



POINT NEWSLETTER NR. 225 – MÄRZ 2021

Aktuelle Biotechnologie

INHALT

Klimawandel

Genomeditierung zur Züchtung klimatoleranter Pflanzen 2

Gentherapie

CRISPR-Anwendung direkt im Auge gegen erbliche Erblindung 3

Önologie

Verbesserung von Weinhefe-Stämmen durch CRISPR/Cas
Genomeditierung 4

Pflanzenzüchtung

Genomeditierung macht die Entwicklung von Nischenprodukten
interessant 5

Lebensmittel-Sicherheit

Weniger Acrylamid in Nahrungsmitteln durch moderne Biotechnologie 6

Genomeditierung zur Züchtung klimatoleranter Pflanzen

Die Klimaerwärmung wirkt sich zunehmend auf die Landwirtschaft aus. Die Temperaturen steigen, Niederschläge werden unberechenbarer, Dürreperioden nehmen zu, und ganze Vegetationsperioden verschieben sich. Weltweit arbeiten Pflanzenzüchter daran, die Nutzpflanzen den veränderten Bedingungen anzupassen. Dabei kommen auch innovative Züchtungsverfahren wie die Genomeditierung zum Einsatz, wie verschiedene Projekte aus der Forschungspipeline zeigen.

Beatriz Xoconostle-Cázares und ihre Kollegen vom mexikanischen nationalen polytechnischen Institut versuchen, den Gehalt des Zuckers Trehalose in Pflanzen zu erhöhen (Nuñez-Muñoz 2021). Einige besonders trockenolerante Pflanzen nutzen Trehalose als Schutzsubstanz. Die Forscher setzten das CRISPR/Cas-System ein, um gezielt Veränderungen in der Aktivität des Trehalase-Enzyms zu bewirken. Dieses ist am Abbau des Zuckers in den Zellen beteiligt. Eine reduzierte Trehalase-Aktivität sollte den Trehalose-Gehalt in den Pflanzen steigern. Genomeditierte Arabidopsis-Modellpflanzen mit gezielten Veränderungen im Gen für Trehalase stellten sich als deutlich trockenoleranter heraus. Sie blieben auch unter Dürrebedingungen länger grün und saftig als die unveränderten Kontrollpflanzen, und zeigten weniger Stress-Symptome. Die Forscher arbeiten aktuell daran, diesen Ansatz auch in Mais zu prüfen.

Viswanathan Chinnusamy vom Agrarforschungsinstitut New Delhi mit seinem Team nutzten Genome Editing, um eine zuvor in *Japonica*-Reissorten identifizierte zufällige Mutation (*dst*), die zu verbesserter Salz- und Dürre-resistenz führte, auch in *Indica*-Reissorten einzuführen (Santosh Kumar 2020). Sie inaktivierten mit einem

gezielten CRISPR/Cas9-Schnitt das entsprechende Gen in *Indica*-Reis, das als Regulator die Ablesung verschiedener anderer Gene steuert. Die Pflanzen wiesen weniger Spaltöffnungen in ihren Blättern auf, und hatten daher einen geringeren Wasserverlust bei Trockenheit. Sowohl gegen Trockenheit als auch gegen Salzstress waren sie unempfindlicher als unveränderte *Indica*-Reispflanzen. Die Resultate können zu einem besseren Verständnis der Dürretoleranz bei Reis und für die Entwicklung entsprechender *Indica*-Reissorten dienen.

Es gibt es verschiedene Ansätze, um Pflanzen klimatoleranter zu machen. Das zeigen aktuelle Übersichtsartikel (Zafar 2020, Massel 2021). Dabei liegt der Fokus nicht ausschliesslich auf Dürretoleranz, sondern auch auf Unempfindlichkeit gegen Hitze, Kälte, Überflutung und hohe Lichtintensität. Auch Krankheitsresistenzen spielen eine Rolle, da Klimawandel oft auch bestimmte Krankheiten begünstigt. Es bleibt allerdings eine Herausforderung, derart komplexe Pflanzeigenschaften wie Trockenoleranz nur durch Genome Editing anzupassen. Auch transgene Pflanzen können hier einen Beitrag leisten, wie die trockenoleranten Soja- und Weizensorten mit dem HB4 Gen aus Sonnenblumen, die in Argentinien zum Anbau zugelassen sind ([POINT 220, Oktober 2020](#)).

Quellen: Leandro Nuñez-Muñoz et al. 2021, [Plant drought tolerance provided through genome editing of the trehalase gene](#), Plant Signaling & Behavior, 16:4; V. V.Santosh Kumar et al. 2020, [CRISPR-Cas9 mediated genome editing of drought and salt tolerance \(OsDST\) gene in indica mega rice cultivar MTU1010](#), Physiol Mol Biol Plants 26:1099–1110; Syed Adeel Zafar et al. 2020, [Engineering abiotic stress tolerance via CRISPR/ Cas-mediated genome editing](#), Journal of Experimental Botany 71:470–479; Karen Massel et al. 2021, [Hotter, drier, CRISPR: the latest edit on climate change](#), Theor Appl Genet (online 08.01.2021, doi:0.1007/s00122-020-03764-0).

CRISPR-Anwendung direkt im Auge gegen erbliche Erblindung

Die Genomeditierung bietet grosse Chancen für die Behandlung von Erbkrankheiten. Durch die Korrektur von angeborenen Erbgut-Fehlern könnten verschiedene, schwere Leiden deutlich verbessert oder gar geheilt werden. Bisher mussten dazu – wie zur Korrektur der Sichelzellen-Mutation ([POINT 224, Februar 2021](#)) – Körperzellen entnommen werden, und nach der genetischen Veränderung im Reagenzglas («*ex vivo*») aufwändig wieder zurück in den Körper transplantiert werden.

Vor einem Jahr, im März 2020, startete der erste klinische Versuch, bei dem das CRISPR-System direkt in den menschlichen Körper eingebracht wird und dort aktiv ist («*in vivo*»). Ziel dabei ist die Korrektur eines Erbgut-Fehlers, der die Zellen in der Netzhaut des Auges betrifft. Die Lebersche kongenitale Amaurose (LCA) betrifft etwa 3 von 100'000 Kindern, beginnt in der frühen Kindheit und bewirkt einen fortschreitenden Verlust der Sehfähigkeit bis zur Erblindung. Eine Behandlung existiert nicht. Bei vielen LCA Patientinnen und Patienten ist eine ganz bestimmte Mutation im *CEP290*-Gen, das an der Entwicklung der Netzhaut beteiligt ist, für die Erkrankung verantwortlich.

In herkömmlichen gentherapeutischen Ansätzen kann versucht werden, eine gesunde Kopie des mutierten Gens in die Körperzellen einzuschleusen, und so den Fehler zu korrigieren. Dafür werden oft Adeno-assoziierte Viren (AAV) als Transportvehikel verwendet. Tatsächlich ist bereits eine derart funktionierende Gentherapie auf dem Markt (Luxturna), durch die eine Variante der LCA-Krankheit behandelt werden kann. Diese beruht allerdings auf dem Defekt eines anderen, kürzeren Gens. Das *CEP290*-Gen ist so lang, dass es die Kapazität der AAV-Vektoren deutlich übersteigt.

Forscher des auf Genome Editing für Gesundheitsanwendungen spezialisierten US-Unternehmens Editas Medicine haben

daher einen neuartigen Ansatz gewählt. Sie schleusen mit Hilfe von AAV-Vektoren das Gen für eine CRISPR-Nuklease sowie zwei Schneide-Adressen (gRNA) in Zellen der Netzhaut ein. Dadurch wird die krankheitsauslösende Mutation aus dem *CEP290*-Gen herausgeschnitten. Dass das wirklich funktioniert, wurde zuvor in ausführlichen Tierversuchen sowie in menschlichen Zellen und Netzhäuten in Kulturschalen gezeigt.

Aufgrund der überzeugenden Daten erhielten die Forscher die Bewilligung der amerikanischen Behörde FDA, klinische Versuche mit dem Präparat EDIT-101 an Menschen zu beginnen. In der ersten Phase ab März 2020 wird das Verfahren bei bis zu 18 Patientinnen und Patienten auf Sicherheit und Wirksamkeit geprüft. Der erste Patient erhielt eine Injektion mit den AAV-Vektoren, welche die programmierte CRISPR-Nuklease tragen, an der Oregon Health & Science University. Die Hoffnung ist, dass mit einer einzigen Injektion der genetische Fehler nachhaltig korrigiert und die Sehfähigkeit langfristig verbessert werden kann.

Kürzlich gab Editas Medicine bekannt, dass die klinischen Versuche in die nächste Phase mit einer höheren Dosierung gehen. Obwohl noch keine Resultate bekannt gegeben wurden, lassen die Vorversuche Hoffnung schöpfen, dass das neue Verfahren für die betroffenen LCA-Patienten die Erhaltung oder Verbesserung der Sehkraft ermöglichen könnte. Noch im Lauf des Jahres 2021 sollen die ersten Resultate der Studie öffentlich vorgestellt werden.

Quellen: [CRISPR treatment inserted directly into the body for first time](#), Nature News, 05.03.2020; [OHSU performs first-ever CRISPR gene editing within human body](#), Oregon Health & Science University, 04.03.2020; Morgan L. Maeder et al. 2019, [Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10](#), Nat. Med. 25:229-233; Go-ahead for first in-body CRISPR medicine testing, Nature Biotechnology News, 14.12.2018; [Editas Medicine Announces Fourth Quarter and Full Year 2020 Results and Update](#), Editas press release, 25.02.2021.



ÖNOLOGIE

Verbesserung von Weinhefe-Stämmen durch CRISPR/Cas Genomeditierung

Der sinnliche Eindruck, den ein Wein hinterlässt, setzt sich aus einer Vielzahl von Komponenten zusammen. Zuerst sehen wir die Farbe - diese kann je nach Traubensorte und Verarbeitung von tiefdunklem, samtigem Rot bis hin zu brillant-strahlendem Gelb reichen. Im Mund erwärmt, steigen unzählige aromatische Moleküle zum Geruchsepithel in der Nase auf. Zugleich reagieren die etwa 10'000 Geschmacksknospen auf der Zunge und im Mund auf Süsse, Säure, Salz, Bitterstoffe und Umami. Andere Wahrnehmungen kommen dazu: Tannine können ein zusammenziehendes Gefühl im Mund auslösen, ein hoher Alkoholgehalt das Gefühl von Wärme, Kohlensäure kann prickelnde Frische vermitteln.

Bei dieser Symphonie von Sinneseindrücken sind hunderte chemischer Substanzen beteiligt, die entweder direkt aus den Trauben stammen oder bei der Vergärung entstehen. Bei der Gärung können sich aber auch unangenehme Geschmacksnoten, Fehl aromen oder gesundheitschädliche Substanzen bilden. Die Eigenschaften der verwendeten Weinhefen haben eine grosse Auswirkung auf die Entstehung von Aroma-Komponenten und anderen Chemikalien. Für die verschiedenen Einsatzbereiche optimierte Hefestämme sind daher ein wichtiges Arbeitsmittel des Önologen.

Die genetischen Eigenschaften von Weinhefe können durch geeignete Selektion von Stämmen, durch ungerichtete Mutagenese des Erbguts und durch gentechnische Veränderungen angepasst werden. Neu im Werkzeugkasten der Hefe-Genetiker sind Verfahren der Genomeditierung, wie das CRISPR/Cas9 Verfahren, welche die

Möglichkeiten erweitern. Alice Vilela von der Universität in Vila Real (PT) gibt in einem aktuellen Review-Artikel einen Überblick.

Ein wichtiges Anliegen bei der Gärung ist es, die Entstehung von Harnstoff zu minimieren, weil dieser zu gesundheitsschädlichem Ethylcarbammat umgesetzt wird. Mit Hilfe von CRISPR/Cas haben Forscher Hefestämme so verändert, dass sie weniger der Vorläufer-Substanz Arginin aufnehmen und zu Harnstoff umwandeln, oder aktiv Harnstoff aus dem gärendem Most herauspumpen – in beiden Fällen sinkt der Harnstoffgehalt im erzeugten Wein.

Durch die Kombination der Eigenschaften verschiedener Hefestämme mittels CRISPR/Cas9 liess sich die natürliche Produktion von 2-Phenylethylacetat steigern. Diese Substanz verleiht dem Wein warme Rosen- und Honignoten. Mit einem ähnlichen Ansatz wurde die Produktion von Glycerin und wohlriechenden Acetatestern gesteigert, während die Entstehung von Essigsäure reduziert wurde. Für das Verständnis des Gärprozesses in Eiswein konnte die wichtige Funktion eines Glycerintransporters durch seine Ausschaltung mittels Genomeditierung nachgewiesen werden.

Die Genomeditierung bei Weinhefe wird global ein immer wichtigeres Werkzeug, um sichereren und wohlschmeckenderen Wein zu bereiten. In Europa gelten derart veränderte Hefen allerdings als GVO, was ihre Anwendung stark einschränkt.

Quelle:, Alice Vilela 2021, [An Overview of CRISPR-Based Technologies in Wine Yeasts to Improve Wine Flavor and Safety](#). Fermentation 7:5

Genomeditierung macht die Entwicklung von Nischenprodukten interessant

Neue Züchtungstechnologien, wie die Genomeditierung mit CRISPR/Cas9, haben einen Innovationsschub ausgelöst. US-amerikanische Agrarökonominnen haben jetzt untersucht, wie sich die neuen Technologien im Vergleich zu herkömmlichen gentechnischen Ansätzen auf die Wirtschaftlichkeit von Züchtungsansätzen auswirken.

Durch Interviews mit Experten und Erhebungen bei Züchtungs-Unternehmen verglichen sie wichtige Parameter für die Entwicklung einer neuen Sorte. Mit klassischer Gentechnik dauert es durchschnittlich 8 Jahre, bei Kosten von ca. 76 Mio. US\$, bis eine neue Sorte auf den Markt gelangt. Genomeditierung ermöglicht es, die Zeitdauer auf etwa 5.5 Jahre zu reduzieren, bei Kosten von ca. 12 Mio. US\$. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Ansätzen ist auch die Erfolgsquote der ersten, frühen Forschungsphase («Discovery»), die bei der herkömmlichen Gentechnik um 5 % liegt, bei der Genomeditierung gegen 25 %.

Neue Züchtungsverfahren erlauben daher eine schnellere, preisgünstigere und mit weniger Risiko behaftete Sortenentwicklung. Wie wirkt sich das wirtschaftlich aus? Die Forscher berechneten, wie gross die Anbaufläche einer neuen Sorte sein muss, damit bei einem angenommenen realistischen Gewinn von 62 US\$ pro Hektare für das Saatgutunternehmen die Kosten für Forschung und Entwicklung wieder hereinkommen. Für eine gentechnisch veränderte Sorte waren dies 25 Mio. ha, für eine genomeditierte Sorte nur 930'000 ha – nur gerade einmal 4 % der Fläche.

In den USA benötigen genomeditierte Nutzpflanzen ohne fremdes Erbgut kein aufwändiges Zulassungsverfahren wie klassische gentechnisch veränderte Pflanzen, was sich positiv auf die Kosten und die Zeitdauer bis zum Markteintritt auswirkt. Aber selbst wenn eine genomeditierte Sorte eine Zulassung benötigen würde, würden immer

noch etwa 7 % der Anbaufläche einer herkömmlichen GVO-Pflanze ausreichen, um die Investitionen wieder hereinzuholen.

Das für genomeditierte Sorten viel kleinere potentielle Anbauflächen genügen, damit sich ihre Entwicklung für Unternehmen lohnt, hat interessante Auswirkungen. Die Züchtung von spezialisierten Sorten für bestimmte Marktsegmente, wie zum Beispiel allergenreduzierte oder an bestimmte Anbau-Bedingungen angepasste Pflanzen, wird wirtschaftlich auch für überschaubare Anbauflächen attraktiv. Dadurch erhalten auch kleine Züchtungsunternehmen eine Chance, sich am Markt zu etablieren.

Diese Folgerung der Agrarökonominnen scheint sich bereits in der Praxis zu bestätigen. Eine kürzlich im Auftrag des BAFU verfasste Zusammenstellung von 63 genomeditierten Nutzpflanzen, die bereits zum Anbau zugelassen sind oder kurz davorstehen, zeigt mit 18 verschiedene Pflanzenarten eine grosse Bandbreite. Neben grossen Ackerkulturen wie Soja, Mais und Raps finden sich dabei auch viele Spezialkulturen wie Erdbeeren, Hanf, Salat, Senf, Erdnüsse und Avocado. Verbesserungen der Produktqualität (Ölzusammensetzung, Geschmack, Haltbarkeit, Ballaststoffgehalt) sind die häufigsten Züchtungsziele, gefolgt von verbesserten agronomischen Eigenschaften (Ertrag, Klima- und Stresstoleranz, Herbizidtoleranz) sowie Krankheits- und Schädlingsresistenz. Mindestens 15 verschiedene Züchtungsunternehmen sind daran beteiligt, zu einem grossen Teil junge und dynamische Biotechnologie-Unternehmen. Bekannte marktbeherrschende Saatgutunternehmen fehlen dagegen weitgehend auf der Liste.

Quellen: [David W. Bullock et al. 2021, Gene Editing Versus Genetic Modification in the Research and Development of New Crop Traits: An Economic Comparison](#), American Journal of Agricultural Economics (online 16.02.2021, [doi:10.1111/ajae.12201](#)); Eva Gelinsky 2020, [Neue gentechnische Verfahren: Kommerzialisierungspipeline im Bereich Pflanzenzüchtung und Lizenzvereinbarungen](#), Studie im Auftrag des BAFU.

Weniger Acrylamid in Nahrungsmitteln durch moderne Biotechnologie

Die Aminosäure Asparagin ist ein unverzichtbarer Baustein für Proteine im Körper aller Lebewesen, und kommt auch in unserer Nahrung vor. Dort kann es allerdings Probleme machen: bei hohen Temperaturen, wie beim Backen oder Rösten, kann es mit bestimmten Zuckerarten chemisch reagieren. Dabei bildet sich das gesundheitsschädliche Acrylamid – umso mehr, je stärker das Lebensmittel beim Erhitzen gebräunt wird. Acrylamid steht im Verdacht, in hohen Mengen Krebs auslösen. Seit der Entdeckung von Acrylamid als unerwünschtes, gesundheitsschädliches Nebenprodukt in Lebensmitteln im Jahr 2002 kontrolliert die Lebensmittel-Industrie sorgfältig ihre Produkte auf den Acrylamid-Gehalt, und hat die Produktionsprozesse angepasst (z. B. durch tiefere Backtemperaturen). Allerdings besteht der Wunsch, den Acrylamid-Gehalt in Lebensmitteln weiter zu reduzieren.

Weizenmehl enthält zwar Asparagin, aber beim normalen Backvorgang bildet sich in Brot nur wenig Acrylamid. Anders sieht es dann beim Toasten aus: Die Röstreaktion, die zur appetitlichen Bräunung führt, fördert gleichzeitig die Entstehung von Acrylamid. Ein britisches Forscherteam von Rothamsted Research hat jetzt mittels Genome Editing Weizen so verändert, dass die Körner und das Mehl wesentlich weniger freies Asparagin enthalten. Sie schalteten von den mehreren Asparagin-Synthetase Genen im Weizenerbgut durch einen

gezielten Schnitt das *TaASN2*-Gen aus, das hauptsächlich für die Produktion von Asparagin in den Körnern verantwortlich ist. Dazu verwendeten sie das CRISPR/Cas9-System. Auf diese Weise erhielten sie Pflanzen mit einem bis zu 90 % reduzierten Asparagingehalt in den Körnern, aber unverändertem Aussehen. Bereits für dieses Jahr sind Freilandversuche in Grossbritannien vorgesehen, um die Eignung der Pflanzen zur Produktion von Asparagin-reduziertem Mehl zu prüfen.

Schon länger wird in der Backwaren-Industrie ein anderer biotechnologischer Ansatz verfolgt, um Acrylamid, zum Beispiel in Guetzi, zu reduzieren. Vor dem Backen können dem Teig Spuren des Enzyms Asparaginase zugegeben werden, welches freies Asparagin abbaut und so die Acrylamid-Entstehung bremst. Das Enzym wird dabei in der Regel aus für die Produktion optimierten *Aspergillus*-Pilzstämmen gewonnen, die in geschlossenen Fermentern gezüchtet werden. Entsprechende Präparate sind seit über 10 Jahren auf dem Markt.

Quellen: Sarah Raffan et al. 2021, [Wheat with greatly reduced accumulation of free asparagine in the grain, produced by CRISPR/Cas9 editing of asparagine synthetase gene *TaASN2*](#), Plant Biotechnology Journal (online 26.02.2021, doi: 10.1111/pbi.13573); [Genome edited wheat to reduce cancer risk from bread and toast](#); Rothamsted Research News, 01.03.2021; Naveed Munir et al. 2019, [L-Asparaginase potential in acrylamide mitigation from foodstuff: a mini-review](#). Progr. Nutr. 21(3):498-506; [Asparaginase](#), Informations-Seite auf transgen.de

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)

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