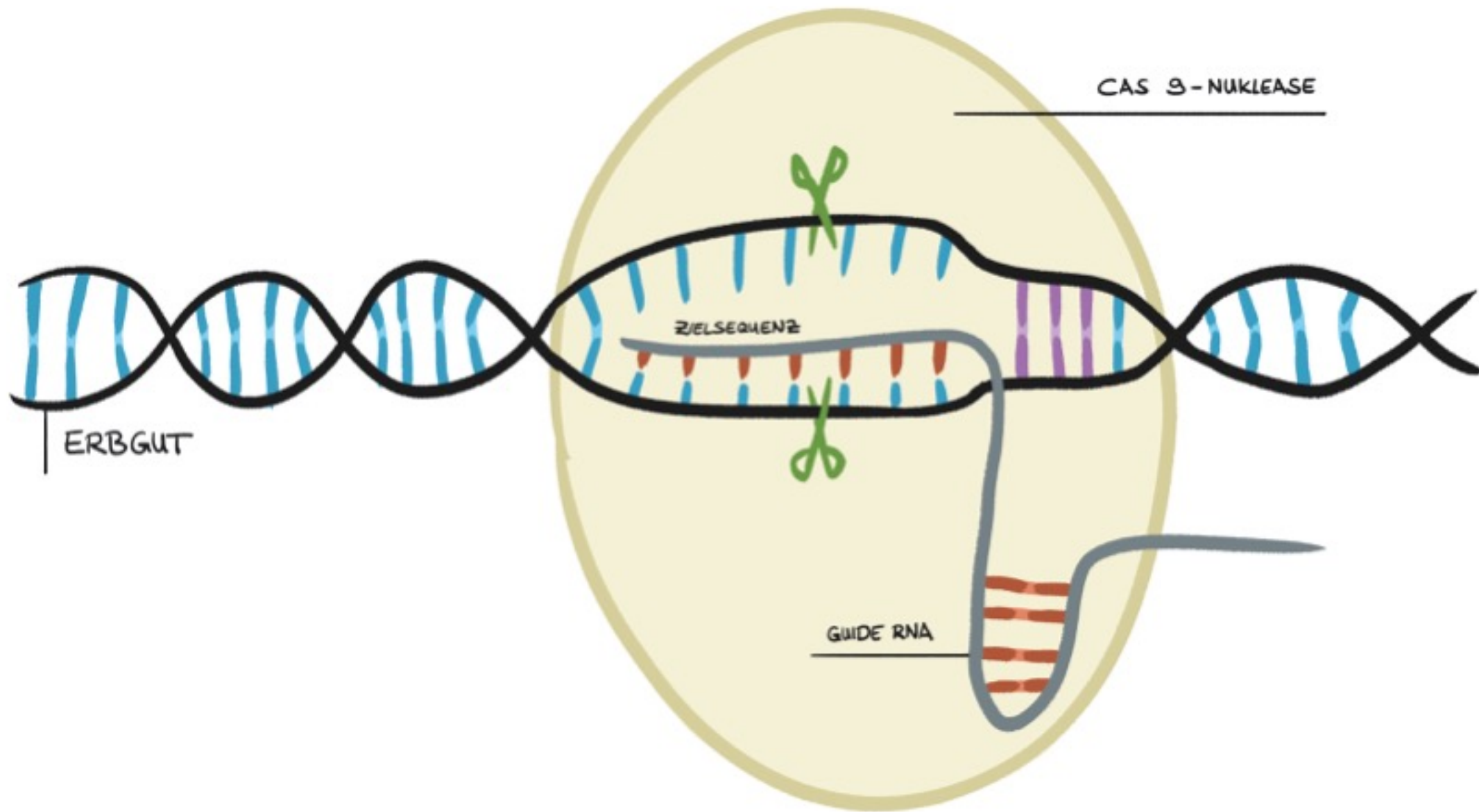


Möglichkeiten von CRISPR/Cas



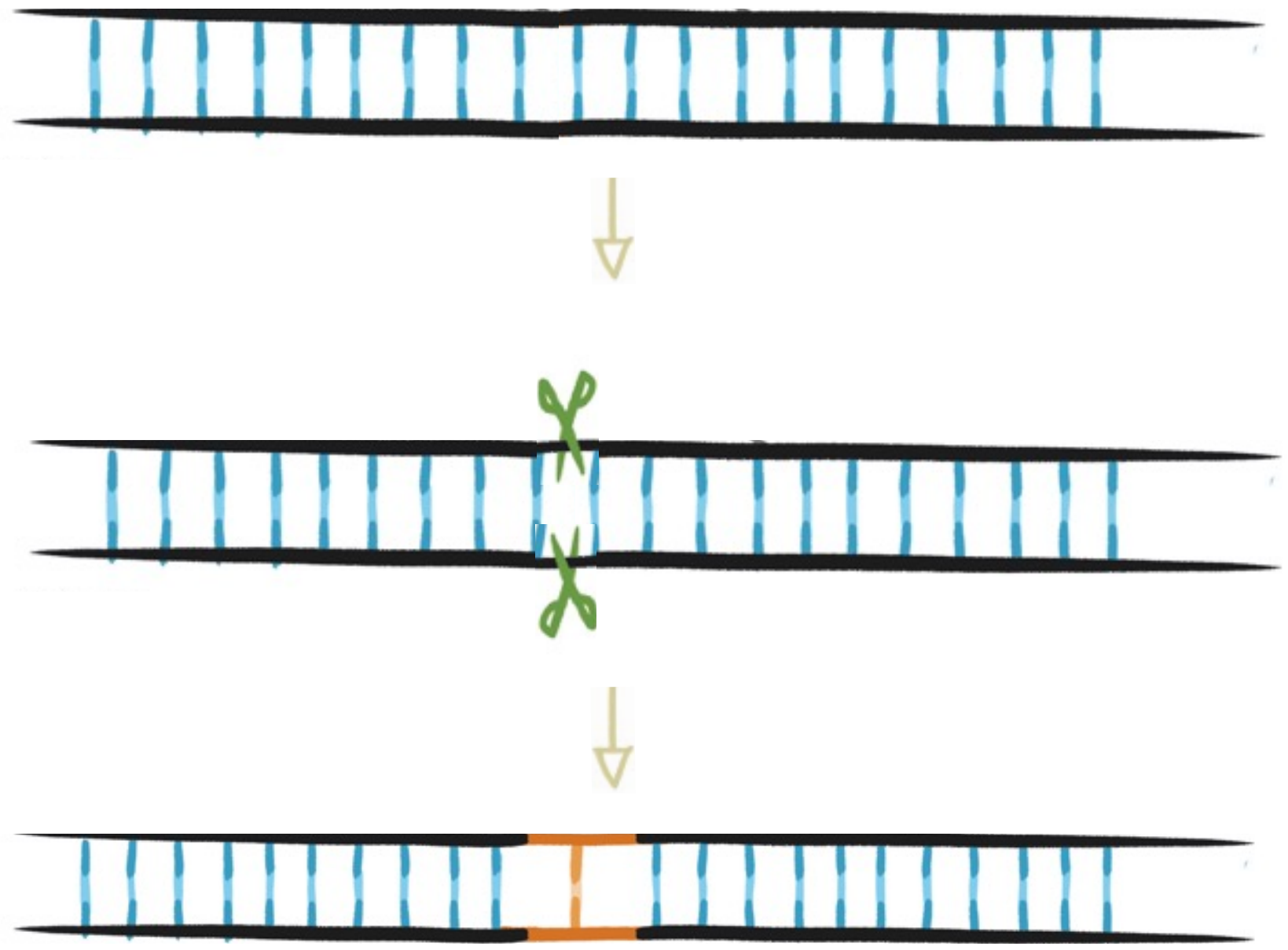
Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen
- Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)
- Serielle Veränderungen
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

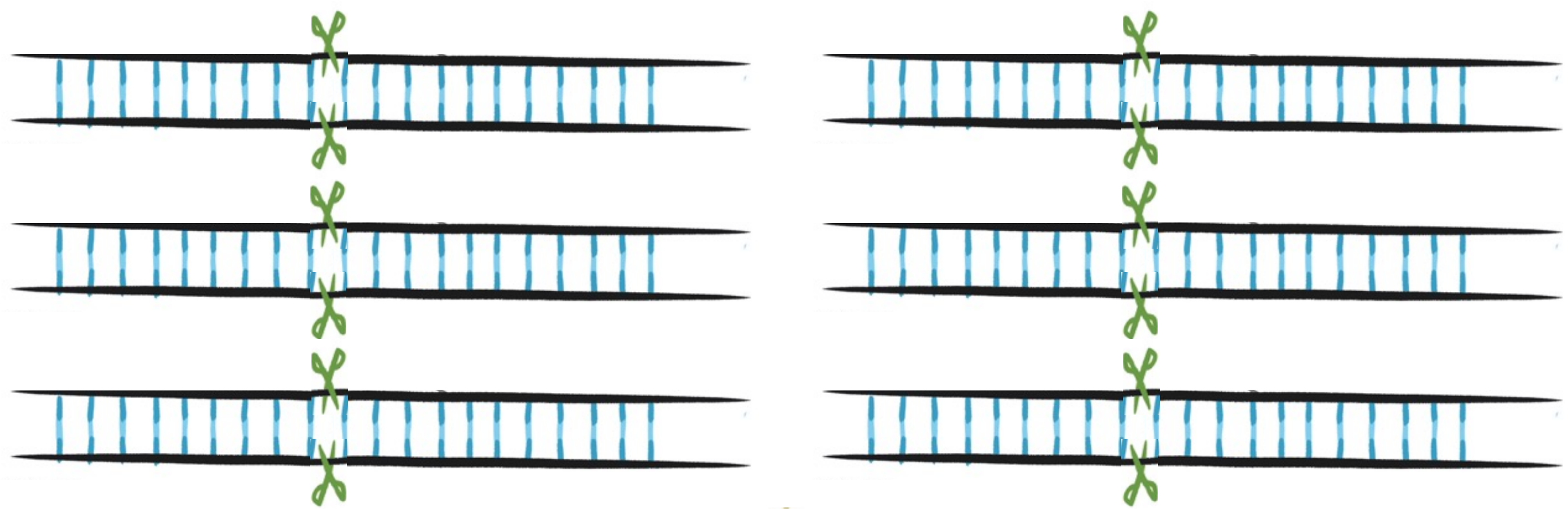
Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- **Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen**
- Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)
- Serielle Veränderungen
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

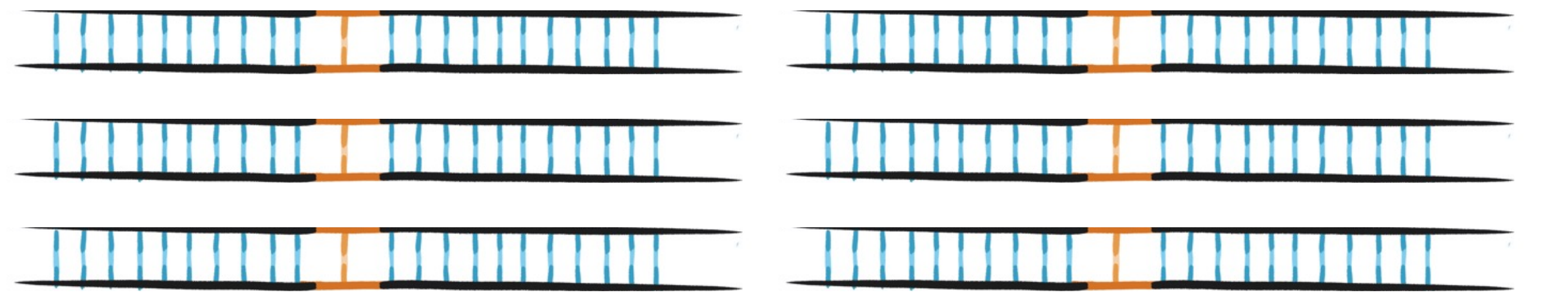
Durch Crispr/Cas können alle DNA-Abschnitte mit derselben Zielsequenz verändert werden



Durch Crispr/Cas können alle DNA-Abschnitte mit derselben Zielsequenz verändert werden



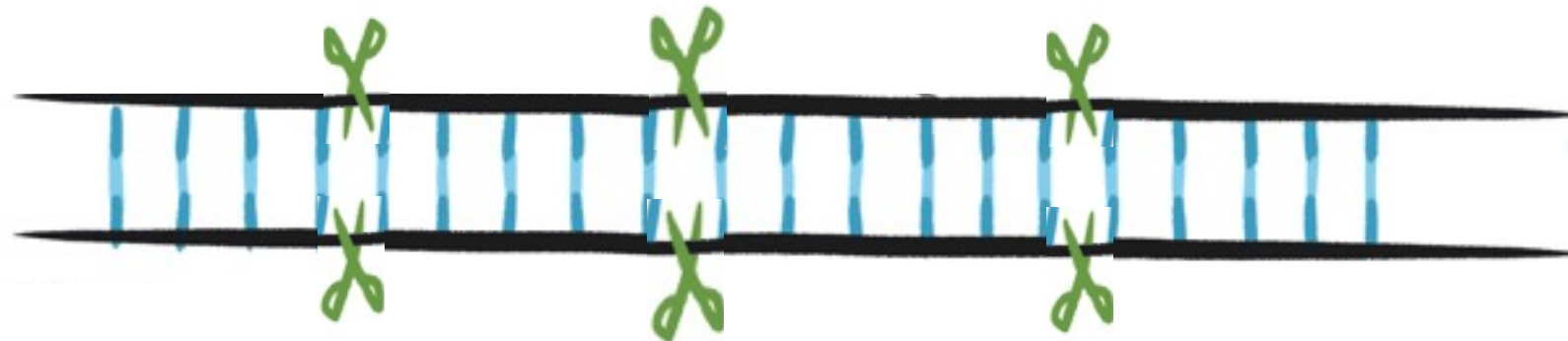
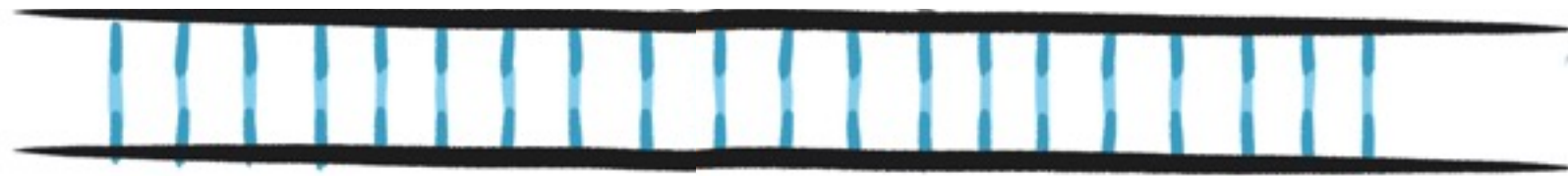
Beispiel Weizen: hexaploid



Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen
- **Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)**
- Serielle Veränderungen
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

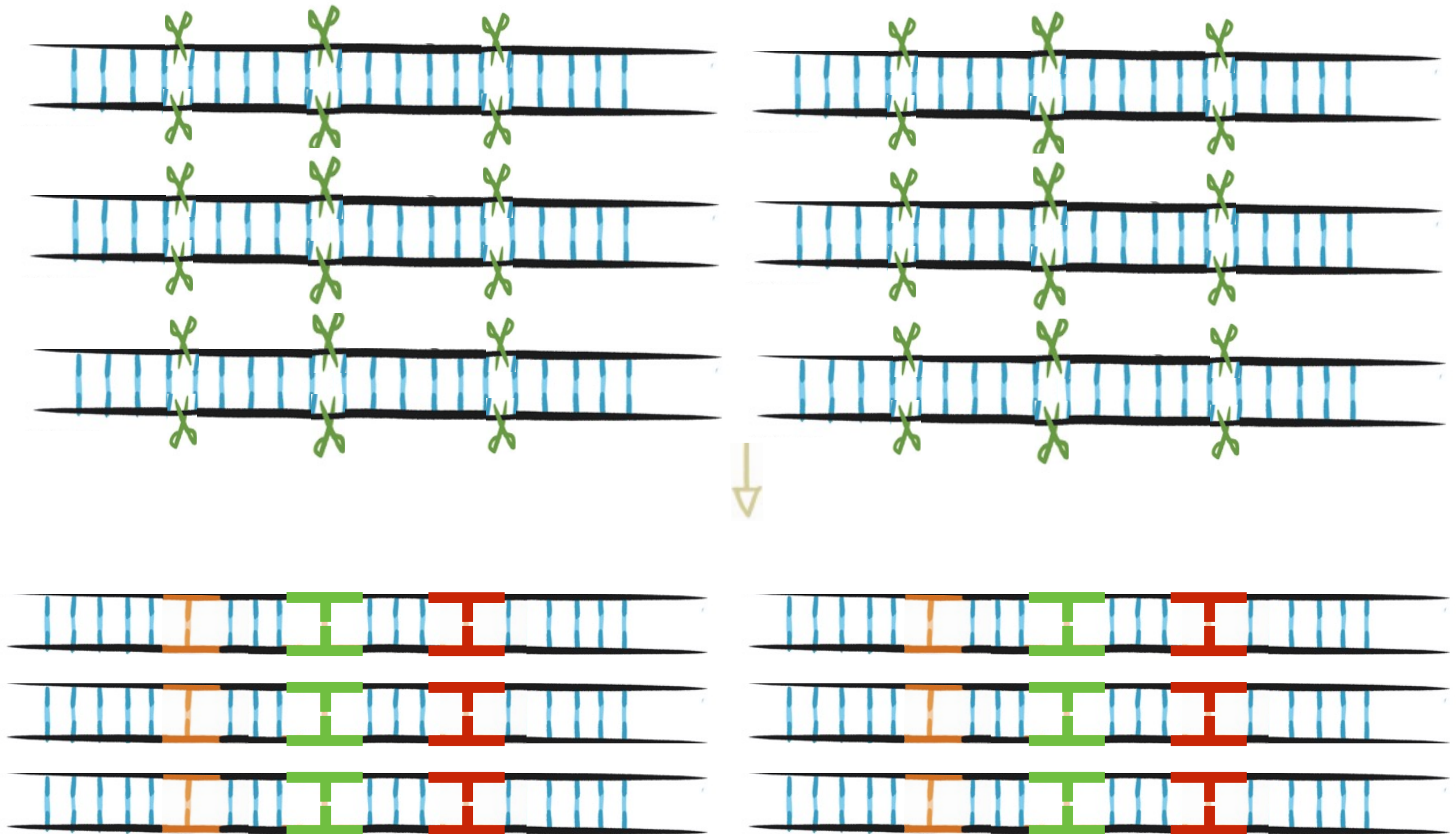
Multiplexing



Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- **Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen**
- **Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)**
- Serielle Veränderungen
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

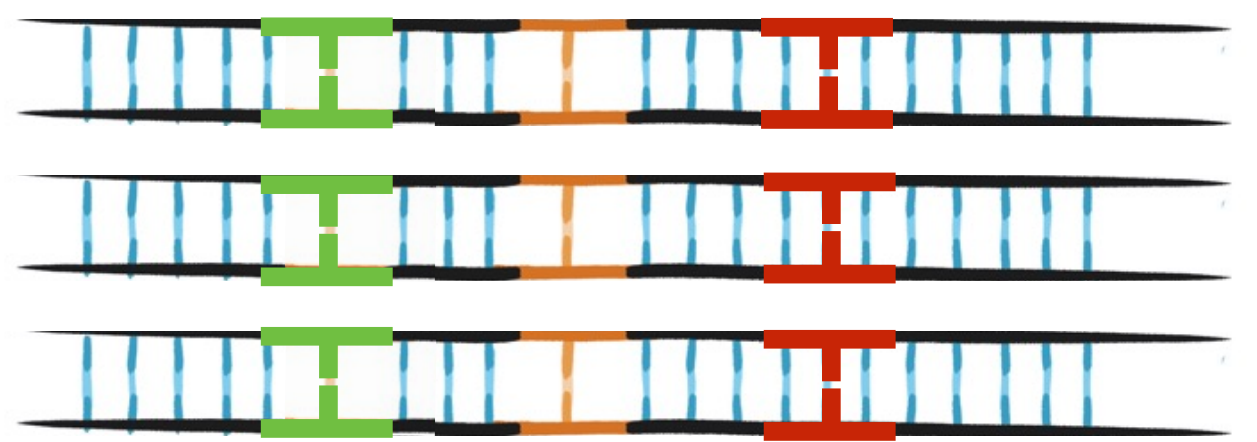
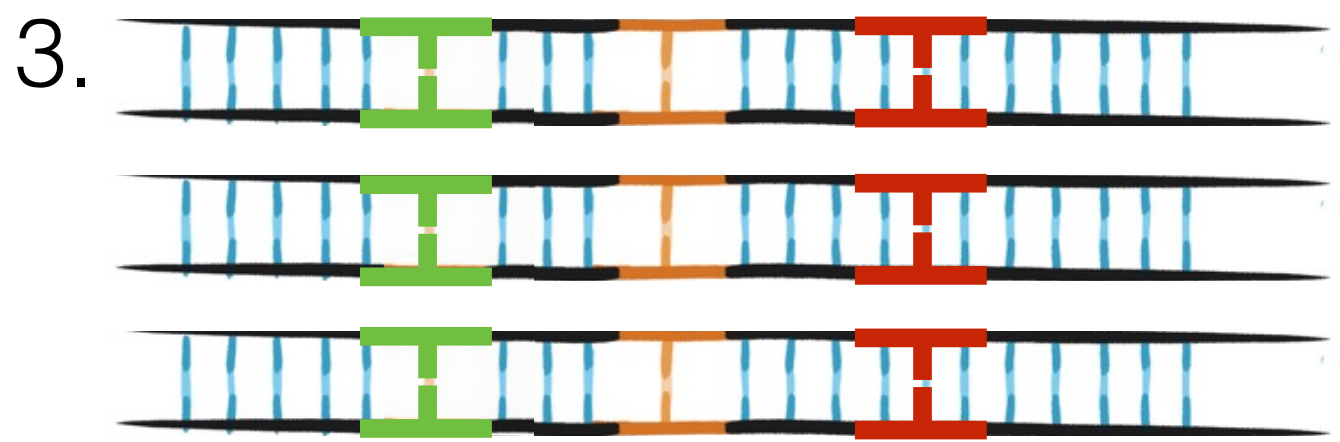
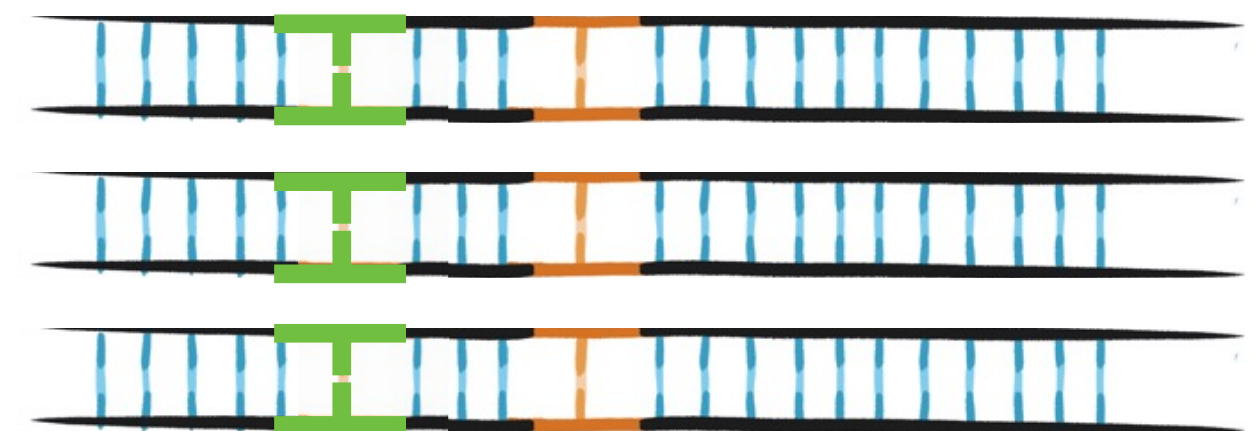
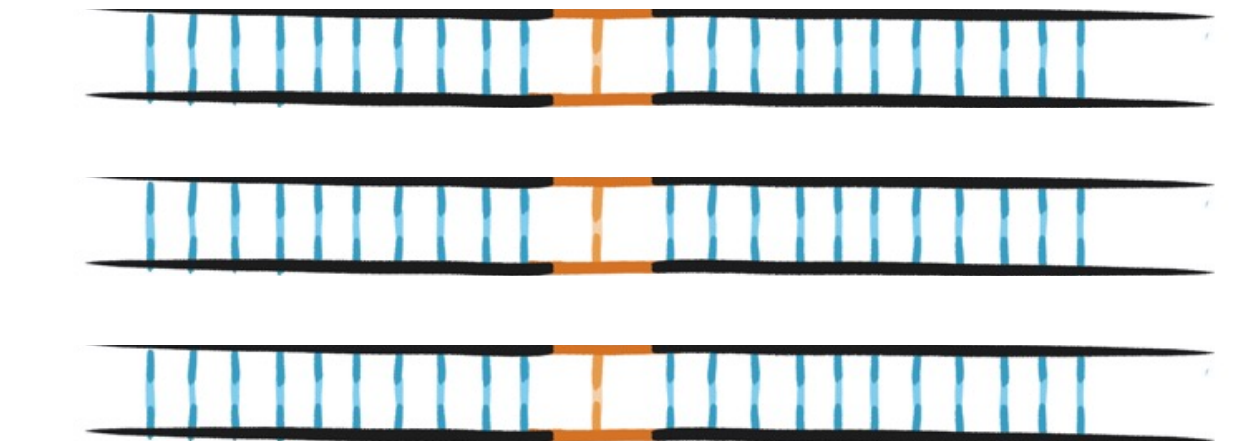
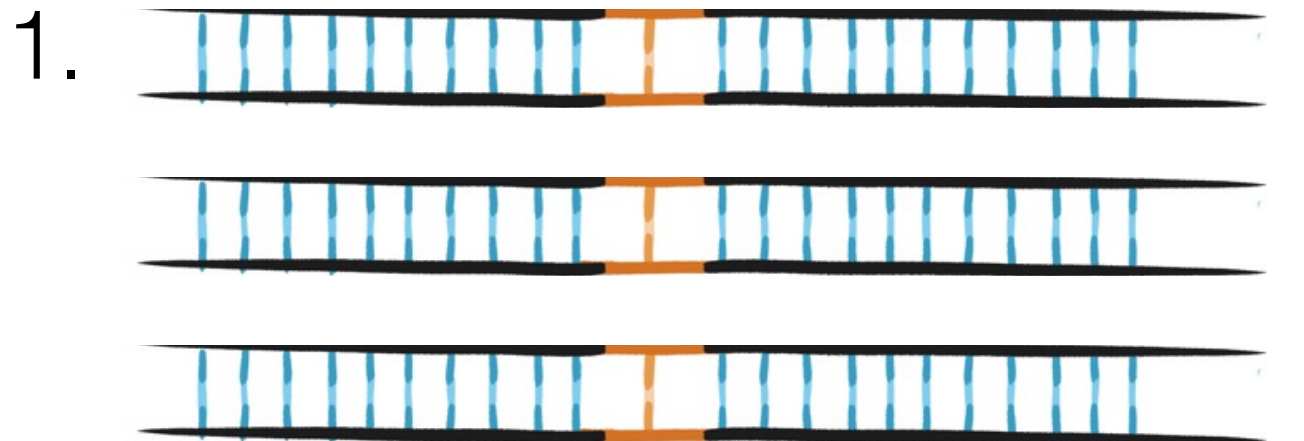
Multiplexing plus Veränderung aller Gen-Kopien



Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen
- Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)
- **Serielle Veränderungen**
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

Serielle Veränderungen



Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen
- Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)
- Serielle Veränderungen
- **Veränderung von besonders geschützten Bereichen**
- Veränderung von genetisch gekoppelten Genen

Spontanes, ungerichtetes Auftreten neuer Mutationen

Induziert durch

- Fehler während der Replikation der DNA
- äußere Faktoren wie Sonnenlicht oder chemische Substanzen

Unmittelbares Resultat ist ein Schaden an der DNA (Fehlpaarung der Basenpaare), der zell-eigene Reparatursysteme aktiviert:

DNA Mismatch Reparatur (MMR)

Fehler während der Replikation werden von der DNA Mismatch Reparatur (MMR) beseitigt

“Mutations are alterations in genomic DNA sequence that first result from errors in DNA replication or damage due to endogenous organismal and exogenous environmental factors (e.g., Jiang et al. 2011, 2014; Belfield et al. 2012). These alterations subsequently evade MMR and other DNA repair mechanisms, and thus become the mutations that fuel both evolution and tumor progression. Previous genetic studies have revealed the role of MMR in **reducing spontaneous mutation rates.**”

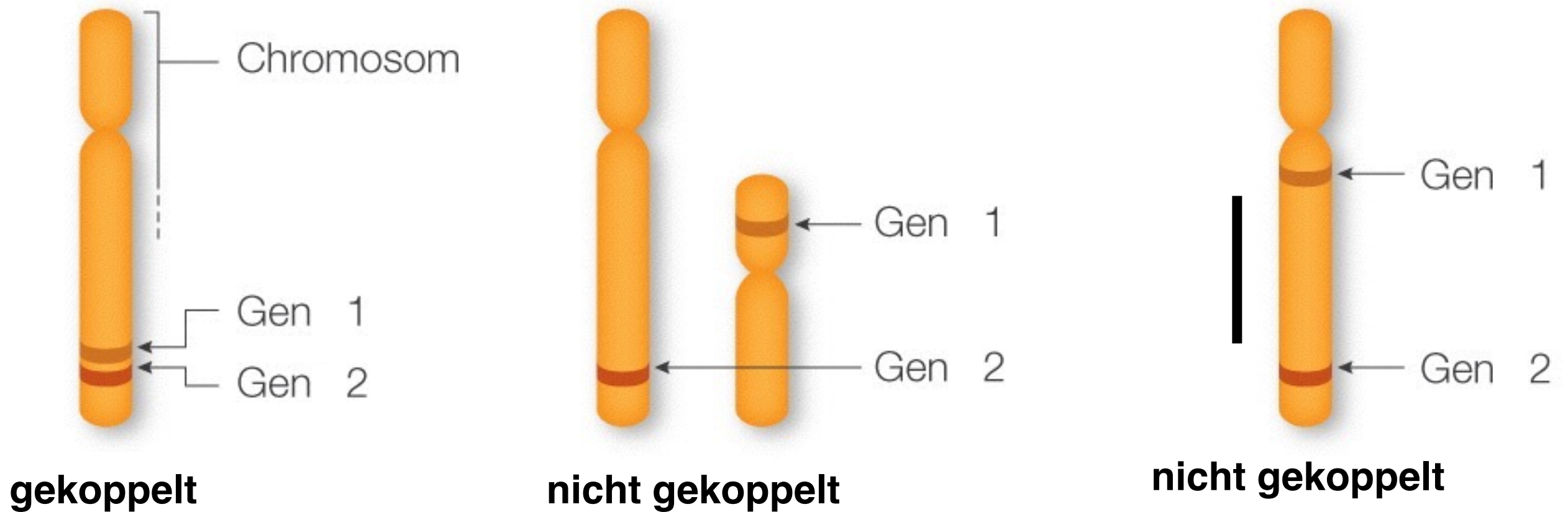
“**Our observations shows that the MMR mechanism plays a major role in protecting gene sequence from mutations** and are consistent with the recent demonstration from analysis of genomic DNA sequences of human tumor cell lines that MMR preferentially protects gene-rich early replicating euchromatin versus late-replicating heterochromatin from mutation (Supek and Lehner 2015).“

Bisher schon in *Arabidopsis thaliana*, menschlichen Zellen,
Hefe und Bakterien nachgewiesen!

Durch CRISPR/Cas können neue genetische Kombinationen entstehen

- Veränderung mehrerer identischer DNA-Sequenzen
- Multiplexing (gleichzeitige Veränderung mehrerer, unterschiedlicher DNA-Bereiche)
- Serielle Veränderungen
- Veränderung von besonders geschützten Bereichen
- **Veränderung von genetisch gekoppelten Genen**

Genetische Kopplung



Befinden sich dicht beieinander liegende Gene in "rekombinatorischen Cold Spots", ist ein Crossing Over-Event zwischen den Genen unwahrscheinlich. Sie werden gemeinsam vererbt.



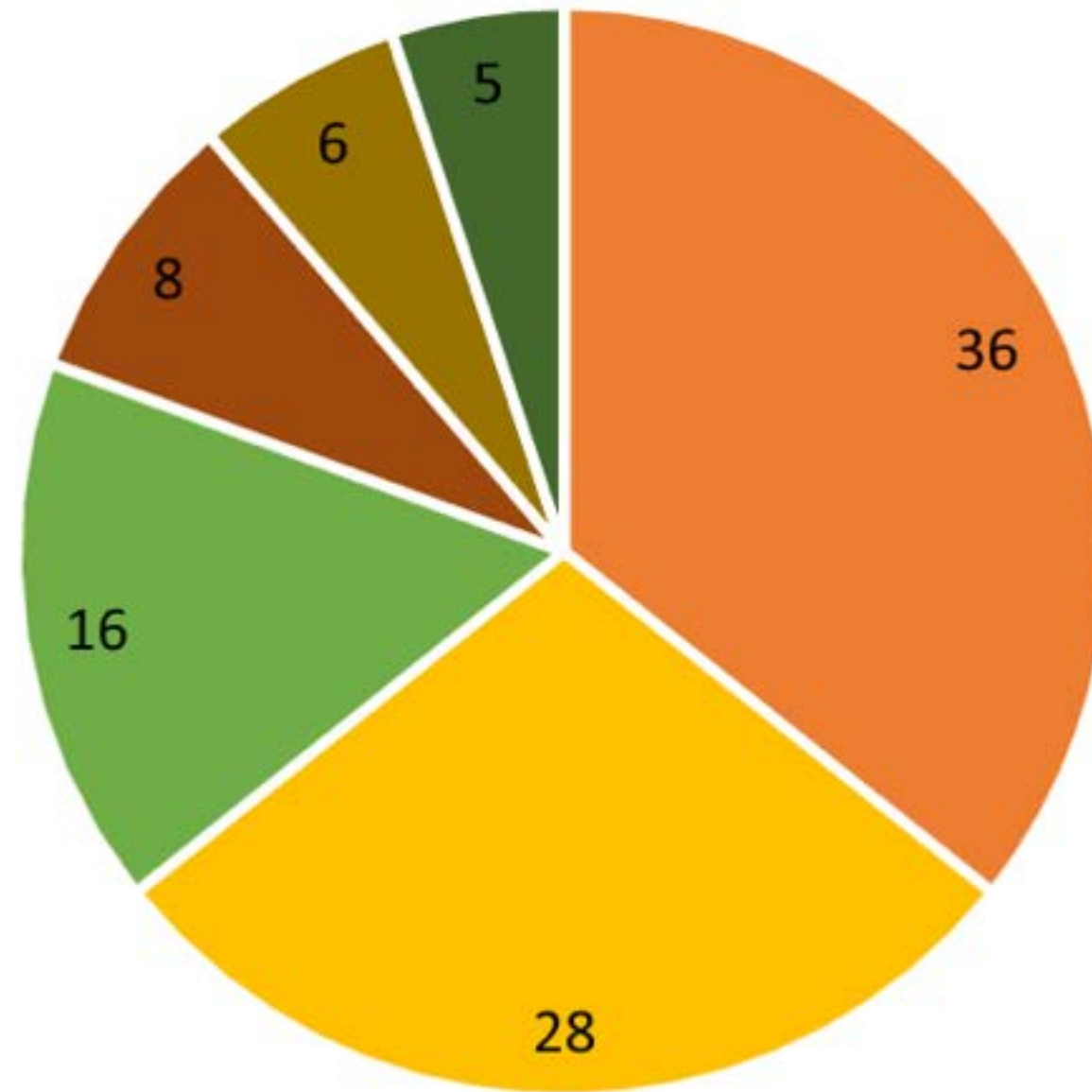
New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes

*Katharina Kawall**

Fachstelle Gentechnik und Umwelt, Munich, Germany

Welche Organismen wurden bereits verändert?

Verteilung der Markt-orientierten Anwendungen in Pflanzen



- agronomischer Wert
- Qualität von Futtermittel
- Toleranz von biotischen Stress
- Herbizid Toleranz
- industrielle Zwecke
- Toleranz von abiotischen Stress

Genom-editierte Pflanzen - ein paar Beispiele

Tomate:

Veränderungen an 6 verschiedenen Genen: größere Früchte, höherer Ertrag, veränderter Wuchs, veränderter Nährstoffgehalt

Zsogon, A., Cermak, T., Naves, E. R., Notini, M. M., Edel, K. H., Weigl, S., Peres, L. E. P. (2018). De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol.* doi:10.1038/nbt.4272

Weizen:

35 von 45 Gliadin-Gene verändert: reduzierter Gluten-Gehalt

Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C. V., Gimenez, M. J., Sousa, C., Voytas, D. F., & Barro, F. (2018). Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J*, 16(4), 902-910. doi:10.1111/pbi.12837

Soja:

Veränderungen an 2 verschiedenen Genen: veränderte Fettsäurezusammensetzung

Demorest, Z. L., Coffman, A., Baltus, N. J., Stoddard, T. J., Clasen, B. M., Luo, S., Zhang, F. (2016). Direct stacking of sequence-specific nuclease-induced mutations to produce high oleic and low linolenic soybean oil. *BMC Plant Biol*, 16(1), 225. doi:10.1186/s12870-016-0906-1

Kartoffel:

Veränderungen an allen Kopien eines Gens: erhöhte Lagerfähigkeit, veränderte Inhaltsstoffe

Clasen, B. M., Stoddard, T. J., Luo, S., Demorest, Z. L., Li, J., Cedrone, F., Zhang, F. (2016). Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. *Plant Biotechnol J*, 14(1), 169-176. doi:10.1111/pbi.12370

Referenzen

Kawall, K. (2019). New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes. *Front Plant Sci*, 10, 525. doi:10.3389/fpls.2019.00525

Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Krause, D., Kohl, C., Wilhelm, R. (2019). What is the available evidence for the range of applications of genome editing as a new tool for plant trait modification and the potential occurrence of associated off-target effects: a systematic map. *Environ Evid*. doi:https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5

Belfield, E. J., Ding, Z. J., Jamieson, F. J. C., Visscher, A. M., Zheng, S. J., Mithani, A., & Harberd, N. P. (2018). DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. *Genome Res*, 28(1), 66-74. doi: 10.1101/gr.219303.116

Zsogon, A., Cermak, T., Naves, E. R., Notini, M. M., Edel, K. H., Weinl, S., Peres, L. E. P. (2018). De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol*. doi:10.1038/nbt.4272

Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C. V., Gimenez, M. J., Sousa, C., Voytas, D. F., & Barro, F. (2018). Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J*, 16(4), 902-910. doi:10.1111/pbi.12837

Demorest, Z. L., Coffman, A., Baltus, N. J., Stoddard, T. J., Clasen, B. M., Luo, S., Zhang, F. (2016). Direct stacking of sequence-specific nuclease-induced mutations to produce high oleic and low linolenic soybean oil. *BMC Plant Biol*, 16(1), 225. doi:10.1186/s12870-016-0906-1

Clasen, B. M., Stoddard, T. J., Luo, S., Demorest, Z. L., Li, J., Cedrone, F., Zhang, F. (2016). Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. *Plant Biotechnol J*, 14(1), 169-176. doi:10.1111/pbi.12370