



POINT NEWSLETTER NR. 223 – JANUAR 2021

## Aktuelle Biotechnologie

### INHALT

#### **Gentherapie**

Vielversprechender «Base Editing»- Ansatz gegen kindliche  
Vergreisung 2

---

#### **CRISPR-SpRY**

Verbessertes Werkzeug für die Genom- Editierung bei Pflanzen 3

---

#### **Gesundheit**

CRISPR/Cas9 ermöglicht Entwicklung eines Impfstoffs gegen  
Toxoplasmose 4

---

#### **Pflanzenschutz**

Bt-Baumwolle unterstützt Ausrottung eines verheerenden  
Schädlings in den USA 5

---

#### **Züchtung**

Kassette mit fünf Resistenzgenen schützt Weizen vor Schwarzrost 6

---

# Vielversprechender «Base Editing»-Ansatz gegen kindliche Vergreisung

Spontan auftretende Veränderungen im menschlichen Erbgut können verschiedene, zum Teil schwere Erkrankungen auslösen. Der Austausch eines einzelnen, spezifischen Buchstabens im *LMNA*-Gen, das eine Rolle für die Struktur des Zellkerns spielt, führt zum Hutchinson-Gilford-Progerie-Syndrom. Betroffene Kinder altern etwa fünfmal schneller als normal, vergreisen bald, und sterben bereits mit durchschnittlich 14 Jahren an Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Eine Behandlung dagegen existiert bisher nicht. Die Krankheit ist ausserordentlich selten, nur etwa 400 Patienten sind weltweit davon betroffen.

Die auslösende Punktmutation im *LMNA* Gen ist genau bekannt. Ein Forscherteam von Harvard und der Vanderbilt Universität unter Leitung von David Liu haben jetzt neueste Entwicklungen im Werkzeugkasten für die Genomeditierung genutzt, um diese Mutation direkt im Körper zu korrigieren. Sie verwendeten eine Variante des CRISPR/Cas9 Systems, welche ganz spezifische Positionen im Erbgut findet, diese aber nicht schneidet, sondern nur einen gezielten Buchstaben austauscht («Base Editing»). Das genetische Programm für diese Korrektur wurde mit Hilfe eines Lentivirus in die Zellen eingeführt.

In isolierten Körperzellen von Kindern, die von Progerie betroffen sind, konnte die Funktion des Ansatzes bestätigt werden: tatsächlich wurde der Erbgut-Fehler in einem grossen Teil der Zellen korrigiert, unerwartete Veränderungen traten dabei nur sehr selten auf. Um zu prüfen, ob der Ansatz auch im Körper funktioniert, führten die Forscher Versuche mit Mäusen durch, welche ebenfalls die krankheitsauslösende Mutation trugen. Sie injizierten das Virus mit der Korrektur-Maschinerie in junge Tiere. Die Resultate übertrafen ihre Erwartungen bei weitem: nach der Behandlung verbesserten sich Vitalität und Gesundheitszustand der Tiere dramatisch. Ihre durchschnittliche Lebenserwartung verlängerte

sich 2.4-mal und erreichte damit fast das Normalalter gesunder Mäuse.

Forscher-Kollegen beschrieben diese Resultate als «unglaublich» und «jenseits der kühnsten Erwartungen», und hoffen auf eine rasche Weiterentwicklung des Verfahrens, damit es in wenigen Jahren auch in Menschen eingesetzt werden kann.

Die Studien-Autoren möchten jetzt die Effizienz und Präzision ihres Ansatzes weiter verbessern, um die Möglichkeit denkbarer Nebenwirkungen soweit wie möglich zu reduzieren. Hier stellt sich die schwierige Frage nach der Abwägung zwischen einer möglichst raschen, unmittelbaren Linderung des Leids der Betroffenen und den sorgfältigen, aber langwierigen Abklärungen, um mögliche unerwünschte Nebenwirkungen zu minimieren.

Die Ärztin Leslie Gordon, eine der Mitautoren der Studie, hat ihren eigenen Sohn durch die Progerie-Erkrankung verloren. Als Mitbegründerin der *Progeria Research Foundation* setzt sie sich energisch dafür ein, die Planung erster klinischer Studien voranzutreiben, um das grosse Potential des neuen Gentherapie-Ansatzes möglichst bald für betroffene Kinder zu nutzen.

Bei dem hier vorgestellten Gentherapie-Ansatz werden Körperzellen behandelt («somatische Gentherapie»). Die neuen Technologien ermöglichen im Grundsatz auch Veränderungen der Keimbahn, die an die Nachkommen weitergegeben werden. Das ist in vielen Ländern verboten, Experten drängen hier auf ein langsames Vorgehen.

**Quellen:** [‘Incredible’ gene-editing result in mice inspires plans to treat premature-aging syndrome in children](#), Science News, 06.01.2021; Luke W. Koblan et al. 2021, [In vivo base editing rescues Hutchinson–Gilford progeria syndrome in mice](#), Nature (online 06.06.2021, [doi:10.1038/s41586-020-03086-7](#)); National Academy of Medicine, National Academy of Sciences, and the Royal Society 2020, [Heritable Human Genome Editing](#). Washington, DC: The National Academies Press.



CRISPR-SPRY

## Verbessertes Werkzeug für die Genom-Editierung bei Pflanzen

Mit Hilfe des CRISPR/Cas9-Verfahrens lassen sich an fast beliebigen Positionen im Genom von Lebewesen Modifikationen einführen. Allerdings nur fast: damit das Cas9-Eiweiß überhaupt an das Erbmateriale DNA binden kann, um dann an der programmierten Position einen Schnitt oder eine andere gewünschte Veränderung einzuführen, benötigt es eine kurze Abfolge von Buchstaben des Gen-Codes, z. B. «GG». Diese kurze Sequenz unterscheidet sich je nach Cas-Variante, und wird als PAM («Protospacer Adjacent Motif») bezeichnet. Diese PAMs treten häufig, überall im Erbgut verteilt auf, oft auch in der Nähe einer Position, die gezielt verändert werden soll – aber eben nicht immer. Ohne PAM kann das klassische Cas9-Protein nicht aktiv werden. Das ist vor allem dann ein Problem, wenn Veränderungen an einer ganz bestimmten Position erfolgen sollen.

Im April 2020 beschrieben Forscher aus den USA die Anwendung eines neu entwickelten CRISPR-SpRY Systems in menschlichen Zellkulturen, das weitgehend unabhängig von PAMs an DNA binden kann. Jetzt berichten zwei chinesische Forschungsteams über die Anpassung des Systems für die Genomeditierung in Pflanzen.

Sie konnten zeigen, dass mit CRISPR-SpRY gezielte Schnitte und Buchstaben-Austausche («Base Editing») sowohl bei Reis als auch in einer Lärchenart an praktisch beliebigen Positionen möglich werden. Dies ermöglichte zum Beispiel, in einem bestimmten Reisgen (*ALS*) eine Reihe von Veränderungen einzuführen, deren Auswirkungen zu prüfen, und so eine neue zuvor unbekannte Variante von Herbizidtoleranz zu erzeugen – einen Vorgang, den die Autoren als «gerichtete Evolution» bezeichnen.

Das jetzt verfügbare CRISPR-SpRY System erweitert den Werkzeugkasten der neuen Pflanzenzüchtungs-Verfahren weiter, umgeht bisherige Einschränkungen, und ermöglicht damit eine präzisere Anpassung der genetischen Eigenschaften von Nutzpflanzen. Damit können Pflanzen noch schneller an neue Anforderungen, wie den Klimawandel oder neue Krankheiten angepasst werden.

**Quellen:** Logan T. Hille & Benjamin P. Kleinstiver 2021, [Plant genome editing branches out](#), Nature Plants 7:4–5; Qiurong Ren et al. 2021, [PAM-less plant genome editing using a CRISPR–SpRY toolbox](#), Nature Plants 7:25–33; Ziyang Xu et al. 2021, [SpRY greatly expands the genome editing scope in rice with highly flexible PAM recognition](#), Genome Biol 22:6 (2021); Russell T. Walton et al. 2020, [Unconstrained genome targeting with near-PAMless engineered CRISPR–Cas9 variants](#), Science 368:290–296.

# CRISPR/Cas9 ermöglicht Entwicklung eines Impfstoffs gegen Toxoplasmose

Der mikroskopisch kleine Parasit *Toxoplasma gondii* ist weltweit verbreitet. Er kann alle warmblütigen Tiere befallen. Es wird geschätzt, dass auch etwa 30 % aller Menschen damit infiziert sind. In der Regel verursacht eine Infektion keine Symptome, und wird daher gar nicht bemerkt. Problematisch ist allerdings, wenn eine Erstinfektion während der Schwangerschaft auftritt. Dies kann zu Schäden am ungeborenen Kind oder gar einer Fehlgeburt führen. Aber auch immungeschwächte Personen können ernsthaft erkranken. Es wird daher für diese Personengruppen dringend empfohlen, eine Toxoplasmose-Infektion zu vermeiden.

Der Erreger befällt zwar viele verschiedene Wirte, kann aber ausschliesslich im Darm von Katzen seine infektiösen Eier (Oozysten) bilden. Auf den Menschen kann er durch den Verzehr von rohem Fleisch von infizierten Schweinen, Ziegen oder Schafen übertragen werden, durch Berührung mit Katzenkot z. B. bei der Gartenarbeit, oder durch direkten Kontakt mit erkrankten Katzen. Nach der ersten Ansteckung scheiden Katzen einige Wochen lang grosse Mengen an Oozysten aus und verbreiten so die Krankheitserreger in der Umwelt, so auch auf Weiden für Nutztiere. Danach sind die Katzen lebenslang immun. Könnte man die Produktion der Oozysten in den Katzen verhindern, wäre es möglich den Infektionszyklus zu unterbrechen und sowohl Tiere als auch Menschen vor einer Toxoplasmose-Ansteckung zu schützen.

Ein Forscherteam um die Professoren Peter Deplazes und Adrian Hehl vom Institut für Parasitologie der Universität Zürich konnte zusammen mit Kollegen aus Australien und den USA 2019 zeigen, dass sich *Toxoplasma gondii*-Parasiten durch eine genetische Veränderung so entwapfen lassen, dass sie keine funktionierenden Oozysten mehr produzieren können. Dazu entfernten ein Gen (HAP2), das bei der Oozysten-Entwicklung beteiligt ist, mit Hilfe

des CRISPR/Cas9-Systems aus dem Erbgut der Parasiten.

Nach Ansteckung von Katzen mit den fortpflanzungsblockierten hap2-Knockout-Mutanten von *Toxoplasma gondii* vermehrten sich diese zunächst, bildeten aber keine infektiösen Oozysten. Danach waren die Katzen immun gegen eine neue Ansteckung mit der natürlichen, infektiösen Toxoplasma-Variante. Die genetisch entwapfneten Erreger wirken daher als Lebend-Impfstoff, und können den Vermehrungszyklus der Parasiten durchbrechen.

Rahel Winiger und Adrian Hehl haben jetzt eine entscheidende Verbesserung ihres Ansatzes veröffentlicht. Durch Übertragung eines im Reagenzglas vorgefertigten Komplexes aus Cas9-Protein und der zur Programmierung erforderlichen gRNA können sie für die Infektiosität erforderliche Parasiten-Gene ausschneiden, ohne sonstige Spuren im Toxoplasma-Erbgut zu hinterlassen. Derartige Veränderungen könnten auch spontan in der Natur entstehen, sind dort aber schwer zu finden.

Die so entwickelten naturidentischen Toxoplasma-Varianten haben im Moment aber keine Chance, als Katzen-Impfstoff gegen die Ausbreitung der Toxoplasmose Anwendung zu finden. Der Schweizer Bundesrat hat alle genomeditierten Organismen, auch naturidentische, aufgrund der veralteten Gesetze als «gentechnisch veränderte Organismen» (GVO) eingestuft. Für deren Verwendungen gelten sehr restriktive Regeln, welche einen Einsatz als Lebend-Impfstoff praktisch unmöglich machen.

**Quellen:** [Gentechnik ohne unerwünschte Nebeneffekte hilft bei Parasiten-Bekämpfung](#), Medienmitteilung Universität Zürich, 23.12.2020; Chandra Ramakrishnan et al. 2019, [An experimental genetically attenuated live vaccine to prevent transmission of Toxoplasma gondii by cats](#), Sci. Rep. 9:1474; Adrian B. Hehl & Rahel R. Winiger 2020, [A streamlined CRISPR/Cas9 approach for fast genome editing in Toxoplasma gondii and Besnoitia besnoiti](#), J. Biol. Methods 7:e140 ([doi: 10.14440/jbm.2020.343](#)).



Ausgewachsener Roter Baumwollkapselwurm (Photo: USDA-ARS)

## PFLANZENSCHUTZ

# Bt-Baumwolle unterstützt Ausrottung eines verheerenden Schädling in den USA

Hundert Jahre lang verursachte der gefürchtete Rote Baumwollkapselwurm, die Larve einer Mottenart, riesige Schäden an Baumwollkulturen in den USA. Im Oktober 2018 konnte der damalige US-Landwirtschaftsminister Sonny Perdue stolz die Ausrottung des Schädling verkünden. Dazu haben der Anbau transgener, insektenresistenter Baumwollsorten und die massenhafte Freisetzung steriler Insekten entscheidend beigetragen.

Seit 1996 standen den US Landwirten Bt-Baumwollsorten zur Verfügung, welche ein insektizides Eiweiss produzieren und so zuverlässig gegen Frass-Schäden durch den Kapselwurm geschützt sind. Die Sorten eroberten sich einen rasch zunehmenden Anteil der Anbaufläche. Bereits zehn Jahre später wurden sie auf über der Hälfte der Gesamtfläche gepflanzt. Die Schädling-Population brach um 90 % ein. Um die Entwicklung resistenter Schädlinge zu bremsen, waren die Farmer allerdings verpflichtet, einen Teil der Felder mit herkömmlichen, anfälligen Sorten als Refugium zu bestellen.

Seit 2006 kam daher eine weitere Bekämpfungsmassnahme zum Einsatz: die massenhafte Ausbringung durch Bestrahlung sterilisierter Motten mittels Flugzeugen, welche die Fortpflanzung der Schädlinge auf dem Feld unterbrachen. Diese

zusätzliche Strategie erlaubte es, auf die vorgeschriebenen Refugienflächen zu verzichten. Der Flächenanteil der Bt-Baumwolle konnte so weiter erhöht werden. Innerhalb nur weniger Jahre ging der Befall der Pflanzen um das tausendfache zurück. Ab 2018 konnten keine Baumwoll-Kapselwürmer mehr gefunden werden, der Schädling wurde als ausgerottet erklärt.

Eine detaillierte Analyse durch Insektenkundler um Bruce Tabashnik von der Universität Arizona zeigt jetzt, dass nur die Kombination der insektenresistenten Bt-Sorten mit der Freisetzung der sterilen Schädlinge diesen Erfolg ermöglichte, jede Massnahme für sich hätte dazu nicht ausgereicht.

Durch die Ausrottung des Roten Baumwollkapselwurms in den USA, auch mit Hilfe der transgenen Baumwollsorten, werden jährlich Millionenschäden für die Farmer verhindert, der Insektizideinsatz im Baumwollanbau konnte um über 80 % reduziert werden.

**Quellen:** [Proclamation: Eradication of Pink Bollworm](#), US Department of Agriculture, 19.10.2018; [Biotech Cotton Key to Eliminating Devastating Pest from US and Mexico](#), University of Arizona News, 21.12.2020; Bruce E. Tabashnik et al. 2021, [Transgenic cotton and sterile insect releases synergize eradication of pink bollworm a century after it invaded the United States](#), PNAS 118:e2019115118 (online 05.01.2021, [doi:10.1073/pnas.2019115118](#)).

# Kassette mit fünf Resistenzgenen schützt Weizen vor Schwarzrost

Der durch den Pilz *Puccinia graminis f. sp. tritici* verursachte Getreideschwarzrost bedroht weltweit die Weizenernten. Nachdem die Krankheit längere Zeit durch angepasste Anbauverfahren und resistente Sorten einigermaßen kontrolliert werden konnte, haben in den letzten Jahren virulente Pilzvarianten vielerorts die vorhandenen Resistenzen durchbrochen. Aufgrund der Anpassungsfähigkeit des Pilzes bleibt die Züchtung von Getreidesorten mit dauerhafter Resistenz eine grosse Herausforderung. Durch die klassische Kreuzungszüchtung können vorhandene Resistenzgene zwischen Weizensorten ausgetauscht werden. Das ist aber ein sehr langwieriger Prozess, bei dem jeweils nur einzelne Resistenzigenschaften angepasst werden können.

Ein internationales Forscherteam aus Australien, China, den USA, Dänemark, Frankreich und Grossbritannien berichtet jetzt über einen gentechnischen Ansatz, mit dem fünf bewährte Weizen-Resistenzgene zugleich in eine krankheitsanfällige Weizensorte übertragen wurden. Dabei machten sich die Forscher neue Methoden zum Zusammenbau grosser Einzel-Gene zu einer einzelnen Gen-Kassette zunutze, sowie verbesserte Verfahren zur Übertragung in Weizenpflanzen. Die Genkombination wurde mit Hilfe der *Agrobacterium tumefaciens*-Transformation an einer Position im Erbgut von Weizenzellen eingebaut, aus denen

anschliessend wieder intakte Pflanzen gezogen wurden.

Sowohl in Labor- als auch in Feldversuchen zeigte sich, dass Weizenpflanzen mit der Resistenzgen-Kassette eine hohe Widerstandskraft gegen verschiedene aggressive und hoch ansteckende Schwarzrost-Erreger aufwiesen, und nur sehr geringe oder gar keine Krankheitssymptome zeigten. Auch gegen den verwandten Braunrost waren die Pflanzen teilresistent. Mehrere der übertragenen Gene wirken gegen Infektion mit der gefürchteten *Ug99*-Variante des Schwarzrosts, die sich in Afrika und dem mittleren Osten zunehmend ausbreitet und dort bisher resistente Weizensorten dezimiert.

Die Forscher schlagen ihren Resistenzgen-Kassetten-Ansatz vor, um etablierte Weizensorten einfach und schnell mit mehrfachen Resistenzen auszustatten. Das macht es dem Erreger fast unmöglich, diese zu durchbrechen, da dazu mehrere gleichzeitige genetische Veränderungen notwendig wären. Durch eine geeignete Kombination verschiedener Gene könnte die Entwicklung lokal angepasster, pilzresistenter Weizensorten ermöglicht werden.

**Quelle:** Ming Luo et al. 2021, [A five-transgene cassette confers broad-spectrum resistance to a fungal rust pathogen in wheat](#), Nature Biotechnology (online 04.01.2021, [doi:10.1038/s41587-020-00770-x](#)).

---

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 mail-Abonnement [hier klicken](#) oder e-mail an die Redaktion. 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