

Die bakterielle Schere

Ein neues Verfahren revolutioniert die Gentechnologie – es erlaubt, auf einen Schlag mehrere Gene in einer Zelle auszutauschen. Das eröffnet Perspektiven für neuartige Medikamente. Von Stefan Stöcklin

Bakterien sind immer für eine Überraschung gut. Doch nicht im Traum hätte der Mikrobiologe Rodolphe Barrangou vom Lebensmittelkonzern Danisco vor wenigen Jahren daran gedacht, dass er in bakteriellen Joghurtkulturen ein veritables Immunsystem entdecken würde. Genauer gesagt handelt es sich um ein Abwehrsystem von Mikroben gegen bakterielle Viren, so genannte Bakteriophagen. Es gehört heute dank den Arbeiten von Martin Jinek von der Universität Zürich zu den ganz heissen Forschungsgebieten der Gentechnik. Beobachter sprechen gar von einer Revolution, die sich in den Labors abspielt.

Wenn Biochemiker Jinek über das mikrobielle Abwehrsystem erzählt, das unter dem Namen CRISPR-Cas9 bekannt geworden ist, wird die Begeisterung des Assistenzprofessors hör- und sichtbar. Der Forscher mit tschechischen Wurzeln ist fasziniert von den Möglichkeiten, die sich damit ergeben. Und er staunt immer wieder von neuem über die vielfältigen Fähigkeiten von Mikroben.

Ungeniessbare Milch

Als Rodolphe Barrangou 2007 mit *Streptococcus thermophilus* arbeitete, wollte er ein Problem lösen, das die Joghurthersteller seit langem umtreibt: die virale Infektion von hilfreichen Bakterien, die Milch in Joghurt umwandeln. Bei einem Befall mit Bakteriophagen können Zehntausende von Litern Milch auf einen Schlag ungeniessbar werden. Barrangous Ziel waren resistente Starterkulturen, denen die Infektionen nichts anhaben. Er schleuste dazu kurze Segmente der infektiösen Viren in die Bakterien in der Hoffnung, sie würden die Zellen immunisieren. In der Tat war dieser Weg erfolgreich, Bakterien wiesen offenbar ein Immunsystem auf. Die Abwehr war den For-

schern bis zu Barrangous Coup entgangen, obwohl sie Mikroben seit Pasteurs Zeiten erforscht hatten. «Das war eine totale Überraschung», sagt Jinek. Nachfolgende Arbeiten zeigten, dass die Bakterien Virenfragmente in ihr Erbgut einbauen und darauf basierend die Angreifer bei einem nächsten Befall erkennen und zerstören.

Barrangou löste mit seinen Experimenten ein altes Rätsel und öffnete das Tor für eine Techno-

STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS

Wehrhaftes Joghurtbakterium



Bei *Streptococcus thermophilus* wurde erstmals entdeckt, dass Bakterien ein Immunsystem haben. Diese Erkenntnis ist die Grundlage für ein neues gentechnisches Verfahren.

logie, die derzeit in der Grundlagenforschung und der Biotechbranche für Furore sorgt. Das alte Rätsel geht auf auffällige Sequenzen im Erbgut von *E.-coli*-Bakterien zurück, die der japanische Forscher Ishino Yoshimuzi 1987 erstmals beschrieben hat. Es handelt sich um kurze, repetitive Abschnitte im Erbgut, die von scheinbar zufälligen Sequenzen unterbrochen sind. Diese Abschnitte wurden als CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) bezeichnet.

Fast zwanzig Jahre sollte es dauern, bis die Forschung ihre Bedeutung erkannte. Möglich wurde dies dank der Bioinformatik, mit der die DNA verschiedener Organismen analysiert und verglichen werden kann. 2005 fielen mehreren Teams bei der Analyse bakterieller Genome Ähnlichkeiten dieser CRISPR-Sequenzen mit der DNA von Bakteriophagen auf. Ihre Entdeckung lieferte die Vorlage für Barrangous Experimente.

«Er hat als Erster das Immunsystem experimentell genutzt», sagt Jinek. Und Barrangou begründete ein Forschungsfeld, das im Begriff ist, die Gentechnik zu erneuern.

DNA zerschneiden

Das war der Stand der Dinge, als Martin Jinek in das Forschungsthema einstieg. 2007 hatte der Biochemiker eine neue Stelle als Postdoc im Labor von Jennifer Doudna an der Universität von Kalifornien in Berkeley angetreten, die sich mit dem bakteriellen Abwehrsystem beschäftigte. Jineks Spezialität ist die Analyse komplexer Moleküle, die aus Erbgut- und Eiweissfragmenten bestehen. Und genau ein solcher RNA-Protein-Komplex liegt dem Abwehrsystem mit den CRISPR-Sequenzen zugrunde. Das involvierte Protein erhielt die Abkürzung Cas9.

Es folgten aufreibende Forschungsarbeiten in einem umkämpften Gebiet, denn Doudnas Gruppe war nicht die einzige, die sich mit dem Thema beschäftigte. «Es waren ausserordentlich spannende Zeiten», sagt Jinek. In diesen Arbeiten entschlüsselten die Forschenden Schritt für Schritt die Mechanismen des Abwehrsystems. Heute wissen wir, dass rund die Hälfte aller Bakterienarten dieses System nutzen. 2012 publizierte Jinek die entscheidenden Experimente, in denen er zeigte, wie das Abwehrsystem zur gentechnischen Nutzung umfunktioniert werden kann.

Während eindringende Viren-DNA anhand der CRISPR-Sequenzen von den Bakterien erkannt wird, dient Cas9 dazu, wie eine molekulare Schere die Fremd-DNA zu zerschneiden. Dazu verbinden sich Teile der CRISPR-Sequenz mit dem Protein und führt es zum Erbgutabschnitt, der inaktiviert werden soll. Martin Jinek hat den biochemischen Ablauf dieser Prozesse analysiert und modifiziert, damit der Erkennungs- und Schneidvorgang auch in anderen Zellen funktioniert. «Nach meiner Publikation war klar, wie man das System in Zellen von Tieren oder Pflanzen nutzen kann», sagt der Forscher mit Stolz. Dieser Durchbruch sorgte weltweit für Schlagzeilen. Begeisterte Kommentare sprachen im führenden Wissenschaftsmagazin «Science» vom «Schweizer Armeemesser» des bakteriellen Immunsystems.



Die bemerkenswerte Publikation vor zwei Jahren befeuerte die Forschung und animierte Wissenschaftler, das Potenzial des Systems auszuloten. Innert kurzer Zeit zeigte sich, dass mit der molekularen Schere Gene verschiedener Organismen ins Visier genommen werden können. Ob von Menschen oder Mäusen, Fruchtfliegen oder Fadenwürmern, Kartoffeln oder Karpfen: Das Erbgut jeder Zelle lässt sich gezielt bearbeiten. «Die Gene können ausgeschnitten, hinzugefügt, aktiviert oder unterdrückt werden», sagt Jinek. Diese Eingriffe wären für sich allein betrachtet nicht revolutionär, denn sie waren schon vorher möglich. Bahnbrechend ist hingegen die Effizienz und Einfachheit, mit der diese Veränderungen neuerdings durchgeführt werden können.

Hinzu kommt, dass das neue System mehrere Gene auf einmal ins Visier nehmen kann. Bakterien müssen sich gegen verschiedene Viren wehren und bauen für jeden Angreifer eine CRISPR-Sequenz ein. Diese Multifunktionalität lässt sich gentechnisch imitieren. In einem einzigen Experiment lassen sich beliebige Gene einer Zelle ausschalten oder verändern. Der renommierte amerikanische Molekularbiologe George Church von der Harvard-Universität hat dies in menschlichen embryonalen Stammzellen bereits umgesetzt. Damit rücken Experimente in Griffweite, die noch vor kurzem undenkbar schienen. Zum Beispiel können ganze Genfamilien in Zielzellen ausgeschaltet oder eingebaut werden. «Die Möglichkeiten des Systems sind atemberaubend», heisst es in Fachkreisen unisono.

Dank den neuen Möglichkeiten können Erbgutfragmente rascher als bisher analysiert werden. Das Ausschalten von Genen ist eine beliebte Methode der Grundlagenforscher, um Funktionen zu entschlüsseln. Was passiert mit einem Organismus, wenn ich Gen X oder Y blockiere? Bisher dauerten solche Experimente bei Mäusen ein bis zwei Jahre, nun ist es eine Frage von Tagen bis Wochen. Das erklärt das grosse Interesse an der noch jungen Technik. Martin Jinek berät laufend Forschende, die mit den neuen Gentech-Werkzeugen arbeiten möchten.

Lobende Worte, heikle Fragen

Wo Innovationen gedeihen, sind kommerzielle Interessen nicht weit. Bereits 2011 gründete Jennifer Doudna in Kalifornien zusammen mit Mar-

tin Jinek und weiteren Kollegen das Start-up-Unternehmen Caribou-Biosciences, das Komponenten des Systems anbietet. Für die Zukunft hoffe man, neue Therapeutika wie zum Beispiel Anti-HIV-Mittel auf den Markt zu bringen, sagt Jinek. Der Mitbegründer ist als Berater der Firma tätig. Eine europäische Konkurrenz namens CRISPR Therapeutics machte im Frühling 2014 auf sich aufmerksam. Die in London domizilierte Firma wird von der Basler Risikokapital-Firma Versant Ventures gemanagt. An welchen medizinischen Therapeutika gearbeitet wird, ist Geschäftsgeheimnis.

Während Forscher und Unternehmer das neu entdeckte Werkzeug in den höchsten Tönen loben, zeichnen sich auch heikle Fragen ab. Wenn man dereinst Zellen von Menschen zur Heilung von Krankheiten gentechnisch verändern möchte, so dürfte CRISPR-Cas9 die Methode der Wahl sein. Noch ist die Gentherapie beim Menschen

*Ob bei Menschen oder Mäusen:
Das Erbgut jeder Zelle lässt
sich mit der bakteriellen Schere
gezielt bearbeiten.*

nicht anwendungsreif, doch das dürfte sich ändern. Wenn auf einen Schlag gleich mehrere Gene ausgewechselt werden könnten, stellen sich ethische Fragen in verschärfter Form. Darf man das? Und wenn ja, für welche Krankheiten? Das Präzisionssystem tangiert auch die grüne Gentechnik. Wenn Gene von Pflanzen zielgenau ersetzt werden, lassen sich die Veränderungen im Genom gar nicht mehr nachweisen. Was zur Frage führt, ob solche Erzeugnisse aus dem Labor überhaupt noch als Gentech-Pflanze deklariert werden müssten.

«Neue Möglichkeiten sind immer mit Chancen und Risiken verbunden», sagt Martin Jinek. Letztlich wird es an der Gesellschaft liegen, über Grenzen zu befinden. Als Grundlagenforscher interessieren den Forscher nicht nur die Anwendungen, sondern vor allem die molekulare Funktionsweise des Systems. Seit seiner epochemachenden Publikation erforscht Martin Jinek das Immunsystem hinunter bis zu den einzelnen Atomen. Zusammen mit seinem Team an der

UZH legte der Assistenzprofessor in den letzten Monaten eine beeindruckende Publikationsserie über die molekulare Funktionsweise vor. Diese Arbeiten verbessern das Verständnis und dienen letztlich dazu, künftige Anwendungen sicherer zu machen.

Erworbene Immunität vererben

Neben den Gentechnikern entzückt das bakterielle Immunsystem nicht zuletzt die Evolutionsforscher, denn es erweitert das Verständnis dieser für die Biologie zentralen Lehre. Es geht um den Disput zwischen Lamarckisten und Darwinisten. Jean-Baptiste Lamarck (1744–1829) vertrat die von Charles Darwin (1809–1882) später widerlegte Meinung, dass Lebewesen erworbene Eigenschaften weitergeben. Wie wir wissen, vererben wir zum Beispiel im Training gestählte Muskeln nicht an unsere Kinder, ebensowenig ist unser Nachwuchs vor einer Krankheit gefeit, die ihre Eltern durchmacht. Die erworbene Immunität hilft nur den direkt Betroffenen und geht mit dem Tod verloren. Das in Bakterien gefundene Abwehrsystem hat aber ausgerechnet diese von Lamarck postulierte Fähigkeit. Wenn eine Bakterie von einem Bakteriophagen infiziert wird, baut sie in ihre Gene eine CRISPR-Sequenz ein, die an alle Nachkommen vererbt wird. Die Abkömmlinge sind danach immun, obwohl sie mit dem Virus nie in Kontakt gekommen sind. Ein Phänomen, das experimentelle Biologen und Wissenschaftstheoretiker gleichermaßen elektrisiert.

«Wir haben in den letzten Jahren schon viele Dogmen revidieren müssen», sagt der Biochemiker Martin Jinek. Nicht zuletzt wegen Befunden in Bakterien und Viren, die gängige Lehrmeinungen auf den Kopf stellen. Zurzeit sorgen zum Beispiel die Milliarden von Darm- und Hautbakterien des Menschen und ihr Einfluss auf die Gesundheit für grosses Interesse. Mit welchen Folgen, ist derzeit zwar noch unklar, sicher ist: Die mikroskopisch kleinen Einzeller bergen noch viele Geheimnisse. «Die Entdeckung des mikrobiellen Immunsystems ist bestimmt nicht die letzte Überraschung, die wir mit Bakterien erleben», sagt Martin Jinek.

Kontakt: Prof. Martin Jinek, jinek@bioc.uzh.ch