

Das CRISPR/Cas-System (gA)

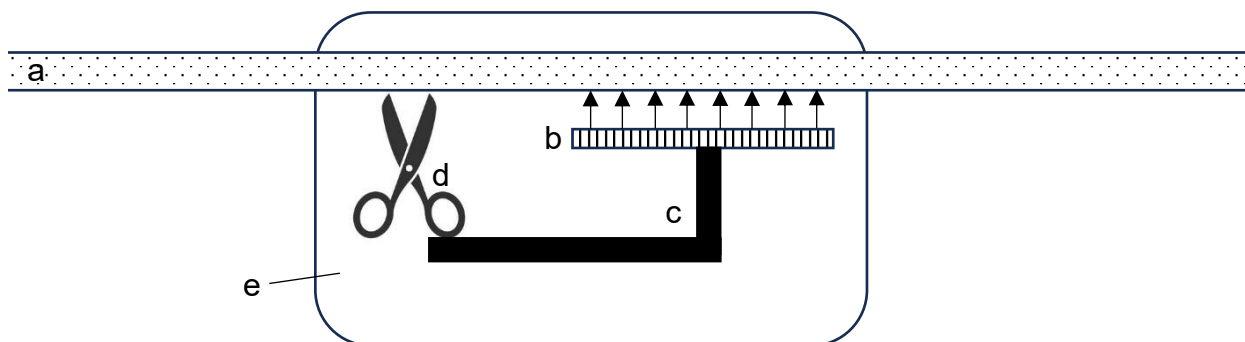
M1

Im Jahr 2012 beschrieb eine Arbeitsgruppe um Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna eine neue Methode zur künstlichen Veränderung der genetischen Information mit Hilfe des CRISPR/Cas-Systems, für die sie 2020 den Nobelpreis für Chemie erhielten. Für dieses System sind vor allem drei Komponenten wesentlich, die ursprünglich aus Bakterien stammen:

Schneide-Komponente: Im Zentrum steht ein Restriktions-Enzym mit der Bezeichnung Cas9. Es zerschneidet beide Einzelstränge der DNA an bestimmten Stellen und wird deshalb auch „Genschere“ genannt. In der klassischen Gentechnik werden andere Restriktionsenzyme eingesetzt, die besondere Stellen auf der DNA selbst finden und dort versetzte Schnitte anbringen („Sticky Ends“). Cas9 besitzt dagegen eine Schneide-Komponente, welche die DNA glatt durchschneidet („Blunt Ends“). Cas9 findet seine Zielstelle auf der DNA nicht selbst.

Erkennungs-Komponente: Um die Zielstelle auf der DNA zu finden, wird eine dirigierende RNA eingesetzt, die komplementär zu einer bestimmten Stelle auf einem der DNA-Einzelstränge ist. Dadurch wird vermieden, dass Cas9 an einer falschen Stelle andockt und dort ungewollt die DNA zerschneidet.

Koppelungs-Komponente: Eine Koppelungs-Komponente aus RNA sorgt dafür, dass die dirigierende RNA in genau definierter Weise mit Cas9 verbunden wird. Dadurch sind alle drei Komponenten unverrückbar und präzise miteinander verbunden, so dass die DNA exakt an der vorbestimmten Stelle zerschnitten wird.



M2

CRISPR/Cas als Multifunktionswerkzeug: Nachdem die DNA durchschnitten ist, können unterschiedliche Manipulationen an der DNA durchgeführt werden, wie in den folgenden Beispielen am codogenen Strang gezeigt ist:

- 1) 5'-CCGATTACGC-3' (Originalzustand des codogenen Strangs der Ziel-DNA)
- 2) 5'-CCGATTAGC-3'
- 3) 5'-CCGATTACGGC-3'
- 4) 5'-CCGATTAGGC-3'
- 5) 5'-CCGGC-3'
- 5) 5'-CCGATTACTTAGAGC-3'

Aufgaben zum CRISPR/Cas-System (gA)

- 1 M1 beschreibt die Komponenten des CRISPR/Cas-Systems.
Ordnen Sie die im Text unterstrichenen Begriffe den in der Abbildung dargestellten Strukturen zu.
- 2 Mit dem CRISPR/Cas-System können unterschiedliche Veränderungen an der DNA vorgenommen werden.
Markieren Sie die Veränderungen in den Nukleotid-Sequenzen 2) bis 6) (M2) und beschreiben Sie diese in Worten.
- 3 Die besonderen Stellen, an denen sich Restriktionsenzyme der klassischen Gentechnik an die DNA anlagern, kommen im Genom eines Organismus meist mehrfach vor, zum Teil sogar mitten in einem Strukturgen. Diese Erkennungsstellen umfassen erheblich weniger Nukleotide als die Erkennungs-Sequenz für die dirigierende RNA im CRISPR/Cas-System.
Begründen Sie, warum bei der Anwendung des CRISPR/Cas-Systems erheblich weniger Fehler zu erwarten sind als bei der klassischen Gentechnik

Hinweise für die Lehrkraft:

Dieses Arbeitsblatt ist für gA-Kurse konzipiert, in denen nur die allerwesentlichsten Aspekte des CRISPR/Cas-Systems thematisiert werden sollen. Wenn Sie den Begriff Restriktionsenzym im Rahmen der klassischen Gentechnik nicht eingeführt haben, verändern Sie bitte den Text auf der Materialseite entsprechend.

Die Abbildung eignet sich aber auch bei einer vertieften Behandlung des CRISPR/Cas-Systems, wobei die Kursteilnehmer die konkreten Komponenten wie crRNA oder tracrRNA den graphischen Elementen der vereinfachten Abbildung zuordnen.

1 Zuordnung der Komponenten

- a: DNA
- b: Erkennungskomponente (dirigierende RNA)
- c: Koppelungskomponente, verbindet b und e miteinander
- d: Schneidekomponente (Bestandteil des Enzyms Cas9)
- e: Enzym Cas9

2 Veränderungen an der DNA

- 2) Ein Nukleotid (C; 3. von rechts) wurde herausgeschnitten.
- 3) Ein Nukleotid (G) wurde eingefügt.
- 4) Ein Nukleotid (C; 3. von rechts) wurde durch ein anderes (G) ersetzt = Basenaustausch.
- 5) Eine Nukleotid-Sequenz (ATTAC) wurde herausgeschnitten.
- 6) Eine Nukleotid-Sequenz (TTAGA) wurde eingefügt.

3 Vergleich

Die Veränderung der DNA soll nur an einer einzigen bestimmten Stelle erfolgen. Die kurze Erkennungs-Nukleotidsequenz bei der klassischen Gentechnik kommt aber mehrfach vor, nicht nur an der erwünschten Stelle der DNA. Erfolgt der Schnitt des Restriktionsenzym an einer der anderen Stelle, ist dies ein fehlerhafter Eingriff.

Beim CRISPR/Cas-System sorgt dagegen eine dirigierende RNA dafür, dass (in der Regel) das Restriktionsenzym Cas9 nur an einer einzigen Stelle auf der DNA, denn es ist unwahrscheinlich, dass eine längere Nukleotid-Sequenz zwei Mal vorkommt.