



POINT NEWSLETTER NR. 262 – APRIL 2024

Aktuelle Biotechnologie

INHALT

Biofortifikation

Vitamin B1-Anreicherung in Reiskörnern durch Gen aus Sesam 2

Medizin

Innovatives CRISPR-Werkzeug gegen RNA-Viren 3

Biobasierte Materialien

Kombucha-Bakterien produzieren selbstbräunende Leder-Alternative 4

Neue Züchtungsverfahren

Genomeditierter Raps mit Welke-Resistenz 5



Vitamin-B1-angereicherte Reispflanzen und Kontrollpflanzen (Fitzpatrick et al. 2024)

BIOFORTIFIKATION

Vitamin B1-Anreicherung in Reiskörnern durch Gen aus Sesam

Reis ist das wohlschmeckende Grundnahrungsmittel für mehr als die Hälfte der Weltbevölkerung. Durch seinen hohen Kohlenhydratgehalt ist er sättigend und ein guter Kalorien-Lieferant. Allerdings enthält er nur geringe Mengen wichtiger Mikronährstoffe wie Eisen und Zink sowie von Vitamin A und B1 (Thiamin). Weil Vollkornreis durch den Fettgehalt in der Samenhülle in warmen Regionen schnell ranzig wird, wird er in der Regel bis auf das stärke-reiche Innere des Korns, das Endosperm, geschliffen und poliert. Dabei gehen allerdings Mikronährstoffe und Vitamine verloren – bei Thiamin bis zu 90 Prozent.

Wird polierter Reis als Teil einer abwechslungsreichen Diät mit Gemüse und Früchten verzehrt, wird dieser Mangel kompensiert. Ist polierter Reis allerdings das Hauptnahrungsmittel, was in weniger wohlhabenden Bevölkerungsgruppen in vielen asiatischen Ländern der Fall ist, können Vitamin-Mangelkrankungen auftreten. So ist der Mangel an Vitamin B1, das für die Funktion von Nerven und Herz-Kreislaufsystem erforderlich ist, zum Beispiel in Kambodscha weit verbreitet. Er betrifft dort zwischen 27 und 100 Prozent der Frauen und Kinder und ist für knapp die Hälfte aller Todesfälle bei Kindern unter fünf Jahren verantwortlich. Durch klassische Züchtung kann der Thiamingehalt von Reis kaum signifikant gesteigert werden, da diese Eigenschaft in natürlich vorkommenden Zuchtsorten nicht vorhanden ist.

Forschenden von der Universität Genf um Teresa B. Fitzpatrick ist es jetzt zusammen mit Wilhelm Gruissem von der ETH Zürich und Kollegen aus Taiwan erstmals gelungen, durch eine genetische Veränderung den Vitamin B1-Gehalt im Endosperm von

Reiskörnern deutlich anzuheben. Sie verwendeten dazu eine Fallen-Strategie, um das in den Pflanzen vorhandene Thiamin im Endosperm zurückzuhalten und sogar anzureichern. Als Köder setzten sie das Thiamin-Bindeprotein TBP aus Sesampflanzen (*Sesamum indicum*) ein. Die Produktion des Proteins in transgenen Reispflanzen wurde vom *Glutelin D-1* Promotor gesteuert, der spezifisch eine Genablesung im Endosperm vermittelt. Wie erhofft, führte dies tatsächlich zu einer Anreicherung von Thiamin im Inneren der Körner.

Um die genetische Stabilität sowie die agronomischen Eigenschaften der vitaminangereicherten Reispflanzen über einen längeren Zeitraum zu prüfen, wurden in Taiwan mehrjährige Versuche im Freiland durchgeführt. Das Wachstum der Pflanzen und ihr Ertrag wurden durch die gentechnische Veränderung nicht beeinträchtigt. Der Gesamtgehalt von Thiamin in den Pflanzen und im intakten Korn war unverändert im Vergleich zur Ausgangssorte. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich jedoch bei dem Vitamin B1-Gehalt der verarbeiteten und polierten Körner: Durch eine Verschiebung der Verteilung im Korn war dieser etwa drei- bis vierfach erhöht. Eine Schale dieser biofortifizierten Reiskörner würde ausreichen, um ein Drittel des Thiamin-Tagesbedarfs eines Erwachsenen abzudecken. Als nächster Züchtungsschritt sollen von Landwirten und Konsumierenden bevorzugte Elite-Reissorten biotechnologisch mit Thiamin angereichert werden.

Quellen: Teresa B. Fitzpatrick et al. 2024, [Vitamin B1 enhancement in the endosperm of rice through thiamine sequestration](#). Plant Biotechnology Journal (online 27.03.2024) Biofortified rice to combat deficiencies, Université de Genève press release, 11.04.2024; [Mit GV-Reis gegen Vitamin-B1-Mangel](#), Schweizer Bauer / sda, 12.04.2024.

Innovatives CRISPR-Werkzeug gegen RNA-Viren

Grippe, Covid-19, Dengue-Fieber und AIDS sind nur einige Beispiele: Viele ernste menschliche Erkrankungen werden durch Viren ausgelöst, die RNA als Erbmaterial haben. Dies im Gegensatz zu höheren Organismen, deren Genom aus DNA besteht. Manche Mikroorganismen besitzen einen natürlichen Abwehrmechanismus gegen RNA-Viren: das CRISPR/Cas13 System. Dieses besteht aus der Ribonuklease Cas13, welche RNA spalten kann, und einem kurzen RNA-Fragment (gRNA), welches die Schnittposition programmiert. Damit ähnelt das System dem bekannteren CRISPR/Cas9, das gezielt DNA spalten kann und damit zu einem der wichtigsten Werkzeuge der Genomedition wurde. Nach Infektion durch ein RNA-Virus kann das CRISPR/Cas13-System der Mikroorganismen die RNA des angreifenden Virus an spezifischen Positionen erkennen, dort spalten und damit das Virus inaktivieren.

Könnte ein solches Schutzsystem auch in menschlichen Zellen funktionieren und vor Infektion mit RNA-Viren bewahren? Es ist möglich, alle dazu erforderlichen Komponenten – das Protein Cas13 sowie die gRNA, welche die Schnittposition programmiert – in die Zellen einzubringen. Trotzdem ist deren Aktivität gegen von aussen in die Zellen eindringende RNA nur bescheiden, auch wenn diese die Zielsequenz trägt und erkannt werden sollte. Der Grund dafür ist, dass CRISPR/Cas13 vor allem im Zellkern aktiv ist und kaum im Zytoplasma, das ihn umgibt – und gerade dort vermehren sich die meisten RNA-Viren.

Ein Forschungsteam vom Helmholtz Zentrum München sowie der Technischen Universität München um Gregor Ebert, Andreas Pichlmair und Wolfgang Wurst hat den Wirkmechanismus von CRISPR/Cas13 in Säugetierzellen untersucht und beschreibt jetzt einen Trick, wie die Aktivität der Ribonuklease im Zytoplasma deutlich gesteigert werden kann.

Das üblicherweise in tierischen Zellen verwendete Cas13-Protein enthält ein Kernlokalisierungssignal («*Nuclear localization sequence*», NLS), eine kurze Erkennungssequenz von einigen Aminosäuren. Dadurch wird das Protein nach seiner Synthese im Zytosol in den Zellkern transportiert und verbindet sich dort mit der gRNA zum aktiven CRISPR/Cas13-Komplex. Das ist nützlich für beabsichtigte Änderungen an der RNA im Zellkern – aber nicht, wenn eine Aktivität im Zytosol gewünscht wird.

Durch zusätzliches Einfügen eines Kernexportsignals («*Nuclear export sequence*», NES) als molekulare Adressanhänger in das Cas13-Protein gelangt das Eiweiss nach seiner Synthese aufgrund der NLS zunächst in den Zellkern, vereinigt sich dort mit der gRNA zum aktiven Komplex und wird anschliessend durch die NES wieder aus dem Kern in das Zytosol exportiert, wo es aktiv werden kann. Die Forschenden konnten zeigen, dass ihr modifiziertes CRISPR/Cas13-System in Zellkulturen die RNA des viralen Erregers der venezuelanischen Pferdeenzephalitis, die auch den Menschen befällt und als biologischer Kampfstoff getestet wurde, hochwirksam und mit bisher unerreichter Präzision abbaut. Auch die Vermehrung mehrerer SARS-CoV-2-Virenstämme konnte vollständig unterbunden werden.

Die Forschenden betonen in ihrer Medienmitteilung, dass der von ihnen beschriebene technologische Fortschritt ein wichtiger Schritt zur Bekämpfung von Pandemien und zur Stärkung unseres therapeutischen Repertoires gegen künftige Ausbrüche sei sowie Türen für die Präzisionsmedizin und proaktive Virusabwehrstrategien öffne.

Quellen: Christoph Gruber et al. 2024, [Engineered, nucleocytoplasmic shuttling Cas13d enables highly efficient cytosolic RNA targeting](#), Cell Discovery 10:42; [Innovative antivirale Abwehr mit neuem CRISPR-Tool](#), Helmholtz Munich Newsroom, 12.04.2024.



Selbstfärbende bakterielle Zellulose
(Walker et al 2024)

BIOBASIERTE MATERIALIEN

Kombucha-Bakterien produzieren selbstbräunende Leder-Alternative

Auf Nachhaltigkeit bedachte Konsumentinnen und Konsumenten wünschen zunehmend Alternativen zu synthetischen Textilien aus fossilen Rohstoffen. Und nicht nur Veganer verzichten auf tierische Produkte wie Leder. Biobasierte, tierfrei-hergestellte Ersatzprodukte sind zunehmend gefragt. Dabei sind die Qualitätsansprüche an Haltbarkeit, Funktionalität und Optik hoch.

Ein neuartiges Bio-Material, das immer mehr Aufmerksamkeit findet, ist bakterielle Zellulose. Diese besteht ebenso wie pflanzliche Zellulose (z. B. Baumwolle) aus langen Ketten miteinander verknüpfter Glukosemoleküle. Die Nanofasern sind bei bakterieller Zellulose aber feiner und stärker aneinander ausgerichtet. Dadurch ergibt sich ein Material von bemerkenswerter mechanischer Stabilität. Es wird zum Beispiel für Lautsprechermembranen eingesetzt, aber auch für andere Anwendungen wie Wundabdeckungen.

Bestimmte Mikroorganismen synthetisieren bei ihrem Wachstum Schichten von vernetzten Zellulosemolekülen, die aufgrund ihrer Robustheit als Lederersatz verwendet werden können. Dabei können verschiedene organische, zuckerhaltige Abfallstoffe als Nährmedium verwendet werden. Das so erzeugte Bio-Material hat eine beige Farbe. Eine nachträgliche chemische Färbung belastet aufgrund des grossen Wasserverbrauchs und der erforderlichen Chemikalien die Umwelt.

An dieser ökologischen Schwachstelle setzt ein Forschungsteam um Tom Ellis vom Imperial College in London an, das an der Schnittstelle zwischen Biologie und Ingenieurwissenschaften neuartige Materialien entwickelt. Sie verwendeten Kombucha-

Bakterien (*Komagataeibacter rhaeticus*), die von Natur aus bakterielle Zellulose erzeugen können.

Durch den Einbau eines *tyr1*-Tyrosinase-Gens aus *Bacillus megaterium* programmierten sie die Mikroben so um, dass sie den dunklen Farbstoff Melanin erzeugen. Dieser ist auch bei Menschen für braune Haut- und Haarfarbe verantwortlich. Durch geeignete Kulturbedingungen konnten die Forschenden lederähnliche Häute aus bakterieller Zellulose züchten – diese waren allerdings zu ihrer Enttäuschung kaum gefärbt. Sie fanden aber heraus, dass die Bakterien bei ihrem Wachstum das Medium ansäuern und sich unter diesen Bedingungen kein Melanin bilden kann. Wurde die Zellulosehaut in ein neutrales oder alkalisches Medium gebracht, entwickelte sich in wenigen Stunden – je nach Zeitdauer – eine breite Abstufung von Farben, die von sanftem Braun bis zu tiefschwarz reichten. Aus den gefärbten Häuten konnten die Forschenden eine robuste Geldbörse und ein Schuh-Oberteil herstellen. Es gelang ihnen sogar, durch eine lichtempfindliche Steuerung der Genablesung Muster in der Zellulosehaut zu erzeugen.

Durch technologische Verfeinerungen könnten komplexe Muster und andere Farben wie Indigo erzeugt sowie die Effizienz der Produktion gesteigert werden. Auf diese Weise könnten eines Tages attraktiv gefärbte fossil- und tierfreie nachhaltige Lederalternativen auch im grossen Massstab hergestellt werden.

Quellen: Kenneth T. Walker. et al. 2024, [Self-pigmenting textiles grown from cellulose-producing bacteria with engineered tyrosinase expression](#). Nature Biotechnology (online 02.04.2024; [Bacteria is the new black: Scientists create microbes that make self-dyeing textiles](#), Science News, 09.04.2024.

Genomeditierter Raps mit Welke-Resistenz

Die Rapswelke (*Verticillium*) ist eine tückische Pflanzenkrankheit. Der Erreger, der Pilz *Verticillium longisporum*, kann bereits im Herbst in die Wurzeln von Raps eindringen. Er durchwuchert die Pflanze zunächst von Innen, bleibt aber in den Leitbahnen verborgen. Während der Reifephase der Rapsschoten breitet er sich aus, befällt verschiedene Pflanzenteile und bildet dort Mikrosklerotien als Dauerstrukturen. Diese dienen der Vermehrung und können jahrelang im Boden überdauern. Der Befall schwächt die Pflanzen so stark, dass erhebliche Ernteeinbussen von bis zu 50 Prozent drohen. Ein direktes Gegenmittel gegen die Krankheit gibt es nicht. Die beste Vorbeugung ist eine sorgfältige Fruchtfolge sowie der Einsatz von wenig anfälligen Rapsorten. Die klassische Züchtung solcher Sorten ist allerdings sehr zeitaufwendig.

Ein Forschungsteam unter Leitung von Daguang Cai und Dirk Schenke von der Universität Kiel (D) hat jetzt zusammen mit Kollegen aus Ägypten und China eine Achillesferse des Erregers gefunden und mit Hilfe der Genomeditierung innerhalb kurzer Zeit Rapspflanzen mit deutlich besserer Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz entwickelt. Um ein mögliches Ziel zu identifizieren, analysierten die Forschenden die Aktivität zahlreicher Pflanzengene nach der Infektion, da der Pilz den Stoffwechsel der Pflanze zu seinem eigenen Vorteil instrumentalisiert. Dabei stiessen sie auf das

Rapsgen *BnHva22c*, das durch Pilzbefall aktiviert wird. Ein sehr ähnliches Gen ist in Gerste an der Reaktion auf diverse Stressfaktoren beteiligt und könnte daher auch in Raps an der Empfänglichkeit für Rapswelke-Infektionen beteiligt sein.

Tatsächlich stellte sich heraus, dass sich der Pilz in Pflanzen, in denen alle vier vorhandenen Kopien des *BnHva22c*-Gens durch Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 ausgeschaltet wurden, nur noch viel langsamer vermehren konnte. Die sichtbaren Krankheitssymptome, wie z. B. kümmerlicher Wuchs, verschwanden.

BnHva22c ist daher als Suszeptibilitätsgen an der Empfindlichkeit der Pflanzen gegen die Rapswelke beteiligt und damit ein interessantes Ziel für die Entwicklung krankheitsresistenterer Sorten. Die Inaktivierung des Gens könnte entweder durch die völlig ungerichtete, aber nicht gesetzlich eingeschränkte chemische Mutagenese des Erbguts erfolgen, oder mit Hilfe der präzisen und schnelleren Genomeditierung mit viel weniger Nebenwirkungen. Dieses Verfahren ist allerdings in Europa derzeit noch so streng reguliert, dass es in der Pflanzenzüchtung noch kaum zum Einsatz kommt – im Gegensatz zu anderen Weltregionen.

Quelle: Wanzhi Ye et al. 2024, [Knock-out of BnHva22c reduces the susceptibility of Brassica napus to infection with the fungal pathogen *Verticillium longisporum*](#), The Crop Journal (online 04.04.2024).

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)

scienceindustries
Wirtschaftsverband Chemie Pharma Life
Sciences

info@scienceindustries.ch
scienceindustries.ch

Folgen Sie uns



Nordstrasse 15 - Postfach
CH-8021 Zürich

Tel. + 41 44 368 17 11