

Nieuwe DNA-technieken

Veel verschil voor de kweker, maar minde

Stukjes DNA van het ene in het andere organisme kopiëren. Genen uitschakelen zodat eigenschappen niet meer tot expressie komen. Nieuwe plantenveredelings technieken zijn in opmars. Wat zijn de effecten voor het kwekersrechtonderzoek?



Eeuwenlang was veredelen een kwestie van geduldig kruisen van planten die beter presteerden dan gemiddeld. Een plant met een iets rodere vrucht, een tikje hogere productie, meer weerstand tegen een ziekte.

Kruisen en selecteren is nog steeds een pijler onder de veredeling, maar zeker niet meer de enige. Ruim een eeuw geleden brachten wetenschappers al wat vaart in de techniek. Ze veroorzaakten met straling en chemische middelen mutaties om zo sneller nieuwe eigenschappen te vinden. Grof geschut en niet altijd met vruchtbaar resultaat. Maar het eerste ingrijpen in het DNA om de veredeling te versnellen. Deze 'old school'-mutatieveredeling heeft inmiddels wel uitgewezen dat het DNA kan wijzigen zonder schadelijke gevolgen voor mens en milieu. Het valt dan ook niet onder de regelgeving voor genetische modificatie.

Gekraakt

In 1998 kraakten onderzoekers het eerste eukaryote¹⁾ genoom; ze brachten de complete verzameling genen van een aaltje in kaart. In de kleine twintig jaar die volgden, ontrafelden wetenschappers in rap tempo de volledige DNA-volgorde (sequentie) van veel dieren, planten en schimmels. Zo zijn tienduizenden genen gevonden. Op basis van de nieuwe kennis van DNA en genen ontwikkelden zich razendsnel nieuwe veredelings technieken. Deze hebben allemaal als kenmerk dat ze rechtstreeks op het DNA ingrijpen.

Preciezer en sneller

Met de nieuwe technieken kunnen veredelaars tot op de nucleotide²⁾ nauwkeurig veredelen. Dat scheelt veel tijd-rovend werk. Denk aan het terugkruisen om daarmee ongewenste eigenschappen weer kwijt te raken. Eigenschappen die je cadeau krijgt als je een gewenste eigenschap inbouwt met een klassieke kruising. Een andere toepassing is het versnellen van het veredelingsproces, bijvoorbeeld door eigenschappen in te bouwen die de generatieduur verkorten. Als je eigenschappen vanuit wilde verwanten inkruist, scheelt dat al gauw twintig of dertig jaar bij het maken van een nieuw ras van gewassen als hardfruit. René Smulders is groepsmanager plantenveredeling Wageningen UR: "De meeste nieuwe technieken gebruiken we ook bij genetische modificatie. De eigenschappen van een plant worden zo aangepast, maar het nieuwe ras bevat meestal geen stukje DNA uit een andere plant."

1) Eukaryoten zijn organismen waarvan de cellen minstens één celkern bevat.

2) Nucleotides zijn de bouwstenen van DNA. DNA: bestaat uit fosfaat, suiker (desoxyribose) en een organische base (adenine, thymine, cytosine of guanine).

3) Mutagenese is een wetenschappelijk proces waarbij genen van een organisme – natuurlijk of kunstmatig – zo veranderd worden (mutatie) dat er weer een (veranderd) stabiel organisme ontstaat.

er effect op kwekersrecht onderzoek



er soms fouten. Er vallen wat basen uit of er komen er een paar bij. Dat kan een gen onklaar maken”, legt Smulders uit. Veredelaars selecteren de paar procent planten met de gewenste fout en gaan daarmee verder. “Het is een snelle, makkelijke methode om een gen uit te schakelen. Er komt geen vreemd genetisch materiaal aan te pas. Incorrecte reparaties van dit soort beschadigingen komen van nature ook veel voor, door bestraling of chemische stoffen. Daardoor is er op DNA-niveau geen verschil tussen een mutatie die het gevolg is van Crispr/Cas of eentje die van nature optreedt of wordt veroorzaakt door mutagenese.”

In de Verenigde Staten komt binnenkort een champignon op de markt die dankzij Crispr/Cas minder snel bruin wordt en langer houdbaar is. Ook een verbeterde suikermaïs gaat binnenkort commercieel in productie. Er is een tomaat gemaakt die na twee weken op de fruitschaal nog stevig is, door met Crispr/Cas een rijpingsgen uit te schakelen.

Zonder vreemde genen

Er zijn veredelings technieken ontwikkeld die wel heel precies DNA kunnen veranderen, maar zonder soortvreemde genen in te bouwen. Voor een deel om antwoord op de weerstand tegen genetische modificatie te geven. Wetenschappers willen een aantal van deze nieuwe verdelings technieken niet bestempelen als genetische modificatie. De twee kansrijkste zijn Crispr/Cas en early flowering.

René Smulders: “De EU-richtlijn over genetische modificatie is geschreven lang voordat deze technieken werden uitgevonden. De tekst is op dit punt lastig te interpreteren. We wachten op een standpunt van de Europese Commissie over deze technieken en op een uitspraak van het Europese Hof van Justitie over mutagenese³⁾.”

Crispr/Cas

“Met Crispr/Cas veranderen we een DNA-streng op een bepaalde plaats. Cas9 is een zogenoemd Site-Specific Nuclease (SSN): een enzym dat een bepaalde basevolgorde herkent en precies daar het DNA kapot maakt. De dubbele streng gaat helemaal doormidden, zodat het chromosoom in stukken dreigt te vallen. Bij zo’n beschadiging komt een natuurlijk reparatiemechanisme in de cel op gang. De plant knoopt de stukjes DNA weer aan elkaar of zet er een stukje DNA tussen. Dat proces is niet perfect, en daardoor ontstaan



René Smulders:

**“Als je een gen
inbouwt dat zaailingen
al aanzet tot bloei,
kun je twintig jaar
uitsparen.”**

Early flowering

Een tweede categorie rassen die is gemaakt met nieuwe verdelings technieken bevat zelf niet de gebruikte genetische verandering. Deze techniek wordt alleen gebruikt voor snellere verdeling, niet voor een beter eindproduct. Smulders: “Appelveredeling duurt erg lang. Zaailingen beginnen pas te bloeien na zes jaar. Het inkruisen van een schurftresistente uit een verwante appelsoort in een commercieel aantrekkelijk ras kostte ons vijf generaties kruisingen. Het duurde uiteindelijk vijftig jaar. Als je een gen inbouwt dat zaailingen al aanzet tot bloei, kun je twintig jaar uitsparen. Aan het eind van het verdelingsproces kruis je het ingebouwde early flowering gen weer uit, door alleen nakomelingen te selecteren die dit gen niet erven. >>>



Het nieuwe ras is identiek aan wat je ook kunt maken met alleen traditionele technieken. Je hebt het twintig jaar eerder.”

Onderzoek niet lastiger

“Naktuinbouw beoordeelt nieuwe rassen op onderscheidbaarheid, uniformiteit en stabiliteit. Hoe een ras tot stand is gekomen is voor ons niet van belang, mits het wettelijk is toegestaan”, zegt Bert Scholte, hoofd van de afdeling Rassenonderzoek van Naktuinbouw. Maar, heel precies DNA veranderen zorgt ervoor dat rassen maar op één eigenschap verschillen. De rasafstand wordt kleiner. Dat betekent dat er met het blote oog vaak geen verschil is te zien. Hoe lastig is dat voor het kwekersrechtonderzoek? “Dat we verschillen tussen rassen kunnen ontdekken, is erg belangrijk. Ook met klassieke veredeling liggen rassen soms heel dicht bij elkaar. Sommige slarassen verschillen bijvoorbeeld alleen van elkaar doordat

ze een resistent zijn voor een nieuwe *Bremia*-fysio. Dat kunnen we testen. De aanvrager van kwekersrecht heeft er belang bij dat het nieuwe ras verschilt van de oude rassen. Dus die wijst ons echt wel op de verschillen. En omdat exact bekend is waar de verandering in het DNA zit, is dat voor ons ook makkelijk zoeken”, zegt Scholte. Vaak is DNA-onderzoek niet eens nodig, omdat een veranderde eigenschap duidelijk aanwezig is.

Protocollen aanpassen

“Soms moeten we protocollen aanpassen. Dat gebeurt als een ras een kenmerkende eigenschap heeft waar we tot dan toe nog niet op toetsten. Veel protocollen zijn gericht op de beoordeling van fenotypische (waarneembare) eigenschappen als vruchtkleur, stengellengte of bladbreedte. Maar als het onderscheid bijvoorbeeld in een inhoudsstof zit, dan kan het zijn dat we dat moeten toevoegen aan het onderzoeksprotocol”, zegt Scholte. UPOV en CPVO, de organisaties die zich op internationaal en Europees niveau bezighouden met de bescherming van nieuwe rassen, bespreken die technische aanpassingen jaarlijks.

Uitbreiden database

Scholte: “Onze referentiecollectie neemt toe. In theorie moeten we elk nieuw ras vergelijken met alle bestaande rassen. In de praktijk is

dat een hele uitdaging. In sommige gewassen, zoals bijvoorbeeld aardappel, ontwikkelen we daarom databases met morfologische kenmerken én met merkers. Daarom nemen we van nieuwe rassen monsters waarvan we het DNA isoleren. Met verschillende merkertechnologieën beoordelen we snel of DNA-materiaal van verschillende rassen van elkaar afwijkt. Door met DNA-onderzoek groepen rassen uit te sluiten, houden we een beperkt aantal rassen over die we moeten vergelijken in veldproeven. Zo houden we het behapbaar.” ●

De nieuwste veredelingstechnieken

Cisgenese:

genetische modificatie. Veredelaars halen genen uit een organisme en plaatsen die in een verwante, kruisbare soort.

Transgenese:

genetische modificatie. Genen verhuizen naar een niet-verwante soort

Merkgestuurde selectie:

tussen het voorkomen van een bepaald stukje DNA (de merker) en de gewenste eigenschap wordt een statistisch verband gevonden. Plaats en basevolgorde van de merker zijn bekend. Daardoor is na kruisingen de merker makkelijk te vinden in het DNA van de jonge planten. Is de merker aanwezig, dan is het gewenste gen ook aanwezig.

ODM:

(Oligonucleotide Directed Mutagenesis) injectie van een kort stukje DNA met de gewenste basevolgorde, met als doel dat de plant dit in zijn DNA kopieert.

Genome editing:

invloegen, verwijderen of vervangen van een klein stukje van DNA in het genoom van een levend organisme met behulp van nucleasen (enzymen), ofwel ‘moleculaire scharen’.



Bert Scholte:

“Hoe een ras tot stand is gekomen is voor ons niet van belang, mits het wettelijk is toegestaan.”