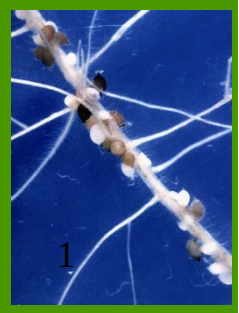
C | A | U
Plant Breeding Kiel
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Die Anwendung von CRISPR-Cas9 bei Nutzpflanzen

Plant Breeding Institute



Hans Harloff

VCI Lehrerfortbildung, 08.03.2019

Inhalt

- Wiederholung: Gene und Genom, Regulation
- Übersicht der Genome Editing Verfahren
- CRISPR Techniken in Pflanzen
- Übersicht von Anwendungen in der Pflanzenzüchtung
- Probleme der Anwendung bei Nutzpflanzen
- Einzelbeispiele aus der aktuellen Forschung
- Zusammenfassung
- Literatur

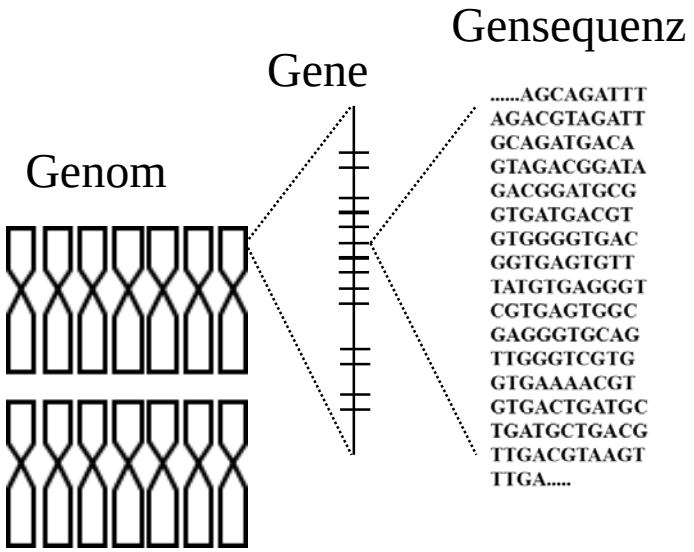
Das Genom einer Nutzpflanze

Das Genom: Das gesamte genetische Material eines Organismus

Eine diploide Nutzpflanze hat ca. 30.000 Gene

Die Größe der Kerngenome variiert zwischen 400 Mill. und 16 Mrd. Nukleotiden

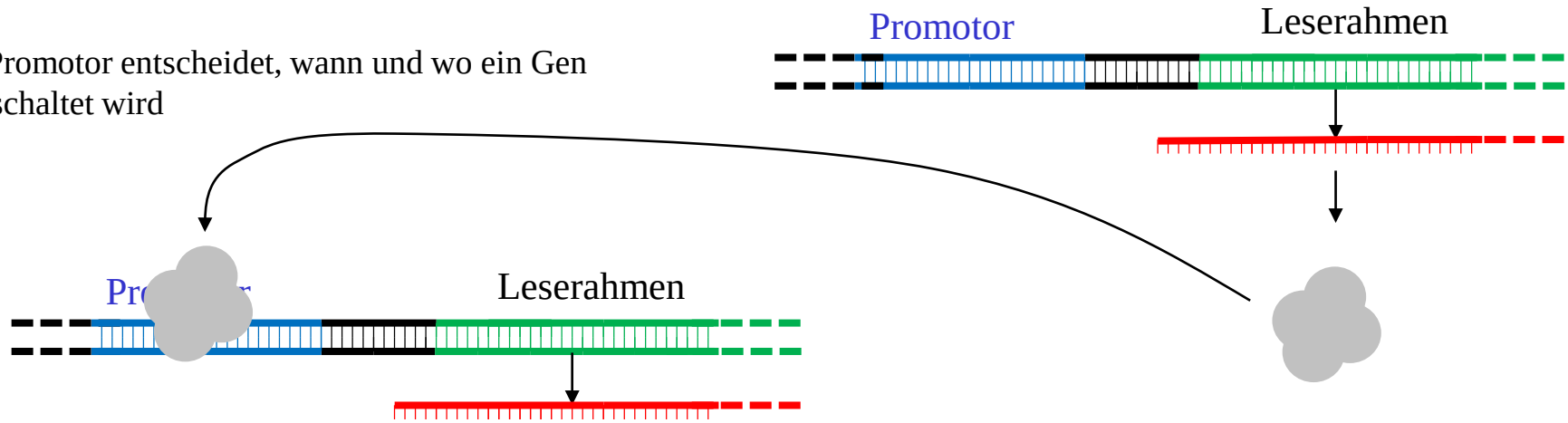
Gene bestehen aus (protein)codierender Sequenz und regulatorischen Sequenzen (Promoter, Introns, Enhancer, Silencer, 3‘ und 5‘ UTR)



Transkriptionsfaktoren als Schlüsselgene für die Evolution und züchterische Verbesserung von Nutzpflanzen

Der Transkriptionsfaktor reguliert die Genaktivität eines anderen Gens

Der Promotor entscheidet, wann und wo ein Gen angeschaltet wird



Genome Editing

- Gene Editing:
  Veränderung regulatorischer und codierender Bereiche, Genaustausch

- Epigenome Editing:
  DNA Methylierung, Histone Modifikation

- Chromosome Editing:
  Austausch und Deletion ganzer Chromosomenbereiche

Transgene / Nicht-Transgene Anwendungen des Genome Editing

Transgen:

- Austausch von Genen oder Genabschnitten
- Einbringen von Fremdgenen in bestimmte Chromosomenregionen

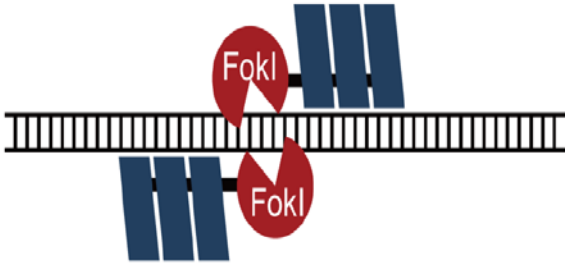
Nicht-Transgen:

- Erzeugung von Mutationen
- Deletion von Genen
- Deletion von Chromosomenabschnitten

→zu unterscheiden von GVO/GMO

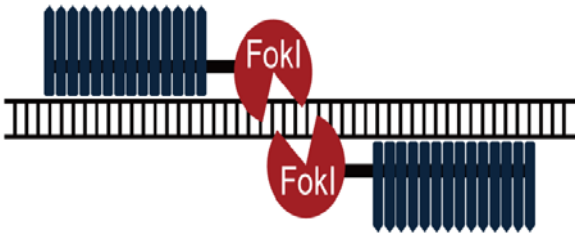
Genome Editing

ZFN

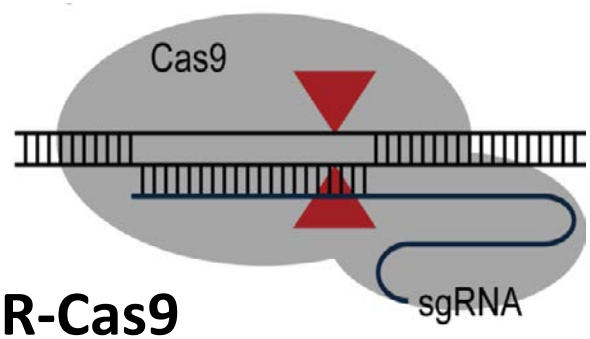


- Zinc finger protein (DNA binding domain) fused with a catalytic nuclease domain
- 1st engineered endonucleases used to edit genes

TALEN



- TAL effector (DNA binding domain) fused with a catalytic nuclease domain
- easier to engineer than ZFNs



CRISPR-Cas9

- Cas9 is the nuclease protein that cuts the DNA
- The site specificity comes from the guide RNA, which can be designed and synthesized easily

Voytas and Gao, *PLoS Biol*, 2014

Anwendungen in Pflanzenzüchtung und -Produktion

- Gene transkriptionell verändern oder ausschalten (CRISPR/CRISPRi)
- Sequenzen ersetzen, neue Gene einführen

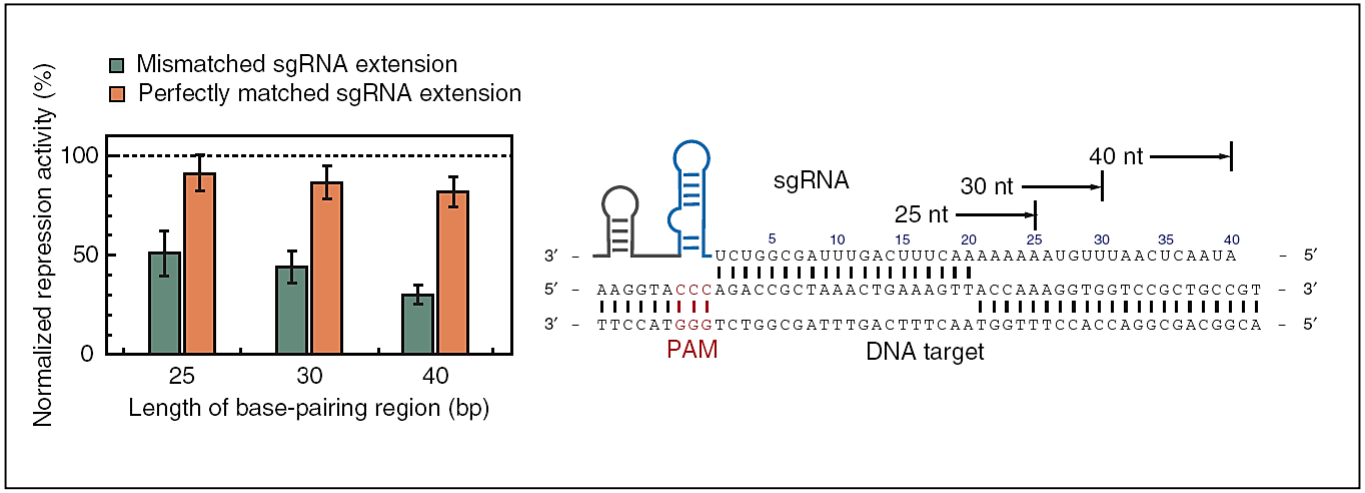
  Promotor Region

  Gesamtes Gen
- Etablierung des CRISPR/Cas9 Verteidigungssystems in Pflanzen: Resistenz gegen Pflanzenviren
- Chromosomenveränderungen
- Epigenetische Veränderungen
- Genetic drift (‚gene drive‘): Verdrängung von Allelen in natürlichen Populationen von Schaderregern

Das CRISPRi (CRISPR interference) Gen Repressionssystem

- CRISPR/dCas-sgRNA system:

  dCas9 = deaktivierte Cas9 Nuclease (Mutationen D10A, H840A)



(Larson et al. Nature Protocols volume 8, pages 2180–2196 (2013)

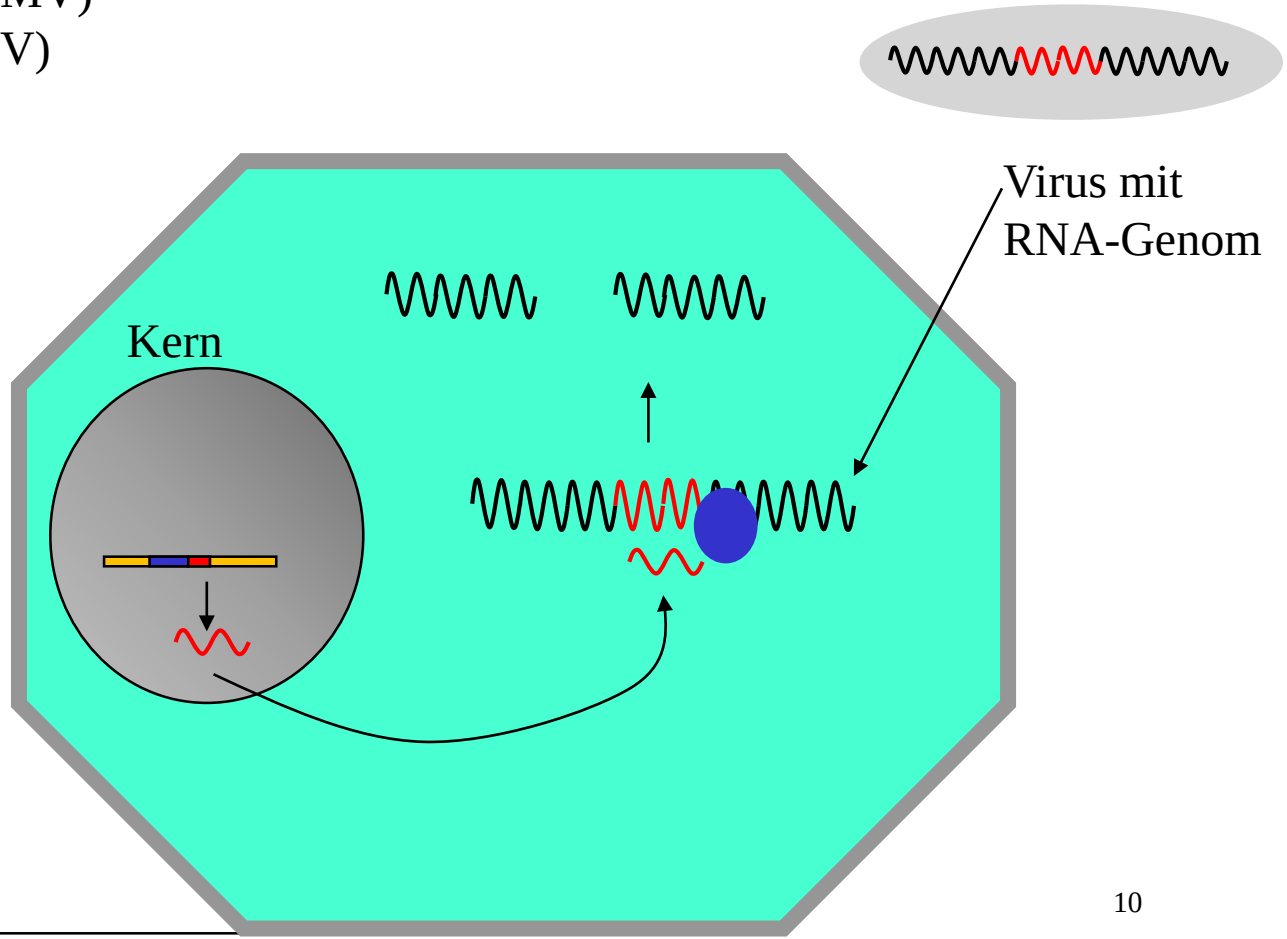
<u>seed region</u> = recognition site (12nt) used by dCas9

<u>base pairing region</u>:
< 20 nt ⟶ weniger Repression
20-40 nt ⟶ keine Steigerung der Repression

Nutzung des CRISPR Systems zur Immunisierung gegen Virusbefall

Nicotiana benthamiana, Arabidopsis
Resistenz gegen

- cucumber mosaic virus (CMV)
- tobacco mosaic virus (TMV)
- leaf curl Kokhran virus



sgRNA mit Homologie zur Virus RNA

Cas9 Gen

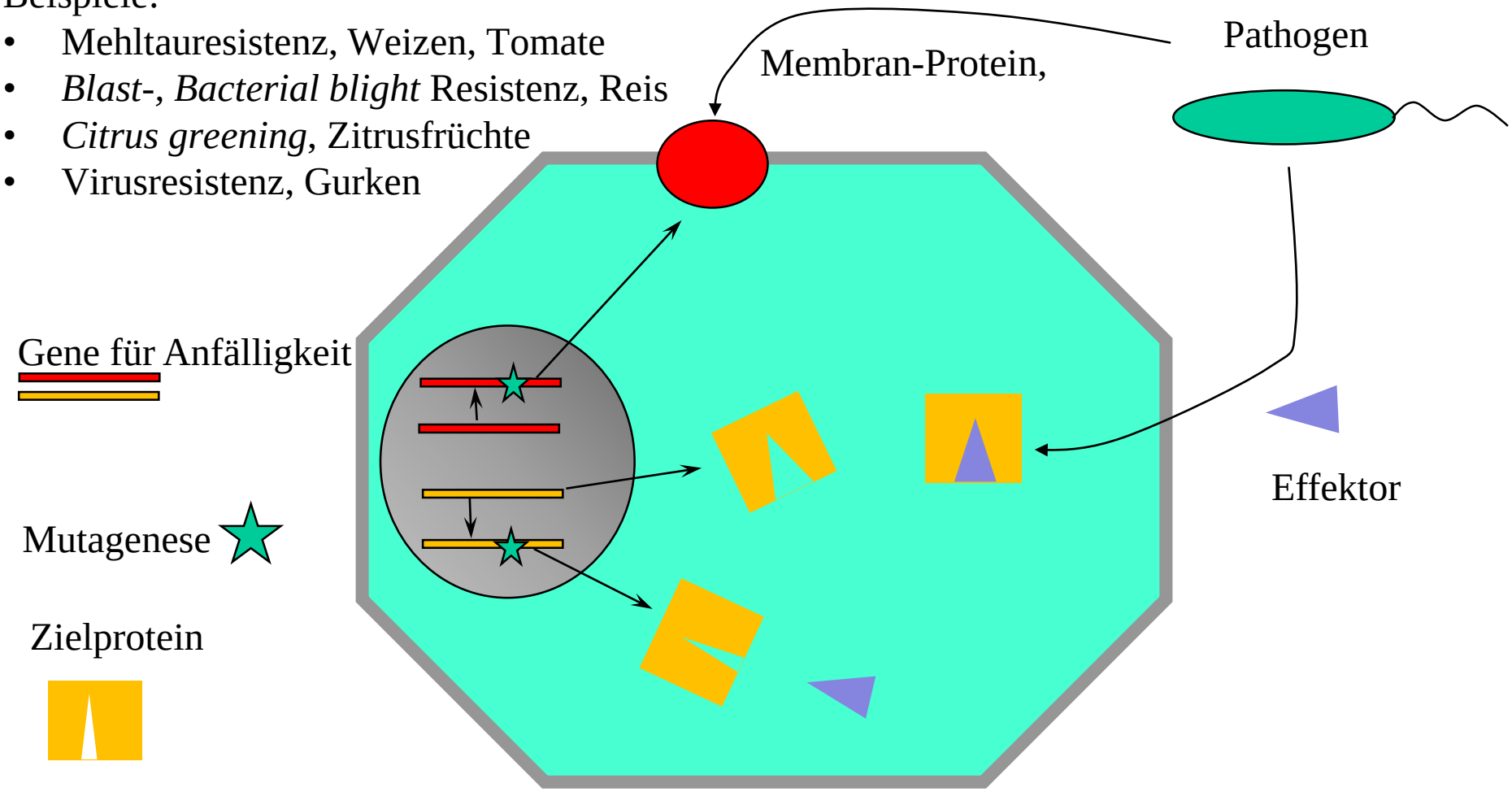
Resistenz gegen Schaderreger

Veränderung eines Zielproteins

Nicht-Wirtsresistenz

Beispiele:

- Mehltauresistenz, Weizen, Tomate
- *Blast*-, *Bacterial blight* Resistenz, Reis
- *Citrus greening*, Zitrusfrüchte
- Virusresistenz, Gurken



Herbizidtoleranz

3-Enolpyruvylshikimat-5-phosphat-Synthase (EPSPS)-Inhibitoren [Glyphosat]

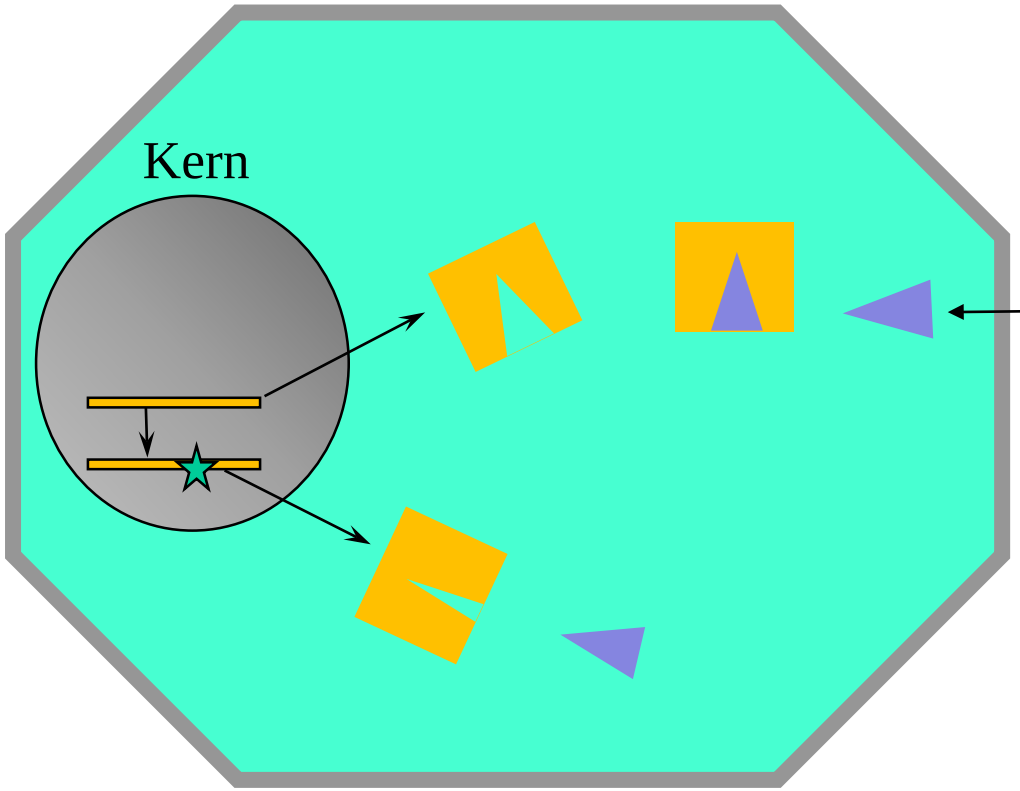
Acetolactat-Synthase (ALS)-Inhibitoren

Acetohydroxysäuresynthase (AHAS)-Inhibitoren

Glutaminsynthetase Inhibitor [Glufosinat, BASTA]

Gen für „Anfälligkeit“
(Ligand, Zielprotein)

Mutagenese



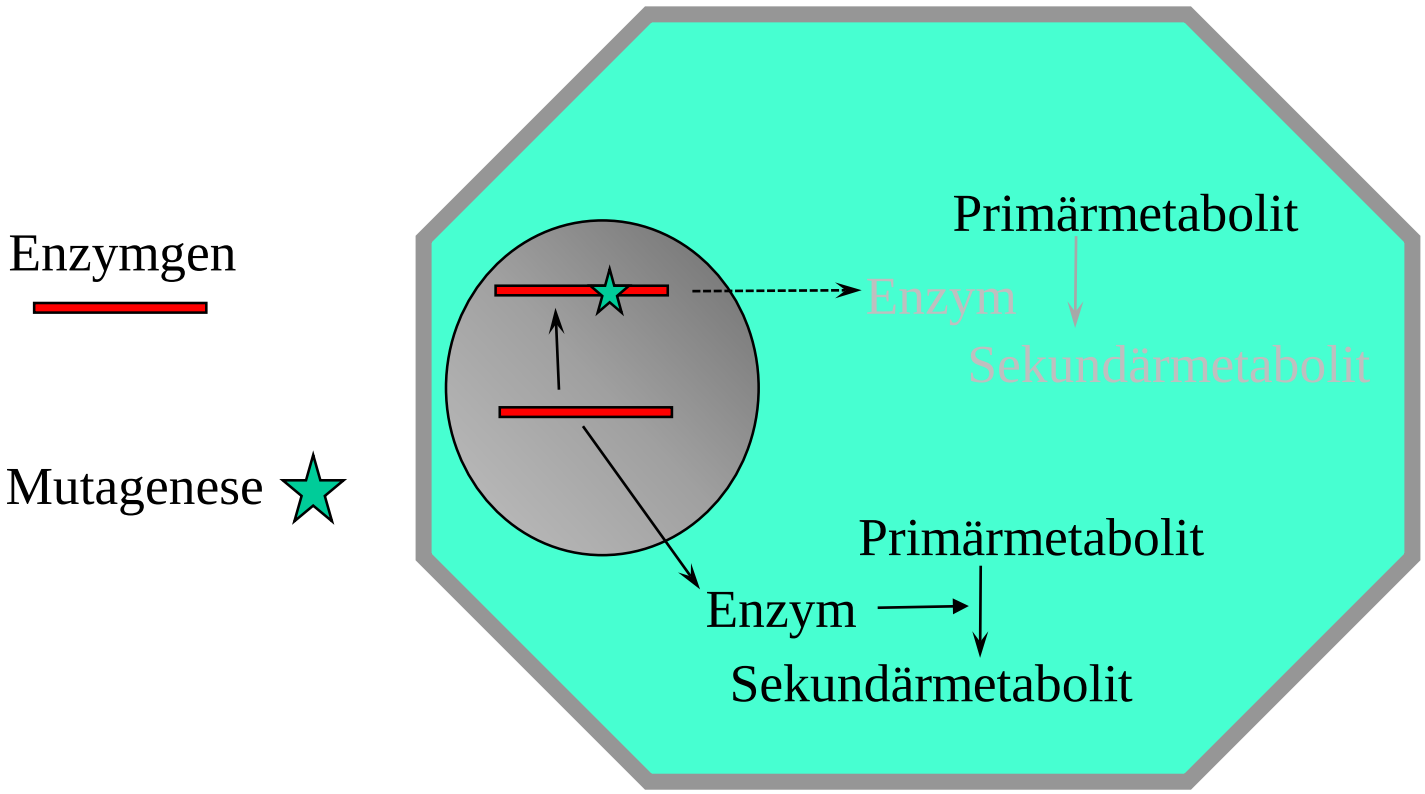
Metabolic engineering

Überproduktion erwünschter Inhaltsstoffe (Metabolite):

- benzylisoquinoline alkaloids (opium poppy)
- γ-aminobutyric acid (tomato)

Entfernen negativer Inhaltsstoffe:

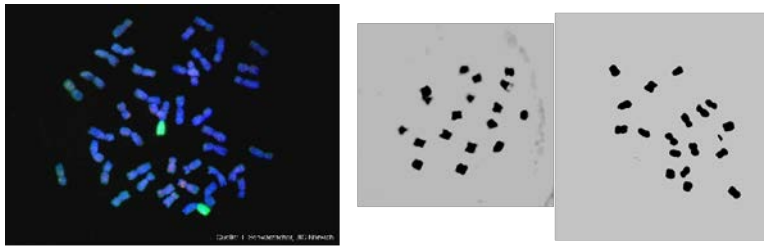
- Glucosinolate
- Phytinsäure



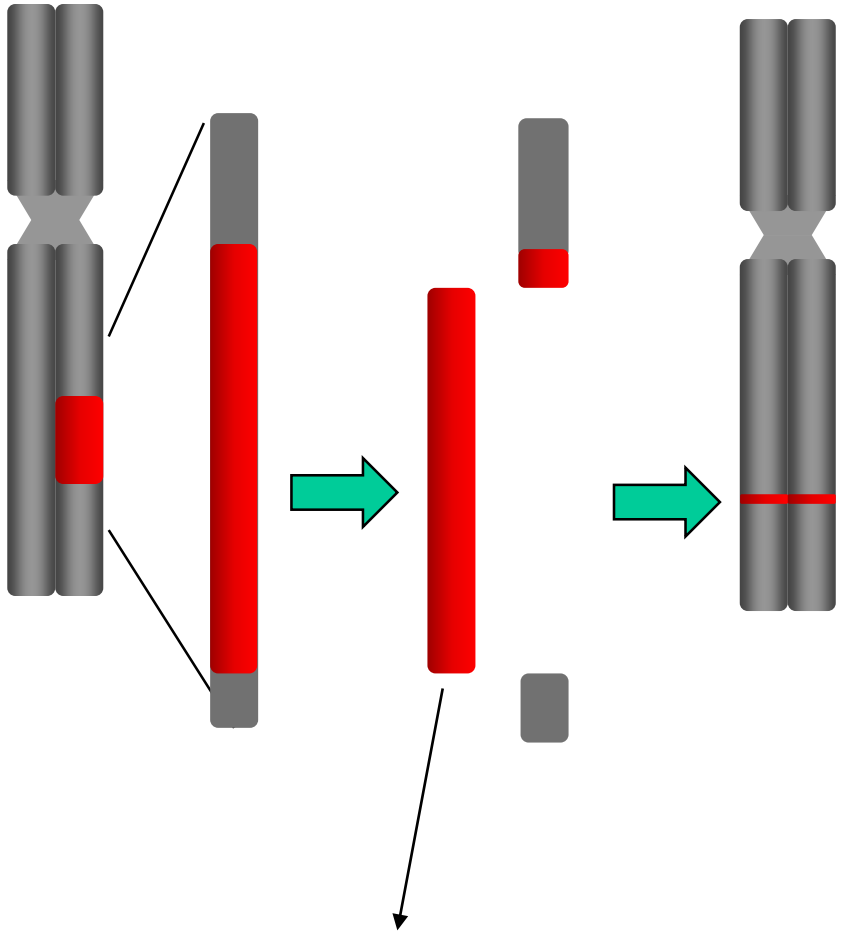
Entfernen negativ wirksamer (unerwünschter) Genomabschnitte nach Artbastardierung

- *Raphanus*-Introgressionen in Raps
- *P. procumbens*-Introgression in Zuckerrüben
- *Agropyron*-Introgression in Weizen

„Chromosome engineering“



Wheat, 1B1R



Epigenome Editing

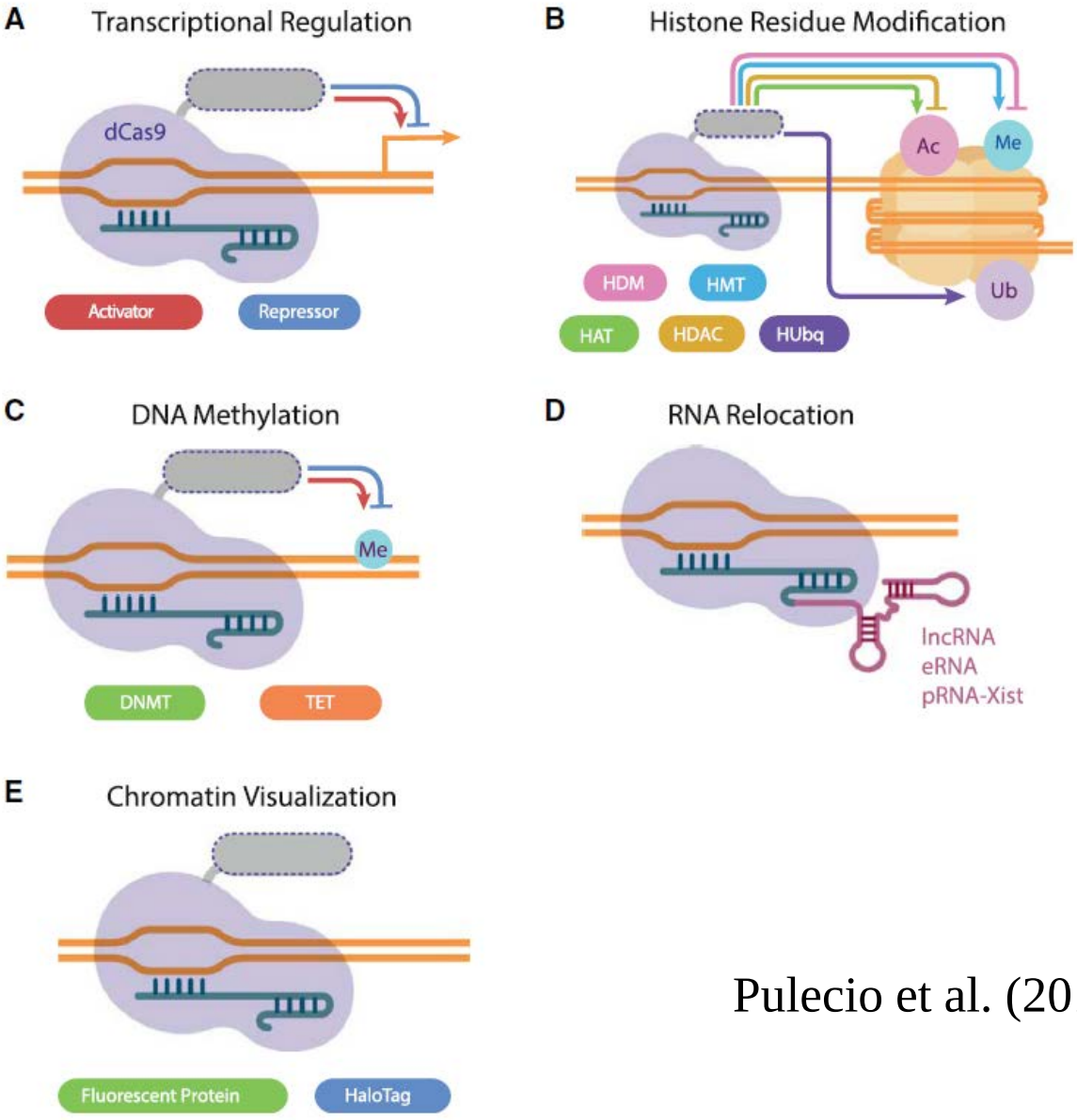


Figure 1. CRISPR/dCas9-Based Applications to Study and Manipulate the Epigenome

For a Figure360 author presentation of Figure 1, see the figure legend at https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.09.006#mmc2.

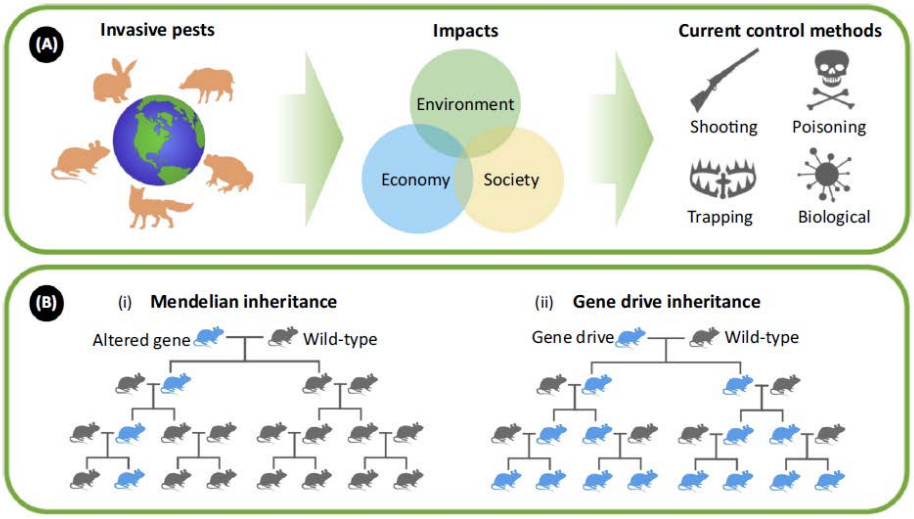
Main applications of the CRISPR/dCas9 system to study and manipulate the epigenome are based on the feasibility to allocate chromatin modifiers and fluorescent molecules in a very precise way. This includes the targeted reposition of transcriptional regulators (A), histone modifiers (B), enzymes responsible for changes in the DNA methylation (C), chromatin-interacting ncRNAs (D), and fluorescent molecules (E). (Gray dotted-boxes can be replaced with the colored boxes corresponding to reported examples of chromatin modifiers and fluorescent molecules). HDM, histone demethylase; HMT, histone methyltransferase; HAT, histone acetyltransferase; HDAC, histone deacyetylase; HUbq, histone ubiquitin ligase; DNMT, DNA methyltransferase; TET, ten-eleven translocation enzymes. Ac, acetylation; Me, methylation; Ub, ubiquitination.

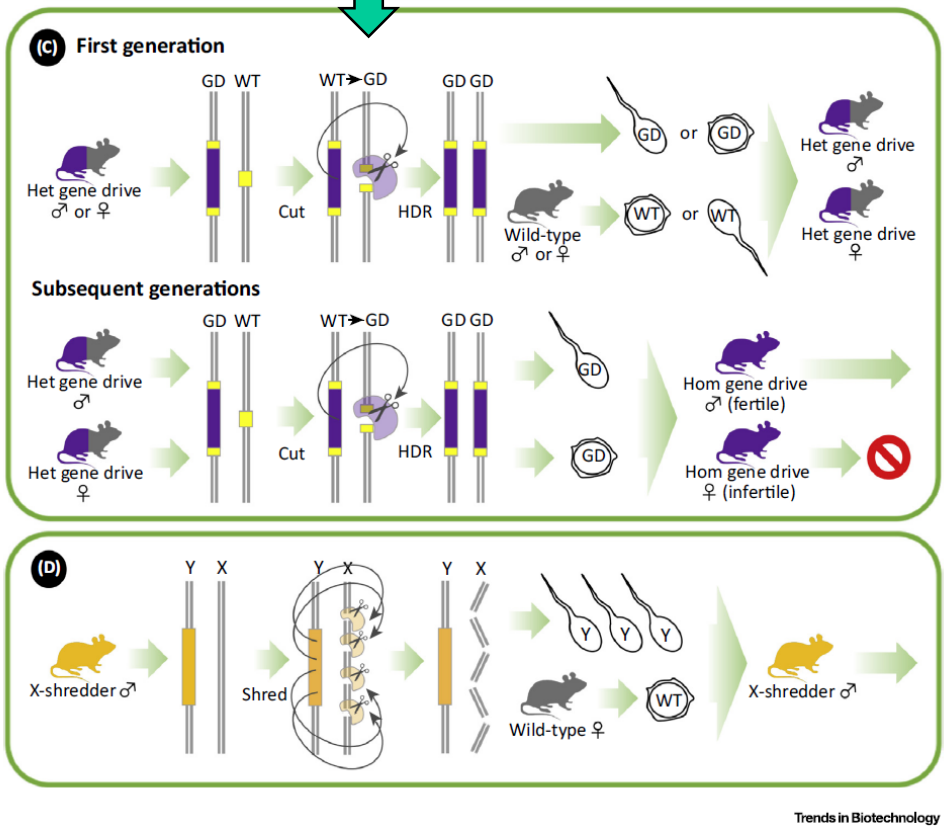
Pulecio et al. (2017) Cell Stem Cell 21, 431-447

Gene Drive

- Auslöschen ganzer Populationen:
  Malaria-Mücken, resistente Unkräuter

&





&: Target: weibliches Fertilitätsgen

McFarlane et al. (2018) Trends in Biotechnology 36, 130-133

Veränderung agronomischer Merkmale durch Geninaktivierung (1)

Crop	Target gene	Function	Technique	References
Apple	PDS	Biosynthesis of chlorophyll	CRISPR/Cas9	Nishitani et al. 2016
Barley	HvPM19	ABA-inducible plasma membrane protein	CRISPR/Cas9	Lawrenson et al. 2015
Corn	ZmIPK	Antinutritional phytic acid biosynthesis	CRISPR/Cas9	Liang et al. 2014
Corn	LIG1, Ms26, and Ms45	Branching, male fertility, and acetolactate synthase	CRISPR/Cas9	Svitashev et al. 2015
Corn	ARGOS8	Drought tolerance	CRISPR/Cas9	Shi et al. 2016
Corn	ZmPDS, ZmIPK1A, ZmIPK, ZmMRP4	Antinutritional phytic acid biosynthesis	TALENs	Liang et al. 2014
Corn	ZmAgo18 and DFR	RNA interference and related pathways and oxidation-reduction process	CRISPR/Cas9	Char et al. 2017
Cotton	HPPD, EPSPS	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	D'Halluin et al. 2013
Cucumber	eIF4E	Virus resistance	CRISPR/Cas9	Chandrasekaran et al. 2016
Orange	CsPDS	Biosynthesis of chlorophyll	CRISPR/Cas9	Jia et al. 2014
Petunia	PDS	Biosynthesis of chlorophyll	CRISPR/Cas9	Zhang et al. 2016
Poplar	potPDS	Biosynthesis of chlorophyll	CRISPR/Cas9	Fan et al. 2015
Poplar	4CL1, 4CL2	Lignin and flavonoid synthesis	CRISPR/Cas9	Zhou et al. 2015
Potato	StIAA2	Petiole hyponasty and shoot morphogenesis	CRISPR/Cas9	Wang et al. 2015
Potato	VInv	Sucrose breakdown to glucose and fructose	TALENs	Clasen et al. 2016
Rapeseed	BnALC	Silique Shatter Resistance	CRISPR/Cas9	Braatz et al. 2017
Rapeseed	BnCLV1, BnCLV2, BnCLV3	Multilocular Siliques	CRISPR/Cas9	Yang et al. 2017

Jung et al. (2018) Plant Breeding 137:1–9. https://doi.org/10.1111/pbr.12526 (modified)

Veränderung agronomischer Merkmale durch Geninaktivierung (2)

Crop	Target gene	Function	Technique	References
Rice	CAO1, LAZY1	Synthesis of chlorophyll b and regulate shoot gravitropism, control tiller angle	CRISPR/Cas9	Miao et al. 2013
Rice	OsPDS, OsBADH2	Biosynthesis of chlorophyll and aroma	CRISPR/Cas9	Shan et al. 2013
Rice	OsSWEET	Plant disease susceptibility genes	CRISPR/Cas9	Jiang et al. 2013
Rice	OsWaxy	Amylose synthesis	CRISPR/Cas9	Ma et al. 2015
Rice	OsBEL	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Xu et al. 2014
Rice	CSA	Male sterility	CRISPR/Cas9	Li et al. 2016b
Rice	OsERF922	Blast resistance	CRISPR/Cas9	Wang et al. 2016
Rice	Gn1a, DEP1,GS3, IPA1	Yield related genes	CRISPR/Cas9	Li et al. 2016a
Rice	OsSWEET14	Bacterial blight resistance	TALENs	Li et al. 2012
Rice	OsPDS, OsBEL	Carotene biosynthesis and regulation of transcription	CRISPR-Cpf1	Xu et al.2017
Rice	OsAnn3	Cold tolerance	CRISPR/Cas9	Shen et al. 2017
Soybean	GmPDS	Chlorophyll pigment synthesis	CRISPR/Cas9	Du et al. 2016
Soybean	Glyma07g14530	Glucosyltransferase	CRISPR/Cas9	Jacobs et al. 2015
Soybean	FAD2-1A and FAD2-1B	High oleic acid, low linoleic acid	TALENs	Haun et al. 2014
Sugarcane	CAOMT	Cell wall composition (production of bioethanol)	TALENs	Jung et al 2016
Tobacco	NtPDS	Biosynthesis of chlorophyll	CRISPR/Cas9	Gao et al. 2014
Tobacco	NtPDR6	Plant development	CRISPR/Cas9	Upadhyay et al. 2013
Tobacco		Virus resistance	CRISPR/Cas9	Ali et al. 2016

Veränderung agronomischer Merkmale durch Geninaktivierung (3)

Crop	Target gene	Function	Technique	References
Tomato	SlAGO7	Leaf development	CRISPR/Cas9	Brooks et al. 2014
Tomato	RIN	Fruit ripening	CRISPR/Cas9	Ito et al. 2015
Tomato	SlPDS, SlPIF4	Biosynthesis of chlorophyll and Auxin biosynthesis	CRISPR/Cas9	Changtian et al. 2016
Tomato	PROCERA	Gibberellic acid metabolism	TALENs	Lor et al. 2014
Wheat	TaMLO homologs	Powdery mildew resistance	CRISPR/Cas9	Wang et al. 2014
Wheat	INOX, PDS	Inositol oxygenase and phytoene desaturase genes	CRISPR/Cas9	Upadhyay et al. 2013
Wheat	TaDREB2, TaERF3	Stress response, ethylene signaling and response pathway	CRISPR/Cas9	Kim et al. 2018

Veränderung agronomischer Merkmale durch Einbau eines Fremdgens

Crop	Target gene	Function	Technique	References
Rice	ALS	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Endo et al. 2016
Tomato	ANT1	Anthocyanin biosynthesis	CRISPR/Cas9	Cermak et al. 2015
Corn	ALS1, ALS2, PAT	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Svitashev et al. 2015
Corn	ARGOS8	Drought tolerance	CRISPR/Cas9	Shi et al. 2016
Soybean	DD43	Hygromycin phosphotransferase	CRISPR/Cas9	Li et al. 2015
Soybean	ALS1	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Li et al. 2015
Cotton	HPPD, EPSPS	Herbicide resistance	Meganuclease	D'Halluine et al. 2013
Flax	EPSPS	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Sauer et al. 2016
Rice	EPSPS	Herbicide resistance	CRISPR/Cas9	Li et al. 2016

Eigenschaften, die durch das Zusammenwirken vieler Gene beeinflusst werden (quantitative Merkmale), und die bereits durch *genome editing* verändert worden sind.

Ertragsmerkmale

Frucht-/Samengröße

Pflanzen-Architektur

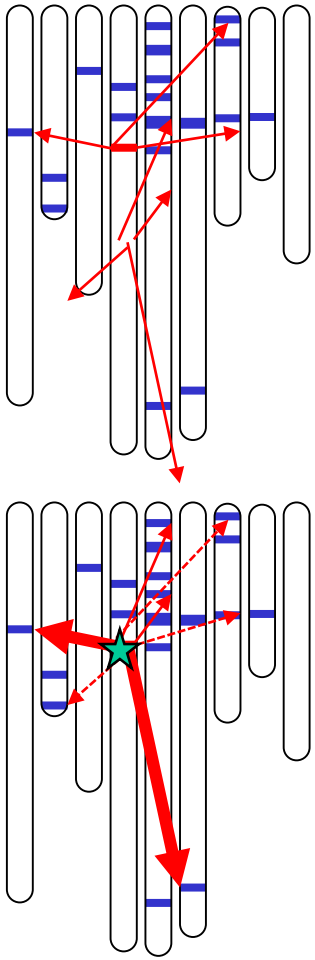
Blühzeitpunkt

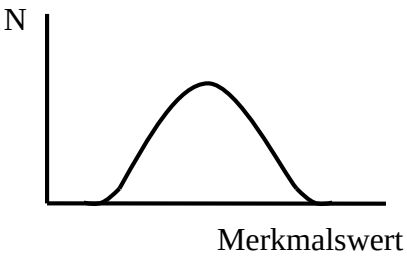
Schotenplatzfestigkeit, Schotenarchitektur

Stresstoleranz (Trockenheit, Kälte)

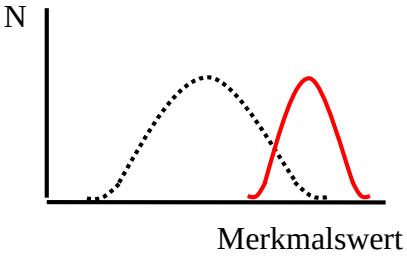
Samenreife, Platzfestigkeit

Domestikation heutiger Wildpflanzen in wenigen Schritten





Gen für Transkriptionsfaktor



Kandidatengene:

- SPL-Transkriptionsfaktoren
- MADS-Box-Transkriptionsfaktoren

Problem der Anwendung von Genome Editing: die meisten Nutzpflanzen sind polyploid !

- die meisten Nutzpflanzen besitzen mehrere Gene mit gleicher Funktion: sie lassen sich gleichzeitig ausschalten, aber die Züchtung gestaltet sich schwierig (Erzeugung von knockout Elite-Genpools oder markergestützte Rückkreuzung aufgrund komplexer Spaltung ist nötig)

- GVO Gesetzgebung: bei Verwendung von Agrobakterien: es lassen sich häufig Vektorfragmente in der Pflanze nachweisen

- Umgehen der GVO Gesetzgebung (nach dem EuGH Urteil nur außerhalb Europas!)

  - Verwendung von Agrobakterien-freier Transformation (PEG, protoplasts)
  - Verwendung von Transgen-freien Techniken (Ribonucleoproteine: Cas9-Protein, sgRNA)

Genom-Organisation in Nutzpflanzen: Polyploidie

potato 2x; 4x

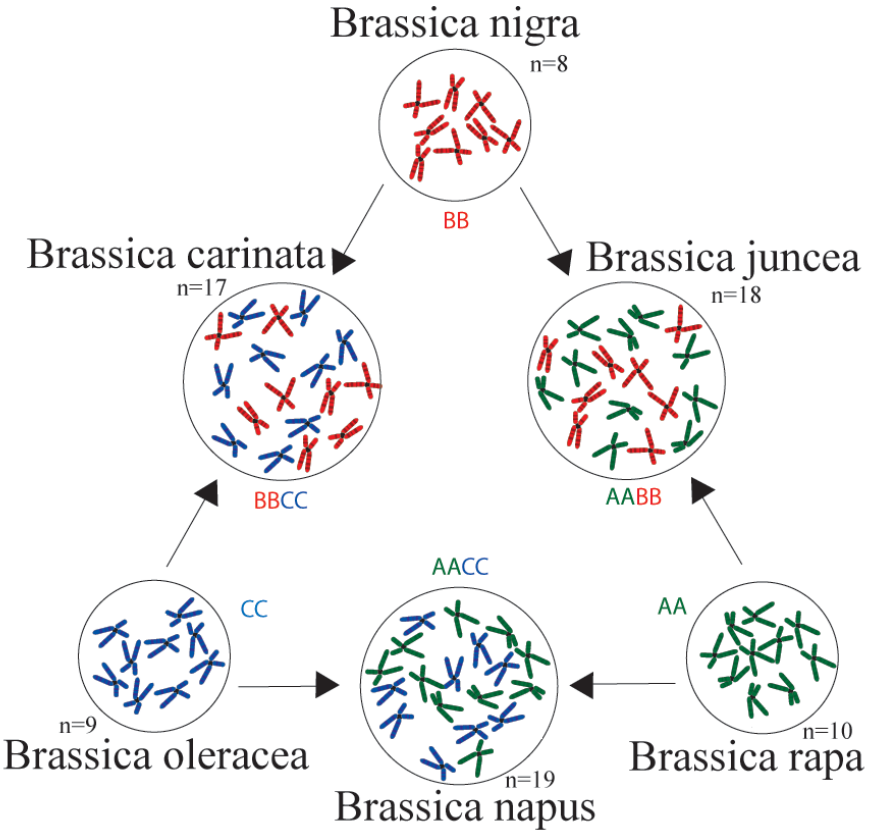
wheat 4x (durum wheat)
6x (bread wheat)

rapeseed 4x

quinoa 4x

cotton 4x

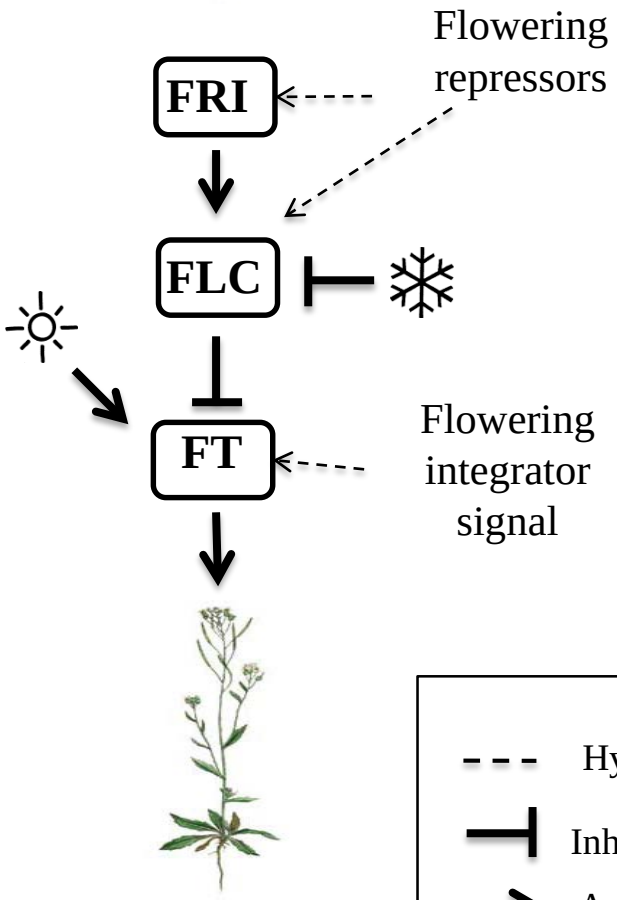
strawberry 2x, 4x, 5x, 6x, 8x, 10x



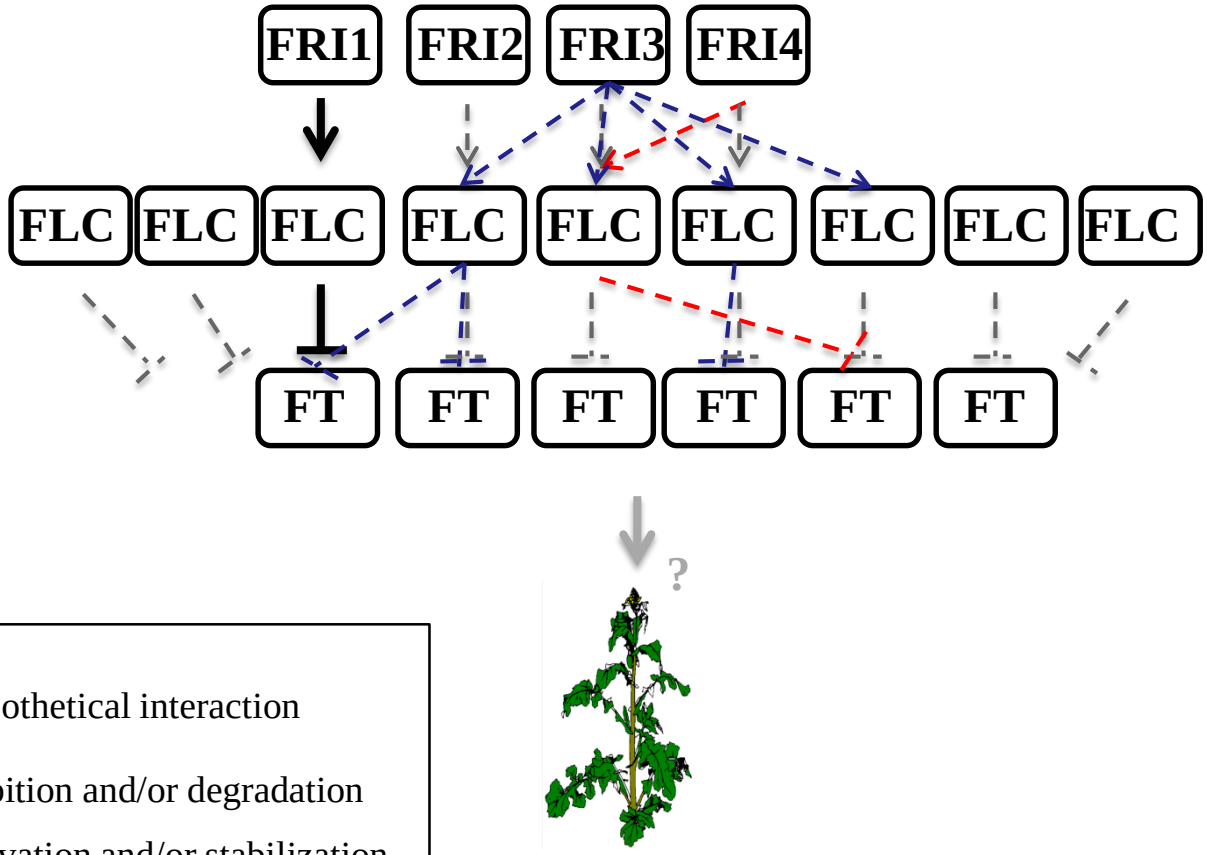
https://en.wikipedia.org/wiki/Triangle_of_U

FTi regulation: knowledge transfer from model plants (*Arabidopsis*)

Arabidopsis thaliana
(cold-responsive ecotypes)



Brassica napus
(winter–type cultivars)



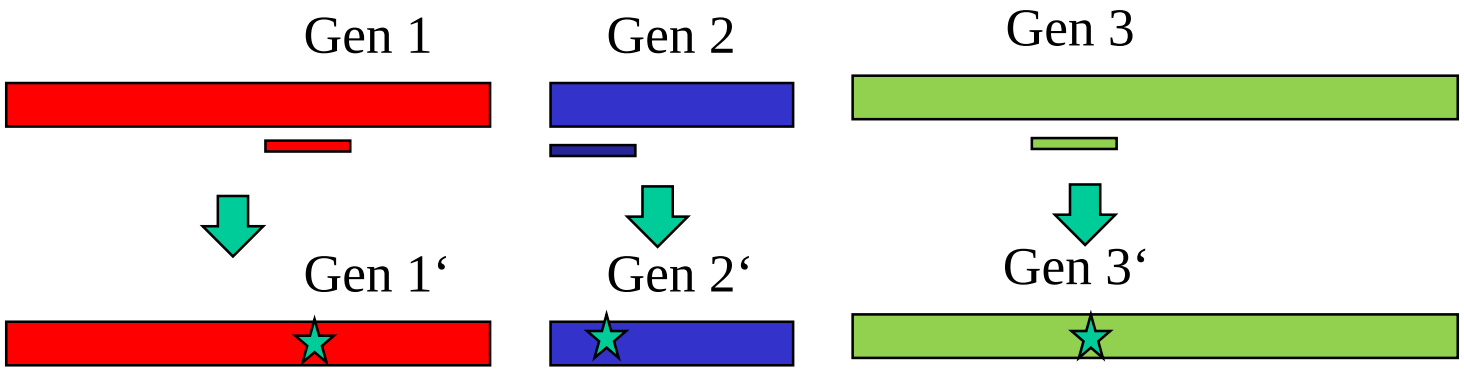
Hypothetical interaction

Inhibition and/or degradation

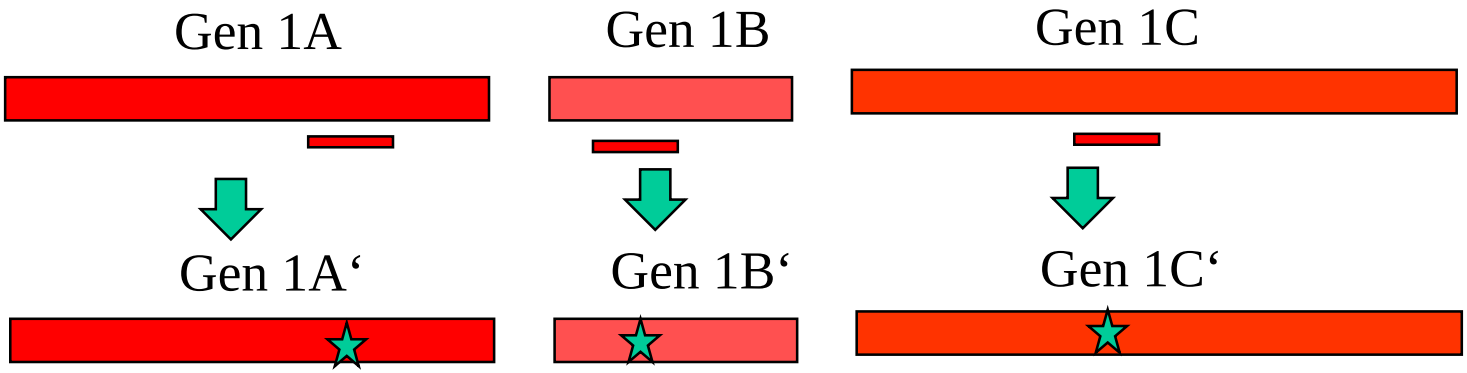
Activation and/or stabilization

Gleichzeitiges Ausschalten mehrerer Gene

verschiedene Gene mit verschiedenen sgRNAs ausschalten (multiplexing)

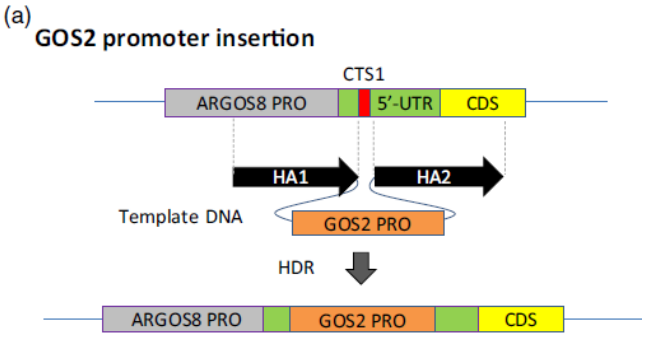


sehr ähnliche Gene (Paraloge) mit einer sgRNA ausschalten

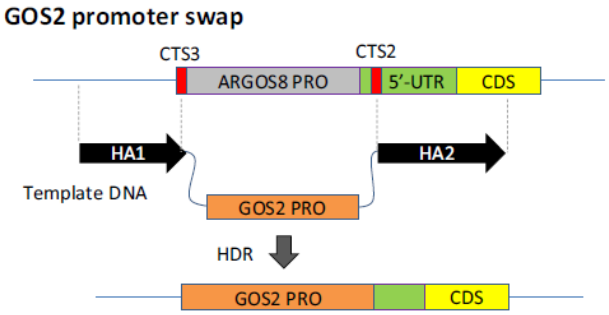


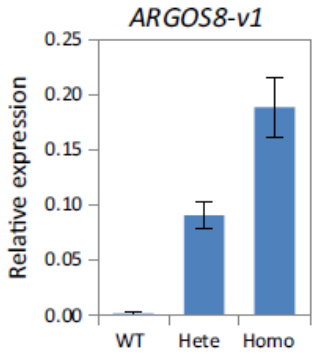
Die erhöhte transkriptionelle Aktivität durch CRISPR-Cas9 Mutagenese führt zu verbesserter Resistenz gegen Dürrestress bei Mais unter Feldbedingungen

Integration eines neuen Promotors (GOS2 PRO) stromaufwärts des ARGOS8 Gens
Methode: homology-directed DNA repair



Ersetzen des nativen Promoters
durch den GOS2 PRO Promotor





Relative Expression von ARGOS8 in Blättern gemessen mit qRT-PCR.

particle bombardement Cas9, sgRNA, PMI, ODP2 and WUS

↓

Selektion von T2 Pflanzen mit zufälligen DNA Insertionen

↓

Expression

↓

Rückkreuzung

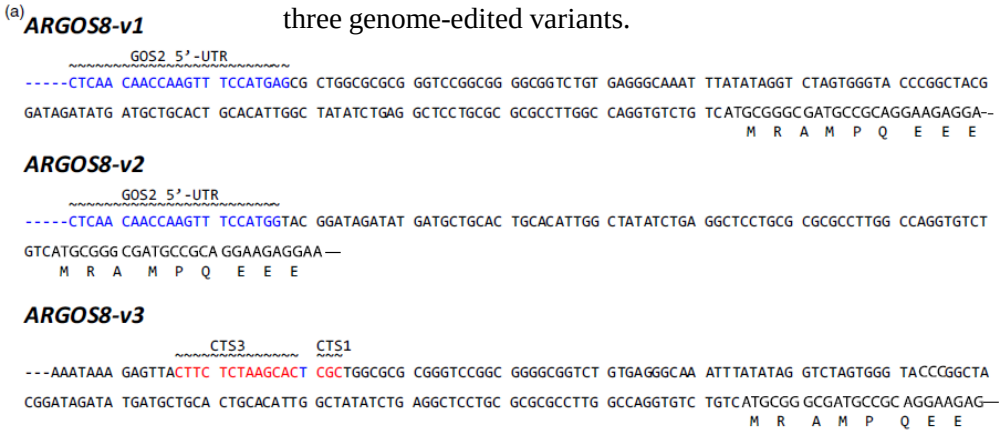
↓

F1-Hybriden

↓

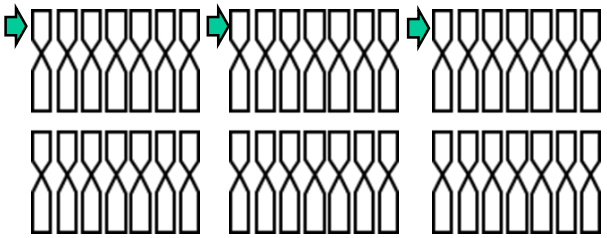
Feldanbau

Genomic sequence upstream of the ARGOS8 coding region in three genome-edited variants.



Shi J, et al (2016) Plant Biotechnology Journal 15: 207-216. doi:10.1111/pbi.12603

Gezielte Inaktivierung von drei Genen für Mehltau-Anfälligkeit in Weizen durch genome editing



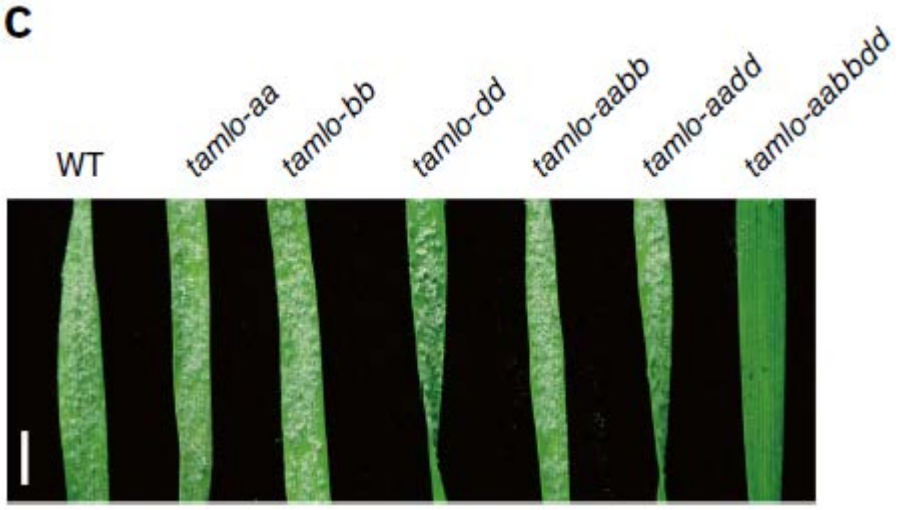
drei Gene (Homoeoallele) des *MILDEW-RESISTANCE LOCUS (TaMLO)*

Genredundanz hat bisher die Selektion von resistenten Pflanzen in natürlichen Populationen verhindert

TALEN-and CRISPR-Cas9 induzierte Mutationen aller drei *TaMLO* Gene in ein und derselben Pflanze → vererbbare Mehltau-Resistenz mit einem breiten Rassenspektrum

```
T0-1 A1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg..................TATGCATCTCCCA  –19
T0-2 A1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcagga...aatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –3
T0-3 A1:  .........................caatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –32
     B1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagga/ccccatctcCGGGATATGCATCTCCGA +141
     D1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagga........../GGATATGCATCTCCGA –11/+81
T0-4 D1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagg.....atctcCGGGATATGCATCTCCGA  –5
T0-5 D1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcag.....aatctcCGGGATATGCATCTCCGA  –5
T0-6 A1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgca......aatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –6
          TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcagga...aatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –3
          TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcagga....atctcCGGGATATGCATCTCCCA  –4
          TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcaggac..aatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –2
T0-7 D1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac..aatctcCGGGATATGCATCTCCGA  –2
T0-8 A1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcag.......tctcCGGGATATGCATCTCCCA  –7
          TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgcagg...caatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –3
     B1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagg../cccatctCCGGGATATGCATCTCCGA –2/+113
T0-9 A1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.........tctcCGGGATATGCATCTCCCA  –10
     D1:  TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac.....ctcCGGGATATGCATCTCCGA  –5
          TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac....tctcCGGGATATGCATCTCCGA  –4
          TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac..aatctcCGGGATATGCATCTCCGA  –2
T0-10 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg..........ctcCGGGATATGCATCTCCCA  –11
T0-11 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.../gacccaatctcCGGGATATGCATCTCCCA –3/+61
     D1:  TCGCTGCTGCTC.............................CATCTCCGA  –29
T0-12 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacgc........atctcCGGGATATGCATCTCCCA  –8
T0-13 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacgcagga......ctcCGGGATATGCATCTCCCA  –6
T0-14 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacgc.......aatctcCGGGATATGCATCTCCCA  –7
T0-15 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacgca..........cCGGGATATGCATCTCCCA  –11
```

TALEN-induzierte mutante *TaMLO* Allele



Blatt-Phänotypen nach Infektion von WT und *mlo* Mutanten 7 Tage nach Inokulation der isolierten Blätter mit *Blumeria graminis.*

Wang, Y., et al. (2014). "Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew." Nat Biotech **32**(9): 947-951.

Gene replacement by intron targeting confers glyphosate resistance in rice

A natural double aa substitution (T102I + P106S; TIPS) in the conserved motif of the EPSPS-gene leads to resistance to glyphosate in goosegrass

no spontaneous or induced TIPS double mutations have been reported in cultivated crops (low probability of two simultaneous nucleotide substitutions.

several sgRNAs, targeting introns 1 and 2 of OsEPSPS → replace the endogenous exon 2 with a new exon containing the TIPS substitutions

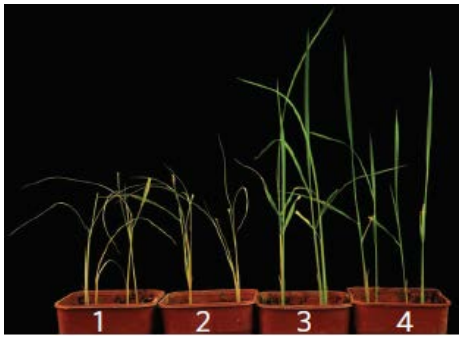
Two approaches: gene insertion and gene replacement

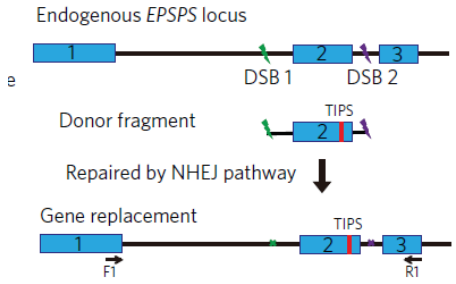
the entire sequence (1.6 kb) between the two C3 sites in the donor was inserted into the targeted chromosomal C3 site

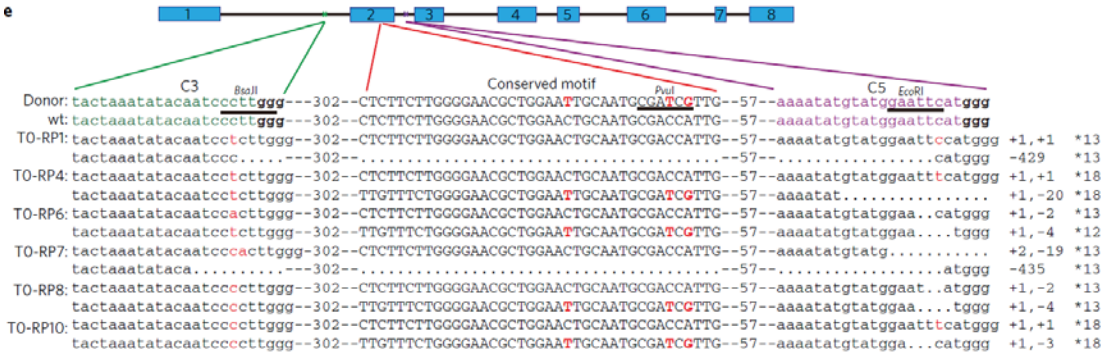
TIPS mutations in the T0 population were transmitted to the next generation, although only in the heterozygous TIPS state

assessed the glyphosate resistance of the T0 and T1 plants

heterozygous TIPS mutant plants had normal phenotypes with no symptoms of damage, plants carrying homozygous TIPS mutation could not survive,







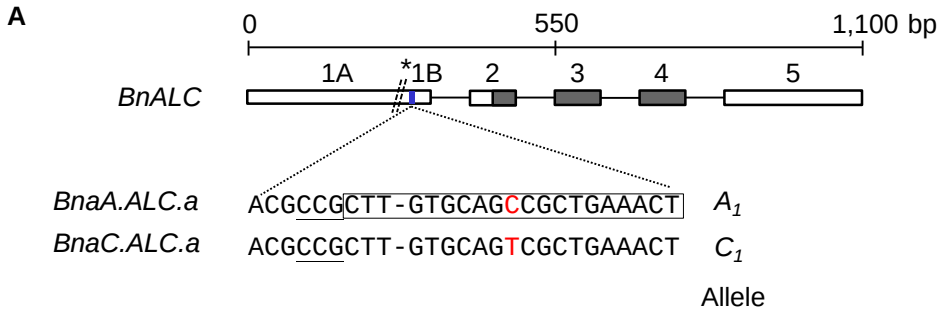
Li J, et al. (2016) Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR–Cas9. Nature Plants 2:16139

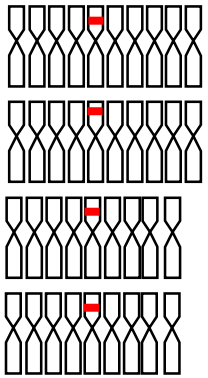
Erzeugung von Ölraps mit erhöhter Schotenplatzfestigkeit (1)

Janina Braatz

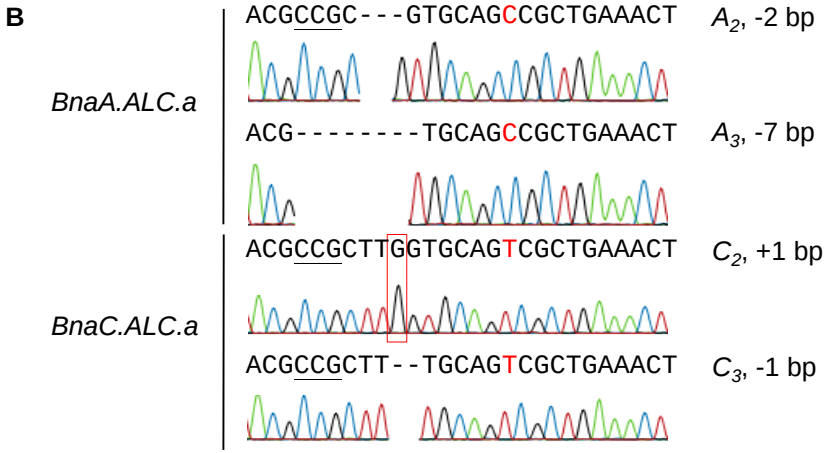
Problem:

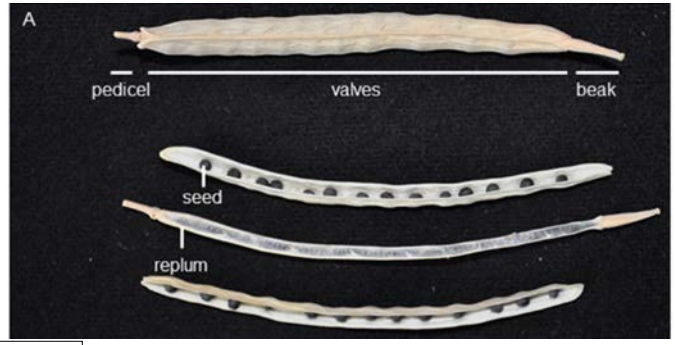
- Rapsschoten platzen vor oder während der Ernte
- Bis zu 25% Vorernteverluste





Gleichzeitige Mutagenese von 4 *BnALC* Homoeoallelen



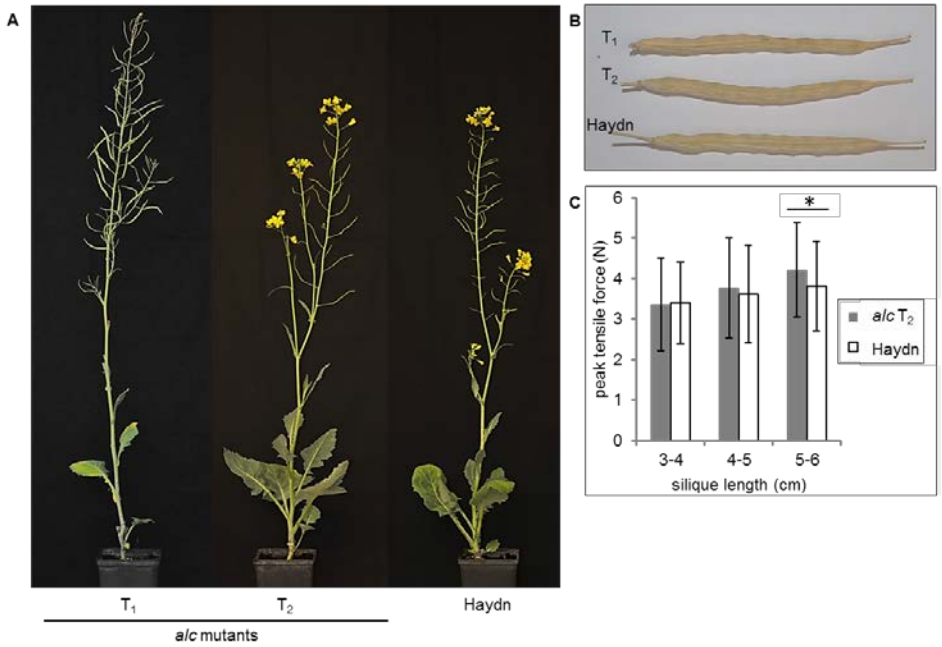


exon
bHLH domain
CRISPR-Cas9 target site
intron
* 4.7 kb intron in *A* homoeolog

Braatz, J., et al. (2017)

Erzeugung von Ölraps mit erhöhter Schotenplatzfestigkeit (2)

- gleichzeitiges Ausschalten von 4 *ALC* Genen
- die T2 Nachkommen spalten nach Mendel 3:1 für das Transgen
- die Schoten sind platzfester



	Transgene genotypes			alc genotypes									
	Trans-genic	Non-transgenic	Chi² test[b]	A_2A_2 C_2C_2	A_2A_2 C_2C_3	A_2A_2 C_3C_3	A_2A_3 C_2C_2	A_2A_3 C_2C_3	A_2A_3 C_3C_3	A_3A_3 C_2C_2	A_3A_3 C_2C_3	A_3A_3 C_3C_3	Chi² test[c]
O	27	9	0	3	4	0	3	14	2	1	6	3	8.52
E[a]	27	9		2.25	4.25	2.25	4.25	9	4.25	2.25	4.25	2.25	

Braatz, J., et al. (2017)

- SNP not allowed at positions 1-5 (1-8?, 1-10?, 1-12??)

Janina Braatz

Putative Off-Target Effects

BnaA.ALC.a	CCGCTTGTGCAGCCGCTGAAACT
BnaC.ALC.a	CCGCTTGTGCAGTCGCTGAAACT
BnaC04g13390D	CCGCTTGTGCAGTCTCTGAAACT
Non-coding region on chr. C02	CCGCTTTTGCAGCCGCAGAAAGA

Figure 2. Alignment of the CRISPR-Cas9 target sequences from *BnaA.ALC.a* and *BnaC.ALC.a* in comparison to two potential off-target sites identified in the reference genome of Darmor-*bzh* by a BLAST search. The protospacer-adjacent motifs (PAM) are underlined. SNPs are highlighted in red.

Braatz et al. 2017

- PCR: no editing in two additional off-targets

Zusammenfassung

- Die Anwendung von Genome Editing durch Knock-out ist für polygene Eigenschaften begrenzt
- Genome Editing wird aber die Methode der Wahl sein zur Steuerung von Genregulation (Veränderung von Promotoren, Transkriptionsfaktoren, Genfunktionsänderung)
- Transgen-freies Genome Editing ist die erstrebenswerte Alternative für die Zukunft (schnelle Domestikation von Wildformen erschließt neue Nahrungsquellen, beschleunigte Evolution zur Krankheitsbekämpfung, Qualitätsverbesserung)

Ausblick – Herausforderungen der Zukunft

I. Probleme

- Globale Erwärmung (Temperatur, Versalzung, Wassermangel, Überschwemmungen, Unwetter)
- Umweltverschmutzung
- Einschleppen fremder Arten durch Globalisierung
- Verlust von genetischer Vielfalt (Artenvielfalt)
- Nicht-nachhaltige Landwirtschaft (Monokultur, Fruchtwechsel/Bodenkultur, Tierhaltung)
- Welternährung

Ausblick – Herausforderungen der Zukunft

II. Neue Techniken / Erkenntnisse

- Gerichtete Evolution (genetische Modifikation, Lenkung der Artenvielfalt)
- Synthetische Biologie (neue, künstliche Organismen)
- Mensch, Tier und Pflanze als Metaorganismus (Auflösung des Individuums, neues Ökologieverständnis)

Ausblick – Herausforderungen der Zukunft

III. Handlungskonzepte / Entscheidungshilfe für Gentechnik

Wir brauchen neue ethische Vereinbarungen (religiös, säkular, politisch):

Was ist unser Menschenbild?

Wie sehen wir unseren Planeten?

Wie wollen wir in 200 Jahren leben?

- Es geht nicht mehr um technische Entscheidungen, sondern um Grundsatzentscheidungen

Literatur

- Arora L, Narula A (2017) Gene Editing and Crop Improvement Using CRISPR-Cas9 System. Frontiers in Plant Science 8 (1932).
- Jung C, Capistrano-Gossmann G, Braatz J, Sashidhar N, Melzer S. (2018) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137:1–9. https://doi.org/10.1111/pbr.12526
- Mishra, R. and K. Zhao (2018). "Genome editing technologies and their applications in crop improvement." Plant Biotechnology Reports 12(2): 57-68.
- Zhang Y, Gao C (2017) Recent advances in DNA-free editing and precise base editing in plants. Emerging Topics in Life Sciences 1 (2):161-168
- Lemmon, Z. H., et al. (2018). "Rapid improvement of domestication traits in an orphan crop by genome editing." Nature Plants 4(10): 766-770
- Zsögön, A., et al. (2018). "De novo domestication of wild tomato using genome editing." Nature Biotechnology 36: 1211