



POINT NEWSLETTER NR. 244 – OKTOBER 2022

Aktuelle Biotechnologie

INHALT

Genomeditierung

Breite Farbpalette für Tomaten mit CRISPR/Cas9 2

Nachhaltige Produktion

Vitamin B2 aus Luft, Wasser und erneuerbaren Energiequellen 3

Neuer Therapieansatz

CAR-T-Zellen zur Behandlung lebensbedrohlicher Schimmelpilz-Infektionen 4

Ressourceneffiziente Landwirtschaft

Genomeditierter Reis steigert natürliche Düngerproduktion und Erträge 5



Genomeditierte Tomaten mit verschiedenen Farben (Yang et al. 2022)

GENOMEDITIERUNG

Breite Farbpalette für Tomaten mit CRISPR/Cas9

Sowohl Landwirte als auch Konsumentinnen und Konsumenten stellen hohe Anforderungen an Nutzpflanzen und wünschen Pflanzen mit ganz spezifischen Eigenschaften. Durch die klassische Züchtung ist aber eine gezielte Veränderung nur einzelner Merkmale kaum möglich. Das macht die Entwicklung verbesserter Sorten zeit- und arbeitsaufwendig. Ein chinesisches Forscherteam zeigt nun anhand der Farbe von Tomatenfrüchten, wie durch Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 in wenigen Monaten neue Varianten einer bewährten Tomatensorte mit einer ganzen Palette von attraktiven Farben erzeugt werden können, ohne die sonstigen günstigen Eigenschaften der Ausgangssorte zu beeinträchtigen.

Die Farbe von Tomatenfrüchten wird durch eine Reihe von Genen beeinflusst, die für die Ausbildung von Farbstoffen verantwortlich sind. Dabei spielen rote Karotinoide und gelbe Flavonoide entscheidende Rollen, zusammen mit dem grünen Chlorophyll. In Kombination können diese Pigmente ganz verschiedene Farbnuancen ergeben – wie beim Mischen von Farben in einem Malkasten. Es existieren zahlreiche natürliche Genvarianten, welche im Zusammenspiel zu einem breiten Farbspektrum führen. Durch klassische Kreuzungszüchtung können diese Gene neu kombiniert und so neue Farben erzeugt werden. Allerdings vermischen sich dabei auch die anderen Eigenschaften der Elternsorten und es braucht jahrelange Arbeiten mit zahlreichen Rückkreuzungen, um die guten Eigenschaften einer Elternsorte zumindest einigermaßen wiederherzustellen.

Neue Züchtungsverfahren ermöglichen es, die Kreuzung unterschiedlicher Sorten zu vermeiden. Stattdessen können einzelne Gene einer bewährten Sorte gezielt

verändert werden, ohne die sonstigen Eigenschaften anzutasten. Im Fall der Tomaten führten die Forschenden ein Genkonstrukt in die Pflanzen ein, welches die Information sowohl zur Produktion des erbgutspaltenden Enzyms Cas9 als auch die für sechs kurze Ribonukleinsäuren (sgRNAs) enthielt. Diese programmieren die Position von Schnitten in den Tomatengenen *PSY1*, *MYB12* und *SGR1*. So entstanden Pflanzen mit hellgrünen Früchten, in denen die Funktion aller drei Farb-Gene ausgeschaltet war.

Durch eine Rückkreuzung mit der Elternlinie mit intakten Genen und durch anschließende Selbstbefruchtung geht das Cas9 Transgen verloren, und es entstanden Pflanzen mit allen möglichen Kombinationen von intakten und mutierten Farb-Genen. Und tatsächlich fanden die Forschenden Pflanzen mit Früchten in zahlreichen Farbnuancen, von gelb über orange, rot, braun bis hin zu grün. In allen übrigen Eigenschaften glichen die Pflanzen der bewährten Elternsorte. Die Pflanzen enthalten keine artfremde Erbinformation, sondern nur genetische Veränderungen, wie sie auch in der Natur entstehen könnten. Die Entwicklung der Sorten dauerte weniger als ein Jahr, während ein klassisches Züchtungsprogramm mehrere Jahre benötigt hätte.

Die Genomeditierung erlaubt hier die sehr schnelle, massgeschneiderte Anpassung einer Pflanzeigenschaft, ohne andere gewünschte Eigenschaften einer Elitesorte zu verändern. Die hier verfolgte Strategie kann auch als Vorbild für die Verbesserung weiterer Eigenschaften in anderen Nutzpflanzen dienen.

Quelle: Tianxia Yang et al. 2022, [Recoloring tomato fruit by CRISPR/Cas9-mediated multiplex gene editing](#), Horticulture Research (online 19.09.2022, [doi: 10.1093/hr/uhac214](#))

Vitamin B2 aus Luft, Wasser und erneuerbaren Energiequellen

Die Produktion von tierischen und pflanzlichen Lebensmitteln belastet die Umwelt, beansprucht limitierte Ressourcen und grosse Flächen und ist ein wesentlicher Treiber der Klimaerwärmung. Die Nahrungsmittelproduktion durch Mikroorganismen in grossen Fermentern ist deutlich effizienter und benötigt weniger Fläche. Allerdings werden Agrarprodukte als Nährstoff- und Energiequelle benötigt, deren Produktion ihrerseits Flächen und Ressourcen bedarf.

Ist es möglich, Nahrungsmittel auf geringer Fläche nur aus unbeschränkt verfügbaren anorganischen Rohstoffen mit Hilfe erneuerbarer Energie zu produzieren? Das würde einen grossen Beitrag zur Ernährungssicherheit für die weiterwachsende Weltbevölkerung leisten und könnte zugleich den ökologischen Fussabdruck der Nahrungsmittelproduktion verkleinern. Rebecca Sherbo, Pamela Silver und Daniel Nocera von der Harvard-Universität zeigen jetzt, dass Bakterien nur aus Stickstoff und Kohlendioxid (CO₂) unter Verwendung von erneuerbar produziertem Wasserstoff Riboflavin (Vitamin B2) produzieren können, eine wichtige Zutat für Lebens- und Futtermittel. Das Forscherteam versteht seinen Ansatz als Modell, das auch für die nachhaltige Herstellung anderer Nahrungsmittel angepasst werden kann.

Riboflavin wird aktuell fast ausschliesslich durch Fermentation von organischen Agrar-Rohstoffen, zum Beispiel Zucker, mit Hilfe von Mikroorganismen gewonnen. Das Vitamin-Molekül ist aus den weit verbreiteten Elementen Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff zusammengesetzt. Es gibt allerdings auch Bakterien, welche diese Grundbausteine mit Wasserstoff als Energiequelle durch die Fixierung von gasförmigem CO₂ und Stickstoff aus der Luft gewinnen können, ohne Bedarf an organischen Nährstoffen für diesen Prozess (autotrophe H-C-N Bakterien). Allerdings waren die verfügbaren Werkzeuge zur

genetischen Anpassung der Mikroorganismen bisher nur ansatzweise vorhanden.

Das Harvard-Forschungsteam entschlüsselte zunächst das komplette Erbgut des H-C-N Bakteriums *Xanthobacter autotrophicus* und identifizierte die verschiedenen Gene, welche an der Synthese von Riboflavin beteiligt sind. Um die Vitaminproduktion zu fördern, steigerten die Wissenschaftler die Produktion der an der B2-Biosynthese beteiligten Stoffwechsel-Enzyme. Dazu ersetzten sie die Promotor-Sequenzen der Bakterien-Gene, welche deren Ablesung steuern, durch stärkere, ebenfalls aus *X. autotrophicus* stammende Promotoren. Dadurch wurden mehr Stoffwechsellenzyme für die Vitaminproduktion gebildet und dadurch auch mehr Vitamin B2.

Um eine Vitaminproduktion ohne biologisch erzeugte Nährstoffe wie Zucker zu ermöglichen, liessen die Forschenden die genetisch angepassten Bakterien in einer Nährbrühe mit anorganischen Salzen wachsen, die mit Stickstoff- und CO₂-Gas durchströmt wurde. Direkt in den Bioreaktor wurden zwei Elektroden eingebracht, an denen durch Anlegen einer elektrischen Spannung Wasserstoff gebildet wurde. Dieser wurde von den Bakterien aufgenommen und diente als Energiequelle zur Fixierung von Kohlenstoff und Stickstoff. Tatsächlich konnten die Bakterien unter diesen Umständen wachsen, sich vermehren und dabei neben Biomasse auch Riboflavin erzeugen – etwa fünfmal mehr als genetisch nicht veränderte Stämme. Die erzeugten Mengen sind noch viel zu niedrig für eine kommerzielle Produktion. Die Forschenden konnten damit aber einen Ansatz demonstrieren, mit dem sich Lebensmittelkomponenten auf geringer Fläche mit unbegrenzt verfügbaren Rohstoffen und nachhaltiger elektrischer Energie, z. B. Solarstrom, erzeugen lassen.

Quelle: Rebecca S. Sherbo et al. 2022, [Riboflavin synthesis from gaseous nitrogen and carbon dioxide by a hybrid inorganic-biological system](#), PNAS 119(37):e2210538119.

NEUER THERAPIEANSATZ

CAR-T-Zellen zur Behandlung lebensbedrohlicher Schimmelpilz-Infektionen

Der Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* ist weltweit verbreitet und gedeiht an vielen feuchten Orten, so auf verrottenden Pflanzenteilen, im Erdboden und im Kompost. Seine winzigen, rauchgrünen Sporen werden durch die Luft überall hin verteilt, wir atmen täglich hunderte davon ein. Das ist normalerweise kein Problem. Unser Abwehrsystem ist darauf eingerichtet, Infektionen mit Fremdorganismen zu verhindern. Für Patienten mit einem eingeschränkten Immunsystem dagegen kann eine Infektion der Lungen mit *A. fumigatus* problematisch werden und im schlimmsten Fall sogar tödlich verlaufen. Das kann zum Beispiel immunsupprimierte Personen betreffen, die Medikamente gegen eine Abstossungsreaktion nach Transplantationen oder gewisse Krebsbehandlungen erhalten. Auch eine Infektion mit Covid-19, Grippe oder AIDS kann die Anfälligkeit gegen eine Schimmelpilz-Infektion (Aspergillose) erhöhen.

Oft sind die Patienten bereits durch ihre Vorerkrankung stark geschwächt. Eine medikamentöse Behandlung einer lebensbedrohlichen Aspergillose mit Wirkstoffen gegen Pilze ist daher schwierig und schlägt nicht immer an. Eine aktuelle Studie des Uniklinikums Würzburg unter Federführung von Michael Hudecek und Jürgen Löffler, in Zusammenarbeit mit weiteren Teams aus Deutschland, Italien, Frankreich und Wales, gibt Hoffnung auf alternative Therapieoptionen bei Pilzinfektionen. Dabei setzen die Forschenden auf die Kraft des menschlichen Immunsystems. Körper eigene Abwehrzellen, die T-Zellen, werden durch eine gentechnische Veränderung so angepasst, dass sie unerwünschte Zellen erkennen und effizient bekämpfen können. Der unter der Bezeichnung CAR-T («chimäre Antigenrezeptor-T-Zellen») bekannt gewordene

Behandlungsansatz wird bereits seit Jahren mit grossem Erfolg zur Behandlung schwerer Krebserkrankungen eingesetzt. So können Leukämie-Erkrankungen seit mehr als zehn Jahren unter Kontrolle gehalten werden ([Point 236, 02-2022](#)).

Zur Bekämpfung der Pilzzellen statteten die Mediziner körpereigene T-Zellen durch Einbau eines entsprechenden Gens mit einem Rezeptor aus, der an spezifische Oberflächenstrukturen des Pilzes binden kann. Das ermöglicht es den gentechnisch veränderten Immunzellen, den Pilz zu erkennen und anzugreifen. Die CAR-T Zellen aktivierten auch weitere Komponenten der Immunabwehr. Das funktionierte sowohl im Reagenzglas als auch in einem Tiermodell mit Mäusen. Der Pilzbefall konnte so deutlich gesenkt werden.

Die jetzt in der Fachzeitschrift «Science Translational Medicine» veröffentlichten Resultate legen eine Grundlage dafür, um pilzspezifische CAR-T Zellen auch in klinischen Versuchen in Patienten zu testen. Die Vorbereitungen dafür laufen. «Unsere Studie veranschaulicht das grosse Potenzial gentechnisch veränderter T-Zellen zur Behandlung aggressiver Infektionskrankheiten, die mit herkömmlichen antimikrobiellen Therapien nur schwer in den Griff zu bekommen sind. Sie bildet die Basis für eine zukünftige T-Zelltherapie zur Behandlung von Pilzinfektionen und vielen weiteren Infektionserkrankungen», resümiert Studienleiter Professor Dr. Jürgen Löffler.

Quellen: Seif et al. 2022, [CAR T cells targeting *Aspergillus fumigatus* are effective at treating invasive pulmonary aspergillosis in preclinical models](#), Sci. Transl. Med. 14:eabh1209; [Neue Immuntherapie für Schimmelpilzinfektionen der Lunge](#), Medienmitteilung Uniklinikum Würzburg, 10.10.2022.

Genomeditierter Reis steigert natürliche Düngerproduktion und Erträge

Pflanzen brauchen Stickstoff für ihr Wachstum. Sie können ihn aber nicht aus der Luft aufnehmen, sondern nur in chemisch gebundener Form aus dem Boden. Durch Düngung können bei Stickstoffmangel Erträge deutlich gesteigert werden. Allerdings hat Stickstoff-Kunstdünger nachteilige Auswirkungen auf die Umwelt, und bei seinem Abbau im Boden entstehen Treibhausgase. Die energieaufwendige Produktion trägt auch zur Klimaerwärmung bei. Explodierende Energiepreise haben in den letzten zwei Jahren die Preise für Stickstoffdünger auf das bis zu sechsfache steigen lassen und belasten das Budget der Landwirte massiv. Daher besteht aus ökologischen und ökonomischen Gründen dringender Bedarf an einer Reduktion des Stickstoffdünger-Einsatzes.

Ein US-amerikanisches Forscherteam unter Leitung von Eduardo Blumwald von der University of California in Davis stellt jetzt einen neuartigen Ansatz vor, um den Düngerbedarf bei Getreide zu reduzieren. Sie entwickelten durch Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 eine Reissorte, welche die Hilfe von Bodenbakterien rekrutiert, um die Stickstoffaufnahme zu verbessern und die Erträge zu steigern.

Die Forschenden untersuchten zunächst die Wirksamkeit von 740 Chemikalien, um die Biofilmproduktion durch stickstoffbindende Bakterien zu induzieren.

Dabei bilden die Bakterien einen zusammenhängenden Verband aus und fördern so die eigene Aktivität. Apigenin, ein Stoffwechsel-Zwischenprodukt in Reisswurzeln, erwies sich als besonders wirksam. In einem nächsten Schritt schalteten die Wissenschaftler durch Genomeditierung mit CRISPR/Cas9 ein Gen in Reis aus, das am Abbau von Apigenin beteiligt ist. In Folge reicherte sich die Substanz in den Reisswurzeln an und wurde in den Boden ausgeschieden. Dort stimulierte Apigenin die Biofilm-Produktion durch im Boden vorkommende stickstoffbindende Bakterien. Dadurch konnten die Bakterien effizienter Stickstoff aus der Atmosphäre binden und in chemische Substanzen umwandeln, welche dann für die Reispflanzen verfügbar waren. Die Stickstoffaufnahme der genomeditierten Reispflanzen wurde auf diese Weise deutlich verbessert. Die Erträge ohne Düngung wuchsen um 20 - 35%.

Dieser Ansatz zur Reduktion der Abhängigkeit von Stickstoffdünger könnte auch bei anderen Nutzpflanzenarten funktionieren und einen wesentlichen Beitrag zu einer nachhaltigeren Landwirtschaft leisten.

Quellen: Dawei Yan et al. 2022, [Genetic modification of flavone biosynthesis in rice enhances biofilm formation of soil diazotrophic bacteria and biological nitrogen fixation](#), Plant Biotechnology Journal (online 23.07.2022, doi:10.1111/pbi.13894); [CRISPR-Engineered Rice Enhances the Natural Production of Fertilizer](#), Genetic Engineering and Biotechnology News, 09.08.2022.

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