


**EINE**

**SCHERE**

**FÜR DAS**

# ERBGENGUT

A pair of scissors is shown cutting through the word 'ERBGENGUT'. The scissors are positioned horizontally, with the blades cutting through the letters 'G' and 'U'. The word is written in a large, bold, black, sans-serif font. The background is a light, textured grey.

Schon lange suchten Wissenschaftler nach einem Werkzeug, um das Erbgut von Lebewesen zu manipulieren. Jetzt wurden sie fündig. Die perfekte Gen-Schere, genannt CRISPR, fanden sie ausgerechnet in einem Bakterium. Die neue Technologie ist so simpel und so wirkungsvoll, dass sie unser Leben verändern wird.

12 Fragen und 12 Antworten.

*Text: Jens Lubbadeh*

# „WIR STEHEN VOR EINEM GANZ NEUEN ZEITALTER DER MEDIZIN.“

## MIT CRISPR KÖNNTEN WIR UNHEILBARE KRANKHEITEN, WIE BEISPIELSWEISE AIDS, HEILEN.“

FRANK BUCHHOLZ, MOLEKULARBIOLOGE, DRESDEN

SIE TRAGEN DAS GEHEIMNIS des Lebens in sich: Gene, jene biologischen Handlungsanweisungen, die in jeder einzelnen Zelle gespeichert sind. Sie entscheiden bei jedem Lebewesen – von Bakterien über Tiere und Pflanzen bis zum Menschen – über Aussehen, Charakter und Gesundheit. Seit ihre Macht entdeckt wurde, träumen Forscher davon, diesen Code zu beeinflussen. Seit 2012 haben sie dazu ein neues, mächtiges Werkzeug zur Verfügung: Eine Genschere mit dem eigenwilligen Namen *CRISPR/Cas9*, die Eingriffe ins Erbgut schnell, billig und präzise erledigt. Kaum ein Labor mag noch auf den Einsatz dieser Technik verzichten. Schon haben Forscher das Erbgut von Embryonen manipuliert und das von Malaria übertragenden Mücken. Mit CRISPR können Wissenschaftler ganze Gensequenzen aus dem Erbgut schneiden und neue einfügen – und so in das Programm der Schöpfung eingreifen. Das eröffnet neue Chancen. Aber auch allerhand Risiken.

### 1 WARUM IST CRISPR EINE MEDIZINISCHE REVOLUTION?

Ärzte wollen heilen. Aber es gibt Krankheiten, die auf Fehlern in unserem Erbgut beruhen. Die teuflische Nervenkrankheit *Chorea Huntington* zum Beispiel, die Bluterkrankheit, Sichelzellenanämie, Mukoviszidose, Schizophrenie. Kleine Fehler in wichtigen Genen, die dramatische Konsequenzen haben. Bislang konnten Ärzte nur die Symptome behandeln. Blutern beispielsweise das für die Blutgerinnung fehlende Eiweiß spritzen. Diabetikern Insulin. Aidskranken Medikamente geben, die die Ausbreitung des tödlichen HI-Virus in ihrem Körper hemmen. Aber mit CRISPR haben sie nun das ultimative Werkzeug, um die Ursache all dieser Krankheiten zu beseitigen.

CRISPR ist eine molekulare Schere, die das Erbgutmolekül DNA schneiden kann – an jeder gewünschten Stelle. Schnipp, schnapp, und das kaputte Gen ist herausgeschnitten und durch die

korrekte Version ersetzt. Gentherapie kann dank CRISPR jetzt bei vielen Krankheiten angewandt werden. Und das könnte ähnlich dramatische Umwälzungen in der Medizin mit sich bringen wie einst die Antibiotika. „Wir stehen vor einem ganz neuen Zeitalter der Medizin“, sagt der Dresdner Molekularbiologe Frank Buchholz, der mit CRISPR beispielsweise Aids bekämpfen will. „Wir könnten damit unheilbare Krankheiten heilen.“

Zwar konnten Wissenschaftler schon vor der Entdeckung von CRISPR das Erbgut manipulieren, dies war jedoch sehr aufwendig. CRISPR hingegen ist einfach, schnell und vor allem günstig. Die Methode macht Operationen am Erbgut im Prinzip für jeden möglich. „Die CRISPR-Technik ist für die Genomtechnik, was Fords Fließbandwagen Modell T für die Automobiltechnik war“, sagt der Jurist und Biotechnikexperte Henry T. Greely von der Stanford University. Im gesamten Vorjahr wurden 1.248 Studien mit CRISPR-Bezug veröffentlicht, allein 2016 (bis Mitte Mai) waren es bereits 826.

## 2 WAS HEISST CRISPR ÜBERHAUPT?

CRISPR ist ein Akronym und steht für *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*. Zu Deutsch: „Gehäufte kurze palindromische Wiederholungen mit regelmäßigem Abstand“. Gemeint ist damit ein ganz bestimmter Abschnitt im Erbgut von Bakterien. Es ist aber ein Monster von Name, daher spricht man verkürzt nur von CRISPR (gesprochen: krisper). *Crisper* ist im Englischen übrigens das Wort für „knuspriger, frischer“ und recht passend für die Technologie, da sie frühere Genscheren sehr alt aussehen lässt.

Palindrome sind Wörter, die von vorn wie von hinten gelesen gleich lauten, wie beispielsweise „Rotor“ oder „Rentner“. In der Sprache der DNA sind Palindrome Buchstabenabfolgen wie GAATTAAG. Diese Strukturen sind Teil des CRISPR-Apparats in Bakterien, nach denen die Technologie benannt ist.

CRISPR ist nämlich eine Art Immunsystem, mit dem Bakterien sich vor Viren schützen. Dringt ein Virus ein und will sein Erbgut hineinschmuggeln, aktiviert das Bakterium den CRISPR-Abwehrmechanismus. Eine Genschere schwirrt

aus und findet dank einem ausgeklügelten Navigationssystem das eindringende Virus. Dann zerstört sie das Erbgut des Angreifers (siehe Kasten auf der nächsten Seite: „Bakterien wehren sich“).

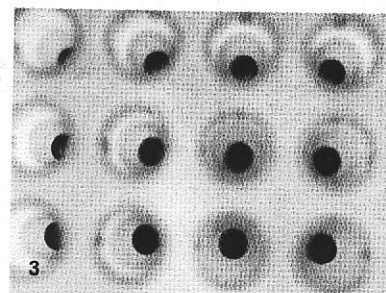
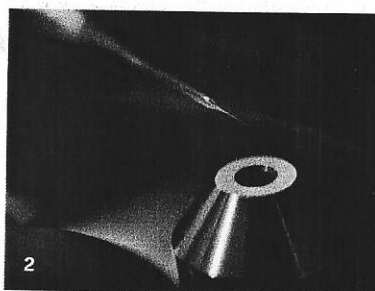
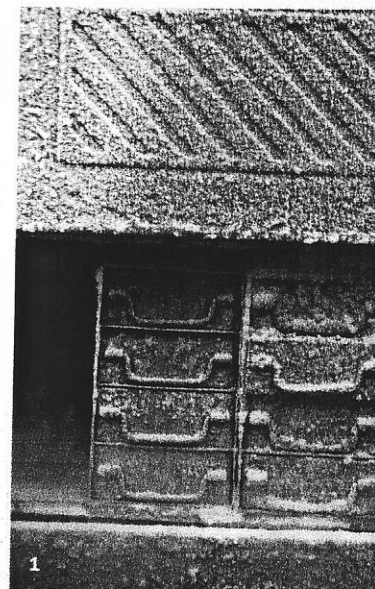
## 3 WORAUF BASIERT DIE ENTDECKUNG?

Der Entdeckung von CRISPR gingen viele Jahre Grundlagenforschung voraus. Die für CRISPR typischen Palindrome fielen 1987 erstmals japanischen Forschern im Erbgut des Darmbakteriums *E. Coli* auf. Nach und nach fanden Wissenschaftler auch in vielen anderen Bakterien CRISPR-Stellen im Erbgut. Und sie stellten fest, dass die Buchstabenfolgen zwischen den Palindromen sehr der DNA von Viren ähneln. Jetzt dämmerte den Forschern, das CRISPR der Abwehr von krankmachenden Eindringlingen dient. Aber wie genau funktioniert es?

Auch die Bakterienforscherin Emmanuelle Charpentier wollte das Rätsel lösen. Sie war in Bakterien einem Eiweiß namens *Cas9* auf der Spur – es kann Viren-Erbgut ganz hervorragend schneiden. Charpentier wollte herausfinden, ob diese Genschere womöglich Teil des CRISPR-Immunsystems war. Aber wie findet *Cas9* sein Ziel? Charpentier erkannte, dass die Genschere eine Art Navigationssystem haben musste: eines aus dem Schwestermolekül der DNA, der RNA. 2011 lernte sie die Forscherin und RNA-Expertin Jennifer Doudna auf einer Konferenz kennen. Eine schicksalhafte Begegnung. Schon kurze Zeit später entschlüsselten sie den CRISPR-Mechanismus.

## 4 WER HAT'S ERFUNDEN?

Im Jahr 2012 präsentieren Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier das Ergebnis ihrer Arbeit im renommierten Fachmagazin „Science“. Das allein wäre schon eine Sternstunde der Grundlagenforschung gewesen. Aber die Forscherinnen zeigten darüber hinaus, wie man die Genschere, die eigentlich feindliches Viren-Erbgut zerschneiden soll, zweckentfremden und auf andere Gene ansetzen kann. Die Forscherinnen schafften es, die Genschere so zu programmieren, dass →



### 1: Lagerung

Die gewonnenen Cas9-Proteine würden bei Raumtemperatur rasch zerfallen. Deshalb lagern sie hier bei minus 80 Grad.

### 2: Anwendung

Mit einer mikrofeinen Pipette wird die Genschere in Fliegenembryos injiziert.

### 3: Wirkungsforschung

In jeder Vertiefung der Kunststoffplatte befindet sich jeweils ein Tropfen einer gefärbten Probe. Hier prüfen Forscher, wo eine Mutation stattgefunden hat.

Die Laboraufnahmen, die diese Geschichte illustrieren, entstanden in den Wiener Forschungsinstituten IMP und IMBA, wo die Technik routinemäßig eingesetzt wird.



**Gelelektrophorese.** Bei diesem Arbeitsschritt im Labor werden Proteine sortiert. Dazu nutzen die Forscher die Kraft eines elektrischen Feldes, das die Biomoleküle abhängig von Größe und Ladung unterschiedlich stark bewegt. So kann das gesuchte Cas9-Protein an der Kante des biegsamen Gelriegels konzentriert werden. Cas9 wird genutzt, um DNA-Stränge gezielt zu durchtrennen.

## BAKTERIEN WEHREN SICH

Von Scheren und Spürhunden –  
wie die Genschere in freier Wildbahn funktioniert.

sie gezielt an einer ganz bestimmten Stelle der DNA hineinschneidet. Das brachte Charpentier und Doudna darauf, dass CRISPR ein sehr wertvolles Werkzeug für die Manipulation von Erbgut sein könnte. Allerdings demonstrierten sie die Übung vorerst nur an Bakterien. Für eine mögliche medizinische Anwendung lautete die entscheidende Frage: Würde die neu entdeckte Genschere aus einem Bakterium auch beim Menschen funktionieren?

Genau das nachzuweisen gelang als Erstes dem amerikanischen Forscher Feng Zhang. Nur wenige Monate nach der bahnbrechenden „Science“-Veröffentlichung der CRISPR-Entdeckerinnen publizierte der in China geborene Wissenschaftler eine Arbeit, in der er mit der CRISPR-Schere erstmals das Erbgut menschlicher Zellen im Reagenzglas schnitt.

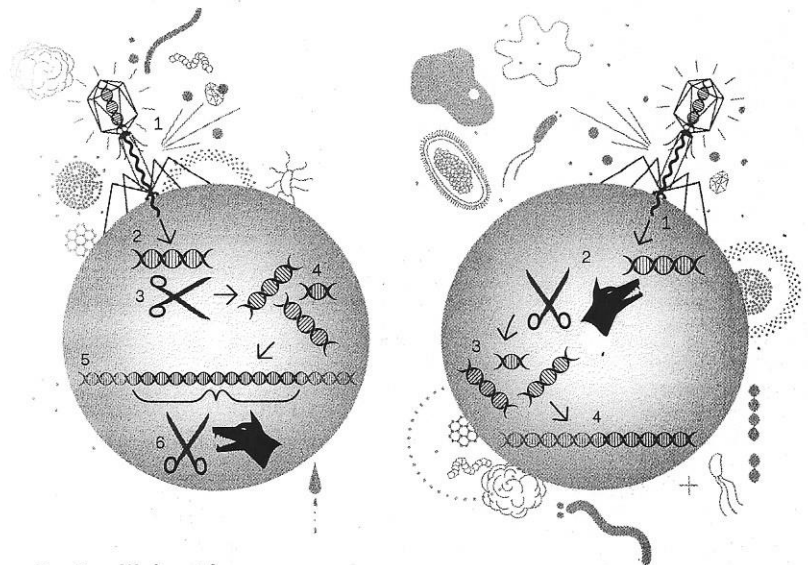
Daran geknüpft ist der bis heute ungeklärte Patentstreit zwischen Doudna/Charpentier und Zhang, wem die Rechte an der CRISPR-Technologie für die Anwendung an allen Organismen außer Bakterien gehören (siehe auch Punkt 10 und 11).

### 5 WIE GENAU FUNKTIONIERT EINE GEN-SCHERE?

In jeder biologischen Zelle steckt DNA, jenes Molekül, das die Erbinformation enthält. Es sieht aus wie eine gedrehte Strickleiter. Die Sprossen sind Buchstaben. Sie formen Worte – die Gene. Alle Worte zusammen bilden das Buch. Jede Zelle enthält eine komplette Kopie dieses Buchs. Die Gene sind Anleitungen für den Bau von Eiweißen, die in der Zelle allerhand Dinge tun. Sie bauen Substanzen auf, bauen sie ab, transportieren sie.

Die CRISPR-Methode basiert auf mehreren Komponenten: Die Schere selbst ist ein Eiweiß, es hat im Fachjargon den Namen *Cas9* und schwimmt ständig in der Zelle auf Patrouille. Ein Navigationssystem aus einem Stück RNA – auch ein Erbgutmolekül – leitet die Genschere wie ein guter Spürhund, der sicher sein Ziel findet.

Der Clou von CRISPR ist, dass man dieses Suchsystem nach Belieben programmieren und die Schere so an jede gewünschte Stelle an der DNA-Strickleiter schicken kann. Lässt man die Schere an zwei Stellen gleichzeitig schneiden, kann man



Der Angriff eines Virus

Ein **Virus** (1) dockt an der Oberfläche des **Bakteriums** an und schleust sein Genmaterial (2) in das Innere. Dort soll es sich vermehren und schließlich weitere Viren produzieren. Weil das so häufig vorkommt, haben Bakterien eine Art Immunabwehr, die, wenn alles funktioniert, jetzt in Aktion tritt: Das Virusmaterial wird als Eindringling erkannt und von einer **Genschere** (3) zerschneidet. Die so entstandenen, nicht mehr funktionsfähigen **Bruchstücke** (4) werden an einer bestimmten Stelle in das **Genom des Bakteriums** (5) mit Abstandshaltern (schwarz) versehen und gespeichert. Dieser Abschnitt des Genoms heißt CRISPR. Auf Basis der gespeicherten Bruchstücke werden hier RNA-Moleküle gebildet, die wie **Spürhunde** nach Eindringlingen Ausschau halten, die so aussehen wie das erste Virus. Ihnen zur Seite: Cas9, die scharfe **Genschere**.

#### CRISPR/Cas9 schlägt zurück

Abermals dockt ein **Virus** an das Bakterium an und schleust sein Genmaterial durch die Hülle ins Innere (1). Der von CRISPR gebildete **Suchhund** stellt den Eindringling (2), weist der Genschere Cas9 den Weg. Die zerschneidet das Virusmaterial (3). Ein Teil davon wird wiederum in der Bakterien-DNA abgespeichert (4). Ein anderer Teil wird zersetzt und so unschädlich gemacht. Der Virusangriff ist erfolgreich abgewehrt.

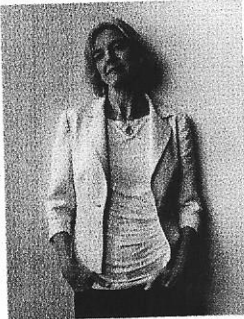
auf die Art ein Stück DNA, etwa ein kaputtes Gen, entfernen.

Nach einem Schnitt im Erbgut werden in einer menschlichen Zelle normalerweise Reparaturmechanismen aktiviert. Sie kleben die beiden DNA-Enden wieder zusammen – wenn man der Genschere gleich noch ein Stückchen Ersatz-DNA mitgibt, dann wird das Reparatursystem dieses Stückchen DNA als perfekten Ersatzteil an der geschnittenen Stelle einbauen. So kann man ein kaputtes durch ein funktionierendes Gen ersetzen. Man kann sich das auch so vorstellen wie bei einer Textverarbeitung: Beliebige Stellen im Text können gelöscht und durch neue Inhalte ersetzt werden. So lässt sich die DNA umschreiben. →



**Emmanuelle Charpentier**  
Die Französin kam während ihrer Forschungsjahre in Wien dem Immunsystem von Bakterien auf die Spur.

**Jennifer Doudna**  
Die amerikanische Biologin brachte ihr Wissen über RNA genannte Moleküle ein. Gemeinsam konnten die beiden Forscherinnen den Mechanismus der Genschere entschlüsseln.



## 6 WARUM IST CRISPR SO TOLL, UND WAS KANN MAN ALLES DAMIT MACHEN?

Schon in den 1970er-Jahren manipulierten Forscher Erbgut. Mit molekularen Pistolen schossen sie Gene in Zellen oder schleusten sie mit Viren ein, in der Hoffnung, dass sich die Gene irgendwo in der DNA-Strickleiter einbauen würden. Das klappte jedoch nur selten und war obendrein riskant, denn es ließ sich nicht steuern, wo die neue Information genau andockte. Zur Illustration eine Textanalogie: Wollte man das Wort „rote“ in den Satz „Der alte Mann trug eine Rose“ einbauen, würde bei solch einem Zufallsprinzip so gut wie nie „Der alte Mann trug eine rote Rose“ herauskommen, sondern eher Sätze wie „Der alrotete Mann trug eine Rose“.

Was bei der Satz analogie Unsinn ergibt, würde im Erbgut Gene kaputt machen. Auf diese Weise im menschlichen Erbgut herumzuschneipeln war viel zu gefährlich. Man brauchte eine Genschere mit verlässlichem Navigationssystem.

Die fand man zwar, aber sie hatte einen enormen Nachteil: Für jeden Schnitt müsste man einen neuen Spürhund programmieren. Das ist, als müsste der Chirurg während einer OP nach jedem Schnitt das Skalpell wegwerfen und in der Metallgießerei ein neues beauftragen.

Niemand hätte geglaubt, dass man ausge-rechnet in Bakterien die ideale Genschere finden würde. Mit CRISPR lässt sich Erbgut leicht und schnell schneiden, sogar an mehreren Stellen gleichzeitig. Im vergangenen Jahr entfernten Forscher 62 Gene auf einen Schlag aus den Zellen von Schweinen. Was vor 30 Jahren noch mehrere Forscherleben gedauert hätte, geht nun in wenigen Stunden. Zu einem Bruchteil der Kosten.

Aber nicht nur kaputte Gene lassen sich mit Hilfe von CRISPR reparieren. Die neue Genschere macht Gentechnik zu einem Kinderspiel.

Das regt naturgemäß die Fantasie an: Bakterien, die Biosprit produzieren oder verschüttetes Öl in Ozeanen abbauen können? Pflanzen, die schneller wachsen und mehr Ertrag liefern? Schweine, deren Organe vom menschlichen Immunsystem nicht mehr abgestoßen werden und

daher als Ersatzteillager für Transplantationen dienen können? Die denkbaren Anwendungen von CRISPR sind schier grenzenlos.

## 7 KANN DABEI AUCH ETWAS SCHIEFGEHEN?

Die neue Genschere CRISPR ist noch nicht perfekt: Selten, aber doch schneidet sie an der falschen Stelle. Die Folge: Schäden im Erbgut, im schlimmsten Fall kann dadurch Krebs entstehen. Wie häufig CRISPR danebenschnidet, ist erst Gegenstand der Forschung. Aber klar ist: Bevor Ärzte CRISPR bei Patienten anwenden, muss das Instrument absolut fehlerfrei arbeiten. Viele Wissenschaftler bemühen sich daher derzeit, die Fehlerrate von CRISPR zu senken. Erst im Jänner stellten Harvard-Forscher eine modifizierte „High Fidelity“-Variante der Genschere vor. Sie soll so gut wie keine Fehler mehr machen.

Doch eine Gentherapie ist ein gravierender Eingriff mit schwer absehbaren Nebenwirkungen. Selbst das Drumherum birgt Risiken. 1999 etwa versuchten Ärzte, das Genom des 18-jährigen Jesse Gelsinger zu verändern. Seine Leber funktioniert nicht richtig, deshalb reicherte sich in seinem Blut giftiges Ammonium an. Mittels Viren wollten die Ärzte nun das fehlende Gen in seine Leberzelle einschleusen. Weil ihr Verfahren so ineffizient war, injizierten sie ihm gleich eine Billion Viren. Ein fataler Fehler. Vier Tage später schoss Gelsingers Immunsystem über. Seine Organe versagten, der junge Mann starb. Sein Schicksal zeigte, dass selbst die plausibelsten Konzepte vorsichtig erprobt werden müssen.

## 8 WELCHE UNHEILBAREN KRANKHEITEN WERDEN DAMIT HEILBAR?

Die Mediziner können mit CRISPR theoretisch jede Krankheit bekämpfen, die durch Veränderungen im Erbgut verursacht wird. Krankheiten wie Sichelzellenanämie, Mukoviszidose, Thalassämie, Tay-Sachs-Syndrom, Fragiles X-Syndrom, aber auch Chorea Huntington sind Kandidaten für Gentherapie, vor allem weil

# CRISPR IM EINSATZ

Wie die neue Technik die Grundlagenforschung der Genetiker beflügelt.

all diesen Krankheiten nur ein einziges Gen kaputt ist. 10.000 sogenannte monogenetische Erkrankungen sind derzeit bekannt. Wenige gezielte Schnitte im Erbgut würden theoretisch reichen, um sie zu heilen.

Aber die praktische Anwendung könnte von Krankheit zu Krankheit unterschiedlich kompliziert sein. Jedes dieser Leiden betrifft unterschiedliche Organe. In der Praxis kann es schwierig sein, im Körper des Patienten eine Gentherapie durchzuführen – vor allem wenn das betroffene Organ schwer zugänglich ist.

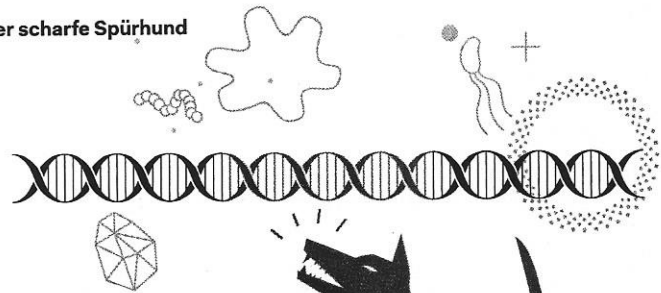
Die ersten Gentherapien werden daher wahrscheinlich so ablaufen, dass Ärzte dem Patienten Zellen entnehmen, in ihnen das defekte Gen mit CRISPR reparieren und dem Patienten die Zellen zurücktransplantieren. Mit Blutzellen geht das besonders gut, weil Blut ein mobiles Organ ist. Die ersten Gentherapien werden sich daher vermutlich auf Erkrankungen des Blutes konzentrieren: Sichelzellenanämie, Bluterkrankheit, Leukämie und auch Aids. In einem nächsten Schritt könnten sich Forscher Krankheiten von gut zugänglichen Organen zuwenden, glaubt der Dresdner Molekularbiologe Frank Buchholz. Konkret: „Die Leber, die Muskeln, das Auge.“

## 9 WANN WERDEN DIE THERAPIEN IM KLINISCHEN EINSATZ ANGEBOten WERDEN?

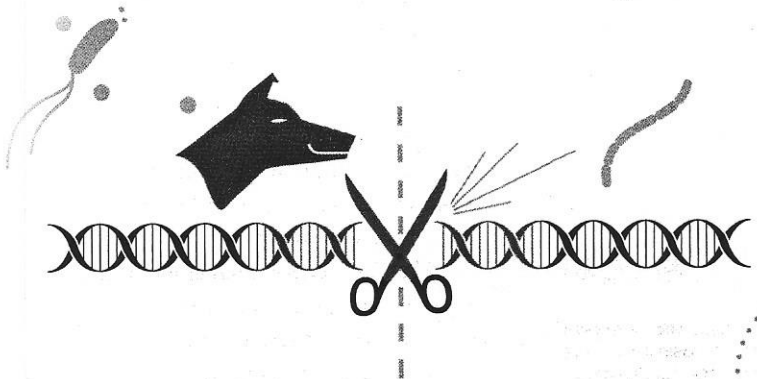
„Innerhalb der nächsten zehn Jahre sehe ich diese Technologie in der klinischen Anwendung.“ Das ist die Einschätzung der CRISPR-Co-Entdeckerin Jennifer Doudna. Sie meint damit den Routinebetrieb. Im Rahmen von Versuchen nutzen Ärzte und Biologen die Technik schon heute für die Behandlung von Krankheiten.

2014 veränderten Forscher ein Gen, das in den sogenannten *T-Helferzellen* aktiv ist. Diese Zellen sind Teil des menschlichen Immunsystems und für die Zerstörung angreifender Viren verantwortlich. Das Aids auslösende HI-Virus hat sich nun aber ausgerechnet diese T-Helferzellen als Ziel ausgesucht. Die Genmanipulation verändert die Oberfläche dieser Zellen, sodass die HI-Viren nicht mehr so leicht in die Zelle eindringen →

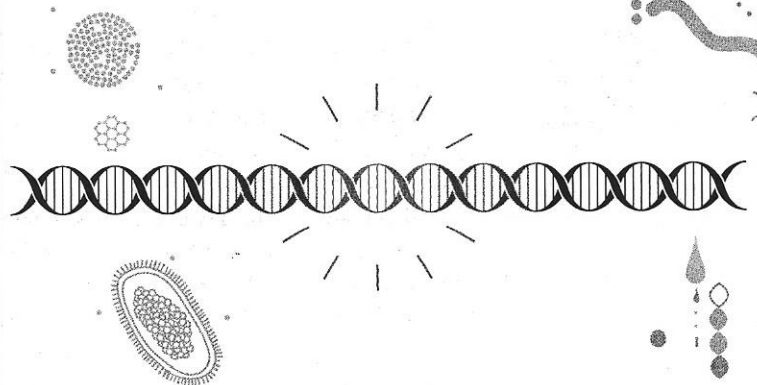
### 1: Der scharfe Spürhund



### 2: Der gezielte Schnitt



### 3: Der DNA-Flicken



**1:** Dank CRISPR/Cas9 können Forscher an **exakt definierter** Stelle im Erbgut schneiden. Damit haben sie ein extrem vielseitiges Werkzeug für die Grundlagenforschung an der Hand. Sie können nun bestimmte Gene ganz einfach lahmlegen. Dazu setzen sie den CRISPR-Spürhund auf die gewünschte Stelle im Erbgut an.

**2:** CRISPR findet das definierte Gen. Immer im Schlepptau dabei: die **Genschere Cas9**. Die durchtrennt den DNA-Strang exakt an der vorher festgelegten Stelle.

**3:** Nun tritt ein **Reparaturmechanismus** der Zelle in Kraft. Er verbindet die losen Enden und fügt dabei noch ein paar Genbuchstaben als eine Art „Flicken“ ein. Durch diese Veränderung seiner Sequenz verliert das Gen seine Funktion. Die Folge: Die Zelle bleibt zwar prinzipiell lebensfähig, doch genau ein Gen ist nicht mehr aktiv. Nun können die Forscher sehen, welche Veränderungen im Organismus das nach sich zieht, und schließen daraus auf die Funktion des zerschnittenen und geflickten Gens. Eine radikalere Möglichkeit ist es, die Genschere gleich **zweimal schneiden** zu lassen und so ein ganzes Gen **ersatzlos zu löschen**. Der Sinn liegt auch hier darin, die Funktion des fehlenden Gens zu erkennen. Vor der Entdeckung von CRISPR waren derartige Studien teuer und zeitraubend.