

**Deregulierung der Neuen Gentechnik:
Verhältnismäßig?
Zweckmäßig?**



Testbiotech e. V.
Institute for Independent
Impact Assessment in
Biotechnology

Kritische Bewertung einer möglichen Gesetzesänderung zur Deregulierung von Pflanzen aus Neuer Gentechnik

Inhalt

Zusammenfassung.....1
Bericht der EU-Kommission sieht Bedarf für Änderungen am Gentechnikrecht.....2
Verhältnismäßigkeit: Vorteile und Nachteile gesetzlicher Änderungen.....3
Zweckmäßigkeit: Können Gentechnik-Pflanzen ohne Sicherheitsprüfung vermarktet werden?...4
Die Bedeutung nicht beabsichtigter Veränderungen.....9
Handlungsoptionen.....11
Schlussfolgerungen.....12
Quellen.....13

Zusammenfassung

In einem von der EU-Kommission vorgelegten Bericht werden Änderungen am bestehenden Gentechnikrecht angedacht (EU Commission, 2021). Im Ergebnis könnten insbesondere Pflanzen aus Neuer Gentechnik von der Regulierung ausgenommen werden, wenn diese Merkmale aufweisen, die bereits aus der konventionellen Züchtung bekannt sind, und zudem keine artfremden Gene eingefügt werden. Laut dem Bericht sollten zudem auch mögliche Vorteile der jeweiligen Pflanzen berücksichtigt werden.

Die Analyse von Testbiotech stellt die Verhältnismäßigkeit der Maßnahmen in Frage: die geplanten Gesetzesänderungen sind mit erheblichen Folgen für VerbraucherInnen, Landwirtschaft, Züchtung und LebensmittelproduzentInnen verbunden. Auf der anderen Seite ist der zu erwartende Nutzen der geplanten Änderungen wohl eher niedrig.

Zudem erscheint das Vorhaben nicht zweckmäßig. Es gibt keine wissenschaftlich ausreichende Begründung, ganze Gruppen von Gentechnik-Pflanzen pauschal für sicher zu erklären. Der Grund: Neben den beabsichtigten Veränderungen und den gewollten Eigenschaften sowie deren möglichen

Kombinationen müssen auch die ungewollten Effekte aus den mehrstufigen Verfahren der Neuen Gentechnik und deren Auswirkungen berücksichtigt werden.

Testbiotech legt hier eine tabellarische Übersicht über verschiedene Risikokategorien vor. Demnach muss, unabhängig davon, ob Gesetze geändert werden, auch in Zukunft jede mögliche Zulassung eingehend auf Risiken geprüft werden, um eine Gefährdung von Mensch und Umwelt zu vermeiden. Würde dies ignoriert, wären erhebliche Risiken für Mensch und Umwelt eine unvermeidbare Konsequenz.

Aus der hier vorgelegten Übersicht geht auch hervor, dass die Europäische Lebensmittelbehörde (EFSA) unbeabsichtigte Effekte, die durch die Verfahren der Neuen Gentechnik verursacht werden und die für die EU-Kommission eine entscheidende Rolle bei der Begründung einer möglichen Deregulierung spielen, nicht ausreichend berücksichtigt hat.

Testbiotech kommt deswegen zu der Einschätzung, dass der Bericht der Kommission als zu einseitig oder zumindest als unvollständig zu bewerten ist.

Testbiotech empfiehlt, dass die EU-Kommission, um ihr Ziel zu erreichen, zunächst prüfen sollte, wie groß die Flexibilität der bestehenden Gesetzgebung ist. So kann die EU-Kommission bei ihren Entscheidungen über EU-Zulassungen schon jetzt mögliche Vorteile von Gentechnik-Pflanzen mit einbeziehen. Auch die Standards der Risikoprüfung können u.a. durch Ausführungsordnungen zielgenau gestaltet werden, ohne deswegen den gesetzlichen Rahmen ändern zu müssen.

Testbiotech weist aber auch auf erheblichen Forschungsbedarf bei den Risiken und den Methoden der Risikoprüfung hin. In vielen Fällen müssten die derzeitigen Standards der Risikoprüfung angehoben werden, um die Risiken der oft sehr komplexen Veränderungen überprüfen zu können.

Gerade weil die Neue Gentechnik ein sehr hohes technisches Eingriffspotential hat, die Risiken oft komplex sind und sich mögliche Schäden oft erst nach längerer Zeit zeigen, muss das Vorsorgeprinzip gestärkt werden.

Bericht der EU-Kommission sieht Bedarf für Änderungen am Gentechnikrecht

Die EU-Kommission hat Ende April 2021 einen Bericht zu Anwendungen der Neuen Gentechnik (NGT, Genome Editing) bei Pflanzen und Tieren vorgelegt (EU Commission, 2021). Dabei kommt sie zur Auffassung, dass die bestehende Gentechnikgesetzgebung reformiert werden sollte. Schwerpunkte sind unter anderem die Förderung der Anwendungen von Neuer Gentechnik in der Landwirtschaft sowie internationaler Handel, Technologieförderung und Produktentwicklung. Die Kommission fordert, bei der Marktzulassung auch mögliche Vorteile der Gentechnik im Hinblick auf ihre Programme ‚Green Deal‘ oder ‚Farm to Fork‘ zu berücksichtigen. Dabei müsse aber die Sicherheit für Mensch und Umwelt gewährleistet bleiben.

Die EU-Kommission scheint neue Vorschriften für bestimmte Kategorien von gentechnisch veränderten Organismen zu planen und diese ggf. (teilweise) von der bisherigen Zulassungspflicht auszunehmen. So stellt die Kommission in der Zusammenfassung ihres Berichtes fest: *„Für einige NGT hat die EFSA keine neuen Gefahren im Vergleich sowohl zur konventionellen Zucht als auch zu bewährten genomischen Verfahren (established genomic techniques, EGT) festgestellt. Außerdem*

hat die EFSA darauf hingewiesen, dass zufällige Änderungen am Genom unabhängig von der Zuchtmethode auftreten. Insertionen, Deletionen oder Rearrangements von genetischem Material kommen bei konventioneller Zucht, Genomeditierung, Cisgenese, Intragenese und Transgenese vor. Darüber hinaus kam die EFSA zu dem Schluss, dass Fehlmutationen (Off-target-Mutationen), die durch Verfahren der zielgerichteten Nuklease (SDN) möglicherweise herbeigeführt werden, von gleicher Art wie Fehlmutationen bei konventioneller Zucht und seltener als diese sind. Daher ist das Risiko der gerichteten Mutagenese und der Cisgenese in bestimmten Fällen gleich hoch wie das konventioneller Zuchtverfahren.“

Technisch können dabei also ganz unterschiedliche Verfahren zum Einsatz kommen. Beispielsweise können bestimmte natürliche Genfunktionen ausgeschaltet oder verändert werden (SDN-1 oder SDN-2) oder auch zusätzliche Gene aus derselben Art übertragen (SDN-3) werden.

Dieses Statement der EU-Kommission basiert insbesondere auf einer früheren Stellungnahme der Europäischen Lebensmittelbehörde (EFSA, 2020), nach der insbesondere Pflanzen mit Eigenschaften, die bereits aus der konventionellen Züchtung bekannt sind und in deren Erbgut keine artfremden zusätzlichen Gene eingefügt werden, unter Umständen keine eingehende Risikoprüfung mehr erfolgen: „On the one end, the new allele obtained by genome editing and the associated trait characterising the final product are already present in a consumed and/or cultivated variety of the same species. In this case, the risk assessment may focus on the knowledge of that variety (the history of safe use) and specific data on the edited gene and its product may not be needed.“

Doch gerade bei der Bewertung von unbeabsichtigten Effekten bleibt die EFSA konfus. Die Behörde scheint der Auffassung zu sein, dass die Fehler, die die Gen-Schere bei ihrer Arbeit macht, auch bei konventioneller Züchtung auftreten können. Gleichzeitig gibt die Behörde zu (EFSA, 2020), dazu keine umfassende Literaturrecherche gemacht zu haben. Offensichtlich vertritt die EFSA hier die vorgefasste Meinung, dass viele dieser Effekte gar nicht erst untersucht werden müssten. Wissenschaftliche Publikationen, die während der Konsultation eingereicht wurden und zu anderen Ergebnissen als die EFSA kommen, wurden in der Stellungnahme nicht erwähnt. Dies steht nicht im Einklang mit den üblichen wissenschaftlichen Standards.¹

Grund für Besorgnis ist, dass der Bericht der EU-Kommission (EU Commission, 2021) auf dieser Grundlage davon ausgeht, dass bei der Risikoprüfung nur die beabsichtigten Effekte der NGT-Organismen berücksichtigt werden müssen.

Verhältnismäßigkeit: Vorteile und Nachteile gesetzlicher Änderungen

Testbiotech sieht ebenfalls Bedarf für Anpassungen der derzeitigen Risikoprüfung für gentechnisch veränderte Organismen. Ein Grund: Die Risikobewertung vieler Anwendungen der Neuen Gentechnik ist oft wesentlich komplexer als bei der bisherigen Gentechnik (Testbiotech, 2020).

Testbiotech weist aber auch darauf hin, dass die bestehende Gesetzgebung erhebliche Flexibilität für Anpassungen bietet. Das betrifft nicht nur die Standards der Risikobewertung. So kann die EU-Kommission bereits jetzt bei ihren Entscheidungen über Marktzulassungen nach der Richtlinie 2011/18 mögliche Vorteile gentechnisch veränderter Pflanzen berücksichtigen. Allerdings dürfen diese Aspekte nicht mit den wissenschaftlichen Fragen der Risikobewertung vermischt werden.

1 <https://www.testbiotech.org/aktuelles/efsa-verwirrung-um-risiken-der-neuen-gentechnik-bei-pflanzen>

Vor diesem Hintergrund muss geprüft werden, welche Vorteile eine teilweise Deregulierung von Pflanzen aus Neuer Gentechnik tatsächlich haben könnte. Eine relevante Frage ist, welchen konkreten Nutzen es aus der Sicht von ‚Green Deal‘ oder ‚Farm to Fork‘ hätte, gentechnisch veränderte Pflanzen von der Regulierung auszunehmen, deren Eigenschaften nicht wesentlich über das hinausgehen, was auch mit Hilfe der konventionellen Züchtung erreicht wird.

Dieser fragliche Nutzen einer Deregulierung steht erheblichen Nachteilen gegenüber: Wie aus der Konsultation hervorgeht, die im Vorfeld der Veröffentlichung des Berichtes durchgeführt wurde², steht eine Deregulierung von Organismen aus Neuer Gentechnik den Interessen und Erwartungen vieler VerbraucherInnen, Institutionen und Organisationen aus dem Bereich der Lebensmittelproduktion, der Landwirtschaft und Züchtung entgegen. Diese treten aus vielfältigen Gründen weiterhin für eine klare Trennung von Gentechnik und konventionellen Produktionsweisen ein. Nach aktuellen Umfragen lehnt eine große Mehrheit der VerbraucherInnen entsprechende Gesetzesänderungen ab.³ Auf der Grundlage der bestehenden Gesetze wurden zudem im Bereich der Lebensmittelproduktion erhebliche Investitionen getätigt.⁴ Die Frage nach der Verhältnismäßigkeit der geplanten Maßnahmen stellt sich hier also sehr deutlich und muss von der EU-Kommission entsprechend gewichtet werden.

In Bezug auf den möglichen Nutzen der gentechnisch veränderten Pflanzen müssen auch die bisherigen Erfahrungen mit der Gentechnik in der Landwirtschaft berücksichtigt werden: Schon seit Jahrzehnten wird von der Industrie und industrienahen ExpertInnen stetig wiederholt, dass der Anbau transgener Pflanzen mit einem großen Nutzen für die Umwelt einhergehe, unter anderem sollen demnach Pestizide eingespart werden. Es wurde aber offensichtlich versäumt, ausreichende Kriterien einzuführen und belastbare Daten zur Überprüfung der behaupteten Vorteile zu verlangen. Stattdessen wurde die Entscheidung darüber, welche Vorteile (benefits) erreicht werden sollen, dem Markt überlassen, der sich aber nur an Gewinnerwartungen orientiert. Eine Folge war eine deutliche Zunahme der Pestizidbelastungen für die Umwelt⁵. Zudem wurden in jüngster Zeit auch weitere wissenschaftliche Untersuchungen über Umweltschäden publiziert, die durch den Anbau von transgenen Pflanzen verursacht wurden. Dazu gehören eine beschleunigte Ausbreitung bestimmter Schädlinge⁶ und eine Gefährdung der Zentren der biologischen Vielfalt der Baumwolle⁷.

Zweckmäßigkeit: Können Gentechnik-Pflanzen ohne Sicherheitsprüfung vermarktet werden?

In Bezug auf die Zweckmäßigkeit weist Testbiotech darauf hin, dass eine Deregulierung von bestimmten Gruppen von Pflanzen aus Neuer Gentechnik wissenschaftlich problematisch ist. Um diesen Sachverhalt zu erläutern, legt Testbiotech eine tabellarische Übersicht von Kategorien vor, die Gegenstand von möglichen Ausnahmeregelungen in Bezug auf die bestehende Gentechnikgesetzgebung sein könnten (siehe Tabelle unten).

2 https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/stakeholder-consultation_en

3 https://www.bmu.de/fileadmin/Daten_BMU/Pool/Broschueren/jugend-naturbewusstsein_2020.pdf
<https://www.greens-efa.eu/en/article/news/opinion-poll-on-the-labelling-of-gm-crops>

4 https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/gmo_mod-bio_stake-cons_stake-reply-04.pdf
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/gmo_mod-bio_stake-cons_stake-reply-34.pdf
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/gmo_mod-bio_stake-cons_stake-reply-93.pdf

5 www.testbiotech.org/en/news/transgenic-plants-failing-fields

6 <https://www.testbiotech.org/en/news/how-do-genetically-engineered-crops-speed-spread-plant-pests>

7 <https://www.testbiotech.org/en/news/disturbance-interactions-between-ge-cotton-and-environment>

Dabei wird klar, dass sowohl beabsichtigte Veränderungen als auch unbeabsichtigte Effekte berücksichtigt werden müssen, unabhängig davon, ob zusätzliche (artfremde) Gene eingefügt werden oder nicht. Demnach ist es nicht möglich, bestimmte Anwendungen der Neuen Gentechnik pauschal für sicher zu erklären. Wie hoch das Risiko bestimmter Organismen für Mensch und Umwelt tatsächlich ist, kann vielmehr erst („case by case“) nach einer Prüfung entschieden werden – nicht aber vorab oder nur aufgrund der beabsichtigten Eigenschaften von Gentechnik-Organismen. Dies gilt auch dann, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt werden.

Schon zur Überprüfung einer angenommenen Gleichwertigkeit von Eigenschaften aus konventioneller Zucht und Neuer Gentechnik müssten in jedem Fall ausreichende Daten vorgelegt werden. Die Bereitstellung entsprechender Daten muss dabei weiterhin gesetzlich verpflichtend sein und entsprechende Angaben transparent gemacht werden. Absolut unzureichend sind Systeme wie sie vom US-Landwirtschaftsministerium (USDA, APHIS)⁸ oder dem JRC (Joint Research Center)⁹ entwickelt wurden: Es gibt hier keine genauen Angaben über die Veränderungen, die bei den genomeditierten Pflanzen oder Tieren vorgenommen wurden. Genauere Angaben über die genetischen Veränderungen und wie die Pflanzen entstanden sind, werden als Geschäftsgeheimnis behandelt und nicht veröffentlicht.

Zusätzlich stellt sich u.a. Frage nach dem genetischen Umfeld, in dem ggf. bereits bekannte Merkmale zur Ausprägung gebracht werden. Auch wenn beispielsweise bekannte Eigenschaften innerhalb einer Art neu kombiniert werden, kann das Ergebnis komplexe Fragen in Bezug auf die Sicherheit von Mensch und Umwelt aufwerfen. Diese Frage betrifft auch nachfolgende Schritte von möglichen Kreuzungen der Gentechnik-Pflanzen, was ggf. ein neues System zur Überwachung der weiteren Züchtung (post-market monitoring) erforderlich machen würde.

Aus der hier vorgelegten tabellarischen Übersicht geht auch hervor, dass die EFSA (2020 und 2021a) unbeabsichtigte Effekte, die durch die mehrstufigen Verfahren der Neuen Gentechnik, wie bspw. Anwendungen der Gen-Schere CRISPR/Cas, verursacht werden, nicht ausreichend berücksichtigt hat. Auch von der EFSA selbst (2020) wird konstatiert, dass sie in Bezug auf die ungewollten Effekten keine systematischen Analysen der Risiken vorgenommen, sondern lediglich Berichte über Genome Editing ausgewertet wurden. Trotzdem spielen die Arbeiten der EFSA im Rahmen des Berichts der EU-Kommission eine entscheidende Rolle als Begründung für eine mögliche Deregulierung.

Testbiotech kommt zu der Einschätzung, dass der Vorschlag, bestimmte Kategorien gentechnisch veränderter Pflanzen pauschal von einer gesetzlich vorgeschriebenen Zulassungspflicht auszunehmen, sich nicht umsetzen lässt, wenn gleichzeitig ein hohes Schutzniveau für Umwelt und Gesundheit beibehalten werden soll.

Die tatsächlichen Effekte von möglichen Ausnahmeregelungen werden also nicht den von der Gentechnik-Industrie erwünschten Nutzen haben. Im Vorfeld möglicher Zulassungen kann die Verpflichtung zur Vorlage von Daten und deren Überprüfung keineswegs generell entfallen.

8 www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/Regulated_Article_Letters_of_Inquiry

9 https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW_GENOMIC_TECHNIQUES/index.html

Tabelle: Übersicht über verschiedene Kategorien gentechnischer Veränderungen von Pflanzen im Hinblick auf die Notwendigkeit ihrer Risikoprüfung

	Kategorien	Problemstellung / Grund für Risikoprüfung	Notwendige Ebenen der Risikoprüfung	Einschätzungen der EFSA
1	Beabsichtigte Veränderungen	Gegenstand der Prüfung sind die beabsichtigten Eigenschaften im Hinblick auf gewollte Veränderungen und unerwartete Nebenwirkungen.		
1.1	Eigenschaften sind aus bisheriger Züchtung bekannt und kommen bereits in ähnlichen Sorten der jeweiligen Art zur Ausprägung.	Wird angenommen, dass NGT Pflanzen in ihren Eigenschaften denen aus herkömmlicher Zucht insgesamt gleichgesetzt werden können, muss dies durch entsprechende Daten demonstriert werden.	DNA Veränderungen in den Inhaltsstoffen, dem Stoffwechsel, der Genaktivität (Omics-Verfahren) Ausprägung der Merkmale	Die EFSA macht keine Angaben dazu, wie eine angenommene Gleichsetzung von Pflanzen überprüft werden soll.
1.2	Eigenschaften sind aus bisheriger Züchtung bekannt, sie werden aber in neuem genetischen Umfeld zur Ausprägung gebracht.	Beispiel: Wildformen von Tomaten wurden in ihrem Phänotyp traditionell gezüchteten Tomaten ähnlich gemacht (sogenannte <i>De-Novo-Domestizierung</i>) (Zsogon et al., 2018). Dabei ist die Konzentration verschiedener Inhaltsstoffe aber sehr unterschiedlich.	Umwelt und Gesundheit (umfassend). Beispielsweise verfügen Tomaten über eine Vielfalt von Inhaltsstoffen, die, in Abhängigkeit von ihrer Konzentration, auch negative gesundheitliche Folgen haben können. Unter anderem müssten hier Metabolomics-Verfahren eingesetzt werden.	Die EFSA befasst sich nicht ausdrücklich mit bekannten Eigenschaften, die in einem neuen genetischen Hintergrund zur Ausprägung kommen.
1.3	Eigenschaften sind aus bisheriger Züchtung bekannt, sie konnten aber bisher nicht (oder nur in wesentlich geringerem Umfang) in einer Sorte kombiniert werden.	Ein Beispiel: Reis wurde in 8 Eigenschaften gleichzeitig verändert und bereits bekannte Eigenschaften (durch Multiplexing) neu kombiniert (Shen et al., 2017). Beabsichtigte Veränderungen der Experimente betreffen u.a. Ertrag, Wuchs und Duftstoffe. Mögliche neue Kombinationen, die mit Risiken behaftet sind, können auch erst nach einer Marktzulassung durch weitere Kreuzungen erfolgen, wodurch ein entsprechendes Monitoring notwendig würde.	Umwelt und Gesundheit (umfassend). Beispielsweise können beabsichtigte Veränderungen der Inhaltsstoffe von Pflanzen die Interaktion von Pflanzen mit ihrer Umwelt (wie die Mikrobiome, die Kommunikation mit Insekten, die Abwehr von Schädlingen, die Resistenzen gegen Krankheiten) oder auch die jeweiligen Nahrungsnetze und Ökosysteme erheblich stören oder auch zerstören.	Die EFSA befasst sich nicht ausdrücklich mit neuen Kombinationen bekannter Eigenschaften.

1.4	Eigenschaften sind aus bisheriger Züchtung bekannt, sie konnten aber bisher nicht getrennt von anderen, gekoppelten genetischen Eigenschaften zur Ausprägung gebracht werden.	Beispiel: Die gekoppelte Vererbung von Eigenschaften betrifft bei Tomaten über 25 Prozent der züchterisch interessanten Gene (Lin et al., 2014).	Umwelt und Gesundheit (umfassend). s.o.	Die EFSA befasst sich nicht ausdrücklich mit der Trennung von genetischen Eigenschaften, die bisher stets gemeinsam vererbt wurden.
1.5	Eigenschaften sind aus bisheriger Züchtung nicht bekannt. So können mit Hilfe der Gen-Schere CRISPR/Cas u.a. auch besonders geschützte Bereiche und eine hohe Anzahl von Genkopien gleichzeitig verändert werden.	Eigenschaften von Pflanzen können über die mit bisheriger Züchtung erzielten Eigenschaften weit hinausgehen (auch wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden). Beispiele: Weizen mit verändertem Gluten-Anteil (Sanchez-Leon et al., 2018), Leindotter mit stark veränderter Ölqualität (Kawall 2021), Tomaten mit erhöhter Konzentrationen an GABA (Nonaka et al., 2018).	Umwelt und Gesundheit (umfassend). s.o. Unter anderem müssen hier Whole Genome Sequencing und Omics-Verfahren zum Einsatz kommen.	Die EFSA hält eine Überprüfung von NGT Pflanzen mit komplexen genetischen Veränderungen bzw. neuen Eigenschaften auch dann für nötig, wenn keine zusätzlichen Gene eingefügt wurden. Dabei ist allerdings völlig unklar, welche Methoden die EFSA für notwendig hält, um die Risiken beurteilen zu können.
2.	Ungewollte Effekte	Gegenstand der Prüfung sind unbeabsichtigte Veränderungen durch fehlerhafte bzw. unpräzise Anwendung der Gen-Schere, die durch die jeweiligen Verfahren verursacht werden.		
2.1	Mehrstufiges Verfahren zur Anwendung der Gen-Schere (z.B. Einbringen der Gen-Schere-DNA über transgene Zwischenstufen)	Die Verfahren zur Einbringung der Gen-Schere in die Zellen können mit vielen ungewollten Effekten einhergehen. Die Effekte sind abhängig vom jeweiligen Verfahren und vielfach in Publikationen dokumentiert. Viele Effekte sind auch noch dann für die Risikoprüfung relevant, wenn keine (vollständigen) Transgene mehr vorhanden sind (Quellen siehe nach Tabelle).	DNA-Analysen Prüfung epigenetischer Effekte	Die EFSA scheint eine eingehende Prüfung schon dann nicht mehr für nötig zu halten, wenn im Endprodukt keine (vollständigen) Transgene mehr detektiert werden. Dies wird aber nicht eingehend begründet.
2.2	Ungewollte Veränderungen des Erbguts	Durch den Einsatz von Gen-Schere können ungewollte genetische Veränderungen an den jeweiligen Zielregionen, Regionen, die den Zielregionen	DNA Analysen und ggf. weitere Prüfungen (Inhaltsstoffe, Untersuchung neu entstandener	Die EFSA scheint eine eingehende Prüfung nicht für nötig zu halten, ohne dies aber

		<p>ähnlich sind, oder auch an anderen Stellen des Erbguts (off-target) auftreten. Wesentliche Einflussfaktoren sind die jeweiligen Zielregion und die eingesetzten Verfahren (Quellen siehe nach Tabelle).</p> <p>Diese Effekte sind in zahlreichen Publikationen dokumentiert und können sich in ihrem Muster und den dadurch bedingten Auswirkungen deutlich von denen aus bisheriger Züchtung unterscheiden. Beispielsweise können gleichzeitig mehrere DNA-Bereiche, die eine ähnliche Sequenz wie der Zielbereich besitzen, unbeabsichtigt geschnitten werden („mistaken targets“).</p>	biologisch aktiver Moleküle u.a.)	<p>eingehend zu begründen.</p> <p>Bisher wurden lediglich Off-Target-Effekte diskutiert.</p> <p>Die EFSA hat aber auch dazu keinerlei systematischen Analysen der Risiken vorgelegt.</p>
2.3	Ungewollte Bildung von ‚Genprodukten‘ oder Stoffwechselprodukten mit Relevanz für die Ernährung	<p>Durch den Einsatz von Genschere können durch die insbesondere in der Zielregion verursachten genetischen Veränderungen dazu führen, dass dort neue biologisch aktive Moleküle entstehen (wie neue Proteine oder regulatorische RNA). Wesentliche Einflussfaktoren sind die jeweiligen Zielregion und die eingesetzten Verfahren.</p> <p>Diese Effekte (u.a. durch ‚Exon Skipping‘ oder auch ‚Frame-Shift-Mutationen‘ ausgelöst) sind in zahlreichen Publikationen dokumentiert und können sich in ihrem Muster und ihren Auswirkungen deutlich von denen aus bisheriger Züchtung unterscheiden.</p> <p>Manche dieser Effekte zeigen sich erst nach mehreren Stoffwechselschritten. Ein Beispiel ist Weizen, bei dem Dutzende von Alpha-gliadin-Genen ausgeknockt wurden, um seinen Glutengehalt zu reduzieren (Sanchez-Leon et al., 2018).</p>	<p>DNA-Analysen und Omics-Verfahren (Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics)</p> <p>Im Falle des Weizens mit reduziertem Glutengehalt muss beispielsweise geprüft werden, ob neue Vorstufen (Prolamine und Gluteline) des Glutens gebildet werden, die dann negative Effekte auf die Lebensmittelsicherheit haben. Tatsächliche Veränderungen in der Zusammensetzung des Glutens zeigen sich dabei erst im weiteren Stoffwechsel durch die Kombinationen von Prolaminen und Glutelinen.</p>	Die EFSA hat die Bildung ungewollter Genprodukte mit Relevanz für die Ernährung bisher nicht eingehend diskutiert.
2.4	Unbeabsichtigte Auswirkungen auf die Umwelt und unerwartete	Nicht beabsichtigte Veränderungen auf der Ebene des Erbgutes, des Epigenoms, der Genprodukte oder im	u.a. Untersuchung von Interaktionen mit belebter Umwelt und Reaktion auf	Die EFSA hat die Bildung nicht beabsichtigter Veränderungen auf

	Reaktionen der Gentechnik-Organismen auf die Umwelt.	<p>Stoffwechsel können die Interaktion von Pflanzen mit ihrer Umwelt (wie die Mikrobiome, die Kommunikation mit Insekten, die Abwehr von Schädlingen, die Resistenzen gegen Krankheiten) oder auch die jeweiligen Nahrungsnetze und Ökosysteme erheblich stören oder auch zerstören (Kawall, 2021).</p> <p>Die jeweiligen Effekte, die bisher kaum untersucht wurden, können sich in ihren Auswirkungen deutlich von denen unterscheiden, die aus bisheriger Züchtung resultieren.</p>	Stressoren	der Ebene des Erbgutes, des Epigenoms, der Genprodukte oder im Stoffwechsel von Pflanzen mit Relevanz für die Umwelt bisher nicht eingehend diskutiert.
--	--	--	------------	---

Die Bedeutung nicht beabsichtigter Veränderungen

Wie Testbiotech bereits anlässlich einer Anhörung der STOA (Testbiotech, 2021) im Detail gezeigt hat, kann die Risikoprüfung von Organismen aus Neuer Gentechnik keineswegs auf die beabsichtigten Veränderungen beschränkt werden, wie das die EFSA (2020 und 2021a) und die EU-Kommission (EU Commission, 2021) intendieren.

Die Muster der unbeabsichtigten Veränderungen sind im Falle der Neuen Gentechnik u.a. deswegen spezifisch, weil CRISPR/Cas in der Regel verhindert, dass die ursprüngliche Genfunktion wiederhergestellt wird: Wird eine Zielregion wieder in ihren ursprünglichen Zustand zurückversetzt, kann CRISPR/Cas sich dort erneut anlagern und schneiden, wodurch es sehr wahrscheinlich wird, dass diese Gen-Region auch verändert wird (Brinkmann et al., 2018). Das steht im Unterschied zu den Vorgängen während der physikalischen oder chemischen Mutagenese, bei denen in vielen Fällen die ursprüngliche Funktion wiederhergestellt wird. Damit kann, in Abhängigkeit von der Anzahl und der Struktur der Zielgene, auch die Anzahl der ungewollten Effekte ansteigen.

Nicht nur die Anzahl, sondern auch der Ort der unbeabsichtigten Veränderungen kann je nach Verfahren spezifisch sein: Technische Hilfsmittel wie CRISPR/Cas machen das Genom in viel größerem Umfang für Veränderungen verfügbar, als dies bei physikalisch-chemischer Mutagenese der Fall ist: CRISPR/Cas ermöglicht Veränderungen auch in Regionen des Erbgutes, in denen Mutationen sich sonst nur sehr selten ereignen und deswegen im Rahmen der konventionellen Zucht sehr unwahrscheinlich sind (Belfield et al., 2018; Kawall, 2019; Kawall et al., 2020; Monroe et al., 2020; Testbiotech, 2020). Damit besteht in diesen Regionen (im Vergleich zur konventionellen Züchtung) auch eine höhere Wahrscheinlichkeit für unerwünschte Veränderungen.

In der wissenschaftlichen Literatur findet sich ein breites Spektrum unerwarteter Effekte, insbesondere durch den Einsatz von CRISPR/Cas bedingt, die aber von der EFSA (2020) weitgehend ignoriert werden: Viele Publikationen berichten über unerwünschte Veränderungen, einschließlich Off-Target-Effekten, On-Target-Effekten und chromosomalen Umlagerungen

(Kosicki et al., 2018; Lalonde et al., 2017; Kapahnke et al., 2016, Haapaniemi et al., 2018; Wolt et al., 2016; Cho et al., 2014; Sharpe, 2017; Adikusuma et al., 2018; Kosicki et al., 2020; Biswas et al., 2020; Tuladhar et al., 2019; Ono et al., 2019; Leibowitz et al., 2020; Skryabin et al., 2020; Weisheit et al., 2020; Michno et al., 2020; Norris et al., 2020; Grunewald et al., 2019; Burgio et al., 2020; Liu et al., 2021). Diese nicht beabsichtigten Veränderungen können eine ganze Reihe von unerwünschten Auswirkungen haben: Zum Beispiel kann die Funktion eines Nicht-Zielgens gestört werden, wenn die Gen-Schere dort aktiv wurde (Off-Target-Regionen). Das kann den Stoffwechsel der Organismen so verändern, dass ihre Sicherheit in Bezug auf Mensch und Umwelt gestört ist. Die Auswirkungen dieser Veränderungen sind auch davon abhängig, wo sich diese ereignen (zum Beispiel Verlust einer Genfunktion, wenn das Gen selbst betroffen ist; Veränderung der Genaktivität, wenn das Umfeld des eigentlichen Gens verändert wird).

Zudem ist zu berücksichtigen, dass die Neue Gentechnik in der Regel ein mehrstufiger Prozess ist, der, auch unabhängig von den jeweiligen Zielen, mit spezifischen Risiken einhergeht. So werden in vielen Fällen die Neue Gentechnik mit den Verfahren der ‚Alten Gentechnik‘ (wie Transformation durch *Agrobacterium* oder ‚Genkanonen‘) kombiniert, um die Gen-Scheren in die Zellen einzuführen. Daher resultieren aus den meisten Fällen von Anwendungen der Gen-Schere CRISPR/Cas zunächst transgene Pflanzen. Erst zum Ende des mehrstufigen Verfahrens werden die transgenen Anteile durch weitere Züchtungsschritte wieder entfernt. Auf jeder Stufe der Verfahren, (i) bei der Einfügung der DNA für die Gen-Schere, (ii) dem Schneiden spezifischer Zielregionen und (iii) den anschließenden Reparaturprozessen, kann es zu ungewollten Veränderungen kommen, die auch mit Risiken einhergehen. Dabei können Veränderungen, die durch die (ungezielte) Einfügung der DNA für die Gen-Schere auf der ersten Stufe der Verfahren verursacht wurden, auch dann im Erbgut überdauern, wenn am Ende des Verfahrens die transgenen Abschnitte wieder entfernt werden.

In diesem Zusammenhang gibt es eine Reihe von Publikationen, in denen über unbeabsichtigte Veränderungen berichtet wird, die durch die Methoden der ‚Alten Gentechnik‘ verursacht werden (siehe zum Beispiel Liu et al., 2019; Gelvin et al., 2017; Forsbach et al., 2003; Jupe et al., 2019; Makarevitch et al., 2003; Windels et al., 2003; Rang et al., 2005). Diese Veränderungen können nur durch geeignete Verfahren entdeckt werden, wie ‚Long-Read Next Generation Sequencing‘ (zur Identifizierung von Umlagerungen der Chromosomen) oder ‚Whole Genome Sequencing‘ (um Off-Target-Effekte aufzuspüren). Diese Verfahren müssten in Kombinationen mit den Methoden wie ‚Transcriptomics‘, ‚Proteomics‘ und ‚Metabolomics‘ angewandt werden (Burgio et al., 2020; Enfissi et al., 2021).

Zusammengefasst treten im Rahmen der jeweiligen Prozesse (auch bedingt durch die mangelhafte Präzision der Gen-Scheren) viele spezifische ungewollte Veränderungen auf,¹⁰ wie

- Off-Target-Effekte,
- On-Target-Effekte (wie größere Deletionen, Insertionen, Umlagerungen und Inversionen im Bereich der Zielgene),
- die unbeabsichtigte Integration von DNA-Sequenzen (bspw. DNA von bakteriellen Plasmiden, DNA der Gen-Scheren, weitere DNA von innerhalb oder außerhalb der Zellen),
- Exon Skipping (wobei durch die veränderten Gene unbeabsichtigt neue Proteine gebildet werden können) und
- Veränderungen des Epigenoms.

¹⁰ Für weitere Details siehe auch Kawall et al. (2020).

Daraus folgt, dass – ebenso wie der Einsatz von CRISPR/Cas zu neuen Genotypen führt, die über das hinausgehen, was mit bisheriger Züchtung erreicht wird – sich auch die Muster der ungewollten Veränderungen deutlich von denen aus konventioneller Zucht unterscheiden können. Das ist unabhängig davon, ob zusätzliche (artfremde) Gene eingefügt werden oder nicht.

Ein Beispiel ist die gentechnische Veränderung von Weizen (Sanchez-Leon et al., 2018), um den Gutengehalt der jeweiligen Lebensmittel zu reduzieren (siehe auch obige Tabelle): Ziel der Veränderung sind Dutzende von Alpha-Gliadin-Genen, die Eiweiße bilden, die dann an der Bildung von Gluten beteiligt sind. Bestimmte Formen von Gluten stehen im Verdacht, an chronischen Entzündungsprozessen im Darm beteiligt zu sein, deswegen gibt es mehrere Projekte, die darauf abzielen, den Gehalt an Gluten im Weizen zu reduzieren. Entsprechende Pflanzen werden von der EFSA (2021b) als Beispiel für komplexe Anwendungen (von SDN-1-Verfahren) genannt, aber nicht ausführlich bewertet. Deswegen bedarf dieses Beispiel (Sanchez-Leon et al., 2018) weiterer Analyse:

Auf der ersten Stufe wurde die Gen-Schere CRISPR/Cas mit Hilfe von alter Gentechnik in die Zellen eingebracht. Dadurch bedingt können viele ungewollte Veränderungen auch dann im Erbgut überdauern, wenn am Ende des Verfahrens die transgenen Abschnitte wieder entfernt werden (siehe oben).

In einem zweiten Schritt wurden Dutzende von Genen der Alpha-Gliadin-Genfamilie verändert, um die Bildung der Proteine zu verhindern. Dabei konnte aber nicht bei allen Zielgenen die natürliche Funktion blockiert werden. Im Ergebnis muss jedes der veränderten Zielgene daraufhin untersucht werden, ob von ihnen nicht ungewollt neue Proteine gebildet werden, die ihrerseits zu entzündlichen Prozessen beitragen können. Zudem müssen Veränderungen in den Stoffwechselprozessen analysiert werden, die schließlich zur Bildung von Gluten führen.

Dieses Beispiel zeigt, dass es keineswegs ausreicht, nur die beabsichtigten Merkmale zu berücksichtigen. Zudem ist es nicht ausreichend, die Risikoprüfung nur auf der Ebene der DNA durchzuführen. Auch Gen-Produkte (das Transkriptom und das Proteom) müssen berücksichtigt werden. Zudem müssen auch Veränderungen im Stoffwechsel (Metabolom) einbezogen werden.

Generell zeigen die hier vorgestellten Ergebnisse, dass es unmöglich ist, die Risikoprüfung auf die beabsichtigten Veränderungen zu reduzieren. Stattdessen müssen auch die unbeabsichtigten genetischen Veränderungen berücksichtigt werden, die durch die Verfahren verursacht werden und zudem auch die unbeabsichtigten Auswirkungen der beabsichtigten Veränderungen. Aus diesem Grund muss die Risikobewertung, wie das auch derzeit vorgeschrieben ist, stets vom technischen Verfahren ausgehen, unabhängig davon, welche Veränderungen letztlich beabsichtigt sind.

Handlungsoptionen

Um ihr Ziel zu erreichen, die EU-Gentechnik-Regulierung an die Herausforderungen der Neuen Gentechnik anzupassen, sollte die EU-Kommission den bestehenden gesetzlichen Rahmen nutzen. Tatsächlich bietet dieser einen großen Spielraum:

1. Festlegung von Prüfkriterien: Die jeweiligen Standards der Risikoprüfung könnten, mit Bezug auf verschiedene Kategorien der Neuen Gentechnik, im Rahmen einer Ausführungsverordnung durch die Kommission geregelt werden. Dabei sollte die Kommission berücksichtigen, dass

angesichts des technischen Potentials der Neuen Gentechnik zum Teil auch höhere Standards der Risikoprüfung nötig sein werden. Besondere Vorsichtsmaßnahmen sollten insbesondere für Organismen gelten, die in der Umwelt überdauern und sich ausbreiten können.

2. Prüfung von möglichen Vorteilen: Die EU-Kommission kann im Rahmen der Richtlinie 2001/18 bereits jetzt entsprechende Gesichtspunkte berücksichtigen. Dringlich wären allerdings klare und belastbare Kriterien, nach denen mögliche Vorteile geprüft und nach einer Zulassung überwacht werden können.

3. Verbesserung der Nachweisbarkeit: Die EU-Kommission sollte sich für ein internationales Register einsetzen, in dem die Eintragung aller Organismen aus Neuer Gentechnik und die Hinterlegung entsprechender Nachweisverfahren verpflichtend gemacht werden (siehe auch Ribarits et al., 2021).

4. Absenkung der Kosten für Zulassungsverfahren: Im Rahmen der Verordnung 178/2002 könnten Projekte zum Whole Genome Sequencing, zu Omics-Verfahren und Referenzgenomen finanziert werden, auf deren Ergebnisse und Methoden dann bei entsprechenden Zulassungsanträgen zurückgegriffen werden kann.

5. Ausweitung der unabhängigen Risikoforschung: Dringlich ist der systematische und langfristige Aufbau einer Risikoforschung, die sich an den Schutzziele (Mensch, Umwelt, Natur) orientiert und unabhängig von den Interessen der Technologie und Produktentwicklung bzw. deren Vermarktung durchgeführt wird.

6. Erleichterung des Zugangs zur Technologie: Die EU sollte die Reichweite von Patenten¹¹ strikt auf die jeweiligen technischen Verfahren begrenzen, um zu verhindern, dass Patente mit absolutem Stoffschutz auf Pflanzen und Tiere und deren züchterischen Merkmale erteilt werden.

Schlussfolgerungen

Angesichts geringer Erwartungen im Hinblick auf mögliche Vorteile und der damit einhergehenden negativen Auswirkungen sind die von der EU-Kommission vorgeschlagenen Maßnahmen nicht verhältnismäßig und nicht zielführend.

Anstatt die bestehenden Gentechnikgesetze zu ändern, sollte die EU-Kommission den bestehenden Spielraum der existierenden Gesetzgebung nutzen, um diese an die Herausforderungen der Neuen Gentechnik anzupassen.

Dazu können u.a. spezielle Ausführungsverordnungen erlassen werden, um die Standards der Risikoprüfung festzulegen. Auch die Berücksichtigung von möglichen Vorteilen im Rahmen von Zulassungen, die Entwicklung von angemessenen Methoden zur Risikoprüfung, die Ausweitung der unabhängigen Risikoforschung und die Begrenzung des Patentschutzes erfordern keinerlei Änderungen des gesetzlichen Rahmens.

11 Für Patente mit Bezug zu Artikel 4 der EU-Patentrichtlinie 98/44 EC.

Quellen

Adikusuma F, Piltz S, Corbett MA, Turvey M, McColl SR, Helbig KJ, Beard MR, Hughes J, Pomerantz RT, Thomas PQ (2018) Large deletions induced by Cas9 cleavage. *Nature* 560(7717):E8-E9. doi:10.1038/s41586-018-0380-z

Belfield EJ, Ding ZJ, Jamieson FJC, Visscher AM, Zheng SJ, Mithani A, Harberd NP (2018) DNA mismatch repair preferentially protects genes from mutation. *Genome Res* 28(1):66-74. doi:10.1101/gr.219303.116

Biswas S, Tian J, Li R, Chen X, Luo Z, Chen M, Zhao X, Zhang D, Persson S, Yuan Z, Shi J (2020) Investigation of CRISPR/Cas9-induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. *J Genet Genomics* 47(5):273-280. doi:10.1016/j.jgg.2020.04.004

Brinkman EK, Chen T, de Haas M, Holland HA, Akhtar W, van Steensel B (2018) Kinetics and fidelity of the repair of Cas9-induced double-strand DNA breaks. *Mol Cell* 70(5):801-813 e806. doi:10.1016/j.molcel.2018.04.016

Burgio G, Teboul L (2020) Anticipating and identifying collateral damage in genome editing. *Trends in Genetics* 36(12):905-914. doi:10.1016/j.tig.2020.09.011

Cho SW, Kim S, Kim Y, Kweon J, Kim HS, Bae S, Kim JS (2014) Analysis of off-target effects of CRISPR/Cas-derived RNA-guided endonucleases and nickases. *Genome Res* 24(1):132-141. doi:10.1101/gr.162339.113

EFSA (2020) Applicability of the EFSA Opinion on site-directed nucleases type 3 for the safety assessment of plants developed using site-directed nucleases type 1 and 2 and oligonucleotide directed mutagenesis. *EFSA J* 18(11):6299. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6299>

EFSA (2021a) Overview of EFSA and European national authorities' scientific opinions on the risk assessment of plants developed through New Genomic Techniques. *EFSA J* 19(4):6314. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6314>

EFSA (2021b) Scientific Opinion on the evaluation of existing guidelines for their adequacy for the molecular characterisation and environmental risk assessment of genetically modified plants obtained through synthetic biology. *EFSA J* 19(2):6301. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6301>

EU Commission (2021) Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16, Commission staff working document, SWD(2021) 92 final, https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en

Enfissi EMA, Drapal M, Perez-Fons L, Nogueira M, Berry HM, Almeida J, Fraser PD (2021) New Plant Breeding Techniques and their regulatory implications: An opportunity to advance metabolomics approaches. *J Plant Physiol*:153378. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153378>

Forsbach A, Schubert D, Lechtenberg B, Gils M, Schmidt R (2003) A comprehensive characterization of single-copy T-DNA insertions in the *Arabidopsis thaliana* genome. *Plant Mol Biol* 52(1):161-176. doi:10.1023/a:1023929630687

Gelvin SB (2017) Integration of *Agrobacterium* T-DNA into the plant genome. *Annu Rev Genet* 51:195-217. doi:10.1146/annurev-genet-120215-035320

Grunewald J, Zhou R, Garcia SP, Iyer S, Lareau CA, Aryee MJ, Joung JK (2019) Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature* 569(7756):433-437. doi:10.1038/s41586-019-1161-z

Haapaniemi E, Botla S, Persson J, Schmierer B, Taipale J (2018) CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. *Nat Med* 24(7):927-930. doi:10.1038/s41591-018-0049-z

Jupe F, Rivkin AC, Michael TP, Zander M, Motley ST, Sandoval JP, Slotkin RK, Chen H, Castanon R, Nery JR, Ecker JR (2019) The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. *PLoS Genet* 15 (1):e1007819. doi:10.1371/journal.pgen.1007819

Kapahnke M, Banning A, Tikkanen R (2016) Random splicing of several exons caused by a single base change in the target exon of CRISPR/Cas9 mediated gene knockout. *Cells* 5 (4). doi:10.3390/cells5040045

Kawall K (2019) New possibilities on the horizon: genome editing makes the whole genome accessible for changes. *Front Plant Sci* 10:525. doi:10.3389/fpls.2019.00525

Kawall K, Cotter J, Then C (2020) Broadening the EU GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in Agriculture. *Environ Sci Eur* 32(1):1-24. <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00361-2>

Kawall K (2021) Genome edited *Camelina sativa* with a unique fatty acid content and its potential impact on ecosystems, *Environ Sci Eur* 33(1):1-12. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00482-2>

Kosicki M, Tomberg K, Bradley A (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotechnol* 36(8):765-771. doi:10.1038/nbt.4192

Kosicki M, Allen F, Bradley A (2020) Cas9-induced large deletions and small indels are controlled in a convergent fashion. *bioRxiv*. doi:10.1101/2020.08.05.216739

Lalonde S, Stone OA, Lessard S, Lavertu A, Desjardins J, Beaudoin M, Rivas M, Stainier DYR, Lettre G (2017) Frameshift indels introduced by genome editing can lead to in-frame exon skipping. *PLoS One* 12(6):e0178700. doi:10.1371/journal.pone.0178700

Leibowitz ML, Papathanasiou S, Doerfler PA, Blaine LJ, Yao Y, Zhang C-Z, Weiss MJ, Pellman D (2020) Chromothripsis as an on-target consequence of CRISPR-Cas9 genome editing. *bioRxiv* . doi:10.1101/2020.07.13.200998

Lin T, Zhu G, Zhang J, Xu X, Yu Q, Zheng Z, Zhang Z, Lun Y, Li S, Wang X, Huang Z, Li J, Zhang C, Wang T, Zhang Y, Wang A, Zhang Y, Lin K, Li C, Xiong G, Xue Y, Mazzucato A, Causse M, Fei Z, Giovannoni JJ, Chetelat RT, Zamir D, Städler T, Li J, Ye Z, Du Y, Huang S (2014) Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genetics* 46 (11):1220-1226. doi:10.1038/ng.3117

- Liu, J, Nannas, NJ, Fu F-F, Shi, J, Aspinwall B, Parrott WA, Dawe RK (2019) Genome-scale sequence disruption following biolistic transformation in rice and maize. *Plant Cell* 31:368–383. doi:10.1105/tpc.18.00613
- Liu M, Zhang W, Xin C, Yin J, Shang Y, Ai C, Li J, Meng F-l, Hu J (2021) Global detection of DNA repair outcomes induced by CRISPR-Cas9. *bioRxiv*:2021.2002.2015.431335. doi:10.1101/2021.02.15.431335
- Makarevitch I, Svitashv SK, Somers DA (2003) Complete sequence analysis of transgene loci from plants transformed via microprojectile bombardment. *Plant Mol Biol* 52(2):421-432. doi:10.1023/a:1023968920830
- Michno JM, Viridi K, Stec AO, Liu J, Wang X, Xiong Y, Stupar RM (2020) Integration, abundance, and transmission of mutations and transgenes in a series of CRISPR/Cas9 soybean lines. *BMC Biotechnol* 20(1):10. doi:10.1186/s12896-020-00604-3
- Monroe JG, Srikant T, Carbonell-Bejerano P, Exposito-Alonso M, Weng M-L, Rutter MT, Fenster CB, Weigel D (2020) Mutation bias shapes gene evolution in *Arabidopsis thaliana*. *bioRxiv*. doi:10.1101/2020.06.17.156752
- Nonaka S, Arai C, Takayama M, Matsukura C, Ezura H (2017) Efficient increase of γ -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis, *Sci Rep* 7:7057. doi:10.1038/s41598-017-06400-y
- Norris AL, Lee SS, Greenlees KJ, Tadesse DA, Miller MF, Lombardi HA (2020) Template plasmid integration in germline genome-edited cattle. *Nat Biotechnol* 38(2):163-164. doi:10.1038/s41587-019-0394-6
- Ono R, Yasuhiko Y, Aisaki KI, Kitajima S, Kanno J, Hirabayashi Y (2019) Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. *Commun Biol* 2:57. doi:10.1038/s42003-019-0300-2
- Rang A, Linke B, Jansen B (2005) Detection of RNA variants transcribed from the transgene in Roundup Ready soybean. *Eur Food Res Technol* 220(3):438-443. doi:10.1007/s00217-004-1064-5
- Ribarits A, Eckerstorfer M, Simon S, Stepanek W (2021) Genome-edited plants: opportunities and challenges for an anticipatory detection and identification framework. *Foods* 10(2):430. doi:10.3390/foods10020430
- Sanchez-Leon S, Gil-Humanes J, Ozuna CV, Gimenez MJ, Sousa C, Voytas DF, Barro F (2018) Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J* 16:902-910. doi:10.1111/pbi.12837
- Sharpe JJ, Cooper TA (2017) Unexpected consequences: exon skipping caused by CRISPR-generated mutations. *Genome Biol* 18(1):109. doi:10.1186/s13059-017-1240-0
- Shen L, Hua Y, Fu Y, Li J, Liu Q, Jiao X, Xin G, Wang J, Wang X, Yan C, Wang K (2017) Rapid generation of genetic diversity by multiplex CRISPR/Cas9 genome editing in rice. *Sci China Life Sci* 60(5):506-515. doi:10.1007/s11427-017-9008-8

Skryabin BV, Kummerfeld D-M, Gubar L, Seeger B, Kaiser H, Stegemann A, Roth J, Meuth SG, Pavenstädt H, Sherwood J, Pap T, Wedlich-Söldner R, Sunderkötter C, Schwartz YB, Brosius J, Rozhdestvensky TS (2020) Pervasive head-to-tail insertions of DNA templates mask desired CRISPR-Cas9-mediated genome editing events. *Science Advances* 6(7):eaax2941. doi:10.1126/sciadv.aax2941

Testbiotech (2020) Why ‘New GE’ needs to be regulated, Frequently Asked Questions on ‘New Genetic Engineering’ and technical backgrounds for CRISPR & Co. www.testbiotech.org/node/2659

Testbiotech (2021) What Members of the European Parliament should consider when discussing new genetic engineering (New GE) with STOA. Testbiotech Background 12 - 4 - 2021, www.testbiotech.org/node/2732

Tuladhar R, Yeu Y, Tyler Piazza J, Tan Z, Rene Clemenceau J, Wu X, Barrett Q, Herbert J, Mathews DH, Kim J, Hyun Hwang T, Lum L (2019) CRISPR-Cas9-based mutagenesis frequently provokes on-target mRNA misregulation. *Nat Commun* 10(1):4056. doi:10.1038/s41467-019-12028-5

Weisheit I, Kroeger JA, Malik R, Klimmt J, Crusius D, Dannert A, Dichgans M, Paquet D (2020) Detection of Deleterious On-Target Effects after HDR-Mediated CRISPR Editing. *Cell Rep* 31(8):107689. doi:10.1016/j.celrep.2020.107689

Windels P, De Buck S, Van Bockstaele E, De Loose M, Depicker A (2003) T-DNA integration in *Arabidopsis* chromosomes. Presence and origin of filler DNA sequences. *Plant Physiol* 133(4):2061-2068. doi:10.1104/pp.103.027532

Wolt JD, Wang K, Sashital D, Lawrence-Dill CJ (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. *Plant Genome* 9(3):plantgenome2016.05.0047. doi:10.3835/plantgenome2016.05.0047

Zsogon A, Cermak T, Naves ER, Notini MM, Edel KH, Weinl S, Freschi L, Voytas DF, Kudla J, Peres LEP (2018) De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol* 36:1211-1216. doi:10.1038/nbt.4272