



POINT NEWSLETTER NR. 229 – JULI 2021

## Aktuelle Biotechnologie

### INHALT

#### **Biofortifikation**

Vitaminangereicherter «Golden Rice» bald auf den Feldern in den Philippinen 2

---

#### **CRISPR/Cas9**

Erste klinische Daten zur «*in vivo*» Genomeditierung in Patienten 3

---

#### **Innovative Züchtungsverfahren**

Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 für Phytophthora-resistente Kartoffeln 4

---

#### **Lebensmittel-Farbstoffe**

Alle Farben des Regenbogens aus modifizierten Bakterien 5

---

#### **Pharming**

Temperaturstabiler oraler Cholera-Impfstoff aus Reiskörnern 6

---



Golden Rice

(Photo: International Rice Research Institute)

## BIOFORTIFIKATION

# Vitaminangereicherter «Golden Rice» bald auf den Feldern in den Philippinen

Mehr als zwei Jahrzehnte nachdem der «Golden Rice» erstmals in einer Fachzeitschrift beschrieben wurde kommt er jetzt in den Philippinen endlich auf die Felder. Er hat eine lange Odyssee hinter sich.

Die Reissorte hatte den Namen aufgrund ihrer goldfarbenen Körner erhalten. Diese enthalten erhöhte Mengen von Provitamin A. Damit soll die Versorgung der Bevölkerung in Entwicklungsländern mit Mikronährstoffen verbessert werden. Der verbreitete Vitamin A-Mangel betrifft gemäss Weltgesundheitsorganisation WHO etwa 190 Millionen Kinder im Vorschulalter, und führt zu schweren Gesundheitsschäden. Jedes Jahr erblinden bis zu 500'000 Kinder, etwa die Hälfte von ihnen stirbt danach.

Ein Forscherteam unter Leitung von Ingo Potrykus von der ETH Zürich und Peter Beyer von der Universität Freiburg im Breisgau veröffentlichte 2000 die bahnbrechende erste Studie, in der ein gentechnischer Ansatz beschrieben wurde, um mit Hilfe von Stoffwechselgenen aus anderen Organismen Provitamin A in den Körnern von Reis anzureichern. Seither wurde der «Golden Rice» stetig weiterentwickelt. [2005](#) wurde mit Unterstützung der Saatgut-Industrie eine verbesserte Version mit deutlich höherem Provitamin A-Gehalt erzeugt. Auch stellte die Industrie Patente für die verwendeten Technologien zur Verfügung, und ermöglichte eine Nutzung der Reissorten durch Kleinbauern ohne Lizenzzahlungen. [2009](#) wurde gezeigt, dass «Golden Rice» eine gute Vitamin A-Quelle für die menschliche Ernährung darstellt.

Die Weiterentwicklung und Einkreuzung in lokale Reissorten fand dann vor allem am International Rice Research Institute (IRRI) auf den Philippinen statt. Von Anfang an war das Projekt erbittert von Umweltorganisationen bekämpft worden, die grosse Gefahren für die Gesundheit und die Natur behaupteten. [2013](#) zerstören Anti-Gentech-Vandalen Versuchsfelder auf den Philippinen, und sorgten auch sonst für Verzögerungen. Trotzdem wurde das Zulassungsverfahren weiter vorangetrieben. In Australien, Neuseeland, Kanada, den USA und den Philippinen erhielt «Golden Rice» die Lebensmittel-Zulassung. Im [April 2021](#) schliesslich wurden Resultate aus umfangreichen Feldversuchen auf den Philippinen und in Bangladesch vorgelegt. Im Juli 2021 erteilten die Behörden auf den Philippinen die definitive Anbaugenehmigung, damit der «Golden Rice» nach seiner Sortenzulassung einen Beitrag zur Vitaminversorgung der Bevölkerung leisten kann.

Kurz davor hatte der europäische Dachverband EuropaBio das «Golden Rice»-Projekt in seinen «25 Years of Innovation Showcase» aufgenommen, in dem die wichtigsten Durchbrüche der Biotechnologie aus Europa gefeiert werden.

**Quellen:** [Philippines becomes first country to approve nutrient-enriched "Golden Rice" for planting](#), International Rice Research Institute (IRRI), 23.07.2021; [Filipinos soon to plant and eat Golden Rice](#), Philippine Rice Research Institute (DA-PhilRice), 23.07.2021; [Zulassung auf den Philippinen: Der Goldene Reis kommt doch noch auf die Felder](#), Transgen.de, 23.07.2021; [Golden Rice Biosafety Permit for Commercial Propagation](#), Philippines Department of Agriculture, Juni 2021; [Golden Rice: Frequently asked Questions](#), International Rice Research Institute (IRRI); [Provitamin A enriched "Golden Rice"](#), EuropaBio 25 Years of Innovation Showcase.

# Erste klinische Daten zur «*in vivo*» Genomeditierung in Patienten

Die Verfügbarkeit neuer molekularbiologischer Werkzeuge zur Genomeditierung beflügelt die Entwicklung verbesserter therapeutischer Anwendungen. Ein Forscherteam aus den USA und aus Neuseeland legt jetzt in dem renommierten «*New England Journal of Medicine*» die vielversprechenden Resultate der weltweit ersten klinischen Studie vor, welche die Sicherheit und Wirksamkeit einer «*in vivo*» Genomeditierung direkt im Körper von Patienten belegt. Damit läuten sie eine neue Ära der Medizin ein.

Die familiäre Amyloid-Polyneuropathie (FAP) ist eine seltene Erbkrankheit, die weltweit etwa 50'000 Patienten betrifft. Sie kann durch verschiedene Mutationen im Gen für das Transport-Eiweiss Transthyretin (TTR) ausgelöst werden, die zu einer fehlerhaften Faltung des Proteins und zu seiner Ablagerung im Körper führt. Dadurch können die Funktionen von Herz oder Nervensystem beeinträchtigt werden. Unbehandelt führt die Krankheit zu erheblichen Beschwerden und einer deutlich verkürzten Lebenszeit. Eine Heilung ist bisher nicht möglich. Da Transthyretin vor allem in der Leber produziert wird, wurden vereinzelt Lebertransplantationen vorgenommen. Einige Medikamente können die Ableitung des TTR-Gens und damit die Krankheitssymptome reduzieren, allerdings muss deren Anwendung lebenslang erfolgen.

Das Transthyretin-Protein hat im Menschen keine lebensnotwendige Funktion. Die komplette Inaktivierung des für seine Produktion verantwortlichen TTR-Gens verhindert die Produktion des schädlichen missgefalteten Eiweisses. Mit ausführlichen Vorversuchen in Tieren entwickelten die Forscher einen gentherapeutischen Ansatz, bei dem das mutierte, schädliche TTR-Gen mit Hilfe der Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 im Körper der Patienten ausgeschaltet werden sollte. Dazu wurde die genetische Information für die Cas9-Genschere zusammen mit einer für

das TTR Gen spezifischen kurzen Leit-RNA (sgRNA) als Zieladresse zusammen in Lipid-Nanopartikel verpackt. Diese werden nach Infusion in die Blutbahn gezielt von Leberzellen aufgenommen, und schalten dort das TTR Gen direkt im wichtigsten Produktionsorgan aus.

Sechs Patienten mit familiärer Amyloid-Polyneuropathie erhielten je eine einzelne Dosis des Wirkstoffs NTLA-2001. Die Studie beschreibt die Resultate der ersten 28 Tage. Es wurden keine schweren Nebenwirkungen beobachtet. Bei höherer Wirkstoffmenge ging die Menge des TTR Proteins im Blutserum, das die Beschwerden verursacht, um 87 % zurück. Das ist mindestens so gut wie mit herkömmlichen Therapie-Ansätzen, die aber regelmässig wiederholt werden müssen.

Die Studie wird nach diesen ersten, sehr vielversprechenden Resultaten fortgeführt. Der Zeitraum ist noch zu kurz, um eine Auswirkung auf die klinischen Symptome der Erkrankung zu bewerten. Die beobachtete deutliche TTR-Reduktion im Serum der Patienten lässt jedoch hoffen, und könnte den Weg zu einer anhaltenden Besserung aufgrund einer einmaligen Behandlung aufzeigen. Versuche mit Primaten hatten ergeben, dass eine einmalige Genomeditierung mit NTLA-2001 eine langanhaltende Wirkung entfaltet.

Auch die Weltgesundheitsorganisation WHO sieht in der Genomeditierung grosse Chancen für die Medizin. Im Juli 2021 wurden detaillierte Richtlinien für ihre Anwendung vorgelegt.

**Quellen:** Julian D. Gillmore et al. 2021, [CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis](#), The New England Journal of Medicine (advance online publication, 26.06.2021); ["New Era of Medicine": Researchers Publish First Positive Clinical Data for In Vivo Genome Editing in Humans](#), Genetic Engineering & Biotechnology News, 28.06.2021; [WHO issues new recommendations on human genome editing for the advancement of public health](#), WHO News, 12.07.2021.

# Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 für Phytophthora-resistente Kartoffeln

Der übermässig feuchte Sommer 2021 bietet ideale Bedingungen für die Ausbreitung der gefürchteten Kraut- und Knollenfäule bei Kartoffeln. Die Sporen des Eipilzes *Phytophthora infestans*, Verursacher der weltweit wichtigsten Kartoffelkrankheit, benötigen eine feuchte Blattoberfläche, um auszukeimen und den Infektionszyklus zu beginnen. Rasant werden neue Sporen gebildet und durch den Wind verbreitet. So kann sich die Infektion innerhalb kurzer Zeit weit verbreiten. Nur der konsequente Einsatz von synthetischen Fungiziden oder Kupferpräparaten (in der Bio-Landwirtschaft) hilft, sobald die ersten Infektionsherde in der Umgebung auftauchen. Aufgrund der hohen Ansteckungsgefahr durch den Erreger ist auch in normalen Jahren der Aufwand für den Pflanzenschutz bei Kartoffeln hoch.

Zwar unterscheidet sich die Anfälligkeit verschiedener Sorten, aber wirklich gegen Phytophthora resistente Kartoffeln gibt es kaum. Mit klassischer Züchtung ist es nicht möglich, Resistenzeigenschaften in bewährte Sorten einzukreuzen, ohne die vorhandenen guten Merkmalskombinationen zu verlieren. Verschiedene Projekte haben gezeigt, dass Resistenzgene aus Wildkartoffeln mit gentechnischen Methoden in Kultursorten übertragen werden können und dort für nachhaltige Phytophthora-Resistenz sorgen. Auch in der Schweiz wurden solche cisgenen Sorten von Agroscope im Freiland geprüft. Während derartige Sorten in den USA seit Jahren angebaut werden, werden sie in Europa als «gentechnisch verändert» eingestuft, ein Anbau ist daher praktisch unmöglich.

Ein Forscherteam aus Schweden und Dänemark hat nun einen neuartigen Ansatz erprobt, um die Krankheitsresistenz von Kartoffeln zu stärken. Statt auf bekannte Resistenzgene fokussierten sie dabei auf Gene, welche die Pflanzen anfällig für die Erkrankung machen («susceptibility genes»,

S-Gene). Diese spielten bislang in der Kartoffelzüchtung kaum eine Rolle. Als Ausgangssorten verwendeten sie die beliebten Sorten Désirée und King Edward.

Die Wissenschaftler identifizierten aufgrund ihrer Gensequenz sieben mögliche Kandidaten-S-Gene, und schalteten sie einzeln durch Genomeditierung mit dem CRISPR/Cas9-System aus. Dazu führten sie jeweils zwei Schnitte in den Genen ein, um ein grösseres Teilstück dazwischen zu entfernen. Drei der resultierenden Kartoffelsorten waren tatsächlich widerstandsfähiger gegen eine Infektion durch Phytophthora als die Ausgangssorte und bremsten auch die Vermehrung und Ausbreitung des Erregers deutlich. Zwei dieser neuen Pflanzenlinien zeigten ausser der Pilzresistenz keine weiteren Veränderungen z. B. des Wachstums. Diese Kandidaten sollen jetzt in Freisetzungsversuchen gründlich auf ihre agronomischen Eigenschaften geprüft werden.

Die Genomeditierung von S-Genen ist ein vielversprechender Ansatz zur Produktion krankheitsresistenter Sorten. Dabei bleiben, anders als bei klassischen Züchtungsansätzen, die günstigen Eigenschaften der Ausgangssorten erhalten. Solche innovativen Züchtungsverfahren könnten einen wichtigen Beitrag zur Verringerung des Bedarfs an Pflanzenschutzmitteln leisten. Im Gegensatz zu vielen Ländern weltweit werden derart erzeugte Pflanzen, obwohl sie keinerlei fremde Erbinformation tragen, in der Schweiz und in der EU noch als «gentechnisch verändert» eingestuft. Das blockiert ihren Einsatz in der Praxis.

**Quellen:** Nam Phuong Kieu et al. 2021, [Mutations introduced in susceptibility genes through CRISPR/Cas9 genome editing confer increased late blight resistance in potatoes](#), Sci Rep 11:4487; [Gene scissors: benefits to environment and humankind obstructed by legislation](#), Mistra Biotech News, 11.12.2020; Field release notifications [B/SE/20/1726](#), [B/SE/21/3359](#) (EU GMO Register); [Cisgene Kartoffeln mit verbesserter Resistenz gegen Kraut- und Knollenfäule](#) (Agroscope).



## LEBENSMITTEL-FARBSTOFFE

# Alle Farben des Regenbogens aus modifizierten Bakterien

«Das Auge isst mit» heisst es nicht ohne Grund: Wie Lebensmittel aussehen, hat einen grossen Einfluss darauf, wie gut sie uns schmecken. Vor allem Farben spielen dabei eine wichtige Rolle. Oft werden daher bei der Lebensmittel-Herstellung Farbstoffe zugesetzt, zum Beispiel bei farbenfrohen Süswaren.

Während dabei lange Zeit vor allem preiswerte, synthetisch aus Erdölprodukten hergestellte Substanzen eingesetzt wurden, geht bei den Wünschen der Konsumenten der Trend eindeutig hin zu natürlichen Farbstoffen. Entsprechend wachsen auch die Nachfrage und der globale Markt an solchen Zusätzen, welche die Produkte bunter und farbenfroher machen. Allerdings ist die Produktion biologischer Stoffe im grösseren Massstab oft aufwändig. Auch sind nicht alle Farbnuancen in der erforderlichen Qualität und Farbstabilität erhältlich. Ein Forscherteam aus der Republik Korea hat sich nun vorgenommen, natürliche Farbstoffe in allen Farben des Regenbogens effizient mit Hilfe von *Escherichia coli*-Bakterien zu produzieren.

Dazu mussten sie zwei Kernprobleme lösen. Zunächst mussten sie die Bakterien, die von Natur aus kaum Pigmente produzieren, dazu bekommen, verschiedene natürliche Farbstoffe herzustellen. Dafür machten sich die Wissenschaftler zunutze, dass bereits zahlreiche Farbstoffmoleküle und die Stoffwechselschritte, die zu ihrer Biosynthese erforderlich sind, bekannt sind. Durch die Übertragung verschiedener Gene aus anderen Organismen konnten sie den Stoffwechsel der Bakterien mittels «Metabolic

Engineering» so anpassen, dass sie Astaxanthin (Rot),  $\beta$ -Carotin (Orange), Zeaxanthin (Gelb), Proviolacein (Grün), Prodeoxyviolacein (Blau), Violacein (Indigo), oder Deoxyviolacein (Violet) erzeugten. Die biotechnologische Produktion von Grün- und Indigo-Farbtönen in Mikroorganismen war zuvor noch nicht beschrieben worden.

In einem nächsten Schritt ging es darum, die natürlichen Farbstoffe in möglichst grossen Mengen zu produzieren. Die hier gewählten Substanzen sind alle fettlöslich (lipophil). Das bedeutet, dass sie sich nach ihrer Synthese in den Bakterien an der aus Lipiden bestehenden Zellmembran anlagern. Ist diese gesättigt, kommt die Produktion zum Erliegen. Um mehr Platz für die Anlagerung der Farbstoffe zu gewinnen, passten die Forscher durch gezielte genetische Veränderungen die Form der Bakterienzellen an und brachten sie dazu, sowohl an der Innen- als auch an der Aussenseite kleine Lipid-Ausstülpungen und Bläschen zu bilden. Durch die grössere verfügbare Membran-Oberfläche und optimierte Kulturbedingungen konnte die Farbstoff-Produktion noch deutlich gesteigert werden.

Die neu entwickelten biotechnologischen Ansätze zur Vergrösserung der Zellmembran könnten auch zur effizienten Produktion anderer nützlicher fettlöslicher Substanzen eingesetzt werden, z. B. von pharmazeutischen Wirkstoffen, Lebensmittelzusätzen und Kosmetikzutaten.

**Quellen:** Dongsoo Yang et al. 2021, [Production of Rainbow Colorants by Metabolically Engineered \*Escherichia coli\*](#), Adv. Sci. 8:2100743; [Microbial production of natural rainbow colorants](#), [EurekAlert.org news release](#), 08.06.2021.

# Temperaturstabiler oraler Cholera-Impfstoff aus Reiskörnern

Die durch *Vibrio cholerae*-Bakterien ausgelöste Cholera verursacht extreme Brechdurchfälle und dadurch eine lebensbedrohliche Entwässerung des Körpers. Sie führte im Lauf der Geschichte immer wieder zu Pandemien. Noch 1892 erkrankten in Hamburg über 16'000 Personen, etwa die Hälfte davon verstarb. Cholera wird vor allem durch verunreinigtes Trinkwasser übertragen. Durch verbesserte Hygiene und sauberes Wasser sowie die Verfügbarkeit von Antibiotika und einer wirksamen Schutzimpfung hat die Cholera in wohlhabenden Ländern ihren Schrecken verloren.

In vielen Regionen Asiens, Südamerikas und Afrikas ist Cholera dagegen endemisch. Jährlich treten zwischen 1.3 und 4 Millionen Erkrankungen auf, mit 20'000 bis 140'000 Todesfällen. Immer wieder kommt es zu starken lokalen Ausbrüchen. Der Einsatz klassischer injizierbarer Impfstoffe ist in Ländern mit limitierter medizinischer Infrastruktur schwierig. Es existieren auch Schluckimpfungen gegen Cholera, aber diese Impfstoffe müssen im Kühlschrank gelagert werden – solche sind in ärmeren Ländern kaum oder gar nicht vorhanden.

Japanische Forschende um Prof. Hiroshi Kiyono von der Universität Tokyo haben sich daher an die Entwicklung eines Cholera-Impfstoffs gemacht, der ohne Injektionsspritzen verwendet und über lange

Zeit ohne Kühlung gelagert werden kann. Sie stellten ihn mit Hilfe transgene Reispflanzen her, die in den Körnern ein inaktives Bruchstück des CTB-Proteins aus Cholera-Bakterien produzierten. Gemahlene Reiskörner lösten in verschiedenen Versuchstieren eine starke Immunreaktion aus und verhinderten Cholera-Krankheitssymptome. Es zeigte sich, dass die Reiskörner jahrelang auch bei Raumtemperatur diese Wirksamkeit behielten.

Jetzt berichten die Forscher über die ersten klinischen Versuche (Phase I) in Menschen. 30 Freiwillige erhielten vier Mal im Wochenabstand zwischen 1 g und 6 g gemahlene CTB-Reis in Getränken. In allen Versuchspersonen wurde die deutliche Produktion von Antikörpern angeregt, Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet. Diese ermutigenden Resultate sollen jetzt mit neuen Studien erweitert werden. Sie eröffnen den Weg zu einem auch für ärmere Länder geeigneten oralen Choleraimpfstoff, der ohne Kühlung gelagert werden kann.

**Quellen:** Yoshikazu Yuki, et al. 2021, [Oral Mucosal Rice-CTB vaccine for safety and microbiota-dependent immunogenicity in humans: a phase 1 randomised trial](#), The Lancet Microbe, advance online publication (25.06.2021); [Edible Cholera vaccine made of powdered rice proves safe in phase 1 human trials](#), University of Tokyo press release, 26.06.2021; Tomonori Nochi et al. 2007, [Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination](#), PNAS 104:10986-10991.

---

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