

Gummen in de genen

De nieuwe technologie Crispr-Cas9 maakt het makkelijker dan ooit om erfelijk materiaal heel gericht te herschrijven. De ontwikkeling van deze *gene editing* gaat zo snel, dat wetgeving en ethiek moeite hebben het bij te benen. Is dit nu genmodificatie of klassieke veredeling in de snelkookpan?

tekst Rob Ramaker illustraties JeRoen Murré



Vandaag leren we de taal waarin God het leven heeft geschapen', zei toenmalig Amerikaans president Bill Clinton in juni 2000. Hij ontving destijds de resultaten van het Human Genome Project, waarin voor het eerst al het erfelijk materiaal – alle genetische letters A, C, G en T – van een mens op een rij was gezet.

Nu, zestien jaar later, lezen wetenschappers deze 'genetaal' steeds sneller, gemakkelijker en goedkoper. En de laatste jaren lukt het hen zelfs steeds beter om deze taal te herschrijven. Met een nieuwe techniek genaamd Crispr-Cas9 is het erfelijk materiaal – het DNA – van planten, dieren en mensen eenvoudiger dan ooit te bewerken. Dit maakt het bijvoorbeeld mogelijk erfelijke ziektes te voorkomen of planten nieuwe eigenschappen te geven.

REVOLUTIONAIR

Het verhaal van Crispr begint in een bacterie. Hoewel zelf ziekteverwekker, kan ook dit micro-organisme ziek worden als het wordt geïnfecteerd door vijandelijke virussen. Sommige bacteriën hebben hiertegen een uniek verdedigingsmechanisme ontwikkeld. Ze slaan kleine 'streepjescodes' – Crispr's – op van ziekmakende virussen die ze tegenkomen. Eiwitten zoals Cas9 – er zijn ook andere varianten – speuren vervolgens de cel af op deze streepjescodes. Als een ziekteverwekker wordt ontdekt, knipt Cas9 het erfelijk materiaal van het virus zonder pardon door. Vijand geëlimineerd.

John van der Oost, persoonlijk hoogleraar Microbiologie aan Wageningen University, is één van de Crispr-pioniers. Zijn onderzoekers lieten zien uit hoe het systeem rond het eiwit Cascade werkt. Een andere variant – Cas9 – bleek als biotechnologisch werktuig uiteindelijk eenvoudiger te hanteren dan Cascade. In het laboratorium vindt het eiwit met een op maat gemaakte 'gids' specifieke plekken in het erfelijk materiaal en maakt daar een knip. Wetenschappers kunnen zo genen uitschakelen, stukjes erfelijk materiaal vervangen of genetische letters corrigeren. *Genome editing*, noemen ze dit zelf.

Toen de potentie van Crispr's eenmaal duidelijk was, doken vanuit de hele wereld teams op de techniek. In korte tijd werd die toegepast bij planten, zebrafissen, muizen, en uiteindelijk zelfs menselijke embryo's. De wereld raakte in een ongeëvenaard tempo enthousiast over de 'revolutionaire' en 'nobelprijswaardige' technologie. Eind 2015 werd Crispr-Cas9 door het wetenschappelijk tijdschrift *Science* bestempeld als *breakthrough of the year*. Het is de verwachting dat de techniek enorme impact gaat hebben in de wetenschap, en daarbuiten.

HOUBBARE TOMAAT

Plantenveredelaars kijken met interesse naar de onstuitende ontwikkeling van Crispr's. 'Dit heb ik nog nooit meegeemaakt', zegt Jan Schaart, onderzoeker bij Wageningen Plant Research. Schaart deed al ervaring op met eerdere methodes van *genome editing*, bijvoorbeeld met speciaal ontworpen eiwitten. In vergelijking met Crispr-Cas9 waren deze echter bewerkelijk. 'Een van de krach-

ten van Crispr-Cas is dat het zo makkelijk is.'

Dit wordt beaamd door Ruud de Maagd, ook onderzoeker bij Wageningen Plant Research. Hij gebruikt de methode sinds 2015. Met Crispr-Cas9 knipte De Maagd stukjes uit genen om deze onklaar te maken; veruit de meest gebruikte toepassing. 'We hadden heel makkelijk resultaat', zegt hij, 'het is eigenlijk meteen gelukt.' Zijn uiteindelijke doel is de houdbaarheid van tomaten te verbeteren. Het ideaal is hierbij een ras te maken dat langzamer zacht wordt, zonder dat andere rijpingsaspecten, zoals de smaakontwikkeling, ook vertragen. Hiervoor moet De Maagd ontdekken welke genen individuele eigenschappen aansturen. Dit is het makkelijkst door de genen uit te schakelen en te kijken wat er gebeurt.

'Een van de krachten van Crispr-Cas is dat het zo makkelijk is'

Zijn collega-plantenwetenschapper Schaart ziet nog andere toepassingen. Zo is het mogelijk planten minder vatbaar te maken voor ziektes. Dit gebeurt door genen uit te schakelen die ziekteverwekkers nodig hebben om planten te besmetten. Alsof je een achilleshiel wegneemt. Voorwaarde is wel dat de plant het gen kan missen. 'Er worden steeds meer van dat soort *susceptibility genes* ontdekt', zegt Schaart. 'Deze zorgen voor robuuste resistentie.' Ook zou Schaart graag oliegewassen aanpassen, zodat deze een voor mensen interessanter mengsel van oliën maken.

STRALING

Hoewel Crispr-Cas9 zijn werk eenvoudiger maakt, denkt Schaart niet dat het de bestaande veredeling zal verdringen. 'Klassieke veredeling door kruisen en selectie blijft gewoon nodig.' Crispr-Cas9 helpt wel gericht nieuwe mutaties – en dus variatie – te maken. In de huidige praktijk is dit een arbeidsintensief en ongericht karwei. Planten en zaden worden eerst 'gemutageniseerd'. Dat wil zeggen: gebombardeerd met straling of blootgesteld aan een chemische stof die honderden mutaties veroorzaakt. Daarna worden (tien)duizenden planten gescreend op de juiste mutatie. Hier vormt Crispr-Cas9 een kortere route, met veel minder ongevraagde mutaties.

Veredelaars zouden ook graag (fragmenten van) genen in planten vervangen door gunstiger varianten, of nieuwe materiaal inbrengen met Crispr-Cas9. Dit is in de praktijk echter nog lastig. Planten blijken aangeboden erfelijk materiaal slechts incidenteel in te bouwen. Maar zowel Schaart als De Maagd zijn optimistisch dat nieuwe innovaties dit mogelijk gaan maken.

Crispr-Cas9 is nog een jonge methode, waarvan alle mogelijkheden nog lang niet duidelijk zijn. Elke maand verschijnen nieuwe of betere toepassingen in wetenschappelijke bladen. Door Cas9 te combineren met een



KOE ZONDER HOORNS

Amerikaanse wetenschappers lieten eerder dit jaar zien dat ze met *gene editing* een koe zonder hoorns hadden gemaakt. Daarvoor hoefden ze slechts één genvariant in te brengen. Dat lijkt een mirakel, maar Martien Groenen, persoonlijk hoogleraar Fokkerij en genetica, is voorzichtig. Hij is bang dat de mogelijkheden van *gene editing* in de fokkerij worden overdreven.

Om voldoende genetische variatie te behouden en inteelt te voorkomen, moeten fokkers namelijk werken met behoorlijke kuddes. Als ze willen dat al hun dieren vlot een nieuw gen krijgen – bijvoorbeeld voor hoornloosheid –, moeten ze óf bij veel embryo's het genoom aanpassen, wat duur en ingrijpend is, óf zo sterk selecteren op het nieuwe gen dat het ten koste gaat van andere posi-

tieve kenmerken. Dit maakt een ras veel minder aantrekkelijk.

Gene editing is daarom nog niet rendabel in de veefokkerij, tenzij een nieuw gen het dier véél aantrekkelijker maakt, aldus Groenen. Hij zit wel veel potentie in het wetenschappelijk onderzoek.



ander enzym, kunnen bijvoorbeeld individuele genetische letters worden veranderd. 'Over de mogelijkheden daarvan kan ik echt fantaseren', zegt Schaart. Ook worden nog steeds nieuwe Crispr-systemen ontdekt met nieuwe mogelijkheden. Zo beschreef John van der Oost samen met een groep Amerikaanse onderzoekers Cpf1, een eiwit dat op Cas9 lijkt, maar het erfelijk materiaal op een andere manier doorknipt. Ook kan Cas9 aangepast worden zodat het genen niet uitschakelt, maar de werking tegengaat of juist stimuleert.

GMO OF NIET?

Terwijl de technologie razendsnel voortschrijdt, houdt de wetgeving geen gelijke tred. De Europese Unie maakt een strikt onderscheid tussen planten die tot stand komen door klassieke veredeling en door genetische modificatie (mutagenese met bijvoorbeeld straling valt onder laatste groep, maar is vrijgesteld omdat het al decennia veilig werd gebruikt). Dit onderscheid is in de praktijk steeds lastiger te maken, concludeerde de Commissie Genetische Modificatie (Cogem) eerder dit jaar in haar *Trendanalyse biotechnologie*. Dit ligt niet alleen aan Crispr-Cas9, maar ook aan andere vernieuwende veredelings technieken. De Cogem stelt daarom dat het tijd is voor 'herziening van de EU-regelgeving (...) zodat duidelijkheid ontstaat voor burgers, consumenten en bedrijven'.

De huidige onduidelijkheid is voor wetenschappelijk onderzoek veelal geen probleem. Toch kan die beperkend werken. Zo werd een projectaanvraag van Plant breeding afgewezen na stevige kritiek in de beoordelingscommissie, zegt René Smulders, business unit manager bij Wageningen Plant Research. De status van de Crispr-Cas9-techniek zou te onzeker zijn. Een navrante ervaring, zegt Smulders, omdat de betreffende call van Horizon2020 expliciet mikte op innovatieve veredelings technieken. Ook Schaart merkt dat opdrachtgevers uit het bedrijfsleven zich zorgen maken of bedachte toepassingen straks onder de wetgeving voor genetisch gemodificeerd organismen (GMO's) vallen. Iets wat bedrijven veelal als onwerkbaar zien.

ABSURD

Afgelopen december zou vanuit Brussel meer duidelijkheid komen. Deze beslissing is inmiddels verschoven naar maart 2016, en daarna opnieuw doorgeschoven. Inmiddels varen enkele lidstaten hun eigen koers. Zo gaf de Zweedse *Board of Agriculture* toestemming voor het telen van kool waarin een gen was uitgeschakeld met Crispr-Cas9, maar waarin geen 'vreemd' DNA zat. Een Europees novum. De juiste beslissing, vond de verantwoordelijke onderzoeker Stefan Jansson van de universi-

Wetenschappers willen dat het product wordt beoordeeld, niet het proces


teit van Umeå. Als statement verorberde hij het resultaat hoogstpersoonlijk, verwerkt in een *Tagliatelle with Crisprfried vegetables*.

De meeste onderzoekers uiten zich wat minder theatraal, maar vinden het wel absurd om een plant tot genetisch gemodificeerd organisme te verklaren wanneer deze mutaties bevat die ook op natuurlijke wijze tot stand kunnen komen. Afgezet tegen de ruwe mutagenese met straling of chemicaliën, verkiezen ze Crispr-Cas9. Schaart en veel van zijn collega's willen af van de procesgedreven beoordeling die kijkt hoe een plant tot stand komt. In plaats daarvan zien zij meer in een productgedreven beoordeling. Hadden mutaties ook op een natuurlijk manier tot stand kunnen komen, dan valt een plant wat hen betreft niet onder de strikte GMO-wetgeving.

Greenpeace nam vorig jaar november een tegengesteld standpunt in. De organisatie stelt dat *gene editing* weliswaar preciezer is dan eerder vormen van genetische modificatie, maar dat 'nieuw gecreëerde organismen nog steeds onverwachte en onvoorspelbare effecten kunnen vertonen'. Producten die GMO's bevatten zouden daarom gelabeld en navolgbaar moeten zijn. Ook zouden ze onder strenge wetgeving moeten vallen. Modificatie in het laboratorium is in de ogen van Greenpeace categorisch anders dan mutaties die in de natuur ontstaan, en zelfs anders dan mutaties die ontstaan via mutagenese door chemicaliën of straling.

MACHT

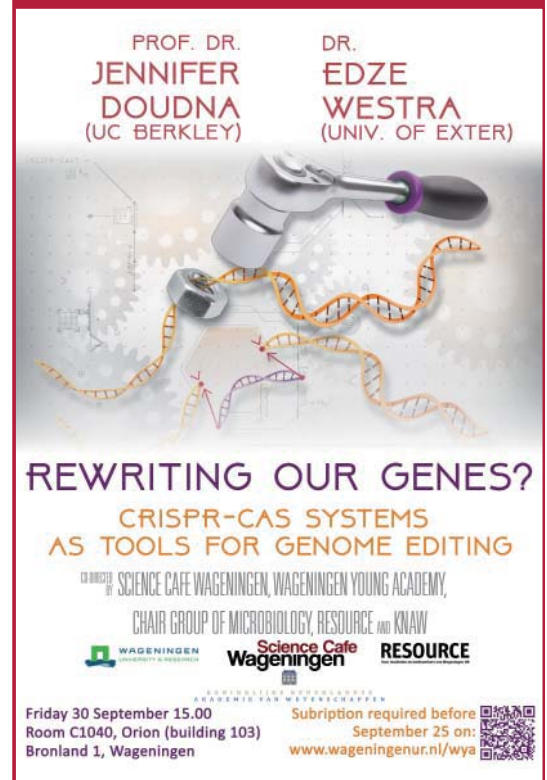
De weg van ontdekking naar toepassing is voor Crispr's razendsnel gegaan. Discussies over ethiek en het wetgevend kader staan pas aan het begin. Veredelaars en wetenschappers hopen hierbij de intense polarisatie die in de jaren negentig ontstond rond GMO's in Europa te vermijden. Nu het grote publiek de techniek leert kennen, is het spannend hoe het zal reageren.

Ook in 2001 maakte president Clinton zich zorgen over de macht die uitging van de kennis van ons genoom. Maar ondanks alles overheerste optimisme – toen misschien voorbarig, maar steeds realistischer. 'De wetenschap van het genoom', vermoedde Clinton, 'gaat enorme impact hebben op ons leven.' 

CRISPR-PIONIEREN IN WAGENINGEN

Jennifer Doudna, een van de pioniers van Crispr-Cas9, komt op 30 september naar Wageningen. Ze is in Nederland om de Heinekenprijs voor de biochemie en biofysica in ontvangst te nemen. Ze geeft een lezing samen met Edze Westra, winnaar van de Heineken Young Scientists Award en alumnus van Wageningen University. In het Oriongebouw spreken de twee over hun werk en de ethische dilemma's die het oproept.

Doudna is naar Wageningen gehaald door Science Café Wageningen, Resource, de leerstoelgroep Microbiologie, de Wageningen Young Academy en de KNAW. Inschrijven voor de lezing kan op de site van Wageningen Young Academy.



PROF. DR. JENNIFER DOUDNA (UC BERKLEY) DR. EDZE WESTRA (UNIV. OF EXTER)

REWRITING OUR GENES?
CRISPR-CAS SYSTEMS AS TOOLS FOR GENOME EDITING

CO-ORGANIZED BY SCIENCE CAFE WAGENINGEN, WAGENINGEN YOUNG ACADEMY,
CHAIR GROUP OF MICROBIOLOGY, RESOURCE AND KNAW

WAGENINGEN Science Café WAGENINGEN RESOURCE

FRIDAY 30 SEPTEMBER 15.00 Room C1040, Orion (building 103) Bronland 1, Wageningen

Subscription required before September 25 on: www.wageningenur.nl/wya