wird jedoch an die Mehrheit der überlebenden Nachkommen weitergegeben (mittlere Spalte). Dies ist auf einen ausgefeilten Mechanismus zurückzuführen, der die Weitergabe des eingeführten Gene-Drive-Konstrukts an die nächste Generation begünstigt. Über Generationen hinweg kann dies dazu führen, dass alle Chromosomen in einer Population das eingeführte Gen enthalten.

Wenn der Gene Drive mit CRISPR-Editierung erzeugt wird, kann dies durch die Umwandlung von heterozygoten Individuen (ein Drive-Konstrukt pro Chromosomenpaar) in Homozygote (Kopien des Drive-Konstrukts auf beiden Chromosomen) erreicht werden. Eine Veranschaulichung dieses „Cut-and-Paste“-Ansatzes, der in einem CRISPR-Drive-Konstrukt angewendet werden kann, ist in der rechten Spalte dargestellt.

<sup>27</sup> Curtis, C.F. Possible Use of Translocations to Fix Desirable Genes in Insect Pest Populations. *Nature* 218, 368–369 (1968).



Im Hinblick auf die unterschiedliche relative Anzahl von Individuen, die freigesetzt werden müssen, um einen Gene Drive in einer Population bestimmter Größe erfolgreich zu initialisieren, lassen sich verschiedene Drive-Systeme unterscheiden:

**Gene Drives mit hohem Schwellenwert:** Eine große Anzahl von Individuen, oft über mehrere Generationen hinweg, muss freigesetzt werden, um einen bestimmten Schwellenwert in der wildlebenden Zielpopulation zu erreichen, z. B. 50%, ab dem die Häufigkeit der Drive-Konstrukte weiter zunimmt. Das bedeutet, dass die Initialisierung der Freisetzungen ressourcenintensiver ist. Dafür ist aber die Wahrscheinlichkeit, dass sich der Drive auf andere Populationen oder kreuzungsfähige Arten ausbreitet (oder versehentlich initialisiert wird), viel geringer.

**Gene Drives mit niedrigem Schwellenwert:** Nur eine geringe Anzahl von Individuen muss freigesetzt werden, um den Drive-Prozess zu starten, im theoretischen Extremfall kann ein einzelnes Individuum dafür ausreichend sein. Der Drive kann in einem solchen Fall auch durch versehentliche Freisetzung einzelner Gene-Drive-Organismen initiiert werden. Diese Drive-Ansätze haben das Potenzial, sich in andere Nichtziel-Populationen zu verbreiten, sowie auf kreuzungsfähige Arten oder Unterarten überzuspringen. Es wurden daher verschiedene Mechanismen vorgeschlagen, um die geografische und taxonomische Verbreitung solcher Drive-Elemente zu begrenzen. Sollten sich diese Mechanismen als unwirksam erweisen, könnten sehr viele Individuen in weiten geografischen Gebieten betroffen sein. Dadurch würde einerseits der Aufwand zur Überwachung derartiger Veränderungen schwieriger werden und andererseits das Potenzial für die Entwicklung einer genetischen Resistenz gegen den Drive-Mechanismus oder gegen die krankheitsbekämpfende Wirkung steigen.

Darüber hinaus gibt es die Kategorie im Sinne der „geschwächten Gene-Drive-Systeme“, die fortgesetzte regelmäßige Freisetzungen erfordern, um eine spontane Rückkehr der Population zu ihrem ursprünglichen wildtypischen Zustand zu vermeiden<sup>28</sup>. Während sie nicht vollständig selbstverbreitend sind, wurden geschwächte Gene Drives als reversibel und weniger gefährliche Ansätze für die Erprobung dieser Technologie vorgeschlagen.

Bereits vor dem Aufkommen der CRISPR-Cas9-Technologie wurden Gene Drives mittels anderer Verfahren (RNA-Interferenz, ZFNs, TALENs und Meganukleasen) entwickelt. Diese Arbeit wurde vor allem im Rahmen der Malariabekämpfung und hauptsächlich von Regierungen und gemeinnützigen Stiftungen finanziert. Es wurden auch eingehende Überlegungen zu möglichen Problemen bei der Anwendung der

Gene-Drive-Technologie angestellt, die sich unter anderem daraus ergeben, dass es bei dieser Technologie wohl keine realistische Möglichkeit zum persönlichen „opt-out“ gibt. Während einzelne Mitglieder einer lokalen Bevölkerung in der Regel wählen können, sich nicht an Impfungen oder medikamentösen Therapien zu beteiligen, wäre dies nicht der Fall, wenn Gene-Drive-Konstrukte bei einer dort vorkommenden Tierart eingebracht würden. Die fehlende Widerspruchsmöglichkeit kann auch im internationalen Rahmen bei niedrige-schwelligigen Gene-Drive-Systemen gegeben sein, bei denen eine Ausbreitung über Ländergrenzen hinweg eine realistische Möglichkeit darstellt. Bemerkenswert ist, dass sich ein Großteil der neueren Arbeiten, die CRISPR-Cas9 nutzen, auf die weniger gut vorhersehbaren Systeme konzentriert, die bei niedrigen Schwellenwerten einen Drive initiieren. Darüber hinaus sind bei derartigen Ansätzen die Techniken, die sich auf Reversibilität berufen, anscheinend so konzipiert, dass sie transgene Gene-Drive-Elemente in der Wildpopulation zurücklassen (z. B. CRISPR-Cas9-Guide-RNA-Konstrukte<sup>29</sup>).

Im Einklang mit vielen anderen Autoren sind wir der Meinung, dass die Gene-Drive-Technologie biologisch und ethisch höchst komplex ist. Diese Technologie hat das Potenzial, zu nachhaltigen Lösungen beizutragen, solange es keine überzeugenden Alternativen gibt. Wir stellen jedoch auch fest, dass die öffentliche Meinung über diese experimentelle Technologie negativ beeinflusst werden kann, wenn der Eindruck entsteht, dass die konsequente Anwendung anderer verfügbarer, aber weniger avantgardistischer Verfahren unterlassen wird.

### **Vorüberlegungen zu bewusst in die Umwelt freigesetzten gentechnisch veränderten Viren**

In diesem Abschnitt werden nur gentechnisch veränderte Viren betrachtet, die für die beabsichtigte Anwendung bewusst in die Umwelt freigesetzt werden müssen. Gentechnisch veränderte Viren, die für die direkte Behandlung von Individuen in klinischen oder tierärztlichen Einrichtungen entwickelt wurden, werden in anderen Abschnitten dieses Dokuments behandelt. Während hier der Fokus auf Viren liegt, die CRISPR-Cas9-Komponenten exprimieren, sind ähnliche Fragestellungen für alle Arten von gentechnisch veränderten Mikroorganismen relevant, die zur Freisetzung in die Umwelt bestimmt sind (z. B. Bakterien, Pilze oder Plasmodien).

Die gentechnische Veränderung vieler Virusarten ist seit über 50 Jahren möglich, nicht zuletzt aufgrund ihrer kleinen und relativ einfachen Genome. Tatsächlich fanden schon 1993 im Vereinigten Königreich experimentelle Feldversuche mit einem gentechnisch veränderten Baculovirus statt, der eine erhöhte Pathogenität gegenüber einem für Nutzpflanzen schädlichen Insekt aufwies<sup>30</sup>. Viele vorgesehene Veränderungen für

<sup>28</sup> Gould, F. et al. A Killer-Rescue System for Self-Limiting Gene Drive of Anti-Pathogen Constructs. and most are theoretically expected to permanently spread throughout the target species' geographical range. In the near term, risk issues and technical limits of molecular methods could delay the development and use of these mechanisms. We propose a gene-drive mechanism that can be self-limiting over time and space, and is simpler to build. This mechanism involves one gene that codes for toxicity (killer). *Proc. Biol. Sci.* 275, 2823–2829 (2008).

<sup>29</sup> Min, J. et al., Daisy Quorum Drives for the Genetic Restoration of Wild Populations. and 2(2017). doi: <https://doi.org/10.1101/115618>.

<sup>30</sup> Cory, J.S. et al., Field Trial of a Genetically Improved Baculovirus Insecticide. *Nature* 370, 138–140 (1994). doi:10.1038/370138a0



den Einsatz in der Umwelt beinhalten nicht die Expression der CRISPR-Cas9-Technologie, obwohl Viren mit CRISPR-Aktivität für die Anwendung in geschlossenen Systemen im Jahr 2015 entwickelt wurden (dies ist bei keinem bekannten Virus eine natürliche Eigenschaft). Die Verwendung von CRISPR-aktivierten Viren zur Veränderung des Genoms einer anderen in der Umwelt vorkommenden Art (z. B. einer Nutzpflanze oder eines krankheitsübertragenden Insekts) ist ein

aktives Forschungsgebiet. Mögliche Anwendungen, die in Betracht gezogen werden könnten, sind artspezifische Herbizide oder Insektizide (gegen deren Resistenzen Managementmaßnahmen existieren). Auch wenn die mögliche Verwendung von gentechnisch veränderter Viren grundsätzlich Vorteile hinsichtlich Schnelligkeit und Flexibilität der Anwendung aufweist, muss die Frage der Kontrollierbarkeit der Viren in der Umwelt noch besser untersucht werden.

### Vorschläge für den Einsatz gentechnisch veränderter Viren in der Umwelt unter möglicher Einbeziehung der CRISPR-Technologie<sup>31</sup>

<i>Immunisierung wild lebender Tiere</i>	Es wurde vorgeschlagen, zum Schutz von Populationen jagbarer Wildkaninchen vor anderen Viren, die international zur Bekämpfung von Schädlingspopulationen eingeführt wurden (z. B. Kaninchenpest und Chinaseuche) gentechnisch veränderte Viren zu verwenden. Ein Feldversuch mit einem solchen Virus wurde im Jahr 2000 auf einer abgelegenen spanischen Insel durchgeführt.
<i>Insektizide Viren</i>	Wie im oben genannten Beispiel des Baculovirus werden gentechnische Veränderungen vorgenommen, um die Pathogenität von Viren gegenüber Schadinsekten zu erhöhen.
<i>Virale Paratransgenese zur Begrenzung der Fähigkeit von Wildinsekten, Krankheiten zu verbreiten</i>	Ziel ist es, ein gentechnisch verändertes symbiotisches Virus in wilde Insektenpopulationen einzuschleusen, um die Vermehrung oder Übertragung der von ihnen verbreiteten Krankheitserreger zu begrenzen. Ein mögliches Beispiel ist die Modifikation eines Virus, das Stechmücken infiziert, die Malaria verbreiten. <sup>32</sup>
<i>Verwendung von Insekten zur Verbreitung von GV-Viren, um die gentechnische Veränderung von vollentwickelten Nutzpflanzen zu bewirken.</i>	Eine US-amerikanische Regierungsbehörde startete im November 2016 ein Programm mit einer 4-jährigen Laufzeit einschließlich einer „ <i>Demonstration in einem großen Gewächshaus</i> “ zur Generierung gentechnisch veränderter Viren. <sup>33</sup> Die Nutzung von CRISPR-Cas9 wird in dem wissenschaftlichen Konzept ausdrücklich erwähnt.
<i>Bekämpfung bakterieller Krankheitserreger in der Landwirtschaft</i>	Ein US-amerikanisches Unternehmen entwickelt derzeit modifizierte Viren zur Bekämpfung eines aufkommenden Bakterienschädling an gewerblich genutzten Zitrusbäumen. <sup>34</sup> Sie stellten einen bei den US-amerikanischen Regulierungsbehörden derzeit anhängigen Antrag auf Genehmigung zur experimentellen Nutzung von rund 7 Millionen Orangenbäumen (USDA 17-044-101r).

<sup>31</sup> Allerdings erwähnt nur ein aktuelles Projekt explizit CRISPR-exprimierende Viren in der Umwelt.

<sup>32</sup> Ren, X., Hoiczyk, E. & Rasgon, J. L. Viral Paratransgenesis in the Malaria Vector *Anopheles Gambiae*. *PLOS Pathogens* 4, no. 8 (August 22, 2008). e1000135, doi:10.1371/journal.ppat.1000135 the genetic manipulation of mosquito symbiotic microorganisms, is being considered as a potential strategy to control malaria. Microorganisms associated with *Anopheles* mosquitoes could be manipulated to alter the mosquito's ability to become infected with and transmit the malaria parasites, or reduce mosquito fecundity or lifespan. We identified the first potential microorganism (*Anopheles gambiae* densovirus; AgDNV

<sup>33</sup> Insect Allies – HR001117S0002 (Archived) – Federal Business Opportunities. [https://www.fbo.gov/index?s=opportunity&mode=form&id=c1b79c54a1aa8f5990f7b4a3cc7f6576&tab=core&\\_cview=0](https://www.fbo.gov/index?s=opportunity&mode=form&id=c1b79c54a1aa8f5990f7b4a3cc7f6576&tab=core&_cview=0). (letzter Zugriff 16.07.2017).

<sup>34</sup> Ledford, H. Geneticists Enlist Engineered Virus and CRISPR to Battle Citrus Disease. *Nature News* 545, 277 (2017). doi:10.1038/545277a



## 5. Genom-Editierung (CRISPR-Cas9-System) in der Stammzellforschung

Thomas Rauen und Hans R. Schöler

Die CRISPR-Cas9-Technologie wird in großem Umfang zur Modellerzeugung menschlicher Erkrankungen in experimentellen Organismen eingesetzt und zählt heute zu den führenden molekularbiologischen Techniken in der Stammzellforschung. Die Kombination beider Technologien, iPSC (induzierter pluripotenter Stammzellen) und CRISPR-Cas9, wird nicht nur die Stammzell- und Genforschung stärken, sondern auch die individualisierte Medizin befördern.

### Die CRISPR-Cas9-Technologie und die Grundlagenforschung an Stammzellen

#### Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC)

Die Fähigkeit, Pluripotenz in somatischen Zellen zu induzieren, leitete eine neue Ära auf dem Gebiet der regenerativen Medizin ein. Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSCs), spezifisch für jeden einzelnen Patienten, könnten eine unbegrenzte Quelle für spezialisierte Zelltypen zum Ersatz von krankem oder gealtertem Gewebe bieten. Neben ihrer zukünftigen Nutzung als iPSC-basierte Zellersatztherapien eignen sich Patienten-Fibroblasten-abgeleitete iPSCs besonders gut für die *in vitro* Modellierung menschlicher Krankheiten und ersetzen bereits heute bisher verwendete experimentelle Systeme, die humangenetische Erkrankungen unter Verwendung von Überexpressionsstudien in Krebszelllinien untersuchen, fast vollständig.

Die bedeutendsten Fortschritte bei der Krankheitsmodellierung mittels patienteneigener neuronaler Zellen wurden im Bereich der neurodegenerativen Erkrankungen erzielt, da Tiermodelle diese menschlichen Erkrankungen nur bedingt widerspiegeln können. So lieferten Reinhardt et al.<sup>35</sup> mit Hilfe dopaminergener Neuronen, die aus Parkinson-Patienten abgeleiteten iPSCs differenziert wurden, nicht nur neue Einblicke in die molekularen Ursachen der Erkrankung, sondern präsentieren auch erste Vorschläge für die Entwicklung neuer Therapeutika. Dies ist jedoch nur ein Beispiel unter vielen in der Erfolgsgeschichte der Modellierung menschlicher Krankheiten mit patienteneigenen iPS-abgeleiteten Zellkulturen. Die Modellierung altersbedingter Krankheiten, wie z. B. neurodegenerativer Erkrankungen, ist mit der iPSC-Technologie jedoch nur schwierig umzusetzen. Patientenspezifische Spenderzellen verlieren

aufgrund der verjüngenden Wirkung des Reprogrammierungsprozesses ihre Alterssignatur und sind daher nur schlecht geeignet, eine spät einsetzende Krankheit zu modellieren. Infolgedessen zeigt die Modellierung altersbedingter Erkrankungen in iPSC-abgeleiteten Zelllinien häufig Phänotypen, die die Erkrankung nur unzureichend widerspiegeln.

Im Gegensatz zu iPS-abgeleiteten Neuronen bewahren induzierte Neuronen (iN – erzeugt durch einen Prozess der sogenannten direkten Umwandlung, Transdifferenzierung oder direkten Reprogrammierung von somatischen Zellen zu Neuronen) die epigenetische Alterssignatur ihrer Spenderzellen und ermöglichen so die Modellierung altersassoziierter Krankheiten<sup>36</sup>. So kann die mangelnde Zellreifung (Alterung) entweder durch die direkte Umwandlung von somatischen Zellen in induzierte Neuronen (iN) mittels gentechnisch optimierter Transkriptionsfaktoren-Cocktails oder durch genetische Modifikationen zur Wiederherstellung der altersbedingten Gen-Signatur von iPS-abgeleiteten Zellen umgangen werden. Beide Ansätze profitieren in hohem Maße von der einfachen Handhabung, der Zeit- und der Kosteneffizienz der CRISPR-Cas9-Plattform, die eine schnelle und zielgerichtete Erzeugung genetischer Modifikationen erlaubt, um so menschliche Alterungsprozesse in der Zellkulturschale nachvollziehen zu können.

Eine weitere wichtige Anwendung von CRISPR-Cas9 ist die Verwendung bei der Erzeugung isogener iPSC-Kontrollen, um die inhärente Variabilität zwischen einzelnen iPSC-Linien in ihrem Potenzial zur Differenzierung in funktionelle Zellen einer bestimmten Linie zu kompensieren. Diese Variation zwischen den Zelllinien ist unvorhersehbar und wird hauptsächlich durch genetische Hintergrundunterschiede als auch durch den Verlauf der Reprogrammierung ausgelöst<sup>37</sup>. Die Erzeugung isogener Paare von krankheitsspezifischen, genkorrigierten Zelllinien aus Patienten-iPSCs und die gezielte Insertion der krankheitsverursachenden Mutation in iPSCs gesunder Spender wurde erfolgreich eingesetzt, um die Variation des Zelllinien-hintergrunds zu kontrollieren und die Entdeckung hochauflösender Details der krankheitsverursachenden molekularen Mechanismen zu ermöglichen. Die Weiterentwicklung von Protokollen, die die Genom-Editierung direkt mit der Reprogrammierung zur schnellen Erzeugung von iPS-Zelllinien mit gezielt veränderten Genen kombinieren, würde nicht nur die Grundlagenforschung erheblich beschleunigen, sondern auch die

<sup>35</sup> Reinhardt, P., Schmid, B., Burbulla, L.F., Schondorf, D.C., Wagner, L., Glatza, M., Hoing, S., Hargus, G., Heck, S.A., Dhingra, A., Wu, G., Muller, S., Brockmann, K., Kluba, T., Maisel, M., Kruger, R., Berg, D., Tsytsyura, Y., Thiel, C.S., Psathaki, O.E. et al. Genetic correction of a LRRK2 mutation in human iPSCs links parkinsonian neurodegeneration to ERK-dependent changes in gene expression. *Cell Stem Cell* 12, 354–67 (2013).

<sup>36</sup> Mertens, J., Paquola, A.C., Ku, M., Hatch, E., Bohnke, L., Ladjevardi, S., McGrath, S., Campbell, B., Lee, H., Herdy, J. R., Goncalves, J.T., Toda, T., Kim, Y., Winkler, J., Yao, J., Hetzer, M.W. & Gage, F.H. Directly Reprogrammed Human Neurons Retain Aging-Associated Transcriptomic Signatures and Reveal Age-Related Nucleocytoplasmic Defects. *Cell Stem Cell* 17, 705–18 (2015).

<sup>37</sup> Soldner, F., Stelzer, Y., Shivalila, C.S., Abraham, B.J., Latourelle, J.C., Barrasa, M.I., Goldmann, J., Myers, R.H., Young, R.A. & Jaenisch, R. Parkinson-associated risk variant in distal enhancer of alpha-synuclein modulates target gene expression. *Nature* 533, 95–9 (2016).



Transplantationsmedizin vereinfachen, indem sie den Patienten genkorrigierte Zellen zeitnäher zur Verfügung stellen könnte<sup>38</sup>.

### iPSC-abgeleitete Organoide

Dank jüngster Fortschritte in der iPSC-Technologie ist es jetzt möglich, dreidimensionale selbstorganisierende Gewebe, sogenannte Organoide, *in vitro* zu erzeugen, die ein großes Potential für verschiedene Anwendungen in der Arzneimittel- und Krankheitsforschung haben<sup>39</sup>. In Verbindung mit der präzisen Genom-Editierung mittels CRISPR-Cas9 ermöglicht die Organoid-Technologie die Erzeugung von *In-vitro-Modellen* neurodegenerativer Erkrankungen und überwindet die Grenzen zweidimensionaler Einschichtkulturen (engl. *monolayer*). iPSC-abgeleitete multizelluläre Organoid-Systeme des menschlichen Zentralnervensystems (ZNS), die die Merkmale einer organähnlich komplexen Zytoarchitektur und -funktion zeigen, können erstmals genutzt werden, um neurodegenerative Erkrankungen über ein- und mehrfach genetische Knockouts direkt im Gewebe zu untersuchen. Auf diese Weise können sowohl Krankheitsmodelle als auch grundlagenwissenschaftliche *Funktionsverlust-* (engl. *loss-of-function*) und *Funktionsgewinn-* (engl. *gain-of-function*) Studien erstellt und vom zweidimensionalen Monolayersystem in den funktionsrelevanten 3D-Kontext übertragen werden, der ein multizelluläres, relevantes Zusammenspiel zwischen den verschiedenen neuronalen Zelltypen gewährleistet.

### Mausmodelle und CRISPR-Cas9

Das CRISPR-Cas9-System bietet erhebliche Vorteile gegenüber anderen, traditionellen, gerichteten Mutagenesemethoden, da es kürzere Bearbeitungszeiten, u. a. durch die gleichzeitige Editierung mehrerer Gene ermöglicht. Die Gen-Editierung mittels CRISPR-Cas9 ist daher ein schnell wachsender Bereich, in dem sich neue Techniken und Methoden zur Editierung von Mausgenomen entwickeln<sup>40</sup>.

Neue Mausmodelle lassen sich relativ leicht erzeugen, indem man einfach Cas9-mRNA und entweder eine oder mehrere Single-Guide-RNAs (sgRNAs) direkt in Mausembryonen injiziert, um Editierungen an spezifischen Stellen im Mausgenom zu erzeugen. Mäuse mit der / den gewünschten Mutation(en) werden vermehrt, um die Keimbahnübertragung zu bestätigen, und neue Mutationen können direkt im genetischen Hintergrund der Wahl erzeugt werden. Alternativ können Mäuse aus embryonalen Stammzellen der Maus erzeugt werden, die nach der CRISPR-Cas9-Genom-Editierung für die gewünschte Mutation ausgewählt wurden. Darüber hinaus kann die Gen-Editierung mit CRISPR-Cas9 auch Mutationen in bestimmte Organe oder Gewebe bei postnatalen

Mäusen durch lokale oder systemische Injektion von verschiedenen Cas9- und sgRNA-exprimierenden Lenti- oder Adeno-assoziierten Viren einbringen. Ein besonders aktives Gebiet sind die Maus-CRISPR-Genom-Editierungstechnologien zur Erzeugung von Mausmodellen, um die pathogene Wirkung bestimmter humaner Sequenzvarianten zu untersuchen oder Mäuse zu erzeugen, die die gleichen krankheitsverursachenden Mutationen wie bei Patienten aufweisen und als präklinische Modelle zur Entwicklung und Validierung neuartiger Therapien verwendet werden können.

Ernsthafte Bedenken und daraus resultierende mögliche Einschränkungen des CRISPR-Cas9-Systems hängen mit der Funktion von Cas9 zusammen, die die DNA schneidet und damit den Reparaturmechanismus der Zelle einleitet. Dies führt in der Regel zu Mutationen am Zielort (erwünscht), birgt aber auch die Möglichkeit des Schneidens und der unbeabsichtigten Editierung an anderen Stellen im Genom (*Off-Target*-Stellen – siehe auch unten). Die *Off-Target*-Effekte erschweren nicht nur die phänotypischen Analysen von CRISPR-Cas9-generierten Mausmutanten, insbesondere bei Gründertieren (vergl.<sup>41</sup>), sondern hätte auch Auswirkungen auf weitere Anwendungen von CRISPR-Cas9, insbesondere in der therapeutischen Genbehandlung und der Genom-Editierung der Keimbahn (siehe unten).

### Die Grenzen von CRISPR-Cas9: Off-Target- und unbeabsichtigte On-Target-Effekte

CRISPR-Cas9 ist zwar in der Lage, bestimmte DNA-Abschnitte präzise anzusteuern und zu schneiden, dennoch ist noch nicht vollständig verstanden, wie gut das RNA-geleitete Cas9 zwischen perfekten Zielen und potenziellen *Off-Targets* mit Nicht-übereinstimmungen mit der beabsichtigten Zielsequenz unterscheiden kann. Dies gilt insbesondere für die zuverlässige Suche nach diesen genomweit auftretenden *Off-Target*-Mutationen, besonders weil sich der sichere Nachweis seltener Mutationen (z. B. 1 Mutation in einem Genom mit Milliarden von Basenpaaren) als technisch äußerst anspruchsvoll gestaltet. Ein Großteil der bisherigen Arbeiten konzentrierte sich auf die Verbesserung der *On-Target*-Effizienz, was allerdings auch häufig mit einer Zunahme der unerwünschten *Off-Target*-Effekte einhergeht.

Gerade für die medizinische Anwendung am Menschen ist die Minimierung von *Off-Target*-Effekten, aber auch die Optimierung der *On-Target*-Effekte am Zielort eine essentielle Voraussetzung für den Einsatz der CRISPR-Cas-Technologie. Es ist begrüßenswert, dass zahlreiche Anstrengungen unternommen werden, um die *On-Target*-Spezifität von CRISPR-Cas9 mittels verbesserter Cas9-Varianten durch Ansätze mit defekten Cas9-Proteinen (dCas9-Strategie), die Verwendung anderer

<sup>38</sup> Howden, S. E., Maufort, J. P., Duffin, B. M., Elefanty, A. G., Stanley, E. G. & Thomson, J. A. Simultaneous Reprogramming and Gene Correction of Patient Fibroblasts. *Stem Cell Reports* 5, 1109–18 (2015).

<sup>39</sup> Lancaster, M. A. & Knoblich, J. A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 345, 1247125 (2014).

<sup>40</sup> Singh, P., Schimenti, J. C. & Bolcun-Filas, E. A mouse geneticist's practical guide to CRISPR applications. *Genetics* 199, 1–15 (2015).

<sup>41</sup> Wang, G. & Qi, L. S. Applications of CRISPR Genome Engineering in Cell Biology. *Trends Cell Biol.* 26, 875–888 (2016).



Nukleasen und Änderungen in den Guide-RNAs zu verstärken. Klar ist, dass das Verständnis zur Häufigkeit und Wirkung von CRISPR-Cas9-Off-Target-Mutationen für die Entwicklung klinischer Anwendungen von entscheidender Bedeutung ist.

Gleichzeitig betonen wir, dass für die Grundlagenforschung die notwendigen Experimente zur Kontrolle von CRISPR-Cas9-verursachten *Off-Target*-Effekten zur Verfügung stehen. So empfehlen Hockemeyer und Kollegen unter anderem folgende Experimente, um Off-Target-Effekte angemessen zu berücksichtigen: (i) die Verwendung mehrerer unabhängiger Guide-RNAs zur Erzeugung einer mutierten Zelllinie, (ii) die Komplementierung von *Loss-of-Function*-(Funktionsverlust)-Phänotypen und (iii) die sekundäre Editierung der mutierten Zelllinie zur Rückführung der Mutation in das Wildtyp-Allel, gefolgt von der Bestätigung der phänotypischen Wildtyp-Wiederherstellung; und wie bereits zuvor gesagt, die Sequenzierung des kompletten Genoms (engl. *Whole genome sequencing*, WGS) in CRISPR-Cas9-editierten Zellen, Organoid-Geweben und/oder Mäusen<sup>42</sup>.

## CRISPR-Cas9 und der Tierschutz

Christiane Walch-Solimena

Der CRISPR-Cas9-Mechanismus wurde, aufgrund seiner einfachen Handhabung, Effizienz und Einsatzflexibilität als vielseitiges Werkzeug der Genmanipulation in einer Vielzahl von Modellsystemen eingesetzt und wirft die Frage auf, wie sich diese Technik auf die Anzahl der in der Forschung verwendeten Tiere auswirken könnte. Während die konventionelle Genetik eine Kreuzung erfordert, um einen gewünschten Genotyp bei Tieren (typischerweise Mäusen) zu selektieren, ermöglicht CRISPR-Cas9 die Produktion und Phänotypisierung von genom-editierten Tieren innerhalb einer einzigen Generation. Daher könnte diese Technologie zur Verwirklichung des 3R-Prinzips (*Replacement, Reduction, and Refinement*)<sup>43</sup> im Tierschutz beitragen, indem sie die Anzahl der für ein bestimmtes Experiment benötigten Tiere im Vergleich zur kreuzungsbasierten Genetik in der biomedizinischen Forschung reduziert (*Reduction*).

Andere Entwicklungen, die sich auf Tierversuche auswirken, sollten jedoch berücksichtigt werden. Neue Methoden der Genom-Editierung eröffnen die Möglichkeit, neue Fragen

in verschiedenen Bereichen der Biologie anzugehen, von der Zell- bis zur Organismenebene. Insbesondere ermöglicht die CRISPR-Cas9-Technologie die genetische Manipulation eines viel breiteren Artenspektrums, nicht nur konventioneller genetischer Modellsysteme wie *Drosophila*, Fadenwürmer, Zebrafische, Mäuse und kultivierte Säugetierzellen, sondern auch nicht-traditioneller Modelle, bei denen Wissenschaftler weniger Erfahrung in Bezug auf Tierversuche und Maßnahmen zum Tierschutz haben. Eine ständig wachsende Anzahl von Cas9-Tools bietet neue Möglichkeiten, die Kausalität zwischen Genotyp und Phänotyp besser zu untersuchen, einschließlich der Untersuchung der funktionellen Genomik und der genomischen Bildgebung.<sup>44</sup> Darüber hinaus ermöglicht die CRISPR-Cas9-Toolbox die Erstellung besserer Krankheitsmodelle, hoffentlich auch für komplexe menschliche Krankheiten wie Diabetes oder neurodegenerative Erkrankungen. Auch hier hat die Vielseitigkeit der Methode bereits die Forschung an Nagetier-Modellen vorangetrieben, ist aber besonders bei größeren Säugetieren wie Schweinen vielversprechend.<sup>45</sup> Neben dem Einsatz in lebenden Tiermodellen wird CRISPR-Cas9 auch erfolgreich bei „Krankheiten in der Petrischale“<sup>46</sup> oder in patientenabgeleiteten 3D-Organoidkulturen<sup>47</sup> eingesetzt. Dieser Ansatz kann für den einzelnen Patienten relevante Daten liefern und den Ersatz (*Replacement*) von Tierversuchen ermöglichen.

Während einer Gesprächsrunde des *Institute for Laboratory Animal Research (ILAR) of the US National Academies* über Gen-Editierung zur Veränderung von Tiergenomen diskutierten Experten auf diesem Gebiet im Dezember 2015 die Auswirkungen der Genom-Editierung auf das 3R-Prinzip. Die Argumente reichten von „massiver Auswirkung auf den Einsatz von Tieren in der Wissenschaft“ bis hin zu neuen Möglichkeiten durch *in-vitro*-Modelle als potenzielle Ersatzmethoden für Tierversuche<sup>48</sup>.

Es ist zwar noch zu früh, um die Auswirkungen der Genom-Editierung auf die Nutzung und das Wohlergehen von Tieren in der Forschung zu bewerten, aber diese Trends müssen genau beobachtet, und das 3R-Prinzip konsequent angewendet werden, wobei der Schwerpunkt auf höchsten ethischen und wissenschaftlichen Standards für neue Tiermodelle liegt.

<sup>42</sup> Hockemeyer, D. & Jaenisch, R. Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. *Cell Stem Cell* 18, 573–86 (2016).

<sup>43</sup> Russell, W.M. S. and Burch, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*, Methuen, London.

<sup>44</sup> Doudna, J.A. & Charpentier, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR–Cas9. *Science* 346, 1258096 (2014). DOI: 10.1126/science.1258096 (letzter Zugriff 05.09.2017).

Wang, G. & Qi, L.S. Applications of CRISPR Genome Engineering in Cell Biology. *Trends Cell Biol.* 26, 875–888 (2016). DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2016.08.004> (letzter Zugriff 05.09.2017).

<sup>45</sup> Dow, L.E. Modeling disease in vivo with CRISPR/Cas9. *Trends Mol. Med.* 21, 609–621 (2015). DOI: 10.1016/j.molmed.2015.07.006 (letzter Zugriff 05.09.2017).

<sup>46</sup> Marx, V. Stem cells: disease models that show and tell. *Nature Methods* 12, 111–114 (2015). doi:10.1038/nmeth.3263 (letzter Zugriff 05.09.2017).

<sup>47</sup> Dow, L.E. Modeling disease in vivo with CRISPR/Cas9. *Trends Mol. Med.* 21, 609–621 (2015). DOI: 10.1016/j.molmed.2015.07.006 (letzter Zugriff 05.09.2017) und Verweise darin.

<sup>48</sup> ILAR Roundtable „Gene Editing to Modify Animal Genomes for Research – Scientific and Ethical Considerations“, 7.–8. Dezember 2015.

<http://nas-sites.org/ilar-roundtable/roundtable-activities/gene-editing-to-modify-animal-genomes-for-research/webcast/> (letzter Zugriff 05.09.2017).



## 6. Genom-Editierung beim Menschen

Hans Schöler und Stefan Mundlos

Natürlich kann die CRISPR-Cas9-Technologie auch zur Editierung des menschlichen Genoms eingesetzt werden. Viele mögliche Anwendungen werden derzeit verfolgt. Ein besonders aktives Gebiet der CRISPR-bezogenen Forschung ist die genetische Manipulation von patienteneigenen Stammzellen, um Modelle beispielsweise über Organoide im Hinblick auf verschiedene Krankheiten wie Darmkrebs, Mukoviszidose, Kardiomyopathie, Hirnfehlbildungen und viele andere herzustellen. Mit CRISPR-Cas9 ist es Forschern nun möglich, krankheitsverursachende Mutationen in patientenabgeleiteten pluripotenten Stammzellen zu korrigieren, um isogene Zelllinien zu erzeugen, die sich zu jedem Zelltyp ausdifferenzieren, der für die Krankheitsforschung von Interesse ist. Die Erzeugung dieser isogenen Linien ermöglicht es, den Beitrag von Genmutationen zu einem Krankheitsphänotyp eindeutig festzustellen. Die Untersuchung der pathogenen Wirkung von Varianten der menschlichen DNA-Sequenz wird nun wesentlich erleichtert, indem ähnliche Veränderungen in menschlichen Zellen oder in Tiermodellen, insbesondere bei Mäusen, erzeugt werden.

Die CRISPR-Cas9-Technologie hat ein enormes Potenzial für therapeutische Anwendungen. Es ist wichtig, zwei verschiedene Ansätze und Zielzellen zu unterscheiden. Wenn das Genom in frühen Embryonen verändert wird, tragen alle oder die meisten Zellen, einschließlich der Keimbahn, also die Linie der Keimzellen, die Veränderung. Das bedeutet, dass die Veränderung im Genom an die nachfolgenden Generationen weitergegeben werden kann.

Im Gegensatz dazu kann die Genmanipulation von Körperzellen – alle Zellen außer den Keimzellen – von zukünftigen Generationen nicht geerbt werden, da nur Zellen, die aus mutierten Zellen stammen, die Mutation tragen. Die Genom-Editierung mit CRISPR-Cas9 in somatischen Zellen wird allgemein als ein großes Potenzial in der Behandlung von angeborenen genetischen Erkrankungen und Krebs angesehen. Im Gegensatz zu früheren Gentherapieansätzen, bei denen mit Hilfe viraler Vektoren exogene Gene in das Genom eingebracht wurden, bietet CRISPR-Cas9 die Möglichkeit, das Genom direkt und genau an der gewünschten Stelle zu verändern. Angeborene Mutationen können beispielsweise in den nicht-mutierten Zustand zurückversetzt werden, können unterbrochen werden, um eine mutierte Genkopie zu inaktivieren, oder es können Veränderungen ins Genom eingebracht werden, die Zellen resistent gegen z. B. einen Virus machen. In diesem Fall werden die Zellen aus dem Körper entfernt, gentechnisch manipuliert und dann an den Patienten zurückgegeben. Es wird erwartet, dass diese Technologie bald zu einem routinemäßigen Bestandteil der klinischen Behandlungsmöglichkeiten wird. Ethische Überlegungen beziehen sich auf den weltweit geltenden Rechtsrahmen und die ethischen Normen der somatischen Zell- und Gentherapie.

Derzeit werden gleichzeitig viele verschiedene Ansätze verfolgt. Dazu gehören erste klinische Studien zur Behandlung von Krebs durch Entnahme von T-Zellen, um die T-Zellen genetisch so zu verändern, dass sie, wenn sie wieder in einen Patienten eingebracht werden, Tumorzellen angreifen und zerstören können. Andere Ansätze zielen auf Zellen des hämatopoetischen Systems zur Behandlung von Hämophilie oder des Auges bei genetischen Augenerkrankungen wie der Leberschen kongenitalen Amaurose. Im Gegensatz zur üblichen CRISPR-Methode, Zellen zu extrahieren und wieder in den Patienten zu injizieren, versuchen andere Ansätze, die menschlichen Viren (z. B. humane Papillomaviren oder HPV) im menschlichen Körper durch eine nicht-invasive Behandlung anzugreifen, mit dem Ziel, den Tumorwachstumsmechanismus in HPV-Zellen zu deaktivieren. Die CRISPR-basierte Behandlung befindet sich in der klinischen Testung, um HPV zu bekämpfen, von dem Millionen von Menschen weltweit betroffen sind. Es wird erwartet, dass demnächst viele weitere CRISPR-Studien in die klinische Testphase eintreten werden.

Eine der größten Herausforderungen in der CRISPR-Cas9-basierten Gentherapie besteht in der Einführung der Komponenten (Guide-RNA oder gRNA, Cas9) in die betreffenden Zellen, die zur Einleitung des Editierungsprozesses notwendig sind. In kultivierten Säugetierzellen können verschiedene Transfektionsmethoden zur transienten Expression von Cas9 und gRNAs eingesetzt werden. Lentivirale Vektoren wurden ebenfalls zur konstitutiven Expression von Cas9 und/oder gRNAs in kultivierten Human- und Mauszellen mit höherer Effizienz eingesetzt. Für die Gentherapie sind jedoch andere Ansätze erforderlich. Virale Vektoren wie rAAV (Recombinant adeno-associated Virus) und Adenovirus, die eine robuste Expression erzielen, wenn auch nur kurzzeitig, wurden vorgeschlagen und werden derzeit verwendet.

Ein Problem bei der Verwendung von CRISPR-Cas9 ist, dass das System spezifische Genomsequenzen erkennt und DNA-Doppelstrangbrüche induziert, die mit Hilfe eines *non-homologous end-joining* (NHEJ, dt. nichthomologe Endverknüpfung) Reparaturpfades oder durch *homology-directed repair* (HDR, dt. homologe Rekombination) repariert werden können. Die Reparatur durch NHEJ ist fehleranfällig, eine Eigenschaft, die z. B. zur Inaktivierung eines Gens genutzt werden kann, aber nicht geeignet ist, Mutationen zu therapeutischen Zwecken zu korrigieren, da sie zusätzliche Mutationen einbringen kann, die letztendlich zu gemischten Allelen und Zellen mit unterschiedlichen DNA-Sequenzen (Mosaizismus) führen. Ein Ansatz ist daher die Verstärkung der HDR- gegenüber der NHEJ-Reparatur, um die Präzision zu erhöhen, und/oder vor der Behandlung Zellen mit dem richtigen Genotyp auszuwählen. Ein weiteres Problem sind *Off-Target*-Mutationen (die sich durch Bindung von Komponenten der Genom-Editierung an sehr ähnliche Sequenzen anderswo im Genom ergeben können). Deren Vorhandensein oder Fehlen ist jedoch schwer nachzuweisen, da dies eine hochpräzise Sequenzierung des





Gesamtgenoms einschließlich des Nachweises von strukturellen Variationen wie Deletionen (Löschungen), Duplikationen (Verdoppelungen) oder Translokationen (Verschiebungen) beinhalten würde.

Im Gegensatz zur genetischen Manipulation somatischer Zellen ist die Editierung der menschlichen Keimbahn (einschließlich der Urkeimzellen, engl. *primordial germ cells*, Keimvorläufer, engl. *gamete progenitors*, Keimzellen, engl. *gametes*, Zygoten und Embryonen) sehr umstritten. Die erbliche Genom-Editierung wurde für Eltern in Betracht gezogen, bei denen das Risiko besteht, eine schwere genetische Krankheit an ihre Nachkommen weiterzugeben. Es sind tausende solcher Krankheiten bekannt, die durch einzelne Genmutationen verursacht werden. Obwohl sie für sich genommen selten sind, betreffen sie insgesamt einen beträchtlichen Teil der Bevölkerung, und da viele dieser Erkrankungen schwerwiegend sind, können sie eine große Belastung für die betroffenen Familien darstellen. Etwa 75% der genetischen Erkrankung treten jedoch bei Paaren auf, in deren Familie die betreffende Erkrankung noch nicht vorgekommen ist (d. h. Mutationen entstehen neu in den Spermien oder Eizellen der Eltern).

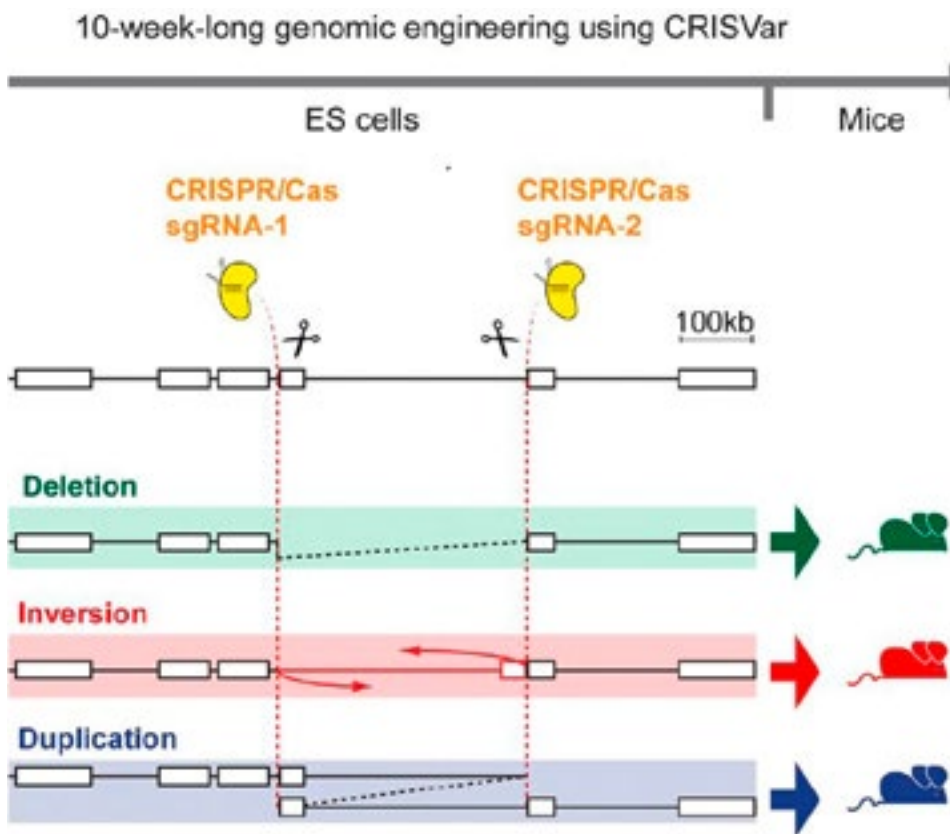
Für die Minderheit der Eltern mit einem Indiz für das familienbezogene Risiko gehören beispielsweise der Verzicht auf Kinder, die Adoption eines Kindes oder der Einsatz gespendeter Spermien oder Eier zu den gegenwärtigen Wahlmöglichkeiten zur Verhinderung der Übertragung erblicher genetischer

Krankheiten. Alternativ kann die *In-vitro*-Befruchtung in Kombination mit der Präimplantationsdiagnostik zur Selektion nicht betroffener Embryonen eingesetzt werden. In den meisten Fällen sind 50–75% der untersuchten Embryonen nicht betroffen, und bei einer ausreichenden Anzahl verfügbarer Embryonen sind bei den meisten Paaren nicht betroffene Embryonen nachweisbar (das ist bei einer mitochondrialen Krankheit nicht der Fall). Wenn ein Paar nur eine geringe Anzahl von Embryonen zur Verfügung hat, bietet die Genom-Editierung bei betroffenen Embryonen theoretisch die Möglichkeit, den diagnostischen Ansatz der Präimplantation dahingehend zu erweitern, bestehende Mutationen zu korrigieren.

Dennoch gibt es vielfältige Bedenken bezüglich wahrgenommener Risiken: Zum einen ist die genetische Veränderung der menschlichen Keimbahn in Deutschland und in 13 weiteren europäischen Ländern untersagt. Sicherheitsrisiken im Zusammenhang mit dieser neuen Technologie sind, insbesondere im Hinblick auf *Off-Target*-Effekte, nicht gelöst. Die Beschränkung auf die Verhütung einer schweren Krankheit und das Fehlen vernünftiger Alternativen wären angesichts der möglichen Risiken eine unabdingbare Voraussetzung. Darüber hinaus wäre ein umfassendes und langfristiges Nachsorgeverfahren über mehrere Generationen erforderlich, um Nebenwirkungen auszuschließen, eine Anforderung, deren Erfüllung schwierig bis unmöglich erscheint. Eingriffe in die Keimbahn mit CRISPR kommen unter diesen Bedingungen derzeit nicht in Frage.



## Genom-Editierung in der Genetik von Mäusen: Engineering von Strukturvarianten für Krankheitsmodelle des Menschen



Kraft K et al., *Cell Reports* 10, 833–839 (2015). © 2015 Die Autoren

Genetische Störungen beim Menschen werden durch verschiedene Arten von Mutationen verursacht. Dies können Änderungen in der Basensequenz des genetischen Codes sein oder in der DNA-Struktur in einer Weise, dass die Anzahl oder Position der Basen in großen Segmenten des DNA-Moleküls verändert wird, was zu Duplikationen (Verdoppelungen), Deletionen (Löschungen), Inversionen (Umkehrungen) oder Translokationen (Verlagerungen) führt, die zuweilen große Teile von Chromosomen betreffen. In Tiermodellen von genetischen Krankheiten war es bisher nicht oder zumindest nur mit großem Arbeits- und Zeitaufwand möglich, diese sogenannten Strukturvarianten, die Krebs oder seltene Krankheiten verursachen, zu rekonstruieren. Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für molekulare Genetik entwickelten kürzlich in Zusammenarbeit mit Kollegen der Charité-Universitätsmedizin Berlin eine Technik namens CRISVar (*CRISPR-Cas9-induced structural variants*, dt. CRISPR-Cas9-induzierte Strukturvarianten) mit

CRISPR-Cas9, um solche Varianten von langen DNA-Abschnitten (bis über 1000 Basenpaare) in embryonalen Stammzellen zur Erzeugung von Mäusen in einem zehnwöchigen Protokoll zu erzeugen. Mit diesem Ansatz konnten sie ein menschliches Knochenmissbildungssyndrom (ähnlich dem Nievergelt-Syndrom) durch eine umfangreiche krankheitsassoziierte Genom-Deletion (Löschung) in einem Mausmodell *in vivo* nachvollziehen. Diese Technik wird es ermöglichen, die komplexe molekulare Pathologie dieser und anderer genetischer Krankheiten zu untersuchen, die durch Strukturvarianten im Genom verursacht werden.

**Quelle:** Kraft, K., Geuer, S., Will, A.J., Chan, W.L., Paliou, C., Borschiwer, M., Harabula, I., Wittler, L., Franke, M., Ibrahim, D.M., Kragestein, B.K., Spielmann, M., Mundlos, S., Lupiáñez, D.G. & Andrey, G. Deletions, Inversions, Duplications: Engineering of Structural Variants using CRISPR/Cas in Mice. *Cell Reports* 10, 833–839 (2015). Online-Veröffentlichung 5. Februar 2015 doi.org/10.1016/j.celrep.2015.01.016.



## 7. Rechtliche Rahmenbedingungen

Silja Vöneky

Die rechtlichen Auswirkungen der Genom-Editierung unterscheiden sich in Bezug auf die oben genannten verschiedenen Forschungsbereiche; außerdem hängen die rechtlichen Auswirkungen von der Art der Genom-Editierungs-Technologie und dem Ort der Forschung ab.

### Rechtliche Rahmenbedingungen für die Genom-Editierung bei Pflanzen und anderen lebenden Organismen

Es ist nicht ganz klar und wird im Folgenden diskutiert, ob und inwieweit die Genom-Editierung durch die bestehenden Vorschriften des internationalen Völkerrechts, des Europarechts und des nationalen (insbesondere deutschen) Rechts geregelt ist.

Da es keine *besonderen* Bestimmungen des Völkergewohnheitsrechts gibt, welche die Genom-Editierung oder Gentechnik regeln, gibt es keine spezifischen völkerrechtlichen Normen, an die *alle* Staaten in Bezug auf die oben genannten Techniken gebunden sind.

International ist das *Protokoll von Cartagena über die biologische Sicherheit zum Übereinkommen über die biologische Vielfalt* (2000) das entscheidende völkerrechtliche Abkommen, das verbindliche Regeln für lebende veränderte Organismen (LVO) enthält, die sich nachteilig auf die biologische Vielfalt auswirken können.<sup>49</sup> Sein Hauptziel ist es, „zur Sicherstellung eines angemessenen Schutzniveaus bei der sicheren Weitergabe, Handhabung und Verwendung der durch moderne Biotechnologie hervorgebrachten lebenden veränderten

Organismen, die nachteilige Auswirkungen auf die Erhaltung und nachhaltige Nutzung der biologischen Vielfalt haben können, beizutragen“.<sup>50</sup> Dieses Ziel steht im Einklang mit dem Vorsorgeprinzip – als *Rechtsprinzip* –, das besagt, dass „ein Mangel an vollständiger wissenschaftlicher Gewissheit kein Grund dafür sein [darf], kostenwirksame Maßnahmen zur Vermeidung von Umweltverschlechterungen aufzuschieben.“<sup>51</sup> Mit 171 Vertragsparteien,<sup>52</sup> 170 Staaten (einschließlich Deutschland) und der EU,<sup>53</sup> ist das Cartagena-Protokoll ein wichtiges internationales Abkommen zur Regulierung lebender modifizierter Organismen, auch wenn relevante staatliche Akteure den Vertrag nicht unterzeichnet oder ratifiziert haben.<sup>54</sup>

Im Hinblick auf die oben beschriebenen neuen Techniken der Genom-Editierung bei Pflanzen und anderen lebenden Organismen gibt es bisher jedoch keine intensive Debatte darüber, ob es sich bei den aus der Genom-Editierung stammenden Organismen um „lebende veränderte Organismen“ handelt, wie sie durch das Protokoll bestimmt werden.<sup>55</sup> Die Definition des Begriffs „lebender veränderter Organismus“ ist in Art. 3 des Cartagena-Protokolls<sup>56</sup> umfassender als seine jeweilige Definition im europäischen Recht und im deutschen Gentechnikgesetz, worauf im Folgenden eingegangen wird.<sup>57</sup> Ob die Definition des Cartagena-Protokolls alle Formen der Genom-Editierung erfasst, ist unklar, da sich der Anwendungsbereich des Abkommens auf lebende veränderte Organismen aus der *modernen Biotechnologie* beschränkt. Hier stellt sich die Frage, ob die Entwicklung von Punktmutationen „natürliche physiologische Grenzen für die Vermehrung oder Rekombination“ überwindet so wie es die Definition des Begriffs „moderne Biotechnologie“

<sup>49</sup> Verabschiedet am 29. Januar 2000; in Kraft getreten am 11. September 2003.

<sup>50</sup> Art. 1 Cartagena Protokoll: „Im Einklang mit dem Vorsorgeprinzip in Grundsatz 15 der Erklärung von Rio über Umwelt und Entwicklung zielt dieses Protokoll darauf ab, zur Sicherstellung eines angemessenen Schutzniveaus bei der sicheren Weitergabe, Handhabung und Verwendung der durch moderne Biotechnologie hervorgebrachten lebenden veränderten Organismen, die nachteilige Auswirkungen auf die Erhaltung und nachhaltige Nutzung der biologischen Vielfalt haben können, beizutragen, wobei auch Risiken für die menschliche Gesundheit zu berücksichtigen sind und ein Schwerpunkt auf der grenzüberschreitenden Verbringung liegt.“

<sup>51</sup> Siehe Grundsatz 15 der Erklärung von Rio über Umwelt und Entwicklung. Es gibt jedoch unterschiedliche Definitionen des Vorsorgeprinzips als *ethisches Prinzip* und es ist umstritten, welche Szenarien einem nicht-rechtlichen Vorsorgeprinzip unterliegen sollten, siehe z.B. Cass R. Sunstein, *Laws of Fear – Beyond the Precautionary Principle*, 2005, S. 109 ff. und Daniel Steel, *Philosophy and the Precautionary Principle – Science, Evidence, and Environmental Policy*, 2015, S. 44 ff.

<sup>52</sup> Vgl. Liste der Vertragsparteien, abrufbar unter: <http://bch.cbd.int/protocol/parties/>.

<sup>53</sup> Beitritt der EG im Jahr 2002; vgl. Beschluss 2002/628/EG des Rates.

<sup>54</sup> Entscheidend ist insbesondere, dass die USA nicht Vertragspartei des Protokolls sind.

<sup>55</sup> Beispielsweise Araki/Nojima (Ishii, 32 (2014), *Trends in Biotechnol.* 234.

<sup>56</sup> Art. 3 Cartagena Protokoll: „Im Sinne dieses Protokolls (...)

g) bedeutet „lebender veränderter Organismus“ jeden lebenden Organismus, der eine neuartige Kombination genetischen Materials aufweist, die durch die Nutzung der modernen Biotechnologie erzielt wurde;

h) bedeutet „lebender Organismus“ jede biologische Einheit, die genetisches Material übertragen oder vervielfältigen kann, einschließlich steriler Organismen, Viren und Viroiden; (...).“

Für eine Interpretation vgl. Mackenzie/Burhenne-Guilmin et al, in IUCN (Hrsg.), *An Explanatory Guide to the Cartagena Protocol on Biosafety*, 2003, 46, Abs. 212, abrufbar unter: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/EPLP-046.pdf>.

<sup>57</sup> Vgl. Mackenzie/Burhenne-Guilmin et al, in IUCN (Hrsg.), *An Explanatory Guide to the Cartagena Protocol on Biosafety*, 2003, 46, Abs. 214, abrufbar unter: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/EPLP-046.pdf>.



als Bestandteil des Vertrages fordert.<sup>58</sup> Unbestritten ist jedoch, dass das Cartagena-Protokoll zur Anwendung kommt, wenn Fremd-DNA in das Genom des Zielorganismus eingebracht wird.

Darüber hinaus gilt das Protokoll – als allgemeine Ausnahme – nicht für die grenzüberschreitende Verbringung lebender veränderter Organismen in Form von Humanarzneimitteln, die durch andere einschlägige internationale Vereinbarungen oder Organisationen geregelt werden.<sup>59</sup> Im Falle eines Konflikts zwischen dem Cartagena-Protokoll und dem internationalen Handelsrecht, wie z. B. GATT und SPS, wird argumentiert, dass das Cartagena-Protokoll als *lex specialis* und *lex posterior* Vorrang hat.<sup>60</sup>

In dem Maße, wie unklar ist, ob der Geltungsbereich des Cartagena-Protokolls von 2000 neue Techniken der Genom-Editierung umfasst, ist auch der Geltungsbereich des *Zusatzprotokolls von Nagoya-Kuala Lumpur über Haftung und Wiedergutmachung zum Protokoll von Cartagena über die biologische Sicherheit* (2010) nicht geregelt.<sup>61</sup> Seit seinem Inkrafttreten am 5. März 2018<sup>62</sup> ist das Zusatzprotokoll von Kuala Lumpur für die Vertragsstaaten für Fragen der Haftung und Entschädigung verbindlich, wenn die grenzüberschreitende Verbringung von lebenden veränderten Organismen Schäden verursacht<sup>63</sup> hat.<sup>64</sup>

Die Gesetzgebung der *Europäischen Union* zur Gentechnik ist in verschiedenen Gesetzesakten festgelegt. Am relevantesten ist die *Richtlinie 2001/18/EG*,<sup>65</sup> die die entscheidende Definition des Begriffs „genetisch veränderter Organismus“ (GVO) enthält.<sup>66</sup> Die Anwendbarkeit der EU-GVO-Rechtsvorschriften hängt von der Auslegung dieser Definition ab, da sich die übrigen Rechtsakte entweder auf diese Richtlinie<sup>67</sup> beziehen oder weitgehend identische Definitionen verwenden.<sup>68</sup>

Die Debatte über die Anwendbarkeit des bestehenden europäischen Rechts auf Organismen, die aus der Genom-Editierung hervorgehen, war kontrovers und komplex. Die rechtlich relevanten Argumente bezogen sich auf verschiedene Elemente der Definition, die Teil der Richtlinie ist, sowie auf die Auslegung ihrer Anhänge.<sup>69</sup>

Die Definition des Begriffs „genetisch veränderter Organismus“ in Art. 2 der Richtlinie („(...) dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist (...)“) schafft einen erheblichen Interpretationsspielraum, der einerseits eine breitere verfahrensbezogene Interpretation und andererseits eine engere verfahrens- und produktbezogene Interpretation rechtfertigt.<sup>70</sup> Eine sehr enge, rein *produktbezogene* Auslegung der Definition ist dagegen nicht überzeugend, da sich die Richtlinie auf verschiedene Techniken bezieht, deren Anwendung GMO hervorbringt oder nicht.<sup>71</sup>

<sup>58</sup> Art. 3 Cartagena Protokoll: „Im Sinne dieses Protokolls (...) i) bedeutet „moderne Biotechnologie“ die Anwendung a) von In-vitro-Nukleinsäure-Techniken, einschließlich rekombinanter Desoxyribonukleinsäure (DNS) und der Direkteinspritzung von Nukleinsäure in Zellen oder Organellen, oder b) der Verschmelzung von Zellen über die taxonomische Familie hinaus, wodurch natürliche physiologische Grenzen für die Vermehrung oder Rekombination überschritten werden, sofern dies keine Techniken sind, die bei der herkömmlichen Zucht und Auswahl eingesetzt werden; (...)“

<sup>59</sup> Art. 5 Cartagena Protokoll.

<sup>60</sup> Vgl. Böckenförde, Biological Safety, MPEPIL, Abs. 19 ff.

<sup>61</sup> Art. 3 des Zusatzprotokolls von Nagoya-Kuala Lumpur über Haftung und Wiedergutmachung zum Protokoll von Cartagena über die biologische Sicherheit.

<sup>62</sup> Das Protokoll wurde am 15. Oktober 2010 verabschiedet und trat neunzig Tage nach dem Hinterlegungszeitpunkt der 40. Urkunde über Ratifikation, Annahme, Genehmigung oder Beitritt in Kraft, vgl. Art. 18 Nagoya – Kuala Lumpur Zusatzprotokoll. Vgl. Liste der Vertragsparteien, abrufbar unter: <https://bch.cbd.int/protocol/supplementary/>.

<sup>63</sup> Zum Verursacherprinzip vgl. Art. 4 Nagoya – Kuala Lumpur Zusatzprotokoll: „Zwischen dem Schaden und dem betreffenden lebenden veränderten Organismus wird im Einklang mit dem innerstaatlichen Recht ein Kausalzusammenhang hergestellt.“

<sup>64</sup> Der Schadensbegriff wird in Art. 2 Abs. 2 lit. b Nagoya – Kuala Lumpur Zusatzprotokoll definiert. Zu Ausnahmen siehe Art. 6 Nagoya – Kuala Lumpur Zusatzprotokoll.

<sup>65</sup> Richtlinie 2001/18/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. März 2001 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt und zur Aufhebung der Richtlinie 90/220/EWG des Rates.

<sup>66</sup> Art. 2 Nr. 2 Richtlinie 2001/18/EG: „Im Sinne dieser Richtlinie bedeutet: (...) 2. ‚genetisch veränderter Organismus (GVO)‘: ein Organismus mit Ausnahme des Menschen, dessen genetisches Material so verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise durch Kreuzen und/oder natürliche Rekombination nicht möglich ist. (...)“

<sup>67</sup> Vgl. dazu Art. 3 Nr. 2 Verordnung (EG) Nr. 1946/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Juli 2003 über die grenzüberschreitende Verbringung genetisch veränderter Organismen: „Im Sinne dieser Verordnung bezeichnet der Ausdruck (...) 2. ‚genetisch veränderter Organismus‘ bzw. ‚GVO‘ einen genetisch veränderten Organismus im Sinne von Artikel 2 Nummer 2 der Richtlinie 2001/18/EG mit Ausnahme von Organismen, die mit Hilfe der in Anhang I B der Richtlinie 2001/18/EG aufgeführten Verfahren der genetischen Veränderung gewonnen wurden (...)“

<sup>68</sup> Vgl. dazu Art. 2 lit. b Richtlinie 2009/41/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. Mai 2009 über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen: In der englischen Fassung ist die Definition identisch mit der der Richtlinie 2001/18/EG, während die französische und die deutsche Fassung geringfügige Unterschiede aufweisen.

<sup>69</sup> Art. 2 Nr. 2 Richtlinie 2001/18/EG: „Im Sinne dieser Definition: a) Zu der genetischen Veränderung kommt es mindestens durch den Einsatz der in Anhang I A Teil 1 aufgeführten Verfahren; b) bei den in Anhang I A Teil 2 aufgeführten Verfahren ist nicht davon auszugehen, dass sie zu einer genetischen Veränderung führen; (...)“

<sup>70</sup> Vgl. Dederer, in Nakanishi (Hrsg.), *Contemporary Issues in Environmental Law* (2016), 139, 140 ff.; Wolt/Wang/Yang, *The Regulatory Status of Genome Edited Crops* 14 (2016), *Plant Biotechnology Journal* 510; Breyer/Herman et al., 8 (2009) *Environmental Biosafety Research* 57, 61; Kahrman/Bömeke/Leggewie, *EurUP* 2, 2017, 179.

<sup>71</sup> Siehe auch Kahrman/Bömeke/Leggewie, *EurUP* 2, 2017, 179.



Im Gegenzug argumentieren einige Autoren, dass sich die Definition von GVO ausschließlich auf das *Verfahren* der Modifikation bezieht.<sup>72</sup> Sie machen geltend, dass die Richtlinie anwendbar ist, da Punktmutationen nicht gezielt durch natürliche Verfahren erzeugt werden können. Nach dieser Ansicht haben alle nicht-natürlichen Veränderungen des Genoms eines Organismus den Effekt, dass ein durch die EU-Gesetzgebung geregelter GVO vorliegt.

Interpretiert man die Definition als *verfahrens- und produktbasiert*, so weisen andere Autoren darauf hin, dass Organismen mit Punktmutationen, die auf Genom-Editierungstechniken beruhen, „normalerweise nicht in den Anwendungsbereich der GVO-Definition fallen“. Das Hauptargument ist, dass Organismen mit Punktmutationen, die durch Genom-Editierungstechniken gewonnen werden, auch durch Kreuzen oder natürliche Rekombination entstehen oder – zumindest – dass diese Organismen „auf natürliche Weise“ durch Kreuzen, natürliche Rekombination oder traditionelle Züchtungsmethoden entstanden sein könnten.<sup>73</sup>

Die Diskussion wurde zudem komplexer, da Anhang I A Teil 1 der Richtlinie die Verfahren auflistet, die ausdrücklich in den Anwendungsbereich der Richtlinie *fallen*, und es wurde *unter anderem* darüber diskutiert, ob Verfahren der Genom-Editierung als rekombinante Nukleinsäuretechniken oder als direkte Injektion von Erbmaterial gemäß dem Anhang gelten.<sup>74</sup>

Noch wichtiger ist, dass in Anhang I B der Richtlinie bestimmte Verfahren aufgeführt sind, die nach Art. 3 (1) ausdrücklich vom Anwendungsbereich der Richtlinie *ausgenommen* sind. Hier wurde diskutiert, ob die Herstellung von

Punktmutationen durch Genom-Editierung als „Mutagenese“ gilt wie im Anhang bestimmt. Einige Autoren argumentieren, dass Chemikalien, die für konventionelle Mutageneseverfahren verwendet werden, oft mit der DNA interagieren und Mismatches erzeugen, die auf ähnliche Weise repariert werden wie bei einigen Genom-Editierungstechniken.<sup>75</sup> Andere kritisieren, dass der Begriff „Mutagenese“ vor dem Hintergrund des historischen Kontextes der Norm und des Vorsorgeprinzips auszulegen ist, weshalb die Ausnahme nicht die neuesten technologischen Entwicklungen umfassen könne, für die kein ausreichender Sicherheitsnachweis vorliegt.<sup>76</sup>

Auch in Bezug auf die verschiedenen zuständigen Behörden, EU- und nationale Organen wurde der Anwendungsbereich der Richtlinie erst mit der Entscheidung des Europäischen Gerichtshofs (EuGH) im Jahr 2018 deutlich. Die Europäische Kommission hatte keine abschließende Stellungnahme veröffentlicht, schien aber zu argumentieren, dass sich die Definition von GVO in den EU-Rechtsvorschriften sowohl auf die Merkmale des gewonnenen Organismus als auch auf die verwendeten Techniken bezieht.<sup>77</sup> Der EuGH musste schließlich über einen Fall entscheiden, der die aktuellen Fragen, insbesondere die Auslegung von Anhang I B der Richtlinie und das Vorsorgeprinzip betraf.<sup>78</sup> Für das EuGH-Verfahren hat Generalanwalt Bobek im Januar 2018 eine Stellungnahme abgegeben.<sup>79</sup> Danach kann ein durch Mutagenese gewonnener Organismus ein GVO gemäß Art. 2 Nr. 2 (der Richtlinie 2001/18/EG) sein, „ (...) wenn er die in dieser Vorschrift vorgesehenen materiellen Kriterien erfüllt“. <sup>80</sup> Er betont, es sei „ (...) nach Art. 2 Nr. 2 eindeutig keine Insertion von Fremd-DNA in einen Organismus erforderlich, damit dieser als GVO eingestuft werden kann. Diese Bestimmung besagt lediglich, dass das genetische

<sup>72</sup> Aufgrund des Wortlauts „so verändert“ Art. 2 Nr. 2 Richtlinie 2001/18/EG; vgl. Spranger, *Legal Analysis of the applicability of Directive 2001/18/EC*, Oktober 2015, 26, 41 ff.; Herdegen/Dederer, *Richtlinie 2001/18/EG*, in Herdegen/Dederer (Hrsg.), *Internationales Biotechnologierecht*, November 2015, Vol. I, Teil 3, Abs. 40.

<sup>73</sup> Kahrman/Bömeke/Leggewie, *EurUP 2*, 2017, 180; Ostertag, *GVO-Spuren und Gentechnikrecht*, 2006, 161. Desweiteren siehe Spranger, *ebd.*, S. 17; Callebaut, *New Developments in Modern Biotechnology*, Master Thesis 2015, S. 56.

<sup>74</sup> Vgl. Spranger, *ebd.*, S. 51; Callebaut, *ebd.*, S. 59.

<sup>75</sup> Kahrman/Bömeke/Leggewie, *EurUP 2*, 2017, 181.

<sup>76</sup> Spranger, *ebd.*, S. 24 ff., 32.

<sup>77</sup> 17. Oktober 2014, Antwort der Kommission auf die parlamentarische Anfrage vom 3. September 2014, E-006525/2014 „Antwort von Herrn Borg im Namen der Kommission: 1. Die Entscheidung, eine Technik in den Anwendungsbereich der Richtlinien 2001/18/EG und 2009/41/EG aufzunehmen oder davon auszuschließen, hängt von der Auslegung der Definition von gentechnisch veränderten Organismen/genetisch veränderten Mikroorganismen und den Bedingungen für die Freistellung ab, wie sie in den beiden Richtlinien vorgesehen sind. Diese Bewertung ist komplex, da sich die Definition von GVO in den EU-Rechtsvorschriften sowohl auf die Merkmale des gewonnenen Organismus als auch auf die verwendeten Techniken bezieht. Außerdem wurde die Gesetzgebung erarbeitet, als sich eine Reihe neuer Pflanzenzüchtungsmethoden in einem frühen Stadium der Entwicklung oder Anwendung befanden und daher nicht explizit thematisiert wurden. 2. Die von der Kommission angeforderte Stellungnahme der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) bezieht sich auf die Gefährdungsbeurteilung von cisgenetischen und intragenetischen Pflanzen. Sie betrifft nicht die Rechtsauslegung der Kommission hinsichtlich der Definition von GVO gemäß der Richtlinie 2001/18/EG. 3. Die Kommission beabsichtigt, die rechtliche Analyse neuer Pflanzenzüchtungstechniken in den nächsten Monaten abzuschließen.“ Abrufbar unter [http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2014-006525-ASW\\_EN.html](http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2014-006525-ASW_EN.html).

<sup>78</sup> Rechtssache C-528/16; Vorabentscheidungsersuchen des Conseil d'État (Frankreich) vom 17. Oktober 2016; zu den Fragen zählten: „1. Sind durch Mutagenese gewonnene Organismen GVO im Sinne von Art. 2 der Richtlinie 2001/18, obwohl sie nach Art. 3 und Anhang I B dieser Richtlinie von den Verpflichtungen bezüglich der Freisetzung und des Inverkehrbringens von GVO ausgenommen sind? Können insbesondere Mutageneseverfahren, vor allem die neuen Verfahren der gezielten Mutagenese unter Einsatz gentechnischer Verfahren, als Verfahren angesehen werden, die in Anhang I A aufgeführt sind, auf den Art. 2 verweist? Sind die Art. 2 und 3 sowie die Anhänge I A und I B der Richtlinie 2001/18 demzufolge dahin auszulegen, dass sie von den Maßnahmen der Vorsorge, der Verträglichkeitsprüfung und der Rückverfolgbarkeit alle durch Mutagenese gewonnenen genetisch veränderten Organismen und ebensolches Saatgut ausnehmen oder nur diejenigen Organismen, die mit den schon vor Erlass der Richtlinie bestehenden konventionellen Methoden der Zufallsmutagenese durch ionisierende Strahlung oder chemische Mutagen erzeugt wurden? (...)“

<sup>79</sup> Schlussanträge des Generalanwalts Michael Bobek vom 18. Januar 2018, Rechtssache C-528/16, abrufbar unter: <http://curia.europa.eu/juris/document/document.jsf?text=&docid=198532&pageIndex=0&doclang=EN&mode=lst&dir=&occ=first&part=1&cid=135991>.

<sup>80</sup> *Ebd.*, Rn. 64.



Material in einer Weise verändert worden ist, wie es auf natürliche Weise nicht möglich ist”.<sup>81</sup> Und er erklärt, dass „schon auf der Ebene des Wortlauts recht klar [ist], dass die Annahme unzutreffend ist, dass es nach der GVO-Richtlinie eine direkte und uneingeschränkte Ausnahme für sämtliche Mutageneseverfahren gebe”.<sup>82</sup> Nach seiner Interpretation sollte „eine allgemeine Kategorie mit der Bezeichnung ‚Mutagenese‘ somit folgerichtig alle Verfahren umfassen, die zum gegebenen, für den betreffenden Fall maßgeblichen Zeitpunkt als Bestandteil dieser Kategorie verstanden werden, was auch neue Verfahren einschließt”<sup>83</sup> Allerdings kommt er in Bezug auf das Verständnis der Mutagenese-Ausnahme zu dem Schluss, dass „dass der Unionsgesetzgeber mit der Aufnahme der Mutagenese-Ausnahme keine Aussage zu deren Sicherheit getroffen hat“ und der Ausschluss einfach bedeutet, „dass der Unionsgesetzgeber diesen Bereich nicht auf Unionsebene regeln wollte“. Daher lautet sein Fazit: „Vor diesem Hintergrund haben die Mitgliedstaaten meines Erachtens die Befugnis zur Regelung von durch Mutagenese gewonnenen Organismen, sofern sie ihre übergreifenden unionsrechtlichen Verpflichtungen (...) einhalten.”<sup>84</sup>

Diejenigen Rechts- und Naturwissenschaftler, die sich für eine diesem Votum entsprechende Entscheidung des EuGH ausgesprochen hatten, waren enttäuscht über das endgültige Urteil des Gerichts im Juli 2018, als der Gerichtshof entschied, dass Organismen, deren genetisches Material durch gezielte Mutagenese verändert wurde, von der EU-Freisetzungsrichtlinie 2001/18 erfasst werden.<sup>85</sup> In Übereinstimmung mit dem Generalanwalt hat der Gerichtshof zunächst festgestellt, dass durch Mutagenese hergestellte Organismen als GVO im Sinne der Richtlinie 2001/18 gelten. Nach Ansicht des EuGH gibt es keinen Unterschied zwischen herkömmlichen Mutagenesemethoden und der Genom-Editierung, da durch beide Methoden „eine auf natürliche Weise nicht mögliche Veränderung am genetischen Material eines Organismus im Sinne dieser Vorschrift vorgenommen“ wird.<sup>86</sup> Nach Ansicht des Gerichtshofs wird diese Auslegung durch die Systematik der Richtlinie gestützt, in der „zwischen Verfahren, die zu einer genetischen Veränderung führen, und Verfahren, bei denen nicht davon auszugehen ist, dass sie zu einer solchen Veränderung führen, unterschieden wird.”<sup>87</sup> Entgegen der Ansicht des Generalanwalts hat der Gerichtshof jedoch entschieden, dass Organismen, die mit gezielten Mutagenesetechniken auf der Grundlage der Genom-Editierung verändert werden, *nicht* vom

Anwendungsbereich der Richtlinie 2001/18 ausgenommen sind. Der Gerichtshof hat im Wesentlichen unter Berufung auf den Erwägungsgrund 17 der genannten Richtlinie festgestellt, dass die Freistellung für Organismen, die aus einer „Mutagenese“ hervorgegangen sind, nur „für Organismen gelten sollte, die mit Techniken zur genetischen Veränderung gewonnen werden, die herkömmlich bei einer Reihe von Anwendungen angewandt wurden und seit langem als sicher gelten.”<sup>88</sup>

Nach Ansicht des Gerichtshofs können die Risiken von „Verfahren/Methoden der gezielten Mutagenese (...), die mit dem Einsatz von Gentechnik verbunden sind“, welche nach dem Erlass der Richtlinie 2001/18 entwickelt wurden, „bislang noch nicht mit Sicherheit bestimmt werden.”<sup>89</sup> Darüber hinaus ermöglichte die Entwicklung dieser neuen Techniken die Produktion von gentechnisch veränderten Varianten mit einer Geschwindigkeit und in einem Ausmaß, die sich deutlich von denjenigen aus der Anwendung konventioneller Methoden der zufälligen Mutagenese unterscheiden.<sup>90</sup> Auch im Hinblick auf das Vorsorgeprinzip kam der EuGH zu dem Schluss, dass die Ausnahme der „Mutagenese“-Techniken vom Anwendungsbereich der Richtlinie 2001/18 *nicht* für Organismen gilt, die mit „neuen Verfahren/Methoden der Mutagenese, die seit dem Erlass der Richtlinie entstanden sind oder sich hauptsächlich entwickelt haben“, gewonnen wurden.<sup>91</sup>

Das deutsche Gentechnikgesetz entspricht weitgehend dem oben genannten EU-Recht. Eine nicht dem europäischen Recht entsprechende Auslegung des deutschen Gentechnikgesetzes wäre aufgrund des hohen Harmonisierungsgrades unvereinbar mit dem EU-Rechtsgrundsatz des *effet utile*. Das *Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)* hat daher in Übereinstimmung mit dem vorgenannten EuGH-Urteil einen früheren Verwaltungsakt aufgehoben, in dem es entschieden hatte, dass ein von einem Privatunternehmen unter Verwendung gezielter Mutagenese (Oligonucleotide-directed mutagenesis, ODM) entwickelter Rapsstamm (*SU Canola*) nicht unter das geltende Gentechnikgesetz (*GenTG*) fällt.<sup>92</sup> Das BVL erklärte, dass diese Entscheidung nicht aufrecht erhalten werden könne, da die Art der Mutagenese, mit der der Stamm gezüchtet wird, „erst seit kurzem in der Pflanzenzüchtung verwendet wird“ und somit nach Abschnitt 3 Abs. 3b GenTG nicht unter die Ausnahme von Organismen fällt, die von der „Mutagenese“ gemäß der GVO-Verordnung stammen.<sup>93</sup>

<sup>81</sup> Ebd., Rn. 61.

<sup>82</sup> Ebd., Rn. 82.

<sup>83</sup> Ebd., Rn. 101.

<sup>84</sup> Ebd., Rn. 123, vgl. auch 117 ff.; neben 153–167 in Bezug auf Richtlinie 2002/53.

<sup>85</sup> Gerichtshof der Europäischen Union, Rechtssache C-528/16 – Confédération paysanne et al. / Premierminister et al., Urteil vom 25. Juli 2018, ECLI:EU:C:2018:583.

<sup>86</sup> Ebd., Rn. 29.

<sup>87</sup> Ebd., Rn. 32.

<sup>88</sup> Ebd., Rn. 44–46.

<sup>89</sup> Ebd., Rn. 47.

<sup>90</sup> Ebd., Rn. 48.

<sup>91</sup> Ebd., Rn. 51.

<sup>92</sup> Vgl. BVL, Az. 42050 (5. Februar 2015); aus den Gründen vgl. Arbeitsgruppe Neue Techniken, Abschlussbericht, 2012.

<sup>93</sup> BVL, Cibus Raps-Bescheid vom BVL zurückgenommen (17 August 2018), abrufbar unter [https://www.bvl.bund.de/DE/06\\_Gentechnik/04\\_Fachmeldungen/2018/2018\\_08\\_17\\_Fa\\_Cibus\\_Raps\\_Bescheid.html](https://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/04_Fachmeldungen/2018/2018_08_17_Fa_Cibus_Raps_Bescheid.html).



Es ist zudem unstrittig, dass die Richtlinie und andere Elemente des EU-GVO-Rechts sowie das deutsche Recht zur Umsetzung dieser Normen eindeutig anwendbar sind, wenn Fremd-DNA in das Genom des Zielorganismus integriert wird. In diesem Fall gilt das EU-GVO-Recht im Hinblick auf moderne Genom-Editierungstechniken, selbst wenn man die (engere) verfahrens- und produktbasierte Auslegung der Richtlinie unterstützt.<sup>94</sup>

Staaten, die weder Mitglieder der EU noch Vertragsparteien des Cartagena-Protokolls sind, unterliegen jedoch diesen spezifischen internationalen Rechtsnormen nicht, wenn Fremd-DNA in das Genom des Zielorganismus integriert wird.

### Rechtliche Rahmenbedingungen für Gene Drives in Pflanzen und anderen lebenden Organismen

Bei *Gene Drives* in Pflanzen und anderen lebenden Organismen, wie beispielsweise Insekten, wird Fremd-DNA in das Genom des Zielorganismus eingebracht, daher finden die EU-GVO-Vorschriften und das Cartagena-Protokoll Anwendung. Die *Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit* (ZKBS) ist sich dementsprechend einig, dass es sich bei Organismen, die mit einem solchen Gen-Antriebssystem ausgestattet wurden, um gentechnisch veränderte Organismen im Sinne der einschlägigen EU-Richtlinie und des deutschen Gentechnikgesetzes handelt.<sup>95</sup>

Auch wenn Staaten, die Vertragsparteien des Cartagena-Protokolls sind, solche mit einem Gen-Drives ausgestattete Insekten freisetzen wollen, gibt es Rechtsfragen, die durch das Protokoll selbst nicht beantwortet werden. Eine wichtige Fragestellung ist beispielsweise die der Zustimmung derjenigen Personen, die an dem Ort leben, an dem die veränderten Insekten freigesetzt werden. Die Beantwortung dieser Frage ist nicht nur theoretisch relevant, sondern hat auch wichtige praktische Auswirkungen, denn schon 2018 wurde berichtet, dass in Afrika erstmals gentechnisch veränderte Moskitos freigesetzt werden sollen.<sup>96</sup>

Die Experimente waren ein Grund für eine Debatte auf der Konferenz der Vertragsparteien der Biodiversitätskonvention (*Convention on Biological Diversity*, CBD / Übereinkommen über die

biologische Vielfalt) im Jahr 2018 darüber, ob es ein (rechtlich nicht bindendes) Moratorium geben sollte, das diese Experimente stoppen und zumindest die Staaten, die Vertragsparteien der Biodiversitätskonvention sind, binden sollte. Die Vertragsstaaten dieses Übereinkommens erzielten jedoch keinen Konsens über ein solches Moratorium. Die zuständige Arbeitsgruppe<sup>97</sup> fasste jedoch einen Beschluss, der einen Ermessensspielraum zu eröffnen scheint, wie aus ihrer Sicht mit Gen-Drive-Experimenten verfahren werden kann, ohne dass gegen internationale Standards verstoßen wird. Darin wurde betont, dass die Vertragsstaaten das Vorsorgeprinzip in Bezug auf Gen-Drives anwenden sollten. Genauer heißt es darin:

„[...] Die Vertragsstaaten und andere Regierungen werden aufgefordert, die Freisetzung von Organismen mit künstlichen Gen-Antrieben in die Umwelt, auch bei experimenteller Freisetzung oder für Forschungs- und Entwicklungszwecke, nur dann in Betracht zu ziehen, wenn:

- (a) wissenschaftlich fundierte Einzel-Risikobewertungen durchgeführt wurden;
- (b) angemessene Risikomanagementmaßnahmen bestehen, um mögliche nachteilige Auswirkungen zu vermeiden oder zu minimieren;
- (c) gegebenenfalls die „vorherige und informierte Zustimmung“, die „freie, vorherige und informierte Zustimmung“ oder die „Genehmigung und Mitwirkung“<sup>98</sup> potenziell betroffener indigener Völker und lokaler Gemeinschaften angestrebt oder eingeholt wird, wenn dies nach den nationalen Gegebenheiten und Rechtsvorschriften möglich ist [...].“<sup>99</sup>

Der letzte Absatz beschreibt und empfiehlt einige Kriterien für eine gültige Zustimmung bei Geltung der Biodiversitätskonvention, wie sie von der Arbeitsgruppe ausgelegt wurde. Aus menschenrechtlicher Sicht könnte zudem Art. 7 des Internationalen Paktes über bürgerliche und politische Rechte (IPbPr, *International Covenant on Civil and Political Rights*) relevant sein, wenn Einzelpersonen in die Experimente einbezogen werden; denn danach gilt: „[Es] darf niemand ohne seine freiwillige Zustimmung medizinischen oder wissenschaftlichen Versuchen unterworfen werden“. Diese Norm ist fundamental und Teil des Völkergewohnheitsrechts, an das alle Staaten gebunden sind. Darüber hinaus kann ein Staat im Falle eines

<sup>94</sup> Kahrman/Bömeke/Leggewie, EurUP 2, 2017, 180, 182.

<sup>95</sup> ZKBS, Stellungnahme zur Einstufung von gentechnischen Arbeiten zur Herstellung und Verwendung von höheren Organismen mit rekombinanten Gene-Drive-Systemen, Februar 2016.

<sup>96</sup> Vgl. Scientific American, *Researchers to Release Genetically Engineered Mosquitoes in Africa for First Time* (2018), abrufbar unter <https://www.scientificamerican.com/article/researchers-to-release-genetically-engineered-mosquitoes-in-africa-for-first-time/>.

<sup>97</sup> Konferenz der Vertragsparteien des Übereinkommens über die biologische Vielfalt, Vierzehntes Treffen Sharm El-Sheikh, Ägypten, 17. bis 29. November 2018, Punkt 27 der Tagesordnung, *SYNTHETISCHE BIOLOGIE, Entwurf eines Beschlusses, der vom Vorsitzenden der Arbeitsgruppe II vorgelegt wurde*, UN-Dok. CBD/COP/14/L.31, 28. November 2018, abrufbar unter <https://www.cbd.int/doc/c/2c62/5569/004e9c7a6b2a00641c3af0eb/cop-14-l-31-en.pdf>.

<sup>98</sup> Decision XIII/18., CBD/COP/DEC/XIII/18, 17. Dezember 2016, abrufbar unter: <https://www.cbd.int/doc/decisions/cop-13/cop-13-dec-18-en.pdf>.

<sup>99</sup> Abs. 9; siehe auch Abs. 10 und 11, wo es heißt: 10. [Die Konferenz] Ist sich bewusst, dass angesichts der möglichen negativen Auswirkungen durch Organismen, die künstliche Gen-Antriebe enthalten, Forschung und Analyse erforderlich sind, bevor diese Organismen für die Freisetzung in die Umwelt in Betracht gezogen werden, und dass spezifische Leitlinien nützlich sein können, um die Risikobewertung von Fall zu Fall zu unterstützen; 11. [Die Konferenz] Nimmt die Schlussfolgerungen der Ad-hoc-Fachgruppe für Synthetische Biologie zur Kenntnis, wonach angesichts der derzeitigen Unsicherheiten in Bezug auf künstliche Gen-Antriebe, die freie, vorherige und informierte Zustimmung der indigenen Völker und lokalen Gemeinschaften erforderlich sein könnte, wenn es um die mögliche Freisetzung von Organismen mit künstlichen Gen-Antrieben geht, die deren traditionelles Wissen, Innovation, Praktiken, Lebensgrundlagen und Nutzung von Land und Wasser beeinträchtigen können; [...]. Decision XIII/18. UN Dok. CBD/COP/DEC/XIII/18, 17. Dezember 2016.



grenzüberschreitenden Schadens durch Gene-Drives gemäß den Regeln des Völkergewohnheitsrechts haftbar sein, wenn er gegen Sorgfaltspflichten verstößt.

### Rechtliche Rahmenbedingungen für die Genom-Editierung beim Menschen

Bezüglich der rechtlichen Auswirkungen der Genom-Editierung beim Menschen muss zwischen den folgenden Möglichkeiten und Anwendungen unterschieden werden:

1. In Deutschland ist die Genom-Editierung, welche Teil einer Gentherapie ist und dazu dient, die Überlebenschancen eines menschlichen Embryos zu erhöhen, nicht gesetzlich verboten; das Gleiche gilt für die somatische Gentherapie.
2. Die Editierung menschlicher Keimbahnen (d. h. die Therapie menschlicher Keimbahnen) ist in Deutschland – wie in anderen europäischen Staaten auch – verboten, aber es gibt bisher kein universelles Verbot der Editierung menschlicher Keimbahnen (siehe unten).
3. Darüber hinaus verbietet das deutsche Embryonenschutzgesetz strafrechtlich die Verwendung menschlicher Embryonen für die wissenschaftliche Forschung, einschließlich der Gewinnung embryonaler Stammzellen; dies ist jedoch umstritten, sofern nicht-lebensfähige menschliche Embryonen (z. B. tripronukleare Embryonen) für die Forschung verwendet werden.<sup>100</sup> Andere europäische Staaten wie das Vereinigte Königreich, Schweden und Frankreich verbieten hingegen die Forschung mit menschlichen Embryonen während eines Zeitraums von höchstens 14 Tagen nach der Befruchtung nicht.

Der Einsatz der neuen Techniken, die die DNA des ungeborenen Menschen verändern, wie es bei der Editierung menschlicher Keimbahnen der Fall ist, ist höchst umstritten. Obwohl es unter anderem in Deutschland<sup>101</sup> nach nationalem Recht und nach Artikel 13 der Konvention zum Schutze der Menschenrechte und der Biomedizin des Europarates (nur bindend für 35 Vertragsstaaten), also einer regionalen internationalen Vertragsnorm, verboten ist, gibt es kein universelles völkerrechtliches Verbot der Editierung menschlicher Keimbahnen; selbst rechtlich nicht unmittelbar bindende UNESCO-Erklärungen im Bereich der Bioethik und Biomedizin verbieten diese Art der Gen-Editierung nicht. Der Deutsche Ethikrat hat im September 2017 eine Stellungnahme dazu abgegeben und argumentiert, dass eine globale politische Debatte und internationale Regulierung notwendig sind.<sup>102</sup> Bislang gab es jedoch keinen Konsens bei der UNESCO, dies zu tun: Im Jahr 2015 forderte das UNESCO IBC (*International Bioethics Committee*, Internationales Bioethik-Komitee) die Mitgliedstaaten auf, sich auf ein gemeinsames Moratorium zu einigen, ohne dass es einen Konsens der Mitgliedstaaten gab. Auch bei dem International Summit on Human Gene Editing im Jahr 2015, der von nationalen Wissenschaftsakademien dreier Staaten (USA, Großbritannien und China) organisiert wurde, gab es keinen Konsens.<sup>103</sup> Die Lücken in den aktuellen Normen und Vorschriften wurden deutlich, als ein chinesischer Forscher im November 2018 die Welt über die Geburt von Zwillingen informierte, deren embryonale Genome editiert worden waren. Der Forscher behauptete, dass er zwei menschliche Embryonen mit Hilfe der CRISPR-Cas9 Genom-Editierungstechnik verändert und in eine Frau implantiert habe.<sup>104</sup> Es gab klare Aussagen der wissenschaftlichen Gemeinschaft zur Unverantwortlichkeit dieses Verfahrens.<sup>105</sup> In der Folge wurde die Notwendigkeit der Entwicklung internationaler Normen und Standards zur Festlegung von Grenzen für diese Art der Keimbahnveränderung und zum Schaffen einer wirksamen Aufsicht über die

<sup>100</sup> Vgl. Leopoldina (Hrsg.), *Diskussion Nr. 10: Ethische und rechtliche Beurteilung des genome editing in der Forschung an humanen Zellen* (2017), 23. März 2017.

<sup>101</sup> *Embryonenschutzgesetz*, 13. Dezember 1990, *Bundesgesetzblatt* (BGBl.) I, 2746, in der Fassung vom 21. November 2011, BGBl. I, 2228.

<sup>102</sup> Deutscher Ethikrat, *Keimbahneingriffe am menschlichen Embryo*: Deutscher Ethikrat fordert globalen politischen Diskurs und internationale Regulierung, Ad-hoc-Empfehlung, 29. September 2017, abrufbar unter [https://www.ethikrat.org/publikationen/publikationsdetail/?tx\\_wwt3shop\\_detail%5Bproduct%5D=19&tx\\_wwt3shop\\_detail%5Baction%5D=index&tx\\_wwt3shop\\_detail%5Bcontroller%5D=Products&cHash=e197afc2a9431bdc3602d100e226cbc9](https://www.ethikrat.org/publikationen/publikationsdetail/?tx_wwt3shop_detail%5Bproduct%5D=19&tx_wwt3shop_detail%5Baction%5D=index&tx_wwt3shop_detail%5Bcontroller%5D=Products&cHash=e197afc2a9431bdc3602d100e226cbc9).

<sup>103</sup> Vgl. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, *On Human Gene Editing: International Summit Statement*, 3. Dezember 2015, abrufbar unter <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>. 2017 argumentierte ein von der US-amerikanischen National Academy of Sciences und der National Academy of Medicine einberufener gemeinsamer Ausschuss, dass der Eingriff in die Keimbahn ethisch vertretbar wäre, wenn dies die letzte vernünftige Option für ein Paar wäre, ein biologisch gesundes Kind zu bekommen, vgl. Jocelyn Kaiser, 'U.S. panel gives yellow light to human embryo editing', *ScienceMag*, 14. Februar 2017, doi:10.1126/science.aal0750, abrufbar unter <http://www.sciencemag.org/news/2017/02/us-panel-gives-yellow-light-human-embryo-editing>; siehe Studienbericht der National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, *Human Genome Editing: Science, Ethics, and Governance* (2017), abrufbar unter <https://www.nap.edu/catalog/24623/human-genome-editing-science-ethics-and-governance>.

<sup>104</sup> Der Forscher He Jiankui behauptete, dass das CCR5-Gen in den Embryonen verändert wurde; dieses Gen kodiert ein Protein, das einige verbreitete HIV-Stämme verwenden, um Immunzellen zu infizieren. Siehe David Cyranoski, *First CRISPR babies: six questions that remain*, 30. November 2018, abrufbar unter <https://www.nature.com/articles/d41586-018-07607-3>.

<sup>105</sup> Siehe zum Beispiel Organizing Committee of the Second International Summit on Human Genome Editing, *Statement, On Human Genome Editing II*, 29. November 2018: [...] Auf diesem Gipfel hörten wir eine unerwartete und zutiefst beunruhigende Behauptung, menschliche Embryonen seien editiert und implantiert worden, sodass es zu einer Schwangerschaft und der Geburt von Zwillingen kam. Wir empfehlen eine unabhängige Untersuchung, um diese Behauptung zu überprüfen und zu klären, ob die angeblichen DNA-Modifikationen stattgefunden haben. Selbst wenn die Modifikationen bestätigt werden, war das Verfahren unverantwortlich und entsprach nicht den internationalen Normen. Zu den Mängeln zählen eine unzureichende medizinische Indikation, ein schlecht gestaltetes Studienprotokoll, die Nichteinhaltung ethischer Standards zum Schutz des Wohlergehens der Probanden und ein Mangel an Transparenz bei der Entwicklung, Überprüfung und Durchführung der klinischen Verfahren. [...], abrufbar in englischer Originalfassung unter <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=11282018b>.





Keimbahneditierung von staatlichen Stellen anerkannt.<sup>106</sup> Wie die Experimente mit den chinesischen Zwillingen im Jahr 2018 zeigten, ist eine intensivere internationale Diskussion über die Risiken, Vorteile und Menschenrechte, ja sogar die Würde der Menschheit,<sup>107</sup> hinsichtlich der Eingriffe in die menschliche Keimbahn erforderlich. Dennoch ist unklar, ob es eine Möglichkeit geben wird, sich auf einen sinnvollen internationalen Konsens zu einigen.

### **Genom-Editierung und besorgniserregende missbrauchsanfällige Forschung (Dual Use Research of Concern)**

Es besteht das Risiko, dass Forschungsergebnisse zur Genom-Editierung missbraucht werden oder einen schweren Schaden anrichten und daher in den Bereich von *Dual Use Research of Concern* (DURC) fallen.<sup>108</sup> Einige dieser Forschungsergebnisse werden möglicherweise durch bestehende internationale und nationale Vorschriften bezüglich der DURC-Aktivitäten abgedeckt; für andere gibt es noch keinen derartigen normativen Rahmen. Letztlich sind weder der internationale noch der nationale rechtliche Rahmen ausreichend, um sich vor solchen Missbrauchsrisiken zu schützen oder sie einzugrenzen.

Das Biowaffenübereinkommen (BWÜ) und das Chemiewaffenübereinkommen (CWÜ) bieten international keinen ausreichenden Schutz vor den vorgenannten Risiken und Gefahren des Missbrauchs von Forschung, die für friedliche Zwecke durchgeführt wird: Das BWÜ verbietet die Herstellung und den Einsatz von biologischen Waffen, beinhaltet aber kein Verifizierungssystem – Labore in Staaten können nicht überwacht werden – und beschränkt die Forschung, die für friedliche Zwecke durchgeführt wird, nicht. Das CWÜ enthält ebenfalls relevante Lücken und reguliert nur bestimmte, aufgeführte Chemikalien; es ist (derzeit) nicht hinreichend geeignet, die Risiken und Gefahren des Missbrauchs von Experimenten der Genom-Editierung und deren Ergebnisse zu begrenzen.<sup>109</sup>

Die Möglichkeiten des Missbrauchs und damit verbundener Sicherheitsrisiken dieser Forschung müssen sorgfältig geprüft und analysiert werden, dies gilt insbesondere in Zeiten von politischen Unruhen und terroristischen Aktivitäten. Es werden bereits verschiedene Überlegungen und Maßnahmen diskutiert. Sie reichen von der Aufforderung an den einzelnen Forschenden, den potenziellen Nutzen und die Risiken einer solchen Forschung noch einmal zu überdenken, über das Verbot der Veröffentlichung der Methode der vorgenommenen Genmanipulation, der Veröffentlichung oder Nutzung der Ergebnisse einer derartigen Forschung bis hin zu einem völligen Verbot der besorgniserregenden Forschung. Im Hinblick auf die Effizienz und die Internationalisierung der Forschung wird empfohlen, dass eine solche Regelung nicht isoliert, sondern auf einer breiteren Grundlage, sei es regional oder universell, verabschiedet werden sollte.

Diese Bestimmungen sollten die potenziellen Risiken und den zu erwartenden Nutzen auf der Grundlage der bisher durchgeführten Untersuchungen sorgfältig abwägen. In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass die Max-Planck-Gesellschaft<sup>110</sup>, die DFG und die Leopoldina Grundsätze der verantwortungsvollen Forschung bereits in Verhaltenskodizes<sup>111</sup>, die von den einigen Universitäten in Deutschland übernommen wurden, verankert haben. Darüber hinaus wäre eine staatliche Aufsicht, ein EU- oder ein internationales Komitee wünschenswert, das die seltenen Fälle von geplanten oder durchgeführten, hochriskanten Experimenten im Bereich missbrauchsrelevanter besorgniserregender Forschung einheitlich beurteilen kann.

Im Falle einer solchen Forschung, bei der jedoch der Nutzen die Risiken überwiegt, ist es wichtig, Fragen der Laborsicherheit sowie Warnsysteme im Falle von Unfällen so effektiv und universell wie möglich festzuschreiben. In diesen Bereichen sind die Vorschriften in Europa noch nicht konsistent.<sup>112</sup>

<sup>106</sup> US National Institutes of Health, Director Francis S. Collins, *Statement on Claim of First Gene-Edited Babies by Chinese Researcher*: Die Notwendigkeit der Entwicklung eines verbindlichen internationalen Konsenses über die Festlegung von Grenzen für diese Art von Forschung, die derzeit in Hongkong diskutiert wird, war noch nie so offensichtlich, abrufbar in englischer Originalfassung unter <https://www.nih.gov/about-nih/who-we-are/nih-director/statements/statement-claim-first-gene-edited-babies-chinese-researcher>.

<sup>107</sup> Vgl. Jürgen Habermas, *Die Zukunft der menschlichen Natur – Auf dem Weg zu einer liberalen Eugenik* (2001).

<sup>108</sup> Nach einer weit gefassten Definition ist *Dual Use Research of Concern* Forschung, die nach derzeitigem Verständnis möglicherweise dazu geeignet ist, Wissen, Produkte oder Technologien bereitzustellen, die von anderen direkt missbraucht werden könnten, um eine Bedrohung für öffentliche Gesundheit und Sicherheit, landwirtschaftliche Kulturen und andere Pflanzen, Tiere, Umwelt oder Material darzustellen. *Siehe dazu in englischer Originalfassung* National Science Advisory Board for Biosecurity (NSABB), *Proposed Framework for the Oversight of Dual Use Life Science Research 17* (2007), abrufbar unter <https://fas.org/biosecurity/resource/documents/NSABB%20draft%20guidelines%20on%20dual%20use%20research.pdf>; der Begriff wurde durch den sogenannten Fink-Bericht geprägt, *siehe* National Research Council, *Biotechnology Research in Age of Terrorism* (2004), abrufbar unter <https://www.nap.edu/read/10827/chapter/1>.

<sup>109</sup> Für eine rechtliche Bewertung der völkerrechtlichen Verträge in Bezug auf Fragen der Forschung, die in den Bereich von DURC fällt, siehe Deutscher Ethikrat, *Biosicherheit – Freiheit und Verantwortung in der Wissenschaft* (2014), S. 88 ff., abrufbar unter [https://www.ethikrat.org/publikationen/publikationsdetail/?tx\\_wwt3shop\\_detail%5Bproduct%5D=10&tx\\_wwt3shop\\_detail%5Baction%5D=index&tx\\_wwt3shop\\_detail%5Bcontroller%5D=Products&cHash=8241f24229008add1ddc6c86bb22ac27](https://www.ethikrat.org/publikationen/publikationsdetail/?tx_wwt3shop_detail%5Bproduct%5D=10&tx_wwt3shop_detail%5Baction%5D=index&tx_wwt3shop_detail%5Bcontroller%5D=Products&cHash=8241f24229008add1ddc6c86bb22ac27).

<sup>110</sup> Zur Eingrenzung der Risiken von DURC, *siehe* insbesondere *Hinweise und Regeln der Max-Planck-Gesellschaft zum verantwortungsvollen Umgang mit Forschungsfreiheit und Forschungsrisiken* (2010, aktualisiert 2017), abrufbar unter [https://www.mpg.de/ueber\\_uns/verfahren](https://www.mpg.de/ueber_uns/verfahren).

<sup>111</sup> Deutsche Forschungsgemeinschaft, Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften, *Wissenschaftsfreiheit und Wissenschaftsverantwortung*, 2014, abrufbar unter: <https://www.leopoldina.org/publikationen/detailansicht/publication/wissenschaftsfreiheit-und-wissenschaftsverantwortung-2014/>.

<sup>112</sup> Derzeit sind Warnsysteme in der EU-Verordnung für Labore festgelegt, die mit Krankheitserregern der Maul- und Klauenseuche arbeiten.



Langfristig könnte ein internationales Abkommen über Fragen zu missbrauchsrelevanter besorgniserregender Forschung notwendig sein. Ein solcher Vertrag würde Rechtssicherheit bieten, zumal ein Staat im Falle eines grenzüberschreitenden

Schadens gemäß den Regeln des Völkergewohnheitsrechts für Risiken haftbar sein könnte, wenn er gegen seine Sorgfaltpflichten verstößt.

## 8. Ethik, gesellschaftliche Perspektiven und Herausforderungen der Genom-Editierung

Klaus Tanner und C. Walch-Solimena

Neue Laborverfahren zur Veränderung der genetischen Information werden derzeit vor allem in der Grundlagenforschung eingesetzt. Diese Instrumente haben sich schnell durchgesetzt, und ihr Einsatz ist bereits weit verbreitet. Die neuen Methoden der Genom-Editierung werden heute bereits als „revolutionär“ angesehen. Die Veränderungsdynamik hat zu intensiven Diskussionen auf dem Gebiet der ethischen und rechtlichen Beurteilung geführt. In vielen westlichen Demokratien wurden Berichte und Stellungnahmen erarbeitet, in denen die neuen Methoden beschrieben, ethisch und rechtlich bewertet sowie Vorschläge zur Regulierung ihrer Verwendung gemacht werden<sup>113</sup>.

Trotz dieses „revolutionären“ Charakters ist die zugrundeliegende Forschungsstrategie durch ein hohes Maß an Kontinuität gekennzeichnet. Kontinuitätslinien gibt es beim grundlegenden Forschungsparadigma, dass „Gene“ eine Schlüsselrolle in der Entwicklung von Organismen spielen und dementsprechend von den Möglichkeiten, durch gezielte menschliche Intervention genetische Information zu verändern, Aufschlüsse erhofft werden über grundlegende entwicklungsbiologische Prozesse. Mit den Möglichkeiten des menschlichen Eingriffs in die genetisch gesteuerten Entwicklungsprozesse ist die Hoffnung verknüpft worden, diese Prozesse „optimieren“ zu können, etwa im Bereich der Pflanzen- und Tierzucht, bzw. genetische „verursachte“ Krankheiten besser zu diagnostizieren und eventuell heilen zu können. Auch die jüngsten Durchbrüche in der Entwicklung von CRISPR-Cas9-Techniken bauen auf einer Forschungsgeschichte auf, die vor 25 Jahren in Spanien mit der Erforschung von *Archaeobakterien* begann.<sup>114</sup>

Die „genomische Ära“, die dem Erfolg des 2001 gleichzeitig von einer Privatinitiative und einem öffentlich finanzierten großen Konsortium veröffentlichten *Human Genome Project* (HGP) folgte, wurde damals als Beginn einer neuen Ära in der Medizin begrüßt. Dem lag eine im wesentlichen deterministischen Sichtweise auf die Genetik von Krankheiten zugrunde. Tatsächlich wurden große Fortschritte beim Verständnis monogener (Mendelscher) Erkrankungen erzielt. Die Vision der „personalisierten Medizin“, die auf dem Genom des individuellen Patienten basiert, hat sich jedoch nur langsam verwirklicht.

Die unerwartet geringe Anzahl von kodierenden Genen, die im menschlichen Genom identifiziert wurden, macht nur 1–2% der menschlichen DNA-Sequenz aus, während die restlichen 99% eine regulatorische Rolle spielen und anscheinend den Schlüssel zum Verständnis der emergenten Komplexität biologischer Prozesse im gesunden und kranken Menschen enthalten. Einblicke in diese so genannte „dunkle Materie“ des Genoms erhielten wir durch Projekte wie ENCODE (*Encyclopaedia of DNA Elements*)<sup>115</sup> und die *Epigenome Road Map*<sup>116</sup>, die neue Schichten einer äußerst komplexen Regulierung des Genoms durch genetische Elemente und epigenetische Mechanismen aufzeigten. Neue Arten von Assays, einschließlich auf Gen-Editierung basierende Screens, beschleunigen heute die Entdeckung der Funktionen von regulatorischen Elementen, die von ENCODE<sup>117</sup> identifiziert wurden. Dabei bleibt noch vieles unbekannt.

Ein weiterer sehr aktiver Forschungsbereich befasst sich mit dem Verständnis komplexer, multifaktorieller Erkrankungen. Die Sequenzierung des Gesamtgenoms und sequenzbasierte genomische Assays ermöglichen die Identifizierung und funktionelle Charakterisierung von DNA-Sequenzvarianten und

<sup>113</sup> Zum Beispiel: Dokumente vom Internationalen Gipfel in Washington 2015, Nuffield Council on Bioethics, *Genome editing: an ethical review* 2016; in Deutschland: Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften (BBAW): BBAW (Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften). *Genomchirurgie beim Menschen. Zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie*, Berlin 2015; Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, u. a.: *Chancen und Grenzen des genome editing*, Halle (Saale) 2015;

Jahrestagung des Deutschen Ethikrates zu Genom-Editierung Juni 2016, European Academies Science Advisory Council: *Genome editing: scientific opportunities, public interests and policy options in the European Union*; EASAC policy report 31, 2017; Diskussionspapier der Leopoldina-Arbeitsgruppe: *Ethische und rechtliche Beurteilung des genome editing in der Forschung an humanen Zellen*, Halle (Saale) 2017.

<sup>114</sup> Lander, E.S. *The Heroes of CRISPR*. *Cell* 164, 18–28 (2016). Zur Geschichte der Forschung im Bereich der CRISPR-Cas-Techniken siehe auch John Parrington, *Redesigning life. How Genome Editing will transform the world* 2016 Jennifer Doudna und Samuel Sternberg, *A Crack in Creation: The New Power to Control Evolution*, 2017.

<sup>115</sup> The ENCODE Project Consortium. *An integrated Encyclopaedia of DNA Elements in the Human Genome*. *Nature* 489, 57–74 (2012).

<sup>116</sup> <http://www.roadmapepigenomics.org/overview> (letzter Zugriff 13. September 2017).

<sup>117</sup> Chi, K.R. *The dark side of the human genome*. *Nature* 538, 275–277 (2016).



deren Zusammenhang mit Krankheiten. Ein besseres Verständnis der phänotypischen Ausprägung von Risikoallelen wird benötigt, um die Stoffwechselwege und biologische Prozesse von Krankheiten besser zu verstehen.<sup>118</sup>

Die Kontinuität in der Grundlagenforschung ist in dreifacher Hinsicht relevant:

### 1) In der ethischen Reflexion kann zurückgegriffen werden auf einen Erfahrungsschatz, auf ethische Prinzipien und etablierte Regularien, die sich in der Auseinandersetzung mit den Eingriffsmöglichkeiten in Genome herausgebildet haben.

Als es in den 1970er Jahren möglich wurde, DNA gezielt zu verändern, führte dies sofort zu intensiven, ethischen Diskussionen, zunächst unter den Wissenschaftlern selbst, dann aber auch in einer breiteren Öffentlichkeit.

Erste Kontroversen wurden durch Visionen ausgelöst, die von führenden Genforschern am *Ciba Foundation Symposium* 1962 formuliert wurden<sup>119</sup>. Die 1975 in Asilomar abgehaltene Konferenz stellt einen Meilenstein in der Debatte über den verantwortungsvollen Umgang mit Technologien zur Veränderung der genetischen Information dar<sup>120</sup>. Asilomar ist ein Beispiel für die Selbstregulierung der wissenschaftlichen Forschung, die dann auch zu staatlichen Normensetzungen in den USA führte. Der heute wieder diskutierte Vorschlag eines Moratoriums hat seinen Vorläufer in den Entscheidungen dieser Konferenz. Zu einem Grundlagendokument für die weiteren Diskussionen wurde der Bericht der Untersuchungskommission für ethische Probleme in der Medizin und Biomedizin (*Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioural Research*) des amerikanischen Präsidenten mit dem Titel „*Splicing life: The Social and Ethical Issues of Genetic Engineering with Human Beings*“ (Washington D. C., 1982). Der Bericht war ein wichtiger Katalysator bei

der Einrichtung des beratenden Ausschusses für DNA-Rekombination (*Recombinant DNA Advisory Committee*) des US-amerikanischen *National Institutes of Health* im Jahr 1985.

In Deutschland wurde 1984 unter dem Vorsitz des Verfassungsrichters Ernst Benda eine interministerielle Arbeitsgruppe eingerichtet und 1984 der Bericht „*In-vitro-Fertilisation, Genomanalyse und Genterapie*“ veröffentlicht. Die Keimbahn-Genterapie war bereits damals Gegenstand intensiver Diskussionen und wurde von der Kommission als „derzeit“ nicht vertretbar erachtet, schloss aber Eingriffe in die Keimbahn bei schweren monogenen Erkrankungen in der Zukunft nicht aus. 1987 legte die Enquete-Kommission „Chancen und Risiken der Gentechnik“ ihren Bericht vor, in dem die Breite der Anwendungen von genetischen Eingriffen erstmals unter Regulierungsgesichtspunkten diskutiert wurde.

Ein Konsens, der sich auf bioethische Grundprinzipien stützt und einen ersten Leitfaden für ethische Fragen bietet, kristallisierte sich heraus. Das „*Georgetown Mantra*“, wie es von Beauchamp und Childress entworfen und weiterentwickelt wurde, nennt vier Grundprinzipien für die Urteilsfindung in den Anwendungsbereichen der Bio- und Medizinethik<sup>121</sup>: (1) Achtung der Autonomie, (2) das Prinzip des Nichtschadens, (3) Wohltuns und (4) Gerechtigkeit. Das Mantra bildet einen wichtigen Bezugspunkt in vielen Berichten über CRISPR-Cas9-Technologien. Da jedoch die Richtwirkung eines jeden regulatorischen Ansatzes, der ausschließlich auf Prinzipien basiert, begrenzt ist, sind Urteile und Regeln erforderlich, die auf dem spezifischen Kontext der Anwendungen beruhen.

Da die CRISPR-Cas9-Techniken eine Form menschlichen Handelns darstellen, werden alle Urteile und Regeln durch die Situation, den Ort und die Zeit, in der sie durchgeführt werden, geprägt. Aufgrund von Veränderungen auf dem Gebiet des menschlichen Handelns und der Forschung im Laufe der Zeit müssen Normen und Regeln überprüft werden, wenn sich neue Herausforderungen ergeben. Effektiv wirken können Regeln für menschliches Handeln und Forschen nur, wenn sie sachadäquat sind und damit auch den Veränderungen in der Wissenschaftslandschaft Rechnung tragen. Obwohl das Bestreben, die Lebensbedingungen zu verbessern sowie Sicherheit und Schutz zu erhalten, immer gleich ist, können diese Ziele nur dann tatsächlich erreicht werden, wenn sie auch im

<sup>118</sup> McCarthy, M.I. & MacArthur, D.G. Human disease genomics: from variants to biology. *Genome Biol.* 18, 20 (2017). doi:10.1186/s13059-017-1160-z (letzter Zugriff 14. September 2017).

<sup>119</sup> Unter den Teilnehmern waren Prominente Biologen und Molekulargenetiker wie F. Crick, J.B.S. Haldane, J. Lederberg und H.J. Muller. Der Tagungsbericht „Man and his Future“ 1963 (Englisch) wurde 1966 unter dem Titel „Das umstrittene Experiment: der Mensch. Elemente einer biologischen Revolution“ auf Deutsch veröffentlicht. Im deutschsprachigen Raum entstanden dabei als Reaktion auf das Ciba-Symposium Bücher wie Richard Kaufmanns „Die Menschenmacher. Die Zukunft des Menschen in einer biologisch gesteuerten Welt“ (1964), Thomas Regaus „Menschen nach Maß. Werkstoff Mensch im Griff einer seelenlosen Wissenschaft“ (1965) oder Friedrich Wagners „Die Wissenschaft und die gefährdete Welt“ (1964). Der erste Ethiker, der sich ausführlich mit den neuen Herausforderungen beschäftigte, war Paul Ramsey mit „Fabricated Man: The Ethics of Genetic Control“, New Haven 1970.

<sup>120</sup> Berg, P., Baltimore, D., Brenner, S., Roblin III, R.O. & Singer, M.F. Summary Statement of the Asilomar Conference on Recombinant DNA Molecules. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72, 1981–1984 (1981).

Berg, P. Maxine, F. & Singer, M.F. The recombinant DNA controversy: Twenty years later. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92, 9011–9013 (1995).

Wright, S. Molecular Biology or Molecular Politics? The Production of Scientific Consensus on the Hazards of Recombinant DNA Technology. *Social Studies of Science.* 16, 595–96 (1986).

Donald S. Fredrickson, Asilomar and recombinant DNA in: Kathi E. Hanna (Hrsg.) *Biomedical Politics*, Washington D.C. 1991, 258 – 29

<sup>121</sup> Tom L. Beauchamp, James F. Childress, *Principles of Biomedical Ethics*, 7 Hrsg. New York /Oxford 2013.



Einklang mit den neuen verfügbaren Handlungsansätzen stehen. Alle Gesetze müssen daher auch einer Novellierung unterzogen werden können. Inwieweit aus ethischer Sicht eine „Anpassung“ erforderlich ist, um veränderten Umständen Rechnung zu tragen, oder ob sie aus dem gleichen Grund abgelehnt werden muss, wird auch in Zukunft Gegenstand heftiger politischer Kontroversen bleiben. Der wissenschaftliche Erkenntnisstand kann nur bedingt Antworten auf Fragen der Regulierung geben, da es hier darum geht, Maßstäbe zu setzen, die stets auch durch kulturelle Aspekte bestimmt sind<sup>122</sup>. Dies zeigt sich an den durchgängig geäußerten Forderungen nach ethischen und rechtlichen Urteilen oder nach „öffentlichen Debatten“ und der Berücksichtigung der Meinungen von Interessenvertretern in der Gesellschaft.

## 2) Die ethischen Diskussionen über rekombinante DNA gipfelten in politischen Debatten, die zur Entwicklung rechtlich festgeschriebener Regelungen führten, die auf diesem Forschungsgebiet bis heute gelten.

Im Falle Deutschlands kann in diesem Zusammenhang beispielsweise auf das Gentechnikgesetz, das Embryonenschutzgesetz und das Tierschutzgesetz verwiesen werden. Auf internationaler Ebene entstanden auf der Grundlage der rechtlichen Rahmenbedingungen oft neue Einrichtungen, die neue Plattformen für strukturierte ethische Debatten boten. Mittlerweile arbeiten zahlreiche Ethikkommissionen, auch in Deutschland, in beratender Funktion oder sind in Genehmigungsverfahren für Forschungsarbeiten eingebunden.

## 3) Aus den Debatten entstanden Pro- und Contra-Positionen, die auch heute noch die Überlegungen zur „Gentechnik“ prägen.

Institutionen und Foren, die eine „kritische“ Gegenöffentlichkeit vertreten, haben sich etabliert und beeinflussen Diskussionen um die rechtliche Regulierung auf nationaler und

internationaler Ebene<sup>123</sup>. Die Ausweitung der Möglichkeiten für Nichtregierungsorganisationen (NGOs), sich an der EU und den Vereinten Nationen zu beteiligen, hat das politische Gewicht der neuen unter dem Label „Zivilgesellschaft“ firmierenden Akteure erhöht. Im Umgang mit Risiken und Chancen der neuen Biotechnologien gibt es dabei erhebliche kulturelle Unterschiede, die verwurzelt sind in historischen Erfahrungen<sup>124</sup>. Das skrupellose Verhalten der Wissenschaftler in Deutschland zur Zeit des Nationalsozialismus<sup>125</sup> und die mühsamen Prozesse der Aufarbeitung dieser Geschichte nach 1945 haben in Deutschland immer wieder Skepsis und Vorbehalte gegenüber „der Wissenschaft“ genährt, die bis in die gegenwärtigen Diskussionen um Gentherapien hineinwirken..

Während sich die wissenschaftliche Forschung grundsätzlich auf den Fortschritt konzentriert, haben sich seit den 1970er Jahren besonders fortschrittskritische Sichtweisen etabliert. In seinem Buch „Das Prinzip Verantwortung“ prägte Hans Jonas den Begriff „Heuristik der Furcht“. Das „Prinzip ...“, dass den Untergangspropheten mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden muss als den Heilspropheten<sup>126</sup> wurde zum wiederkehrenden Thema vieler forschungskritischer Positionen. Dieser Vorbehalt wird häufig in den sogenannten „*slippery slope*“-Argumenten (dt. „Dammbruch“) formuliert, in denen konsequentialistische Einwände verwendet werden, um auf die Gefahren von „ungewollten Folgen“ hinzuweisen<sup>127</sup>. Da ungewollte Folgen nur begrenzt absehbar sind, bietet der Rekurs auf wissenschaftliche Fakten oft wenig, um diesen Argumenten entgegenzuwirken.

Nötig sind Kommunikationsformen, die das Vertrauen stärken, dass Wissenschaftler selbst verantwortungsvoll mit den neuen Möglichkeiten umgehen<sup>128</sup>. Ein wichtiger Faktor für die Schaffung und Bestärkung von Vertrauen ist Transparenz<sup>129</sup>. Möglichst klare Regeln, Kennzeichnungspflichten und öffentlich zugängliche Register sind konkrete Schritte, Transparenz zu ermöglichen. Einzelne Forscher alleine können nicht unmittelbar Vertrauen schaffen. Vielmehr bleibt die Arbeit einzelner Wissenschaftler abhängig vom Vertrauen in die Einrichtungen, in denen sie arbeiten. Vertrauen ist zerbrechlich und kann auch schnell wieder verloren gehen. Verantwortungsloses

<sup>122</sup> Vgl. Nuffield Council on Bioethics. Genome Editing. An Ethical Review (2016). <http://nuffieldbioethics.org/project/genome-editing/ethical-review-published-september-2016>. S. 114: Der Fokus auf die Technologie tendiert dahin, die sozialen und ethischen Fragen eher zu verbergen als zu offenbaren. Es werden auch Fragen verhindert, die sich aus unterschiedlichen räumlichen und zeitlichen Skalen ergeben.

<sup>123</sup> z. B. Greenpeace und das Testbiotech Institute, Center for Genetics and Society, in Deutschland das Gen-ethische Netzwerk

<sup>124</sup> Zu den unterschiedlichen Verhaltensweisen in den USA und Deutschland vgl. Sheila Jasanoff, Designs on Nature. Science and Democracy in Europe and the United States, Princeton 2005.

<sup>125</sup> Vgl. die Buchreihe „Geschichte der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft im Nationalsozialismus“, herausgegeben von Reinhard Rürup und Wolfgang Schieder im Auftrag der Präsidentenkommission der Max-Planck-Gesellschaft.

<sup>126</sup> Hans Jonas, Das Prinzip Verantwortung. Versuch einer Ethik für die technologische Zivilisation, Frankfurt a.M. 1979, S. 64 ff, S. 70. Auch Jürgen Habermas warnte mit Bezug auf Hans Jonas vor einer „liberalen Eugenik“. Jürgen Habermas, Die Zukunft der menschlichen Natur. Auf dem Weg zu einer liberalen Eugenik?, Frankfurt a.M. 2001, S. 40 und 84 ff.

<sup>127</sup> Douglas Walton, Slippery slope arguments, Oxford, New York 1992.

<sup>128</sup> In den „Hinweisen und Regeln der Max-Planck-Gesellschaft für einen verantwortungsvollen Umgang gegenüber Forschungsfreiheit und Forschungsrisiken“ von 2010 (Neuausgabe 2017) wird darauf hingewiesen, dass sich der einzelne Wissenschaftler „nicht mit der Einhaltung gesetzlicher Regelungen zufrieden geben darf, sondern weitergehende ethische Grundsätze berücksichtigen muss“ (S. 6, vgl. auch S. 8). Vgl. auch der „Verhaltenscodex: Arbeiten mit hochpathogenen Mikroorganismen und Toxinen“ herausgegeben von der Senatskommission für Grundfragen der Genforschung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), März 2013.

<sup>129</sup> Im Bericht der National Academies of Sciences, Engineering, Medicine „Human Genome Editing. Science, Ethics and Governance“, wird „Transparenz“ neben den klassischen bioethischen Prinzipien explizit als ein wichtiges Prinzip genannt. Zusammenfassung S. 11 Kasten S-1.



Handeln eines Einzelnen, Unachtsamkeit, das Wecken unrealistischer Erwartungen, die dann enttäuscht werden, schädigen immer ein ganzes Forschungsfeld.

In medialen Gesellschaften, in denen Wissenschaftler selbst die Medien nutzen, um ihre Erfolge anzukündigen, besteht die Gefahr, zu früh zu viel zu versprechen, um den Boden für eine weitere Finanzierung der Forschung zu bereiten. Dieses Zusammenspiel von Wissenschaft und Medien beinhaltet einerseits Möglichkeiten zur Schaffung von Transparenz, andererseits aber auch Gefahren, die als „Hype“ bezeichnet werden können<sup>130</sup>.

## Sechs Leitfragen zu Forschungsprogrammen mit CRISPR-Cas9, die derzeit in den Labors der MPG durchgeführt werden.

Bei der ethischen und rechtlichen Bewertung von Forschungsinstrumenten stellen sich grundlegende Fragen, die dazu beitragen, die Probleme zu analysieren, die sich aus neuen Methoden wie der Genom-Editierung ergeben.

Sechs Kernfragen:

- 1) Wie wird das Verfahren beschrieben, mit dem genetische Veränderungen durchgeführt werden?
- 2) Wie sicher ist es, das Verfahren anzuwenden?
- 3) In welchen Bereichen soll es eingesetzt werden?
- 4) Welche Ziele werden verfolgt?
- 5) Wie kann das Forschungsgebiet reguliert werden?
- 6) Welche Rolle spielen wirtschaftliche Interessen bei der Gestaltung des Forschungsfeldes?

### 1) Wie wird das Verfahren beschrieben? Spiegeln die gewählten Beschreibungen und Metaphorik die tatsächliche Wirkungsweise, deren Reichweite und Eingriffstiefe angemessen wider?<sup>131</sup>

Betrachtet man den Mechanismus, mit dem die eingesetzten Nukleasen die genetische Information verändern, stellt sich die Frage, ob die mechanistischen Bilder einer „Genschere“ biologische Prozesse ausreichend beschreiben. Wird der Begriff „Genetische Chirurgie“ verwendet, verschiebt sich das

Bedeutungsspektrum. Jede Chirurgin weiß, dass eine Operation an komplexen organischen Strukturen ein höheres Risiko birgt als das Editieren oder die Veränderung eines Textes.

Die Sprache, in der die Genom-Editierung beschrieben wird, hat die generelle Tendenz, Ideen eines genetischen Determinismus<sup>132</sup> zu bestärken, demzufolge es möglich sein soll vom Wissen über Genotypen direkte Folgerungen für den Phänotyp abzuleiten. Stattdessen muss die komplexe Regulierung des Genoms bei der Diskussion über diese Technologie und ihre Folgen berücksichtigt werden.

### 2) Wie sicher ist es, das Verfahren anzuwenden? Mit welchen unerwünschten Nebenwirkungen und Risiken ist vernünftigerweise zu rechnen?

Bei der Anwendung unterschiedlicher Methoden der Genom-Editierung wurden immer wieder unerwartete Mutationen gefunden. Die Wissenschaftler haben in Bezug auf die Häufigkeit oder die Risiken solcher „Off-Target-Mutationen“ noch keine endgültige Beurteilung abgegeben<sup>133</sup>. Urteile über das Risikopotenzial in Biologie und Medizin korrelieren mit Annahmen darüber, wie die Entwicklungsprozesse in Zellen und Organismen reguliert werden.

Das Wissen um die Komplexität dieser Regulationszusammenhänge hat sich durch die Genomforschung enorm erweitert.<sup>134</sup> CRISPR-Cas9-Methoden sind dafür ein Beispiel. Sequenzen in der DNA, die lange Zeit als bedeutungslos galten, erwiesen sich als Speicher wichtiger Informationen und die Bedeutung der epigenetischen Steuerung spielt mittlerweile eine zentrale Rolle.

Die Beurteilung des Risikopotenzials hängt eng zusammen mit den Orten bzw. sozialen Räumen, an denen der Eingriff erfolgt, sowie mit der unterschiedlichen Komplexität der betroffenen Organismen, in die eingegriffen wird. Es macht einen Unterschied, ob in einem Sicherheitslabor in einer Zellkultur „in vitro“ Mutationen erzeugt werden, oder „in vivo“ in einem Versuchstier, ob gentechnisch veränderte Pflanzen freigesetzt werden, ob in einen menschlichen Embryo eingegriffen wird oder über die Methoden des Gene Drive ökologische Systeme verändert werden sollen.

Durch das seit den 1990er Jahren zunehmend in völkerrechtliche Dokumente und in das EU-Recht aufgenommene sogenannte „Vorsorgeprinzip“ (engl. *precautionary principle*) wird

<sup>130</sup> Master Z. & Resnik, D.B. Hype and Public Trust in Science. *Sci. Eng. Ethics* 19, 321–335 (2013); David B. & Resnik, D.B. Scientific Research and the Public Trust. *Sci. Eng. Ethics* 17, 399–409 (2011).

<sup>131</sup> Vgl. eventuell Evelyn Fox Keller, *Making Sense of Life. Explaining Biological Development with Models, Metaphors and Machines*, Harvard 2002.

<sup>132</sup> Vgl. Nuffield Council on Bioethics, <http://nuffieldbioethics.org/project/genome-editing/ethical-review-published-september-2016>, S. 114.

<sup>133</sup> Schaefer, K.A., Wen-Hsuan W., Colgan, D.F., Tsang, S.H., Bussuk, A.G. & Mahajan, V.B. Unexpected mutations after CrispCas9 editing in vivo. *Nat. Methods*, 14, 547–548 (2017).

Editorial: CRISPR off-targets: a reassessment. *Nat. Methods*, 15, 229–230 (2018).

Ravindran, S. New Methods to Detect CRISPR Off-Target Mutations. *The Scientist* 1. März 2018.

<sup>134</sup> Die Komplexität der Regelmechanismen wurde durch das ENCODE-Projekt des National Human Genome Research Institute (NHGRI) beschrieben. <https://www.encodeproject.org/>



versucht, präventive staatliche Maßnahmen zur Risikominimierung zu legitimieren, auch wenn ein „Mangel vollständiger wissenschaftlicher Gewissheit“ gegeben ist<sup>135</sup>. Die Leistungskraft dieses Prinzips, als ein ethisches Prinzip, wird immer wieder kritisch hinterfragt, <sup>136</sup> dennoch haben fast alle Staaten Verträge unter Einbeziehung dieses Prinzips ratifiziert. Zur Risikoabschätzung muss auch der Versuch eines Urteils darüber gehören, welche Gefahren daraus entstehen, wenn neue technologische Möglichkeiten nicht genützt werden. Die Verantwortung für Risiken muss in ein Verhältnis gebracht werden zur Verantwortung für Innovation<sup>137</sup>.

### **3) Welches sind die Bereiche, in denen die Methode eingesetzt wird oder werden soll?**

Mit dem Paradigma der Genomforschung ist eine nivellierende Tendenz verbunden. Da in allen Organismen genetische Information eine wichtige Rolle spielt, entsteht der Eindruck, dass es keine Rolle spielt, ob die Methode in Zellkulturen, in der Pflanzen- und Tierzucht, oder in der Humanmedizin eingesetzt wird. Im Forschungsalltag spielen die speziesspezifischen Unterschiede allerdings eine zentrale Rolle, sowohl im Hinblick auf die Effektivität der Methoden, wie auch im Hinblick auf die rechtlichen Rahmenbedingungen, die das Forschungsfeld strukturieren. Je nach Einsatzbereich gibt es unterschiedliche Regelungen, die beim Einsatz der Methoden berücksichtigt werden müssen. Die juristisch kodifizierten Normen sind dabei Kristallisationen ethischer Überzeugungen und Schutzinteressen.

### **4) Welche Ziele sollen mit den neuen Methoden erreicht werden?**

Das Bestreben, die Lebensbedingungen des Menschen zu verbessern, ist unumstritten. Es ist eine ethische Verpflichtung, Krankheiten zu bekämpfen und Leiden zu vermindern. Die Kontroversen entzündeten sich an der Frage, welche Mittel für die Erreichung dieser Ziele eingesetzt werden und welche Risiken dabei in Kauf genommen werden müssen. Ethisch unumstritten ist auch die Ablehnung des Einsatzes der neuen Technologien zur Entwicklung von Biowaffen. Da jede Technologie für die Erreichung positiver Ziele wie zur Zerstörung verwendet werden kann, stellen sich schwierige Abgrenzungsprobleme, die unter dem Stichwort Dual-Use-Probleme verhandelt werden<sup>138</sup>.

Ethisch unterschiedlich zu bewerten sind Ziele wie die Verbesserung von Methoden in der Grundlagenforschung oder die Verbesserung von Ernährungsmöglichkeiten durch genetisch veränderte Pflanzen oder Tiere. Hohe Sensibilität besteht bei der Forschung im Humanbereich, bei den Versuchen somatische Zellen zu verändern. Therapeutische Zielsetzungen sind zu unterscheiden von Versuchen, die auf „enhancement“ zielen, die Optimierung von menschlichen Eigenschaften. Am meisten umstritten sind die Eingriffe in die menschliche Keimbahn<sup>139</sup> und Embryonenforschung beim Menschen, die derzeit im Stadium der Grundlagenforschung ist, aber von den betreffenden Akteuren auch mit dem Versprechen auf medizinische Anwendungen vorangetrieben wird.

Alle auf einzelne konkrete Anwendungen bezogenen Urteile sind meistens eingebettet in biographisch tief verwurzelte Hintergrundüberzeugung, Vermutungen, Hoffnungen und Befürchtungen im Hinblick auf die „Zukunft“. Diese „Vorurteile“ bestimmen das individuelle Urteil. Da sich diese „Rahmungen“ in modernen Gesellschaften je nach Gruppenzugehörigkeit stark unterscheiden, werden moderne Technologien zu Brennpunkten für kulturelle Konflikte, in denen es nie allein um die jeweilige Technologie geht. Wer die „öffentliche Debatte“ fördern will, muss diese symbolische Dimension im Auge behalten, die sich nur begrenzt durch noch mehr technologiebezogene Information „steuern“ lässt.

### **5) Wie kann das Forschungsgebiet so reguliert werden, dass sowohl der wissenschaftliche Fortschritt als auch die Forschungsfreiheit als berechnete und zu schützende Interessen behandelt werden?**

Da die Forschung international ist, haben nationalstaatliche Vorschriften nur eine begrenzte Regelungskraft. Darüber hinaus besteht die Notwendigkeit, die Vorteile eines innovativen Vorhabens ständig neu abzuwägen, um ein ausgewogenes Verhältnis zwischen gegensätzlichen Interessen zu finden, die zwangsläufig eine internationale Dimension haben werden. Dies trotz der Tatsache, dass Überlegungen zu Regulierung und Steuerung in der Regel Prozesse sind, die innerhalb politischer Kulturen stattfinden<sup>140</sup>.

<sup>135</sup> Für die Anwendung in der EU: Mitteilung der Europäischen Kommission vom 2. Februar 2000 über die Anwendbarkeit des Vorsorgeprinzips. Brüssel, 2000. Für Cass R. Sunsteins kritische Auseinandersetzung, *Laws of Fear: Beyond the Precautionary Principle*. New York 2005 (Deutsch: *Gesetze der Angst: Jenseits des Vorsorgeprinzips*. Frankfurt a.M. 2007); Göran Hermeren: *The principle of proportionality revisited: interpretations and applications*, in: *Med. Health Care Philos.* 15, 373–82 (2012).

<sup>136</sup> Andere verteidigen jedoch eine Auslegung des Vorsorgeprinzips aus der Sicht der Wissenschaftsphilosophie, Daniel Steel, *Philosophy and the Precautionary Principle – Science, Evidence, and Environmental Policy*, 2015.

<sup>137</sup> Alfons Bora A. *Zukunftsfähigkeit und Innovationsverantwortung – Zum gesellschaftlichen Umgang mit komplexer Temporalität*, in: Eifert M, Hoffmann-Riem W, Hrsg. *Innovationsverantwortung. Innovation und Recht*. Bd. 3. Berlin 2009: 45–67.

<sup>138</sup> Vgl. dazu die Stellungnahme des Deutschen Ethikrates vom Mai 2014 „Biosicherheit – Freiheit und Verantwortung in der Wissenschaft“; DFG und Leopoldina „Wissenschaftsfreiheit und Wissenschaftsverantwortung – Empfehlungen zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung“ Bonn und Halle (Saale) 2014.

<sup>139</sup> Lanphier, E., Urnov, F. et al. Don't edit the human germ line. *Nature* 519, 410–411, (2015).

Baltimore D., Berg, P. et al. A prudent path forward for genomic engineering and germline genome modification. *Science* 348, 36–38 (2015).

<sup>140</sup> Sheila Jasanoff (Hrsg.), *Reframing Rights. Bioconstitutionalism in the Genetic Age*, Cambridge 2011.



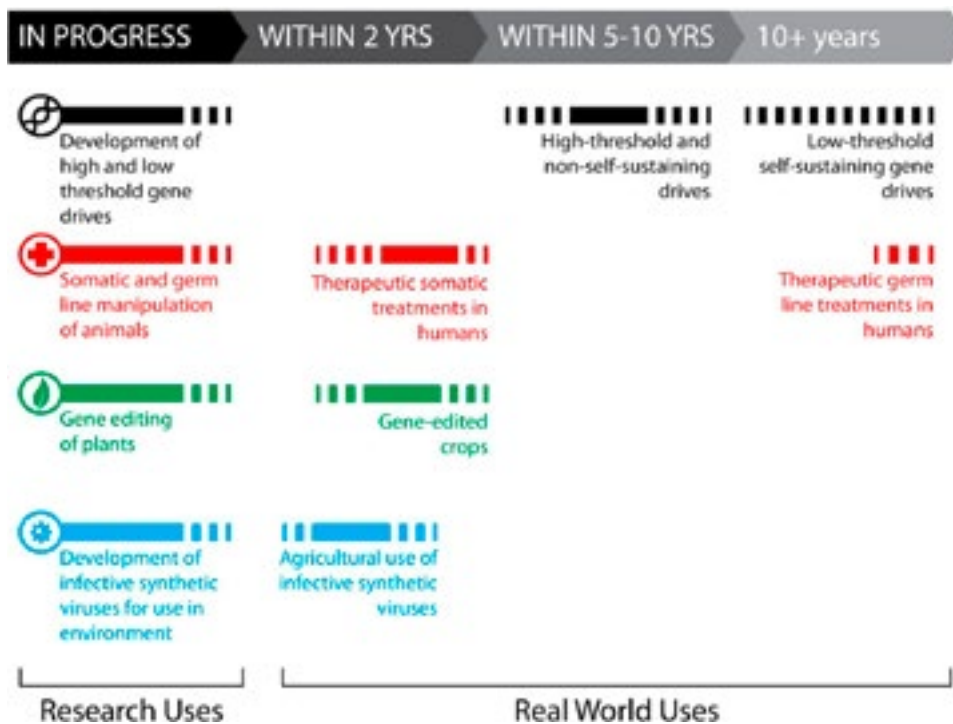
## 6) Die Debatte über CRISPR-Cas9-Techniken hat auch eine wirtschaftliche Dimension.

So wird beispielsweise betont, dass die neuen Methoden kostengünstiger sind als die bisherigen. Diese wirtschaftliche Dimension wird noch deutlicher in den Patentstreitigkeiten, die derzeit zwischen den wichtigsten wissenschaftlichen Akteuren ausgetragen werden<sup>141</sup>.

Unternehmen aus dem Bereich der Biowissenschaften haben diese Technologien für kommerzielle Zwecke lizenziert. Die Max-Planck-Gesellschaft sollte alle Anstrengungen unternehmen, um sicherzustellen, dass die Lizenzpraktiken die Freiheit der wissenschaftlichen Forschung im Zusammenhang mit dieser Technik nicht beeinträchtigen. Es wurde vom

Committee of Ethics, Law, and Society (CELS) der *Human Genome Organization* (HUGO) vorgeschlagen, für die Genom-Editierung das Prinzip der „genomischen Solidarität und Priorität des öffentlichen Interesses“ anzuwenden. Nach diesem Grundsatz hat jeder das Recht auf Zugang zum Nutzen der Forschung wie etwa dem medizinischen Fortschritt, wobei Öffentlichkeit und Wissenschaftler gemeinsame Eigentümer von Entdeckungen und resultierenden Chancen sind.<sup>142</sup>

Weil Forschung ein Handeln in der Zeit ist, macht es Sinn zu unterscheiden zwischen vorrangigen Problemen, die in der Gegenwart schon einer Stellungnahme bedürfen und Zukunftsszenarien, die noch in weiter zeitlicher Ferne liegen. (Abbildung 3).



**Abbildung 3:** Geschätzter Zeitrahmen für Forschung und Entwicklung im Bereich der Gen-Editierung mit CRISPR in verschiedenen Systemen.

<sup>141</sup> Ledford, H. Bitter CRISPR patent war intensifies, *Nature* 26. Okt. 2017 (<https://www.nature.com/news/bitter-crispr-patent-war-intensifies-1.22892>),

Ebd. Why the CRISPR patent verdict isn't the end of the story, *Nature* 17. Feb. 2017. DOI:10.1038/nature.2017.21510.

Van Erp P.B. et al. The history and market impact of CRISPR RNA- guided nuclease., *Curr Opin Virol* June 2015 85–90;

Egelie, K.J. et al. The emerging patent landscape of CRISPR-CAS gene editing technology, *Nature Biotechnol.* 34, 1025–1031, (2016).

Sherkow, J.S. Pursuit of Profit poisons collaboration, *Nature* 532, 172–173 (2016).

<sup>142</sup> Mulvihill, B., Capps, B., Joly, Y., Lysaght, T., Zwart, H.A. E. & Chadwick, R. The International Human Genome Organisation (HUGO) Committee of Ethics, Law and Society (CELS). Ethical issues of CRISPR technology and gene editing through the lens of solidarity. *Br. Med. Bull.* 122, 17–29 (2017).

Capps, B., Chadwick, R., Joly, Y., Mulvihill, J.J., Lysaght, T. & Zwart, H. Falling giants and the rise of gene editing: ethics, private interests and the public good. *Human Genomics* 11, 20 (2017).



Die Angst vor dem Designer-Baby ist vorerst unbegründet, da es dafür nach dem derzeitigen Stand der Technik keine wissenschaftlich fundierte Umsetzungsmöglichkeit gibt. Zu einigen dringenden Problemen gibt es derzeit aufgrund der bereits bestehenden Praktiken keinen Konsens. Folgende Beispiele sind in diesem Zusammenhang zu nennen:

1. Wie können gentechnisch veränderte Organismen im Rahmen der bestehenden gesetzlichen Rahmenbedingungen eingeordnet werden? Zu unterscheiden ist hier zwischen der Tatsache, dass jeder Eingriff in das Genom eines Organismus eine Handlung darstellt, für die der Mensch verantwortlich ist, und der Frage, wie ein solcher Eingriff reglementiert werden soll.

Die gegenwärtige heftige Debatte über diese Frage gleicht mehr einem Spiel mit verdeckten Karten. Diejenigen, die gentechnische Veränderungen grundsätzlich ablehnen, kämpfen für eine Reglementierung durch die bestehende Gentechnikgesetzgebung. Diejenigen, die sich für die Technologien einsetzen, wünschen schnelle Zulassungsverfahren, wobei sie argumentieren, dass die bestehenden Vorschriften zumindest nicht auf Veränderungen angewendet werden sollten, die sich nicht von Mutationen in der Natur unterscheiden lassen. Im Kern wird dieser Konflikt durch unterschiedliche politische und wirtschaftliche Interessen befeuert.

2. Die Forschung mit und an menschlichen Embryonen sowie Eingriffe in die Keimbahn stellen sensible Themen dar, auch in der breiten Öffentlichkeit. In Deutschland ist die Genom-Editierung, die Teil einer Gentherapie ist und dazu dient, die Überlebenschancen eines menschlichen Embryos zu erhöhen, nicht gesetzlich verboten; das Gleiche gilt für die somatische Gentherapie. Die Editierung der menschlichen Keimbahn (d. h. die Therapie der menschlichen Keimbahn) ist in Deutschland – wie in anderen europäischen Staaten auch – verboten, aber ein universelles Verbot der Editierung der menschlichen Keimbahn gibt es bisher nicht. Darüber hinaus verbietet das deutsche Embryonenschutzgesetz strafrechtlich die Verwendung menschlicher Embryonen für die wissenschaftliche Forschung, einschließlich

der Gewinnung embryonaler Stammzellen. Dies ist jedoch umstritten, sofern lebensfähige menschliche Embryonen (z. B. tripnukleare Embryonen) für die Forschung verwendet werden. Andere europäische Staaten wie das Vereinigte Königreich, Schweden und Frankreich hingegen verbieten die Forschung mit menschlichen Embryonen nicht während eines Zeitraums von höchstens 14 Tagen nach der Befruchtung. In England, Schweden, in der privat finanzierten Forschung in den USA und auch in China wurden solche Experimente bereits durchgeführt<sup>143</sup>.

Ob die veränderte Forschungssituation genügend Gründe für eine Anpassung der gesetzlichen Regelungen (Embryonenschutzgesetz – ESchG) bietet, ist in Deutschland Gegenstand heftiger Diskussionen. Weltweit wird der Eingriff in die Keimbahn mit großer Zurückhaltung beurteilt und zur Vorsicht geraten.

Deutsche Forscher nutzen *de facto* die Ergebnisse der Forschung an menschlichen ES-Zellen im Ausland, da die dort gewonnenen Daten den „Goldstandard“ für die Beurteilung der Entwicklungs- und Differenzierungsfähigkeit anderer Zellen darstellen.

3. Eine von der Leopoldina vorgelegte Stellungnahme plädiert für ein Moratorium bezüglich der Editierung der menschlichen Keimbahn. Der Gipfel in Washington<sup>144</sup> hingegen verzichtete darauf, ein Moratorium zu fordern. Es gibt unterschiedliche Einschätzungen darüber, ob ein Moratorium in bestimmten Forschungsbereichen unter den heutigen Bedingungen ein geeignetes Instrument ist.

Ein Moratorium würde nicht unbedingt zu einem kategorischen Verbot der Forschung führen, aber es könnte als solches verstanden werden. Um die Risiken und das Potenzial einer solchen Technologie richtig einzuschätzen, ist es angebracht, die Tür für eine mögliche zukünftige Forschung offen zu halten. Darüber hinaus ist nicht klar, wer ein Moratorium verbindlich ankündigen und seine Einhaltung überwachen oder die Kriterien aufstellen könnte, die erfüllt sein müssen, damit das Moratorium beendet werden kann.

<sup>143</sup> Vgl. das erste Ergebnis der 2016 in England genehmigten Experimente mit verwaisten Embryonen aus der In-vitro-Fertilisation: Fogarty, N.M. E. et al. Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. *Nature* 55, 67–73 (2017).

<sup>144</sup> Vgl. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, *On Human Gene Editing: International Summit Statement*, 3. Dezember 2015, abrufbar unter <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>.





## Mitglieder der Arbeitsgruppe Genom-Editierung des Ethikrates der MPG und Autoren des Diskussionspapiers

---

**Prof. Emmanuelle Charpentier,**

Direktorin, Max-Planck-Forschungsstelle für die Wissenschaft  
der Pathogene, Berlin

**Prof. Dr. Stefan Mundlos,**

Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Forschungs-  
gruppenleiter Entwicklung & Krankheit  
Direktor, Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik  
(IMG) an der Charité, Berlin

**Dr. Thomas Rauen,**

Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster  
Abteilung Zell- und Entwicklungsbiologie

**Dr. Guy Reeves,**

Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie, Plön  
Abteilung Evolutionsgenetik

**Prof. Dr. Hans Schöler,**

Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster  
Direktor, Abteilung Zell- und Entwicklungsbiologie

**Prof. Dr. Klaus Tanner,**

Theologisches Seminar, Universität Heidelberg  
Professor für Systematische Theologie und Ethik

**Prof. Dr. jur. Silja Vöneky,**

Institut für Öffentliches Recht Universität Freiburg  
Abteilung 2: Völkerrecht, Rechtsvergleichung und Rechtsethik  
Professorin für Völkerrecht, Rechtsvergleichung und  
Rechtsethik

**Dr. Christiane Walch-Solimena,**

Generalverwaltung der Max-Planck-Gesellschaft, München  
Wissenschaftliche Referentin des Präsidenten für Lebens-  
wissenschaften und Medizin

**Prof. Dr. Detlef Weigel,**

Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie, Tübingen  
Direktor, Abteilung Molekularbiologie