

# Ein Lichtschalter für die Genschere

## Molekulare Fehlerkorrektur: Schnitte und Änderungen im Erbgut lassen sich jetzt präziser und kontrollierter vornehmen

Die Genschere Crispr-Cas hat die Forschungslabore dieser Welt in einem beispiellosen Tempo erobert, denn sie erlaubt punktgenaue Veränderungen des Erbguts und das schnell und günstig. Wöchentlich erscheinen neue Publikationen über Anwendungen der Genschere in Pflanzenzucht und Medizin, und immer wieder sorgt Crispr auch für Schlagzeilen, vor allem jetzt, wo die Vision Gen-edierter Menschen Wirklichkeit geworden ist.

Das Vorpreschen in diesem jungen Forschungszweig erschüttert die gesamte Wissenschaft. Denn so groß das Potential auch erscheint, es existieren auch Einschränkungen. Unter anderem kommt es immer wieder zu „Off-target“-Effekten, also ungeplanten Fehlschnitten, weswegen der Nutzen in der Medizin zum jetzigen Zeitpunkt umstritten ist: Crispr könnte versehentlich die Funktion lebensnotwendiger Gene verändern. Aus diesem Grund suchen Forscher weltweit nach Möglichkeiten, die Genschere noch präziser zu kontrollieren.

Forscher aus Heidelberg und Berlin haben nun ein Verfahren entwickelt, mit der sich Crispr-Cas von außen steuern lässt – mit Hilfe von Licht. Ihre Ergeb-

nisse haben sie kürzlich in dem Fachmagazin „Nature Methods“ (doi: 10.1038/s41592-018-0178-9) veröffentlicht.

Grundlage der Technik sind sogenannte Anti-Crispr-Proteine, die die Genschere blockieren. Diesen Proteinen haben die Forscher zusätzlich einen Lichtsensor eingebaut, der ursprünglich aus der Haferpflanze stammt. Das Hybridmolekül namens „Casanova“ (Crispr-Cas-Aktivierung durch ein neues, optogenetisches Verfahren basierend auf Anti-Crispr-Proteinen) haben sie samt Genschere in Zellkulturen eingebracht. „Im Dunkeln bindet Casanova effizient an die Schere und schaltet diese dadurch ab. Durch blaues Licht löst sich die Crispr-Genschere vom Anti-Crispr-Protein und wird dadurch aktiv“, erläutert Dominik Niopek von der Universität Heidelberg. Denn bei Licht verändert sich die dreidimensionale Struktur von Casanova und gibt die Genschere frei.

„Hier wachsen zwei junge Technologien – Crispr-Cas und Optogenetik – ein Stück weit zusammen“, sagt Roland Eils, Direktor des Zentrums für digitale Gesundheit am Berliner Institut für Gesundheitsforschung. Bei der Optogenetik kon-

trollieren Wissenschaftler die Aktivität von Zellen mit Lichtsignalen. Zuvor werden diese gentechnisch so verändert, dass sie Proteine herstellen, die mit Licht aktivierbar sind. Die Optogenetik hat ihren Ursprung in den Neurowissenschaften und sorgte dort bereits für aufsehenerregende Experimente: So gelang es Forschern, Mäuse auf Knopfdruck im Kreis laufen zu lassen, in dem man Nervenzellen über Licht aktivierte. Mittlerweile hat die junge Disziplin Eingang in andere Forschungszweige wie etwa Kardiogenetik oder Augenheilkunde gefunden.

Mit Casanova kann man nun bestimmen, wann und wo die Genschere mit ihrer Arbeit beginnt und wann sie damit wieder aufhört. „Wir sind nicht die Ersten, die versuchen Crispr unter Lichtkontrolle zu bekommen. Aber der Clou an unserer Methode ist die einfache und breite Anwendbarkeit“, sagt Niopek. Holger Puchta, Crispr-Experte am Karlsruher Institut für Technologie, zeigt sich beeindruckt: „Die Kollegen steuern das Crispr-Cas-System indirekt mit Licht und das nicht nur, um kontrolliert Mutationen zu erzeugen, sondern auch zum Anschalten von Genen und zur Fluoreszenzmarkierung spezifischer Erbgutabschnitte.“ Tatsächlich lässt

sich mit der Genschere nicht nur DNA schneiden. Forscher nutzen sie auch, um Regulationsproteine gezielt an einen gewünschten Ort im Genom zu lenken.

„Wir wählen eine einzelne Zelle aus, beleuchten sie und schauen, was mit dieser Zelle passiert, wenn ein ganz bestimmtes Gen durch die Genschere aktiviert oder deaktiviert wird. Teilt sie sich schneller? Oder langsamer? Oder gar nicht mehr?“, erklärt Niopek. Durch den exakt vorherbestimmbaren Zeitpunkt der Genveränderung lassen sich nun auch Zellprozesse beobachten, die in wenigen Minuten ablaufen. „Evolutionär sind Zellen so ausgebildet, dass sie Störungen schnell ausgleichen, damit sie ihre Funktion aufrechterhalten können.“

Die Forscher haben mehr als hundert verschiedene Casanova-Varianten kreiert und getestet, bevor sie ein verlässlich funktionierendes Hybridmolekül fanden. Anti-Crispr-Proteine stammen aus Phagen, also jenen Viren, die ausschließlich Bakterien befallen. Mit Crispr-Cas schützen sich Bakterien vor diesen Eindringlingen, indem sie ihr Erbgut zerschneiden. Die Phagen wiederum wehren sich mit Hilfe der Anti-Crispr-Proteine.

Casanova ist ein Werkzeug der Grundlagenforschung, das sich in Zellkulturen

und transparenten Organismen wie Zebrafischen anwenden lässt und dem Erkenntnisgewinn dient. „In unseren Augen ist Casanova ein kleiner Baustein in einer rapide verlaufenden Entwicklung, die es ermöglicht, immer präzisere Eingriffe im Genom vorzunehmen“, so Eils und fügt hinzu: „Überoptimistische Äußerungen zu Therapien sollte man nicht machen. Aber es gibt aktuell eine Vielzahl von Entwicklungen, die uns Grund zur Hoffnung geben, dass es in den kommenden Jahren für einige, bislang nur schwer therapierbare Erkrankungen wie Muskelschwund neue und effektive Ansätze geben wird.“

Was die Übertragung des Verfahrens auf Menschen angeht, gibt es allerdings zwei große Herausforderungen: Zum einen ist die gentechnische Veränderung menschlichen Erbguts bislang nicht risikolos möglich. Zum anderen dringt blaues Licht nicht tief in das Gewebe ein. „Anwendungen auf der Haut oder im Auge sind deswegen eher denkbar“, so Eils. Derweil freut sich Niopek, dass Casanova, das online über die Plattform Addgene verfügbar ist, bereits mehrfach abgerufen wurde. „Es ist schön, wenn eine Idee weltweit Verwendung findet und sich daraus vielleicht Neues entwickelt.“ JULIETTE IRMER