



POINT NEWSLETTER NR. 258 – DEZEMBER 2023

# Aktuelle Biotechnologie

## INHALT

### **Innovative Pflanzenzüchtung**

Reben mit Resistenz gegen den falschen Mehltau durch CRISPR/Cas9

2

### **Medizin**

Genetischer Reisswolf zerstört aggressive Hirntumor-Zellen

3

### **Industrielle Biotechnologie**

CRISPR/Cas9 als Werkzeug für verbesserte Produktionsprozesse

4

### **Konsumentennutzen**

Gladinreduzierter Weizen mit guten Backeigenschaften

5

## INNOVATIVE PFLANZENZÜCHTUNG

# Reben mit Resistenz gegen den falschen Mehltau durch CRISPR/Cas9

Reben sind sehr krankheitsanfällig. Vor allem Pilzerkrankungen machen ihnen zu schaffen. Etwa ein Drittel aller in der Schweiz eingesetzten Pflanzenschutzmittel werden daher im Rebbaubereich benötigt. Ein Grossteil davon sind Fungizide. Die Entwicklung von Rebsorten mit verbesserter Pilzresistenz könnte daher zu deutlichen Einsparungen beim Pflanzenschutz beitragen.

Nur ist das leider nicht so einfach: Die klassische Züchtung bei Reben ist aufgrund ihres langsamen Wachstums langwierig. Zudem vermischen sich bei den erforderlichen Kreuzungen die genetischen Eigenschaften der Elternlinien. Die einzigartige Merkmalskombination der bekannten, schon lange etablierten Rebsorten geht dabei verloren. Tatsächlich gibt es immer mehr klassisch gezüchtete pilzwiderstandsfähige «PIWI»-Sorten. Am Markt haben sie es aber in Konkurrenz zu den beliebten, altvertrauten Sorten schwer.

Als Alternative wenden sich Pflanzenzüchter zunehmend auch der Genomeditierung zu. Diese ermöglicht es, bestehende Sorten in kurzer Zeit gezielt mit neuen Eigenschaften, wie einer Krankheitsresistenz, auszustatten, ohne ihre sonstigen Eigenschaften zu verändern. Die Schweizer Akademie der Naturwissenschaften SCNAT hat kürzlich auf das Potenzial der Genomeditierung für die Entwicklung pilzresistenter Reben auch für die Schweiz hingewiesen. Weltweit laufen verschiedene Projekte dazu.

Ein Team von Forschenden um Samia Djennane und Pere Mestre vom Weinforschungszentrum der Universität Strassbourg in Colmar (F) beschreibt jetzt, wie sie durch Genomeditierung mittels CRISPR/Cas9 Weinreben

widerstandsfähiger gegen den falschen Mehltau machen konnten. Die durch den Erreger *Plasmopara viticola* verursachte Krankheit gehört weltweit zu den grössten Bedrohungen für den Weinbau.

Aus Arbeiten mit der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* war bekannt, dass Mutationen im *DMR6*-Gen eine erhöhte Mehltauraesistenz bewirken. Vermutlich bremst das Gen pflanzliche Abwehrreaktionen – wird das Gen ausgeschaltet, sind die Pflanzen besser auf Infektionen vorbereitet. In Weinreben existieren zwei Versionen von diesem Gen. Die Forschenden wählten das stärker abgelesene *DMR6-1* Gen aus, und schalteten es durch Schnitte mit CRISPR/Cas9 aus. Blätter der so erhaltenen genomeditierten Weinreben waren weniger anfällig gegen Infektion mit dem falschen Mehltau und produzierten auch weniger Pilzsporen als unveränderte Sorten. Auch zeigten sie biochemische Anzeichen einer dauerhaft aktivierten Pathogenabwehr, wie einen erhöhten Gehalt an Salicylsäure.

Diese Resultate belegen eine Rolle von *DMR6-1* bei der Abwehr des falschen Mehltaus, sind für sich allein allerdings noch keine Lösung für eine dauerhafte Pilzresistenz. Hierzu sollten mehrere Abwehrmechanismen kombiniert werden. Die Forschenden hoffen, mit ihrer Arbeit einen solchen Resistenzbaustein beizutragen.

**Quellen:** Samia Djennane et al. 2023, [Reduced susceptibility to downy mildew in grapevine plants edited for VvDMR6-1](#), Journal of Experimental Botany, (online 09.12.2023, [doi:10.1093/jxb/erad487](#); [Virtual Workshop: Harnessing Genome Editing Technologies for Viticulture](#), Agriculture & Food Systems Institute (AFSI), 29.05.2023 (mit Video); Michael Kümin et al. 2023, [Neue Züchtungstechnologien: Anwendungsbeispiele aus der Pflanzenforschung](#), Swiss Academies Communications 18 (2).

# Genetischer Reisswolf zerstört aggressive Hirntumor-Zellen

Hirntumore sind oft schwer zu behandeln. Vor allem bei primären Glioblastomen sind die Aussichten für Patienten ungünstig, sie sind die häufigste tödliche Krebserkrankung des Gehirns. Die Lebenserwartung nach der Diagnose beträgt oft weniger als 15 Monate. Besonders problematisch ist, dass die bösartigen Glioblastome trotz energischer Behandlung mit chirurgischen Eingriffen und Chemotherapie oft in kurzer Zeit zurückkehren. Die Krebszellen verändern sich dabei genetisch, die hypermutierten Gliome werden so resistent gegen eine weitere Therapie.

Ein Forscherteam aus dem Labor von Jennifer Doudna vom Gladstone Institut in San Francisco, unter Federführung von Christof Fellmann, hat jetzt eine Achillesferse der therapieresistenten Gliomzellen entdeckt, und einen Ansatz entwickelt wie diese gezielt mit Hilfe des CRISPR/Cas9 Systems «geschreddert» werden können. Jennifer Doudna hatte 2012 zusammen mit Emmanuelle Charpentier und Mitarbeitern in einer bahnbrechenden Veröffentlichung erstmals die Verwendung von CRISPR/Cas9 als genetisches Werkzeug beschrieben, und dafür 2020 den Nobelpreis erhalten.

Wichtig bei jedem Behandlungsansatz gegen Krebs ist, dass er wirksam gegen die entarteten Zellen vorgeht, aber die gesunden Körperzellen möglichst wenig beeinträchtigt. Die Forschenden machten sich die zahlreichen genetischen Veränderungen in den hypermutierten Gliomzellen zunutze. Diese kommen an zahlreichen Positionen verstreut über das Erbgut der Krebszellen vor, auch in den umfangreichen Regionen, die nicht für die Produktion von Proteinen kodieren. Die Mutationen kommen in dieser Art in normalen Hirnzellen nicht vor, und können daher zur Unterscheidung zwischen gesunden und kranken Zellen dienen.

Die Forschenden isolierten normales Körpergewebe und Tumormaterial von

einem Patienten mit wieder aufgetretenen, behandlungsresistenten Glioblastom. Sie bestimmten die DNA-Sequenz in beiden Gewebeproben, und leiteten daraus zahlreiche für die Tumorzellen spezifische Positionen ab. Anschliessend synthetisierten sie dazu passende sgRNAs, mit denen sich Schnittpositionen für das CRISPR/Cas9 System festlegen lassen. Wenn im Reagenzglas Glioblastomzellen mit dem für diesen Patienten spezifisch programmierten «Krebs-Schredder» zusammengebracht wurden, wurde das Erbgut der Tumorzellen wie durch einen Reisswolf zerstückelt, und die Zellen gingen zugrunde. Gesunde Körperzellen blieben unbehelligt, da sie keine Erkennungspositionen für die Cas9-Schneideaktivität aufwiesen. Die Forschenden konnten auch zeigen, dass ihr «Krebs-Schredder» Ansatz auch wiederholt eingesetzt werden kann, falls bei der ersten Behandlungsrunde einzelne Tumorzellen überleben – Resistenzen wurden nicht beobachtet.

Bisher wurde der vielversprechende Ansatz zur Abtötung von Tumorzellen nur im Reagenzglas erprobt. Für eine Anwendung bei Patienten gibt es noch kein genügend effizientes Verfahren, um das auf die Gliomzellen programmierte CRISPR/Cas9 System in die betroffenen Hirnzellen einzubringen. Es existieren aber verschiedene Möglichkeiten hierfür die geprüft werden könnten, zum Beispiel die Verwendung von Viren als Vektoren. Obwohl bis zu einer klinischen Anwendung noch zahlreiche Hürden zu überwinden sind, könnte der Krebs-Schredder-Ansatz zur Grundlage eines ganz neuen Behandlungskonzepts für sonst nur schwer zu kontrollierende Tumorerkrankungen mit hypermutierten Krebszellen werden.

**Quellen:** I-Li Tan et al. 2023, [Targeting the non-coding genome and temozolomide signature enables CRISPR-mediated glioma oncolysis](#). Cell Reports 42:113339; [CRISPR-Powered 'Cancer Shredding' Technique Opens New Possibility for Treating Most Common and Deadly Brain Cancer](#), Gladstone Institute News, 27.11.2023.

## CRISPR/Cas9 als Werkzeug für verbesserte Produktionsprozesse

Es ist erst elf Jahre her, seit CRISPR/Cas9 erstmals als Werkzeug zur gezielten Erbgut-Veränderung beschrieben wurde. Seither haben sich die technischen Möglichkeiten rapide weiterentwickelt. Nicht nur ist es möglich, gezielte Schnitte an vorbestimmten Positionen im Genom anzubringen, sondern es können auch wie mit einem Textverarbeitungsprogramm Veränderungen einzelner Buchstaben des genetischen Codes angebracht werden («*Base Editing*»). Auch die Umlagerung grosser Erbgutabschnitte, ihr Austausch oder ihre Entfernung wird möglich. Und durch den parallelen Einsatz der Genomeditierung können gleichzeitig zahlreiche Veränderungen im Erbgut erzeugt werden.

Das ermöglicht nicht nur neue Erkenntnisse in der Grundlagenforschung, sondern findet auch praktische Anwendungen in zahlreichen Gebieten. Eine Reihe von Artikeln in der Fachzeitschrift «*Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*» wirft ein Schlaglicht auf die Möglichkeiten, industrielle Produktionsprozesse für hochwertige Erzeugnisse durch den Einsatz von CRISPR/Cas9 zu verbessern.

Durch Stoffwechsel-Design können Mikroorganismen so angepasst werden, dass sie wertvolle Chemikalien, Lebensmittelzutaten oder Biotreibstoffe effizienter erzeugen. Ein Beispiel dafür ist die Herstellung von Isoprenol, einer Vorläufer-Chemikalie für Biotreibstoffe und Parfumkomponenten. Forscher aus den USA zeigen, wie der Stoffwechsel von *E. coli* Bakterien angepasst werden kann, um die Produktivität deutlich zu steigern. Dazu wurde die Ableitung von 32 Bakteriengen gebremst, die sich nachteilig auf die Isoprenolsynthese auswirkten. Als Werkzeug hierfür diente CRISPRi (von «*CRISPR interference*»), bei

dem eine inaktive Variante von Cas9 an ein Zielgen gesteuert wird, aber dieses nicht schneidet, sondern nur blockiert. CRISPR/Cas9 ermöglicht auch die Anpassung von photosynthetischen Mikroalgen zur Produktion von Chemikalien, Kosmetik-Zutaten, Lebensmittelzusatzstoffen und Biotreibstoffen. Ein weiteres industrielles Anwendungsfeld der Genomeditierung ist die Optimierung von acetogenen Mikroorganismen. Diese können durch Gas-Fermentation aus Industrieabgasen Chemikalien wie Ethanol, Aceton und Isopropanol erzeugen, und so klimaschädliches CO<sub>2</sub> einfangen und zu nützlichen Produkten verarbeiten («*Carbon Capture and Utilization*», CCU).

In der Medizin können CRISPR/Cas9 und seine Varianten nicht nur für innovative Zell- und Gentherapien eingesetzt werden, sondern auch als diagnostisches Werkzeug zum empfindlichen Nachweis von Krankheitserregern wie Bakterien, Viren und Parasiten. Mit kleinen, tragbaren Geräten können so Gesundheitsgefahren schnell und vor Ort identifiziert werden. Durch Genomeditierung der Produktionsbakterien *Amycolatopsis keratiniphila* konnte die Ausbeute des wichtigen Antibiotikums Vancomycin um 40 Prozent gesteigert werden. Stoffwechsel-Design von Zellkulturen aus pflanzlichen Eiben-Zellen durch CRISPR-gerichtete DNA-Methylierung steigerte die Ausbeute des Anti-Krebs-Wirkstoffs Paclitaxel sogar 25-fach. So leisten die Werkzeuge der Genomeditierung wichtige Beiträge für eine effizientere Produktion. Weitere Anwendungsmöglichkeiten kommen ständig dazu.

**Quellen:** Anindya Bandyopadhyay et al. 2023, [Editorial: CRISPR-aided bioengineering for value-added product development](#), Front. Bioeng. Biotechnol. 11:1340377; Research Topic [CRISPR-aided bioengineering for value-added product development](#) (10 article collection), Frontiers in Bioengineering and Biotechnology Journal.



# Gliadinreduzierter Weizen mit guten Backeigenschaften

Weizen spielt als Grundnahrungsmittel, Brotgetreide, für die Pastaproduktion, aber auch für die Tiermast weltweit eine entscheidende Rolle. Allerdings kann sich der Verzehr von Weizenprodukten bei etwa einer von hundert Personen aufgrund einer Allergie, Zöliakie oder Gluten-Unverträglichkeit nachteilig auf die Gesundheit auswirken. Auslöser sind bestimmte Eiweiss-Bestandteile des im Weizen vorhandenen Glutens. Gluten, auch als Kleber bezeichnet, ist aber auch für die gute Backqualität von Weizen erforderlich.

Durch klassische Züchtung ist es kaum möglich, die nachteiligen Gesundheitsauswirkungen von Weizen für manche Personen zu reduzieren, da die Pflanzen zahlreiche dafür verantwortliche Gene enthalten. Mit modernen Verfahren der Genomeditierung ist es jetzt möglich, gezielt einzelne Gene oder ganze Genfamilien in Pflanzen auszuschalten. Eine Herausforderung dabei ist, mögliche Gesundheitsrisiken zu reduzieren, ohne zugleich die Backqualität zu beeinträchtigen. Ein US-Forschungsteam aus Kansas zeigt jetzt, wie mit Hilfe von CRISPR/Cas9 ein Grossteil der gesundheitlich problematischen Gliadin-Gene in Weizen inaktiviert, und zugleich die Backeigenschaften verbessert werden können. Dabei machten sie sich neue Daten zur Genomsequenz von Weizen zunutze, die eine präzise Auswahl der Zielgene ermöglichte. So tragen die  $\omega$ -Gliadine kaum zur Backqualität

bei, können aber deutliche Gesundheitsauswirkungen haben. Auch  $\gamma$ -Gliadine wurden als geeignete Ziele definiert. Die Forschenden programmierten das CRISPR/Cas9-System daher so, dass ein grosser Teil der zahlreichen  $\omega$ - und  $\gamma$ -Gliadine in den Weizenpflanzen ausgeschaltet wurden.

Es zeigte sich, dass die Gesamtmenge von  $\omega$ -Gliadin in den genomeditierten Weizenpflanzen um 75 Prozent und die von  $\gamma$ -Gliadin um 64 Prozent reduziert war. Die Immunreaktivität des Mehls ging um 97 Prozent zurück, wenn spezifische Antikörper gegen besonders problematische Gliadine zur Messung verwendet wurden. Zugleich war die Backqualität sogar besser als jene von unveränderten Weizenpflanzen. Bereits vor einigen Jahren hatten spanische Forschende mit einem ähnlichen Ansatz glutenreduzierten Weizen erzeugt ([POINT 187, 10/2017](#)), allerdings war bei diesen Pflanzen die Backqualität beeinträchtigt.

Die Forschenden glauben nicht, dass Weizen je so verändert werden kann, dass er für schwer überempfindliche Personen geeignet wird. Die neuen Erkenntnisse könnten aber zur Züchtung besser verträglicher Weizensorten für breite Bevölkerungskreise beitragen.

**Quellen:** Zitong Yu et al. 2023, [CRISPR-based editing of the  \$\omega\$ - and  \$\gamma\$ -gliadin gene clusters reduces wheat immunoreactivity without affecting grain protein quality](#), Plant biotechnology Journal (online 17.11.2023, [doi:10.1111/pbi.14231](#)).

Der POINT Newsletter «Aktuelle Biotechnologie» erscheint monatlich in elektronischer Form. Er fasst aktuelle Meldungen aus Forschung und Anwendung rund um die Biotechnologie zusammen. Für ein Abonnement einfach [hier klicken](#) oder ein E-Mail an die Redaktion senden. Frühere Ausgaben stehen im [Online-Archiv](#) zur Verfügung.

**Text und Redaktion:** Jan Lucht, Leiter Biotechnologie ([jan.lucht@scienceindustries.ch](mailto:jan.lucht@scienceindustries.ch))

scienceindustries  
Wirtschaftsverband Chemie Pharma Life  
Sciences

[info@scienceindustries.ch](mailto:info@scienceindustries.ch)  
[scienceindustries.ch](http://scienceindustries.ch)

Folgen Sie uns



Nordstrasse 15 - Postfach  
CH-8021 Zürich

Tel. + 41 44 368 17 11