

Frankfurt, den 14. März 2016

Sperrfrist: 14. März 2016, 14:00 Uhr

Hintergrundinformation zur Verleihung des Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preises 2016 an Professor Dr. Emmanuelle Charpentier und Professor Dr. Jennifer A. Doudna

Schneller Siegeszug eines Präzisionswerkzeugs

CRISPR-Cas9 ist eine programmierbare Genschere für das präzise Editieren und Redigieren des Erbguts. Preiswert, schnell und einfach in der Handhabung revolutioniert sie gerade die Medizin und die Biowissenschaften. Nie konnten genetische Eigenschaften müheloser ausgeschaltet, verändert oder ersetzt werden als mit CRISPR-Cas9. Einiges spricht dafür, dass die Genschere helfen wird, Erbkrankheiten zu heilen, Krankheitserreger zu bekämpfen und bessere Pflanzen zu züchten.

Professor Dr. Emmanuelle Charpentier vom Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie in Berlin und Professor Jennifer A. Doudna von der University of California in Berkeley erhalten den diesjährigen Paul Ehrlich und Ludwig Darmstaedter-Preis für ihre bahnbrechenden Arbeiten, die zur Entwicklung der Genschere CRISPR-Cas9 geführt haben. Die beiden Laureatinnen haben als Erste gezeigt, dass die zum bakterielle Immunsystem gehörende Genschere aus *Streptococcus pyogenes* derart mit DNA-Koordinaten programmiert werden kann, dass sie die adressierte Position auf der DNA auch tatsächlich findet und

zerschneidet. Damit war klar, dass sich aus CRISPR-Cas9 ein dirigierbares Präzisionskalpell für den Eingriff ins Erbgut machen lässt. Auf ein solches Instrument hat die Forschung seit langem gewartet. Die Veröffentlichung dieser bahnbrechenden Entdeckung im August 2012 in der Zeitschrift Science hat einen wahren Sturm an CRISPR-Cas9 Forschung ausgelöst. Seitdem sind Tausende von Veröffentlichungen erschienen, die das ganze Ausmaß des CRISPR-Cas9 Potentials offenbaren und viele Details und Weiterentwicklungen der CRISPR-Technologie beschreiben. Die Anwendungsmöglichkeiten sind enorm: CRISPR-Cas9 können Gene ausgeschaltet, verändert oder durch andere Gene ersetzt werden. Man kann mit dieser Genschere jeden zellulären Bauplan überarbeiten, auch die menschliche Keimbahn. Durch dieses schnelle Redigieren und Editieren der DNA lässt sich leichter und genauer als je zuvor erfassen, wie sich die einzelnen genetischen Veränderungen auf die Entstehung von Krankheiten oder die Entwicklung eines Organismus auswirken. Es wird daher erwartet, dass sich bald neue Therapien gegen Erbkrankheiten und Krebs ergeben werden. Bei Mäusen ist die CRISPR-Technologie bereits dazu verwendet worden, um Mutationen zu korrigieren, die eine Lebererkrankung oder eine muskuläre Dystrophie auslösen, was zu neuen Therapien führen könnte. Benutzt hat man die CRISPR-Technologie auch bei Ratten, Taufliegen, Zebrafischen, Fröschen, Affen, Pilzen, menschlichen Stammzellen und bei vielen Pflanzen. Das Besondere besteht zudem darin, dass quasi jeder Wissenschaftler mit molekularbiologischem Sachverstand die Genschere bedienen kann. Es war zwar auch schon früher möglich, Gene zu editieren und neue Eigenschaften einzufügen, aber nicht derart mühelos, derart preiswert und derart schnell. CRISPR-Cas9 hat damit einen exklusiven und schwierigen Prozess, so vereinfacht, dass jeder geschulte Molekularbiologe damit umgehen kann. Das erklärt auch die Flut an Veröffentlichungen: Es vergeht kein Tag ohne eine Publikation mit oder über CRISPR-Cas9. „Diese Technologie verändert die Grundlagenforschung und die klinischen und wirtschaftlichen Möglichkeiten in der Biologie“, sagt Doudna. „Das ist sehr aufregend“. Auch Charpentier lobt die Aussichten. „Ich denke, dass CRISPR-Cas9 das Potential hat, die Biotechnologie und die medizinische Forschung grundlegend zu verändern“, sagt Charpentier.

Zahlreiche internationale Anerkennungen

Die beiden Wissenschaftlerinnen sind für ihre Entdeckung inzwischen mit vielen Preisen ausgezeichnet worden. Charpentier und Doudna haben seit 2012 zusammen weit mehr als zwei Dutzend Auszeichnungen erhalten, viele davon gemeinsam. Etwa den angesehenen Breakthrough Prize in Life Science, bei dem jeder Preisträger drei Millionen Dollar erhält. Emmanuelle Charpentier hat auch den Leibniz-Preis der Deutschen Forschungsgemeinschaft bekommen, den wichtigsten Preis zur Forschungsförderung in Deutschland. Die Wissenschaftszeitschrift Science erklärte die Genschere CRISPR-Cas9 zum Durchbruch des Jahres 2015 nachdem es CRISPR-Cas9 schon 2012 und 2013 zu den Anwärtern auf diese Ehrung gezählt hatte.

Genschere stammt aus dem bakteriellen Immunsystem

Woher kommt CRISPR-Cas9? Die Genschere gehört zum bakteriellen Immunsystem. Bakterien und Archebakterien wehren sich damit gegen Bakteriophagen. Das sind Viren, die sich auf Bakterien spezialisiert haben. Falls die Bakterien ihre erste Begegnung mit einem Bakteriophagen überleben, bauen sie ein kurzes Stück seiner DNA in ihr Erbgut ein, quasi als molekulares Erinnerungsfoto an den unterlegenen Feind. Die Stelle im Erbgut, wo sie diese Trophäen hinterlegen, heißt CRISPR-Locus für „clustered regulatory interspaced short palindromic repeats“. Daher rührt auch der eigenartige Name dieser Genschere. Jeder dort hinterlegte DNA-Schnipsel ist zum Abschuss freigegeben, falls sich der dazugehörige Phage noch einmal zeigt. Das Bakterium sucht deshalb ständig nach den im CRISPR-Locus hinterlegten Bedrohungen. Dazu werden die aneinandergereihten DNA-Schnipsel in eine Ribonukleinsäure übersetzt, die dann in viele kleine Fragmente zerschnitten wird. Emmanuelle Charpentier beschrieb bereits 2011 die beiden Komponenten des CRISPR-Cas9 Systems im Bakterium *Streptococcus pyogenes* und zeigte, dass das System wie ein Präzisionsskalpell arbeitet.

Charpentier und Doudna haben erkannt, dass man diese von den Bakterien zur Abwehr von Phagen entwickelte Genschere dazu benutzen kann, jede beliebige DNA-Sequenz anzusteuern und zu zerschneiden. Programmiert und dirigiert wird die Genschere über eine Führungs-RNA. Zu Charpentiers und Doudnas Leistungen gehört auch, dass sie die Genschere einfacher und bedienungsfreundlicher gemacht haben, indem sie die beiden RNAs, mit denen die Bakterien die Schere auf Trapp bringen, zu einer einzigen Führungs-RNA zusammengeführt haben. Es hat sich dann schnell gezeigt, dass diese vereinfachte Form nicht nur im Reagenzglas funktioniert. Schon wenige Monate nach der Veröffentlichung dieser bahnbrechenden Entdeckung im August 2012 haben Feng Zhang und George Church gezeigt, dass CRISPR Cas9 auch in lebenden humanen Zellen funktioniert. Doudna hat drei Wochen später ebenfalls Ergebnisse zum Einsatz von CRISPR-Cas 9 in menschlichen Zellen veröffentlicht.

Genschere über Führungs-RNA programmiert

Wie findet CRISPR-Cas9 die zum Zerschneiden freigegeben Fremd-DNA? Auf der Suche nach der komplementären DNA gleitet der Komplex aus Cas9 und der Führungs-RNA wie ein Schlitten über den DNA-Doppelstrang und stoppt immer dann, wenn er auf ein kurzes Sequenz-Motiv mit dem Namen PAM trifft. Bei jedem Halt wird geprüft, ob die mitgeführte Führungssequenz mit der Sequenzumgebung des PAM-Motivs identisch ist. Trifft das zu, wird die DNA an der Stelle zerschnitten. Passt die Sequenz nicht zu der mitgeführten Sequenz, sucht die Genschere weiter, bis sie fündig wird. Editiert und redigiert wird das Genom bei der Reparatur der offenen Doppelstrang-Enden nach dem Zerschneiden der DNA. Mit der CRISPR-Technologie kann das Erbgut auch an mehreren Stellen gleichzeitig überarbeitet werden. Allerdings kann die sogenannte Off-Target-Aktivität Probleme machen. Dieser Begriff beschreibt den Umstand, dass der Komplex aus Cas9 und der Führungs-RNA

den Doppelstrang nicht an der vorgesehenen Stelle im Genom schneidet, sondern an ähnlichen Stellen. Die Forscher arbeiten derzeit an Lösungen. Eine besteht darin, die Genschere sehr genau zu dosieren und so wenig wie möglich zum Editieren des Genoms zu verwenden. Je weniger von der Genschere in der Zelle präsent ist, desto weniger Fehler macht sie. „Wenn CRISPR-Cas9 in angemessenen Mengen verwendet wird, ist die Off-Target Aktivität praktisch nicht nachweisbar“, sagt Doudna. „Wir sind allerdings im Moment noch nicht in der Lage die Off-Target Aktivität kategorisch auszuschließen“, ergänzt Charpentier.

Genschere wirft ethische Fragen auf

Weil sich mit CRISPR-Cas9 quasi jedes Erbgut überarbeiten lässt, kann auch die menschliche Keimbahn redigiert werden, was die Veränderungen erblich macht. Damit ist die generationenübergreifende Veränderung des menschlichen Erbguts keine Fantasie mehr. Im April 2015 editierte Junjiu Huang von der Guangdong Universität zum ersten Mal menschliche Embryonen mit CRISPR-Cas9. Zwar waren die Embryonen von Anfang an nicht lebensfähig, weil sie statt der üblichen zwei Chromosomensätze drei Chromosomensätze hatten, aber es wurde deutlich, was grundsätzlich machbar ist, auch wenn der Prozess noch sehr ineffizient war. Huang hat versucht, das Gen für B-Thalässemie auszutauschen, einer erblichen Bluterkrankung. Seine Veröffentlichung hat die schon zuvor eingesezte ethische Debatte enorm befeuert. Im Dezember 2015 trafen sich viele renommierte Wissenschaftler unter dem Vorsitz von vier bedeutenden Wissenschaftsakademien in Washington zum „International Summit on Human Gene Editing“. In der verabschiedeten Schlusserklärung wird das Editieren der Keimbahn solange als unverantwortlich betrachtet, wie es ethische und sicherheitsrelevante Vorbehalte gibt. Außerdem sei eine breite gesellschaftliche Akzeptanz dafür nötig, heißt es in dem Schlussdokument weiter. Damit fordert es kein Moratorium, sondern die Intensivierung der Forschung innerhalb der gesetzlichen und ethischen Grenzen, um die Vorteile und Risiken des Genom-Editierens auszuloten. In dem Dokument heißt es weiter, dass derzeit nichts für eine Keimbahntherapie spreche. Es gebe viele Sicherheitsbedenken, gesetzliche Grenzen und keine Notwendigkeit, da die Präimplantationsdiagnostik schon jetzt Eltern mit Erbkrankheiten zu einem gesunden Kind ver helfe. „Es gibt einfach zu viele unbeantwortete Fragen, die noch adressiert werden müssen“, sagt Charpentier. „Ich glaube, dass eine Keimbahntherapie derzeit vermeidbar ist.“ Auch Doudna spricht sich gegen eine Keimbahntherapie für klinische Zwecke zum derzeitigen Zeitpunkt aus.

Weitere Informationen

Sämtliche Unterlagen der Pressemappe, Fotos der Preisträgerinnen und eine Infografik sind unter www.paul-ehrlich-stiftung.de zur Verwendung hinterlegt. Der Abdruck ist kostenfrei. Die ausführlichen Lebensläufe, ausgewählte Veröffentlichungen und die Publikationslisten erhalten Sie in der Pressestelle der Paul Ehrlich-Stiftung, c/o Dr. Hildegard Kaulen, Telefon:+49 (0) 6122/52718, Email: h.k@kaulen.wi.shuttle.de