

 **Bundesministerium**
Arbeit, Soziales, Gesundheit
und Konsumentenschutz

sozial MINISTERIUM

**FAQs zu den Neuen
Züchtungstechniken und dem
EuGH Urteil**

Q: WAS IST DAS ZIEL EINER PFLANZENZÜCHTUNG?

A: Das Ziel einer Pflanzenzüchtung ist die Bereitstellung von Sorten, welche die Bedürfnisse des Menschen abdecken sollen. Zuchtziele können sein: Stresstoleranz hinsichtlich unterschiedlichen Umweltfaktoren (z.B. gegen Trockenheit, Nährstoffmangel, Schädlinge), erhöhter Ertrag und/oder Ertragsstabilität, Qualitätsverbesserung. Auch die Entwicklung von Sorten mit verändertem Gehalt an Inhaltsstoffen für Zwecke der Lebens- und Futtermittelproduktion oder für technische Anwendungen können Zuchtziele sein.

Q: Wie funktioniert eine Pflanzenzüchtung?

A: Ein zentraler Vorgang in der Züchtung ist die natürliche Kreuzung zweier aufgrund bestimmter Eigenschaften ausgewählter Individuen (Elterngeneration) einer Art oder kreuzbarer Arten. Deren Nachkommen (Tochtergeneration) erhalten neu kombinierte Eigenschaften. Die unterschiedlichen Eigenschaften der einzelnen Pflanzen basieren auf genetischen Unterschieden im Erbgut (DNA) der Pflanzen. Dies wird genetische Variation genannt.

Q: Welche Methoden gibt es, um den Zuchtprozess und die Sortenentwicklung zu unterstützen?

A: Im 20. Jahrhundert wurden Techniken und Verfahren entwickelt, welche die Pflanzenzüchtung unterstützen und beschleunigen. Die sogenannte Mutagenese (Mutationszüchtung) ist eine Methode der Erzeugung neuer genetischer Variationen, die zu möglichen neuen nutzbaren Eigenschaften der Pflanze führen kann. Die Induktion von Polyploidie, das heißt die Verdoppelung des Chromosomensatzes kann zum Beispiel zu Sorten mit erhöhtem Ertrag führen. Weitere Methoden, wie die Verschmelzung zweier Zellen, deren Zellwände vorher durch Enzyme aufgelöst wurden, (Protoplastenfusion) erleichtern die Kombination des Erbgutes (DNA).

In den 1980er Jahren gelang es dann erstmals Pflanzen mit ausgewählten zusätzlichen genetischen Sequenzen (Fremd-DNA) zu verändern (transformieren). Diese, so hergestellten Pflanzen sind auch als transgene Pflanzen oder als gentechnisch veränderte Pflanzen (GVO) bekannt.

Q: Was versteht man unter Mutagenese?

A: Unter Mutagenese versteht man die Erzeugung von Veränderungen im Erbgut (DNA- oder RNA-Sequenz) von Lebewesen.

Q: Welche Arten von Mutagenese-Verfahren gibt es?

A: Grundsätzlich wird zwischen zwei Verfahren unterschieden - dem ungerichteten (zufälligen) und dem gerichteten (gezielten, ortsspezifischen) Mutagenese-Verfahren.

Q: Was ist eine ungerichtete Mutagenese?

A: Die herkömmlichen (konventionellen) Mutageneseverfahren werden als ungerichtete Mutagenese bezeichnet. Die hier entstehenden Mutationen werden an zufälligen Stellen im Erbgut erzeugt. Die Art der Mutation kann nicht vorhergesehen oder bestimmt werden. Diese Methoden werden schon seit den 1950er Jahren in der konventionellen Pflanzenzüchtung eingesetzt.

Bei der ungerichteten Mutagenese werden Pflanzensamen äußeren Einwirkungen durch Röntgen- oder Neutronenstrahlen, UV-Licht, Kälte- und Wärmeschocks oder anderen Mutagenen (erbgutverändernde Substanzen) ausgesetzt. Dadurch entstehen Veränderungen in der DNA-Sequenz (Mutationen), die unterschiedlichste Auswirkungen auf die Eigenschaften der Pflanze haben können. Der Großteil der so entstandenen Mutationen führt zu Defekten, die eine Weiterzucht mit dieser Pflanze unmöglich machen.

Nur ein kleiner Teil dieser sogenannten Mutanten zeigen die gewünschten positiven Veränderungen. Diese Pflanzen werden über ein Verfahren (Selektion) ausgewählt und mit bereits vorhandenen Zuchtlinien natürlich gekreuzt. Dadurch werden die gewünschten positiven neuen Eigenschaften in die Zuchtlinien überführt.

Q: Was ist eine gerichtete Mutagenese?

A: Im Gegensatz zur ungerichteten Mutagenese können bei der gerichteten oder gezielten, ortsspezifischen Mutagenese gezielte Veränderungen, die vorhersehbar und bestimmt sind, im Erbgut herbeigeführt werden. Diese Veränderungen können vom Austausch einer einzigen Nukleinbase in der DNA-Sequenz bis zum Ausschalten eines ganzen Gens reichen.

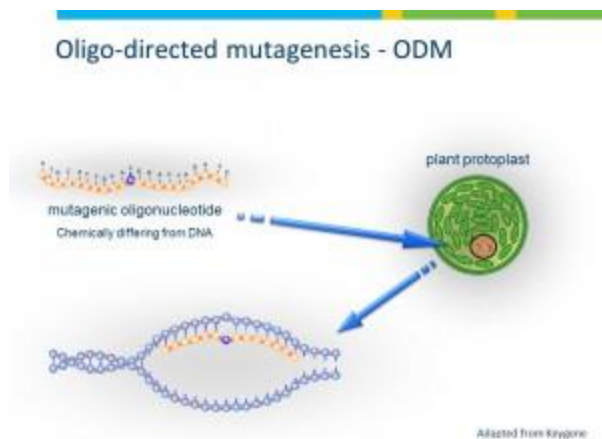
Q: Was versteht man unter Genom-Editierungsverfahren (Genome Editing)?

A: Genom-Editierungsverfahren werden benutzt, um gerichtete oder gezielte, ortsspezifische Mutationen zu erzeugen. Die bekanntesten Methoden sind die „Oligonukleotid-gesteuerte Mutagenese“ (oligo directed mutagenesis; ODM) und die „Zielgerichteten Nuklease Techniken“ (site directed nucleases; SDN), zu denen unter anderem die „Gen-Schere“ CRISPR-Cas9 gehört.

Q: Wie funktioniert eine Oligonukleotid-gesteuerte Mutagenese (ODM)?

A: Hierbei werden kurze DNA Stücke (Oligonukleotide) in die Zellen eingebracht. Diese DNA Stücke können aufgrund ihrer Ähnlichkeit in der Sequenz mit dem Zielort interagieren. Auf diese Weise können am Zielort die gewünschten Mutationen in der DNA erzeugt werden, ohne dass die eingebrachten Oligonukleotide in das Erbgut der Zellen eingebaut wird. Mit dieser Technik können – wie auch bei natürlichen Mutationen – kurze DNA Stücke

aus dem Erbgut der Zelle ausgeschnitten werden und es können auch kurze DNA Stücke, die durch die Zelle selbst hergestellt werden eingebaut werden. Ebenso können mit dieser Methode gezielte Austausche erfolgen, die dann zu den gewünschten geänderten Funktionen führen (Austausch definierter Nukleinbasen an einem definierten Ort in der Sequenz).

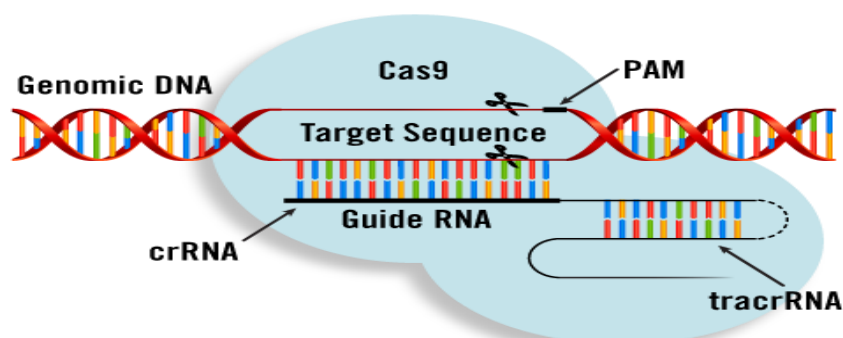


Q: Was bedeutet CRISPR?

A: CRISPR steht für „Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“. Dabei handelt es sich um Abschnitte sich wiederholender DNA-Sequenzen im Erbgut. Diese Sequenzen kommen in vielen Bakterien und Urbakterien (Archebakterienarten) natürlich vor. Die Länge des CRISPR Motivs beträgt zwischen 23 und 47 Nukleinbasen, welche sich mit den „Spacern“ (Trenn DNA Sequenzen mit einer Länge von 21 bis 72 Nukleinbasen) abwechseln. Die Sequenz von CRISPR Motiven ist in der Regel spiegelverkehrt komplementär (palindromisch).

Q: Was ist Cas9?

A: Cas9 (engl. CRISPR associated (zugehörig)) ist eine Endonuklease. Endonukleasen sind Enzyme welche die Eigenschaft besitzen Nukleinsäuren anhand einer sogenannten Erkennungssequenz zu schneiden. Endonukleasen bauen die DNA Sequenz durch Spaltung einer inneren Bindung und nicht endständig ab.



Q: Wie funktioniert CRISPR/Cas9?

A: Die genetische Information der CRISPR-Region wird als kurze Nukleinbasensequenz (crRNA) abgelesen. In Verbindung mit dem Cas9-Enzym dient sie als „Guide“-RNA (sgRNA). Ähnlich einem Klettverschluss bindet die sgRNA an passende Zielsequenzen. Die crRNA verbindet sich mit der tracrRNA (engl. trans-acting CRISPR RNA) und gemeinsam bringen sie das Cas9-Enzym an die Position an der geschnitten werden soll. Zusätzlich wird noch das sogenannte PAM (engl. proto-spacer adjacent motif)-Motiv benötigt. Nur bei Vorhandensein dieses drei Nukleinbasen langen Motivs (zwei Guaninbasen und eine beliebige Base) kann das Cas9 Enzym binden. Die beiden DNA-Stränge trennen sich nun auf und das Cas9 Enzym schneidet nun beide Stränge an derselben Stelle.

Q: Wie erzeugt man gezielte Mutationen mithilfe von CRISPR/Cas9 im Rahmen der Anwendung der Zielgerichteten Nuklease Techniken (SDN)?

A: Ist die DNA-Sequenz des Zielorganismus (z.B. einer Pflanze) bekannt, kann man die natürlich vorkommende „Spacer-Sequenz“ (Trenn DNA Sequenz) im Cas9 Protein durch eine zur Zielsequenz komplementäre Sequenz (sgRNA) ersetzen. Diese Sequenz führt dann das Cas9 Enzym zu der gewünschten Position auf der DNA-Sequenz des Zielorganismus und das Cas9 Enzym schneidet dann am gewünschten Punkt.

Q: Welche Mutationen kann man mithilfe der „Zielgerichteten Nuklease Techniken (SDN)“ wie z.B. CRISPR/Cas9 erzeugen?

A: Grundsätzlich kann man die SDN-Systeme in drei Kategorien einteilen (SDN1, SDN2 und SDN3).

- Bei der SDN1 Technik wird ein sgRNA-Cas9 Komplex in Zellen eingebracht welcher dort gezielt in der DNA-Sequenz schneidet. Dadurch entsteht ein Doppelstrangbruch in der DNA, welcher durch zelleigene Reparatursysteme wieder behoben wird. Dadurch entstehen Mutationen, welche zielgerichtet aber a priori unbekannt sind. Außerdem ist es auch möglich, zwei gezielte Doppelstrangbrüche gleichzeitig zu setzen. Dabei wird die zwischen den beiden Doppelstrangbrüchen gelegene DNA-Sequenz des Zielorganismus entfernt.
- Bei der SDN2 Technik wird zusätzlich zum sgRNA-Cas9 Komplex noch eine Reparaturvorlage (Oligonukleotid ähnlich wie bei der ODM) eingebracht. Der zelleigene Reparaturmechanismus nutzt dann diese Vorlage um die darauf befindlichen Mutationen in die DNA-Sequenz des Zielorganismus einzubringen. Die so erzeugten Mutationen sind zielgerichtet und bekannt.
- Bei der SDN3 Technik wird ein sgRNA-Cas9 Komplex und eine Reparaturvorlage, welcher noch eine zusätzliche DNA-Sequenz enthält, eingebracht. Im Zuge des zelleigenen

Reparaturmechanismus wird dann diese DNA-Sequenz in das Erbgut des Zielorganismus eingebaut.

Weiterführende Informationen:

Studie der Universität für Bodenkultur Wien:

- ***Grundlagen zur Bewertung neuer Techniken in der Pflanzenzüchtung: RNA-abhängige Techniken, Accelerated Breeding und CRISPR-Cas9***

Studie der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES):

- ***New plant breeding techniques.***

Q: Warum wurde die Frage des Umgangs mit den neuen Mutagenese-Methoden dem Europäischen Gerichtshof in einem Vorabentscheidungsverfahren vorgelegt?

A: Die Confédération paysanne ist ein französischer Landwirtschaftsverband, der die Interessen kleinerer landwirtschaftlicher Betriebe vertritt. Im Rahmen des vorliegenden Verfahrens sind ihm acht weitere Verbände beigetreten, deren Ziel der Umweltschutz und/oder die Verbreitung von Informationen über die mit GVO verbundenen Gefahren ist. Die Kläger bestreiten, dass die durch Mutagenese gewonnenen Organismen von den nach den Bestimmungen des französischen Umweltgesetzbuchs für GVO vorgesehenen Verpflichtungen ausgenommen seien.

Der technische Fortschritt hat zur Entstehung von neuen Mutagenese-verfahren geführt, die mit verschiedenen Mitteln (In-vitro-Zufallsmutagenese und gezielte Mutagenese – im Folgenden: neue Mutageneseverfahren) durchgeführt werden könnten. Mit diesen Verfahren könnten gezielte Mutationen durchgeführt werden, die zu herbizidresistenten Pflanzen führen.

Für die Kläger berge die Verwendung durch Mutagenese gewonnener herbizidresistenter Saatgutsorten die Gefahr erheblicher schädlicher Auswirkungen auf die Umwelt und die Gesundheit von Mensch und Tier.

Gestützt auf diese Gründe beantragten die Kläger beim französischen Premierminister den entsprechenden Artikel des französischen Umweltgesetzbuchs aufzuheben. Des Weiteren fordern sie den Anbau und die Vermarktung von herbizidtoleranten Rapsorten zu untersagen.

Der Premierminister reagierte auf den Antrag der Kläger nicht. Nach französischem Recht gilt dieser somit als vom Premierminister abgelehnt.

Mit am 12. März 2015 beim Conseil d'État (Staatsrat, Frankreich), dem vorlegenden Gericht, erhobener Klage haben die Kläger beantragt, diese stillschweigende ablehnende Entscheidung des Premierministers für nichtig zu erklären.

Vor diesem tatsächlichen und rechtlichen Hintergrund hat der Conseil d'État (Staatsrat) beschlossen, das Verfahren auszusetzen und dem Europäischen Gerichtshof zur Vorabentscheidung vorzulegen.

Q: Welche Fragen wurden dem Europäischen Gerichtshof vorgelegt?

A:

1. Sind durch Mutagenese gewonnene Organismen genetisch veränderte Organismen im Sinne von Art. 2 der Richtlinie 2001/18, obwohl sie nach Art. 3 und Anhang I B der Richtlinie von den Verpflichtungen bezüglich der Freisetzung und des Inverkehrbringens von genetisch veränderten Organismen ausgenommen sind? Können insbesondere Mutageneseverfahren, vor allem die neuen Verfahren der gezielten Mutagenese unter Einsatz gentechnischer Verfahren als in Anhang I A, auf den Art. 2 verweist, aufgeführte Verfahren angesehen werden? Sind die Art. 2 und 3 sowie die Anhänge I A und I B der Richtlinie 2001/18 demzufolge dahin auszulegen, dass sie von den Maßnahmen der Vorsorge, der Verträglichkeitsprüfung und der Rückverfolgbarkeit alle durch Mutagenese gewonnenen genetisch veränderten Organismen und ebensolches Saatgut ausnehmen oder nur diejenigen Organismen, die mit den schon vor Erlass der Richtlinie bestehenden konventionellen Methoden der Zufallsmutagenese durch ionisierende Strahlung oder chemische Mutagene erzeugt wurden?
2. Stellen durch Mutagenese gewonnene Sorten genetisch veränderte Sorten im Sinne von Art. 4 der Richtlinie 2002/53 dar, die nicht von den in dieser Richtlinie vorgesehenen Verpflichtungen ausgenommen wären? Oder stimmt der Anwendungsbereich dieser Richtlinie vielmehr mit dem sich aus den Art. 2 und 3 sowie Anhang I B der Richtlinie 2001/18 ergebenden überein, und sind durch Mutagenese gewonnene Sorten auch von den Verpflichtungen ausgenommen, die die Richtlinie 2002/53 in Bezug auf die Eintragung genetisch veränderter Sorten in den gemeinsamen Katalog für landwirtschaftliche Pflanzenarten vorsieht?
3. Stellen die Art. 2 und 3 sowie Anhang I B der Richtlinie 2001/18 insoweit, als sie die Mutagenese vom Anwendungsbereich der in der Richtlinie vorgesehenen Verpflichtungen ausnehmen, eine Maßnahme der vollständigen Harmonisierung dar, die es den Mitgliedstaaten untersagt, durch Mutagenese gewonnene Organismen ganz oder teilweise den in der Richtlinie vorgesehenen oder anderen Verpflichtungen zu unterwerfen, oder verfügten die Mitgliedstaaten bei ihrer Umsetzung über ein Ermessen hinsichtlich der Festlegung der Regelung für durch Mutagenese gewonnene Organismen?
4. Kann die Gültigkeit der Art. 2 und 3 sowie der Anhänge I A und I B der Richtlinie 2001/18 insoweit, als diese Bestimmungen für durch Mutagenese gewonnene genetisch veränderte Organismen keine Maßnahmen der Vorsorge, der Verträglichkeitsprüfung und der Rückverfolgbarkeit vorsehen, im Hinblick auf das in Art. 191 Abs. 2 AEUV

verankerte Vorsorgeprinzip in Frage gestellt werden, wenn man die Entwicklung der gentechnischen Verfahren, die Entstehung neuer Pflanzensorten, die durch diese Verfahren gewonnen werden, und die derzeitigen wissenschaftlichen Unsicherheiten hinsichtlich der Auswirkungen dieser Verfahren und der damit verbundenen potenziellen Risiken für die Umwelt und die Gesundheit von Mensch und Tier bedenkt?

Link zu den *Schlussanträgen des Generalanwaltes*.

Q: Welche dieser Fragen ist für die „Neuen Züchtungstechniken“ und eine etwaige Ausnahme dieser vom Geltungsbereich der europäischen Richtlinie 2001/18/EG von Bedeutung?

A: Die Antwort des EuGH auf die erste der oben angeführten Fragen wird klären, ob die „Neuen Züchtungstechniken“ insbesondere die neuen Mutagenese-Methoden vom Geltungsbereich der europäischen Richtlinie 2001/18/EG ausgenommen werden.

Q: Wie lautet das Urteil des Europäischen Gerichtshofes und was bedeutet es?

A: Am 25. Juli 2018 wurde das Urteil des Europäischen Gerichtshofes veröffentlicht. Darin stellt der Europäische Gerichtshof fest dass: „Durch Mutagenese gewonnene Organismen genetisch veränderte Organismen (GVO) sind und grundsätzlich den in der GVO-Richtlinie vorgesehenen Verpflichtungen unterliegen. Von diesen Verpflichtungen ausgenommen sind aber die mit Mutagenese-Verfahren, die herkömmlich bei einer Reihe von Anwendungen verwendet wurden und seit langem als sicher gelten, gewonnenen Organismen, wobei es den Mitgliedstaaten freisteht, diese Organismen unter Beachtung des Unionsrechts den in der GVO-Richtlinie vorgesehenen oder anderen Verpflichtungen zu unterwerfen. Dies bedeutet, dass alle „neuen Züchtungstechniken“ die Mutageneseverfahren darstellen (wie insbesondere CRISPR/Cas9) in den Geltungsbereich der europäischen Richtlinie 2001/18/EG fallen. Gleichzeitig bestätigt dieses Urteil die in Österreich geltende Rechtslage, da gemäß § 2 Abs. 2 Z 4 GTG i.d.g.F. nur die Verfahren der ungerichteten Mutagenese vom Geltungsbereich des österreichischen Gentechnikgesetzes ausgenommen sind.

FAQs zu den Neuen Züchtungstechniken und dem EuGH Urteil

Links:

[Link zum EuGH-Urteil](#)

[Link zur europäischen Richtlinie 2001/18/EG](#)

[Link zum österreichischen Gentechnikgesetz](#)

**BUNDESMINISTERIUM FÜR
ARBEIT, SOZIALES, GESUNDHEIT
UND KONSUMENTENSCHUTZ**

Stubenring 1, 1010 Wien

Tel.: +43 1 711 00-0

sozialministerium.at