

B.2.16

Genetik

Genschere CRISPR/Cas9 – Comeback der Mammuts?

Ein Beitrag von Theresa Abel und Dr. Monika Pohlmann
Mit Illustrationen von Hans Schumacher und Sylvana Timmer



© RAABE 2019

© mansuang suttrakarn/Stock/Getty Images Plus

Obwohl letzte Vertreter des Wollhaarmammuts, *Mammuthus primigenius*, bereits vor etwa 4000 Jahren ausgestorben sind, sehen Wissenschaftler die Möglichkeit, das Wollhaarmammut „wieder aufleben“ zu lassen. Denn mithilfe der neuesten Genschere CRISPR/Cas9 ist es möglich, das Genom einer Asiatischen Elefantenkuh so zu verändern, dass einzelne Gensequenzen ausgeschnitten und „typische Mammutgene“ eingesetzt werden könnten. Ihre Schüler beschäftigen sich in dieser Einheit mit dem Aufbau und der Funktion der Genschere CRISPR/Cas9 sowie mit den ethischen Fragen, die ein mögliches Comeback von Wollhaarmammuts mit sich bringt.

KOMPETENZPROFIL

Klassenstufe:	Sek II
Dauer:	6 Unterrichtsstunden (Minimalplan: 5)
Kompetenzen:	1. Pyrosequenzierung als molekulargenetisches Sequenzierungsverfahren beschreiben; 2. Aufbau und Funktionsweise der Genschere CRISPR/Cas9 kennen; 3. Entscheidungsmöglichkeiten im ethischen Konflikt abwägen
Thematische Bereiche:	Genetik, Paläogenetik, Kompetenzbereich Bewertung

M 2

Wie wird Mammut-DNA sequenziert?



© PopTech 2010/CC-BY SA 2.0/
wikimedia commons

Beth Shapiro ist eine Paläogenetikerin. Sie untersucht täglich genetisches Material von ausgestorbenen Tieren. Aus Knochen und ur-altem Gewebe kann sie aDNA (ancient DNA) extrahieren und mit modernen Sequenzierungsverfahren die Reihenfolge der Nukleotide bestimmen. Anhand der aDNA kann sie viele wichtige Informationen über das ausgestorbene Wollhaarmammut gewinnen. Zuletzt hat sie acht sehr gut erhaltene Proben aus Knochen eines Wollhaarmammuts erhalten, das im sibirischen Permafrostboden gefunden wurde. Ihr und ihrem Team ist es gelungen, 28 Millionen Basenpaare aus den Proben zu sequenzieren.

Doch das war kein leichtes Unterfangen ...

Aufgaben

1. Erklären Sie stichwortartig den Prozess der Pyrosequenzierung (Text A).
2. Erstellen Sie ein Flussdiagramm zum Ablauf der Pyrosequenzierung und beschreiben Sie den Fachbegriff mit eigenen Worten in einem Glossar. Erläutern Sie die Technik der Pyrosequenzierung an Ihrem Diagramm dem Plenum.
3. Stellen Sie Hypothesen auf, welche Probleme bei der Sequenzierung von aDNA auftreten könnten. Fertigen Sie dazu eine Mindmap an, in der Sie Ihre Vermutungen festhalten. Vergleichen Sie Ihre Vermutungen mit denen Ihres Lernpartners.
4. Bearbeiten Sie Text B und vergleichen Sie Ihre Hypothesen mit den Aussagen im Text. Erweitern Sie ggf. Ihre Mindmap.
5. Beschreiben Sie die Zuordnung sequenzierter Mammut-DNA zu anderen Gruppen von Lebewesen im Kreisdiagramm und deuten Sie das Ergebnis der Mammut-DNA-Sequenzierung.

A: Die Sequenzierung alter DNA

Sehr häufig ist die DNA ausgestorbener Tiere, die man untersuchen will, nur in äußerst geringen Mengen verfügbar. Um aber weitere Analysen der aDNA durchführen zu können, muss die nutzbare DNA vervielfältigt werden, bevor man die Sequenzen der DNA bestimmen kann. Für die Erforschung alter DNA ist daher die Entwicklung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von entscheidender Bedeutung. Beth Shapiro und ihr Team nutzten eine neuere Sequenzieretechnik, die sogenannte Pyrosequenzierung, die kostengünstiger und deutlich schneller verläuft als das bis zu diesem Zeitpunkt etablierte PCR-Verfahren. Bei der Pyrosequenzierung findet die PCR in einer Öl-Wasser-Emulsion statt. Mit diesem Verfahren können einzelne DNA-Fragmente in kürzester Zeit millionenfach kopiert werden. Die Synthese des komplementären Stranges kann anschließend in Echtzeit Nukleotid für Nukleotid verfolgt werden, was bedeutet, dass die Pyrosequenzierung nach dem Prinzip des *Sequencing by Synthesis* erfolgt. Im Folgenden werden die einzelnen Schritte der PCR und der Pyrosequenzierung dargestellt.



Mit der Genschere CRISPR/Cas9 zur Vervollständigung der Mammut-DNA

M 3

Genetiker nutzen schon seit Jahrzehnten verschiedene Enzyme, mit deren Hilfe sie die DNA abbauen oder schneiden und somit in ihrer Zusammensetzung verändern können. Die gezielte Modifikation von DNA mittels dieser Enzyme nennt man „Genom-Editierung“ (engl. Genome Editing). Doch die bestehenden Verfahren waren begrenzt, teuer und langwierig. Mit der Entdeckung der Funktion von CRISPR/Cas9 im Jahre 2012 hat sich ein bedeutendes Werkzeug der Genomchirurgie etabliert, das es erlaubt, das Erbgut von Lebewesen gezielt, schnell und kostengünstig zu verändern.

A: CRISPR/Cas9 – adaptives Immunsystem gegen Viren

CRISPR steht für „Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“ (dt.: gehäuft auftretende, regelmäßig unterbrochene, kurze Wiederholungen von Palindromen). Bereits 1987 entdeckten Forscher, dass sich im Genom des Bakteriums *E. coli* eine Vielzahl kurzer, repetitiver (sich wiederholender) DNA-Sequenzen befindet, die teilweise palindromisch, d. h. vorwärts und rückwärts ablesbar, sind. In diesen Sequenzen integriert befinden sich sogenannte Spacer. Dabei handelt es sich um DNA-Sequenzen von Viren. Wissenschaftler entdeckten, dass die CRISPR-DNA transkribiert werden kann und mit Cas-Genen eine funktionelle Einheit bildet. Cas bedeutet „CRISPR-associated“ (mit CRISPR verbundene Gene). Diese Gene kodieren für Endonukleasen. Proteine mit Nuklease-Aktivität schneiden DNA. 2007 entschlüsselten Forscher die Funktion des CRISPR/Cas-Systems. Sie fanden heraus, dass es sich bei CRISPR um ein anpassungsfähiges Immunabwehrsystem von Bakterien handelt, mit dessen Hilfe sie sich vor Angriffen durch Viren schützen.

Merke: Als „Palindrom“ bezeichnet man einen DNA-Abschnitt, bei dem jeder Strang in jeweils entgegengesetzte Richtung die gleiche Basensequenz enthält:
5'-GAATTC-3'
3'-CTTAAG-5'

Phase 1: Akquisitionsphase oder Beschaffungsphase

Werden Bakterien zum ersten Mal mit einem bestimmten Virus infiziert, fügen sie ein Stück der viralen DNA, den Protospacer, in die CRISPR-DNA als neuen Spacer ein. Damit ist das Virus bei einem späteren Angriff auf molekularem Niveau wiederzuerkennen.

Phase 2: Bearbeitungsphase

Die CRISPR-Region, die die Spacer enthält, wird durch Polymerasen abgelesen und vervielfältigt. Das Transkriptionsprodukt, die Vorläufer-CRISPR-RNA (pre-crRNA), muss durch Prozessierung in „reife“ crRNA umgewandelt werden. Die crRNA weist aufgrund ihres palindromischen Charakters eine Haarnadelstruktur auf und zeigt am einsträngigen Ende die Erkennungsregion für Virus-DNA. Die Endonuklease Cas9, ein Protein, welches Nukleinsäuren schneiden kann, bildet mit crRNA einen Molekülkomplex.

Phase 3: Interferenzphase oder Phase der Wechselwirkung

Cas steht für „CRISPR-assoziiert“. Dies bedeutet, dass die CRISPR-Region und die Cas9-Endonuklease eine funktionelle Einheit zur Abwehr viraler Infektionen bilden. Sie werden als CRISPR/Cas9-System bezeichnet. Das „CRISPR/Cas9-System“ kann virale DNA in der Bakterienzelle identifizieren und die Nuklease diese zerschneiden. Die virale DNA wird durch den komplementären RNA-Abschnitt an der Haarnadelstruktur erkannt. Diese Sequenz ist typisch für die guide-RNA, die deshalb auch als „Wegweiser-RNA“ bezeichnet wird. Der zur Fremd-DNA komplementäre Abschnitt lotst damit das CRISPR/Cas9-System immer zu einer bestimmten Virus-DNA, die durch eine Erstinfektion bereits bekannt ist. Die guide-RNA ist dadurch hochspezifisch. Die Endonuklease Cas9 schneidet die Virus-DNA nach erfolgter Basenpaarung unspezifisch. Das Erbgut des Virus wird damit funktionslos und unschädlich gemacht. Die virale Infektion ist besiegt.

Die Ethikkommission tagt

M 5

Peter Smith beruft die Mitglieder der Ethikkommission ein, um über den Antrag von George Church und damit über das Für und Wider der Rückkehr des Wollhaarmammuts zu diskutieren.



Aufgaben

Bereiten Sie sich auf ein Rollenspiel vor, in dessen Verlauf Sie in verschiedenen Rollen die Tagung der Ethikkommission simulieren. Jede Gruppe übernimmt einen anderen Standpunkt und damit eine jeweils andere Sicht auf das Problem. Tauschen Sie sich in Ihren Gruppen über die zugeteilte Rolle aus. Halten Sie die Bearbeitung der Aufgaben in einem **Tagungsprotokoll** fest. Ein Schüler des Kurses wird zum Moderator bestimmt, der im Anschluss die plenare Diskussionsrunde leitet.

1. Bestimmen Sie durch Ankreuzen die von Ihrer Rolle favorisierte Handlungsoption.
2. Zählen Sie Argumente auf, die die von Ihrer Rolle bevorzugte Handlungsoption untermauern und stützen. Nennen Sie auch mögliche Gegenargumente, und versuchen Sie, diese argumentativ zu entkräften.
3. Ordnen Sie den Pro- und Kontra-Argumenten ethische Werte aus dem Wertepool zu. Ergänzen Sie ggf. kreativ um weitere zutreffende Werte. Nehmen Sie anschließend eine Hierarchisierung der relevanten Werte vor, d. h., ordnen Sie die Werte nach ihrer Bedeutung.
4. Halten Sie die Folgen der von Ihrer Rolle/Perspektive angestrebten Handlung für die Forschung, die Gesellschaft, die transgenen Embryonen und die Asiatische Elefantenkuh in ihrer Funktion als Leihmutter tabellarisch fest.
5. Entscheiden Sie in Ihrer Gruppe, wer Ihre Perspektive im Rollenspiel der Tagung der Ethikkommission vertritt. Als Beobachter sammeln Sie während der Diskussion die Gegenargumente zu Ihrer Position in einem Beobachtungsbogen schriftlich. Benennen Sie den Spieler, der seine Rolle am überzeugendsten vertritt, und geben Sie dafür Gründe an.

A: Rollenkarten

Prof. Dr. Gabriele Groß (56), Gentechnikerin



© Leontura/Digital-Vision Vectors

„Die Genschere CRISPR/Cas9 hat uns revolutionäre Möglichkeiten eröffnet. George Church hat es geschafft, die Gene von Mammuts mithilfe des CRISPR/Cas9-Systems zielgenau in das Genom einer Asiatischen Elefantenkuh einzufügen. Damit kann er Hybrid-Embryos erzeugen, die sowohl Gene eines Asiatischen Elefanten als auch die des ausgestorbenen Wollhaarmammuts besitzen. Stellen Sie sich das mal vor! CRISPR/Cas9 ist ein Meilenstein der gentechnischen Forschung! Wir sollten die Chance, die CRISPR/Cas9 uns bietet, nicht einfach an uns vorüberziehen lassen. Was spricht denn dagegen, Wollhaarmammuts in einem für sie geeigneten Habitat leben zu lassen? Es ist der Traum eines jeden Genetikers, der nun schrittweise in greifbare Nähe rückt! Wir müssen sehen, dass wir in der internationalen Forschung nicht zurückbleiben. Deshalb ist es genau richtig, jetzt zu handeln und dem Antrag von George zuzustimmen! Wir wollen in der weltweiten Forschung mithalten und nicht zurückfallen. Mithilfe von CRISPR/Cas9 und einer Asiatischen Elefantenkuh als Leihmutter können wir tatsächlich das scheinbar Unmögliche möglich machen: ein ausgestorbenes Lebewesen wieder zurück auf die Erde holen. Ist das nicht ein wahres Wunder?“

