

CRISPR-Cas: van fundamenteel onderzoek tot praktische toepassingen

"Ik ben optimistisch," zei John van der Oost, hoogleraar microbiologie aan de universiteit van Wageningen, vlak voor de pauze van zijn lezing over CRISPR-Cas voor het Wageningse Natuurwetenschappelijk Gezelschap. "Dit moet gaan werken." Tot dat moment had hij aan een volle zaal uitgelegd hoe de erfelijke informatie in cellen in elkaar zit, hoe het verdedigingsmechanisme van cellen werkt tegen aanvallen van virussen en, mede aan de hand van verhelderende animatiefilmpjes, hoe erfelijk materiaal in cellen in het laboratorium met revolutionaire technieken op microschaal kan worden aangepast. Zijn opmerking van vlak voor de pauze was de opmaat naar zijn hartstochtelijke wetenschappelijk-politieke pleidooi na de pauze voor een bredere toepassing van deze techniek dan de Europese Unie op dit moment wil toestaan.

De erfelijke informatie van alle levende wezens ligt opgeslagen in het DNA in de cellen. Een DNA-molecuul bestaat uit twee strengen met basenparen (nucleotiden) die in een dubbele helix om elkaar heen zijn gedraaid. De erfelijke informatie ligt besloten in de volgorde van de basenparen. Basenparen bevatten vier nucleobasen: adenine, cytosine, guanine en thymine, meestal aangeduid met letters: A, C, G en T. Deze vier letters komen altijd voor in twee paren: AT en CG. Een eencellige bacterie bevat zo'n 3 miljoen van deze letters, bij meer gecompliceerde wezens zoals dieren en de mens lopen de aantallen in de miljarden. Elke lichaamscel van een levend wezen bevat de hele keten van miljoenen of miljarden basenparen. En telkens als een cel zich vermenigvuldigt, wordt die hele keten gekopieerd.

Eiwitten zijn moleculen die allerlei biologische functies hebben, zoals bouwstoffen, enzymen of afweerstoffen. Via de tussenstap van het RNA worden eiwitten gemaakt vanuit het DNA. Zo wordt de opgeslagen informatie (DNA) omgezet in biologische functionaliteiten (eiwitten). Maar bij die omzettingen worden door de natuur nog wel eens foutjes gemaakt, zei Van der Oost. "Gelukkig maar, want anders waren wij misschien nog bacteriën in een modderpoel geweest."

Van der Oost bestudeert vooral bacteriën en virussen. Virussen zijn microscopisch kleine deeltjes die ook DNA bevatten, zij het niet meer dan zo'n 3000 tot 100.000 basenparen. Zij vermeerderen zich in een gastheer, bijvoorbeeld een bacterie, waardoor de bacterie afsterft. Maar gastheren beschikken over verschillende anti-virussystemen. Zo kunnen zij de aanhechting van een virus remmen, of de injectie van DNA in de gastheer tegengaan. Ook kunnen gastheren binnendringend vreemd DNA afbreken. Als niets meer helpt is er nog een laatste redmiddel: zelfmoord. "Dan brengt de bacterie zichzelf om het leven om de populatie te redden," zei van der Oost. "Is dat niet mooi?"

In de jaren '80 hebben wetenschappers CRISPR als afweersysteem voor het eerst ontdekt in het DNA van de bacterie *E. coli*. Pas 25 jaar later werd de huidige naam bedacht: CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short [Palindromic](#) Repeats). CRISPR is een onderdeel van het bacteriële verdedigingsmechanisme tegen virussen. CRISPR's zijn korte segmenten van herhaalde codes in het DNA. Deze herhalingen ('repeats') bestaan steeds uit dezelfde 30 basenparen. Deze repeats worden afgewisseld ('interspaced') met zogenoemde spacers, korte stukjes DNA. Het was een doorbraak toen in 2005 werd ontdekt dat deze spacers afkomstig zijn van het binnengedrongen virus, dat in een eerder stadium in het DNA van de bacterie is geplakt. Samen met CRISPR-geassocieerde enzymen (Cas) kan een bacterie zo een virusaanval herkennen en afslaan. CRISPR is daarbij als het ware, in het DNA van de bacterie, een archief met informatie van de virussen, en Cas de schaar die daarbinnen het

DNA van zo'n virus ontdekt en stuk knipt. Na de breuk van het virus-DNA is de aanval afgeslagen. CRISPR en Cas vormen zo samen een soort immuunsysteem van bacteriën.

Wetenschappers hebben ontdekt dat ze de specificiteit van dit systeem zelf kunnen aanpassen en zo heel specifiek op elke gewenste plek in een DNA-streng ongewenste basenparen wegnippen of gewenste basenparen invoegen. Zo kunnen ze als het ware genen inbrengen, verwijderen of repareren, zowel bij bacteriën als bij planten en dieren, en zelfs mensen. Inmiddels is ontdekt dat er meerdere klassen CRISPR-Cas-systemen zijn. In Wageningen heeft de groep van John van der Oost het Cascade-systeem ontdekt. In de Verenigde Staten heeft men Cas9 in detail gekarakteriseerd. Recenter heeft de Wageningse groep, samen met een groep uit Boston, Cas12 ontdekt. Van der Oost zelf vergelijkt "zijn" Cascade met een kettingzaag, die rücksichtsloos hele stukken DNA kapot zaagt. Cas9 en Cas12 werken daarentegen veel preciezer. "Als een Zwitsers zakmes, want het kent meerdere functionaliteiten."

CRISPR-Cas is ontdekt door fundamenteel onderzoek. Maar de techniek is veelbelovend als het om praktische toepassingen gaat. Met CRISPR-Cas kunnen bijvoorbeeld, door het uitschakelen of bijplaatsen van een of meerdere genen, gewassen worden gemaakt die resistent zijn tegen bepaalde ziekten. En door het uitschakelen van het gen dat na het bereiken van een bepaalde diepte de groei van de wortel stopt, kunnen plantenwortels wellicht langer doorgroeien waardoor de planten beter bestand worden tegen droogte en klimaatverandering. De techniek kan in de biotechnologie worden gebruikt voor het maken van biobrandstoffen of medicijnen, en in de Verenigde Staten worden al 'clinical trials' uitgevoerd om humane genetische ziekten te genezen, bijvoorbeeld bloedziekten zoals sikkelcelanemie. Van sikkelcelanemie is bekend dat de ziekte het gevolg is van één enkele mutatie in het gen dat verantwoordelijk is voor de aanmaak van het hemoglobine-eiwit. Uitschakelen van deze mutatie in stamcellen leidt dan tot genezing.

In 2018 echter heeft het Europees Hof van Justitie besloten dat CRISPR-Cas beschouwd moet worden als genetische modificatie. Daarbij behoort strenge wetgeving hetgeen de toepassing ervan sterk bemoeilijkt. Bij John van der Oost kwam, toen hij dit hoorde, de stoom uit zijn oren. "Dit besluit is absoluut niet terecht," betoogde hij. "Ik heb alle begrip voor terughoudendheid met nieuwe genetische technieken als het gaat om het kunstmatig aanbrengen van grotere veranderingen in een organisme. Bij transgenese bijvoorbeeld wordt genetisch materiaal van het ene organisme (bijvoorbeeld een bacterie) ingebracht in het DNA van een ander organisme (bijvoorbeeld een plant). Dat is inderdaad een ingrijpende vorm van genetische modificatie. Andere technieken, zoals mutagenese, waarbij de genen binnen een organisme worden aangepast met behulp van bijvoorbeeld straling of bepaalde chemische stoffen, zijn (terecht) vrijgesteld van de EU-regels voor genetisch gemodificeerde organismen. Dat zou ook moeten gelden voor CRISPR-Cas als het gaat om kleine veranderingen, zoals het uitschakelen van een gen met enkele puntmutaties, of het overhevelen van genen binnen een soort, bijvoorbeeld een virus-resistentie-gen binnen verwante planten. Het uitschakelen en uitwisselen van genen binnen één soort gebeurt in de natuur namelijk ook. Alle plantenveredeling berust op het selecteren van (toevallige) mutaties om mee verder te kweken. Bedenk bijvoorbeeld dat alle 50 huidige tomatenrassen als veredelingsproduct afkomstig zijn van de oneetbare, nietige wilde tomaat uit de Andes. Van de 1 miljard basenparen van die wilde tomaat zijn er bij de achtereenvolgende selecties zo'n 15 miljoen veranderd. Eenzelfde soort tomaat kan ook gemaakt worden door uit te

gaan van de wilde tomaat en het gericht veranderen van 6 genen (15 baseparen) met behulp van de CRISPR-Cas-techniek.”

Het is vreemd dat CRISPR-Cas als techniek in vrijwel de gehele wereld is toegestaan, behalve in Europa. “In dat opzicht zijn wij een beetje het dorpje van Asterix en Obelix,” zei Van der Oost, half grappend, half boos. Hij put nog hoop uit de mogelijkheid dat de EU alsnog tot ander inzicht komt. Dat gebeurde ook in Hawaii, waar op het gebied van genetische modificatie niets mocht, totdat de economisch zeer belangrijke papaja door een virus werd aangetast (het ringspot virus) en genetisch ingrijpen voor de autoriteiten ineens heel bespreekbaar werd.

Vooralsnog heeft hij zijn hoop gevestigd op een compromis, het ‘Noorwegen model’. “Dat houdt in dat genetische modificatie alleen is toegestaan als het veilig kan, èn als het van belang is voor de samenleving als geheel. Dus niet alleen voor het bedrijfsleven.” Als dat model ook in de Europese Unie zou worden toegepast, dan is de weg vrij voor bijvoorbeeld het creëren van diepwortelende voedingsgewassen voor aanplant in droge gebieden in Afrika, en voor vele andere voor de maatschappij gunstige ontwikkelingen. “Het is goed dat er een brede maatschappelijke discussie over dit onderwerp is,” zei hij tot slot. “Maar laten we die wel voeren op basis van solide wetenschappelijke argumenten.”