



POINT NEWSLETTER NR. 264 – JUNI 2024

Aktuelle Biotechnologie

INHALT

Neue Züchtungsverfahren

CRISPR/Cas9 für Resistenz gegen Zebrachip-Krankheit bei Kartoffeln

2

Biotechnologie

RNA als vielfältiges Werkzeug für Gesundheit und Pflanzenschutz

3

Nachhaltigkeit

Enzym-Design erleichtert biobasierte Produktion von Vanillin

4

Ernährung

Produktion von humanen Milcholigosacchariden (HMOs) in Pflanzen

5

NEUE ZÜCHTUNGSVERFAHREN

CRISPR/Cas9 für Resistenz gegen Zebrachip-Krankheit bei Kartoffeln

Kartoffeln werden in über 160 Ländern angebaut und gelten nach Weizen, Mais und Reis als viertwichtigstes Grundnahrungsmittel für die Weltbevölkerung. Entsprechend bedeutsam ist der Schutz der Kartoffelkulturen vor Pflanzenkrankheiten. Eine davon ist die 1994 erstmals in Mexiko beobachtete Zebrachip-Krankheit, die sich inzwischen in verschiedene Länder ausgebreitet hat und vor allem in den USA und in Kanada grosse Schäden anrichtet.

Ausgelöst von *Candidatus liberibacter* Bakterien, führt sie zum Absterben der Blätter und Triebe bis hin zum Tod der Pflanze. Durch die Einlagerung von pflanzlichen Abwehrsubstanzen in den Knollen ergibt sich nach dem Braten oder Frittieren ein charakteristisches Zebmuster, das der Krankheit ihren Namen verleiht. Zudem werden die Knollen bitter und können so nicht mehr vermarktet werden. Wirtschaftliche Schäden entstehen durch hohe Ertragseinbussen und die Kosten für die Vorbeugung der Krankheit. Diese erfolgt zumeist mit Hilfe von Insektiziden, welche die Blattflöhe als Überträger der Bakterien bekämpfen.

Klassische Züchtungsansätze, um die Resistenz von Kartoffeln gegen die Erreger zu steigern, waren bisher wenig erfolgreich. Ein Problem dabei ist auch, dass Züchtungsprogramme bei Kartoffeln aufgrund ihrer komplizierten Genetik lange Zeiträume erfordern. Ein Forschungsteam von der Texas A&M University um Kranthi K. Mandadi hat jetzt die Genomeditierung mittels CRISPR/Cas9 eingesetzt, um Kartoffeln widerstandsfähiger gegen die Zebrachip-Krankheit zu machen. Sie wählten dafür *StNPR3* als Ziel aus. Man weiss, dass eng verwandte *NPR3*-Gene an der Regulierung

der pflanzlichen Krankheitsabwehr beteiligt sind und eine hemmende Wirkung auf verschiedene Mechanismen ausüben. Entsprechend konnte in Arabidopsis- und in Kakao-pflanzen gezeigt werden, dass eine reduzierte *NPR3*-Aktivität mit einer gesteigerten Krankheitsresistenz einher geht.

Tatsächlich führte auch in Kartoffeln die Ausschaltung von *StNPR3* durch Genomeditierung zu einer Aktivierung verschiedener Abwehrmechanismen. Dadurch waren die Pflanzen besser auf einen Bakterienbefall vorbereitet und konnten die Vermehrung der Erreger eindämmen. Die infizierten Pflanzen zeigten daher deutlich reduzierte Symptome an Blättern und Knollen, ihr Wachstum war sonst unverändert. Ob sich die genomeditierten Kartoffeln mit ihrer aktiveren Krankheitsabwehr auch im praktischen Anbau bewähren oder ob sich die permanent aktivierten Schutzmechanismen auch nachteilig auswirken können, müssen jetzt Feldversuche zeigen.

Genomeditierung ist zu einem wichtigen Werkzeug der Resistenzzüchtung geworden. Die EU-SAGE Datenbank verzeichnet Ende Juni 2024 183 Forschungsprojekte dazu, an über 30 Pflanzenarten vom Apfel bis zum Weizen. Dabei geht es um Resistenz gegen Viren, Bakterien und Pilze, aber auch gegen Insekten und Würmer.

Quellen: Manikandan Ramasamy et al. 2024, [Genome editing of NPR3 confers potato resistance to *Candidatus Liberibacter* spp.](#), Plant Biotechnology Journal (in print, [doi:10.1111/pbi.14378-y](#)); Gritta Schrader 2014, [Candidatus Liberibacter solanacearum – eine neue Gefahr für den Kartoffel- und Tomatenanbau?](#), Journal für Kulturpflanzen 66:169–174; [Zebra-Chip-Krankheit bei Kartoffeln erstmals in der EU](#), Agrar heute, 21.06.2017; [EU-SAGE Datenbank](#) (globale Übersicht zu Projekten mit genomeditierten Nutzpflanzen).

RNA als vielfältiges Werkzeug für Gesundheit und Pflanzenschutz

Die mRNA (Boten-RNA) hat eine zentrale Bedeutung für Organismen bei der Übertragung der genetischen Information aus dem Genom und bei ihrer Umsetzung in funktionelle Proteine. Auch bei vielen anderen Lebensprozessen spielt RNA eine wichtige Rolle. Trotz dieser universellen Funktion war RNA der breiten Öffentlichkeit bisher kaum bekannt. Das änderte sich schlagartig mit der atemberaubend schnellen Entwicklung der mRNA-basierten Corona-Impfstoffe, die das Potenzial von RNA als Werkzeug ins allgemeine Bewusstsein gerückt hat. Nur kurze Zeit später, 2023, wurden die ungarische Forscherin Katalin Karikó und der US-Amerikaner Drew Weissman für ihre grundlegenden Arbeiten zur Nutzbarmachung von mRNA für die Medizin mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Damit standen praktische Anwendungen von RNA, die aufgrund technischer Schwierigkeiten lange ein Schattendasein gefristet hatten, plötzlich im Rampenlicht. Ganze Forschungszweige erhalten so Aufwind.

Die Schweizer Akademie der Naturwissenschaften SCNAT gibt in einem neuen, im Juni 2024 präsentierten Bericht einen Überblick zu den vielfältigen Anwendungsbereichen für RNA. Er wurde mit Unterstützung des Bundesamts für Umwelt BAFU von Expertinnen und Experten der SCNAT erstellt. In dem Bericht werden die biologischen Grundlagen vorgestellt sowie verschiedene Anwendungsbereiche für RNA aus Medizin und Landwirtschaft mit praktischen Beispielen erläutert. Aber auch mögliche zukünftige Entwicklungen und technische Herausforderungen werden behandelt. Eine allgemein verständliche Kurzfassung des Berichts rundet das Angebot ab. In einem [online verfügbaren Webinar](#) vom 28. Juni 2024 diskutieren zudem die Fachpersonen Aline Koch (Universität Regensburg) und Klaus Eyer (Universität Aarhus) zum Thema «RNA-Technologien: Wie verändern sie Medizin und Pflanzenschutz?».

Die Eigenschaft von mRNA, als Matrize die Produktion bestimmter Proteine im Körper anzuregen, kann bei ihrer Verwendung als Impfstoff gegen Infektionskrankheiten wie Covid-19 genutzt werden. Die Erzeugung von Proteinfragmenten des Krankheitserregers stimuliert dabei das Immunsystem und bereitet es so auf eine wirksame Abwehr einer Infektion vor. Gegen bestimmte Arten von Krebszellen kann das Immunsystem mit mRNA-Impfstoffen ebenfalls aktiviert werden. Auch ein Ersatz fehlender Körperproteine, zum Beispiel eines Wachstumsfaktors für Blutgefässe, kann durch extern zugeführte mRNA erfolgen.

Kurze, von aussen zugeführte RNA-Fragmente können auch eingesetzt werden, um in der Medizin die Ausprägung genetischer Eigenschaften, z. B. eines krankhaft veränderten Gens, zu blockieren. Medikamente mit diesem Wirkmechanismus sind bereits verfügbar, z. B. gegen die ATTR-Amyloidose. Dieser Ansatz eröffnet ein weiteres Einsatzgebiet für RNAs im Pflanzenschutz. Durch Behandlung mit RNA-Sprays lassen sich lebenswichtige Gene von Schadinsekten wie dem Kartoffelkäfer oder von Krankheitserregern wie Pilzen abschalten, um diese unter Kontrolle zu bringen.

Der SCNAT-Bericht führt noch zahlreiche weitere Anwendungsbereiche für RNA auf, wie die Aptamere, die gezielt an andere Moleküle binden und sie beeinflussen können. Eine technische Herausforderung ist immer noch, die instabilen RNA-Moleküle an ihren Wirkort zu bringen. Die Entwicklung neuer Anwendungsbereiche und die Verbesserung der Verfahren schreiten zügig voran.

Quellen: Michael Kümin et al. 2024, [RNA-Technologien: Wirkmechanismen, Anwendungen und Verabreichungsformen](#). Swiss Academies Reports 19 (1); [RNA-Technologien verändern Medizin und Landwirtschaft](#), SCNAT Medienmitteilung, 25.06.2024; [Auf der Erfolgsspur: RNA-Technologien in der Medizin und der Landwirtschaft](#), Kurzversion des SCNAT-Berichts mit Beispielen.



Vanilleschoten – die Nachfrage nach alternativen Quellen für das Aroma ist hoch

NACHHALTIGKEIT

Enzym-Design erleichtert biobasierte Produktion von Vanillin

Vanille gilt als der weltweit beliebteste Aroma- und Riechstoff. Tausende von Produkten, von Glace über Schokolade, Gebäck, Getränken bis hin zu Parfums enthalten das warme, charakteristische Aroma. Allerdings sind Anbau, Ernte und Verarbeitung von Vanillepflanzen sehr aufwändig. Echte Vanille aus Vanilleschoten gehört daher zu den teuersten Gewürzen überhaupt und das Angebot am Weltmarkt ist sehr begrenzt. Weniger als 1 Prozent des weltweit verwendeten Vanille-Aromas stammt tatsächlich aus echten Vanilleschoten. Ein Grossteil des Bedarfs wird durch chemisch synthetisiertes Vanillin gedeckt, vor allem aus petrochemischen Grundstoffen.

Zunehmend werden natürliche Vanillaromen auch aus alternativen Quellen, zum Beispiel durch Fermentation von pflanzlichen Substanzen mit Hilfe von speziellen Mikroorganismen, gewonnen. Das dabei entstehende Vanillin kann dann aus der Nährbrühe isoliert werden. Eine biokatalytische Produktion von Vanillin ohne Beteiligung lebender Mikroorganismen war bisher unwirtschaftlich, weil das dafür verantwortliche Pflanzenenzym VpVAN nur eine sehr niedrige Aktivität aufweist und Kaskadenreaktionen mit mehreren verfügbaren technischen Enzymen sehr aufwändig sind.

Japanische Forschende um Toshiki Furuya von der Universität Tokyo zeigen jetzt erstmals, wie mit Hilfe von Enzym-Design ein neuartiges Protein entwickelt werden kann, das Vanillin in einem nachhaltigen biokatalytischen Prozess direkt aus Ferulasäure erzeugt. Dieser Ausgangsstoff kann in grossen Mengen preiswert aus pflanzlichen Nebenströmen, zum Beispiel aus Reiskleie, hergestellt werden.

Als Ausgangspunkt verwendeten die Forschenden das Enzym Ado, das ursprünglich aus *Thermothelomyces thermophila* - Pilzen isoliert wurde. Es kann Vanillin aus bestimmten Chemikalien erzeugen, aber nicht aus der gut verfügbaren Ferulasäure. Mit Hilfe von Computermodellen der Proteinstruktur entwickelten die Forschenden eine Strategie, wie das Enzym so angepasst werden könnte, dass es auch Ferulasäure erkennen kann. Sie prüften verschiedene Varianten durch gentechnische Veränderung des Ado-Gens und Aktivitätstests in *E. coli*-Bakterien. Es stellte sich heraus, dass durch den gezielten Austausch von drei Aminosäuren an der Bindestelle von Ado ein neues Enzym entsteht, das wie erhofft Ferulasäure binden und dann zu Vanillin umwandeln kann. Dabei kann das neue Enzym entweder isoliert und gereinigt verwendet werden, oder es können *E. coli*-Bakterien, die das Enzym produzieren, als Ganzzell-Biokatalysatoren eingesetzt werden.

Das funktioniert mit hoher Effizienz: in nur einem Schritt bei Raumtemperatur und ohne weitere Zutaten. Der neu entwickelte einfache, nachhaltige und leicht skalierbare Prozess könnte zur Grundlage für Vanillinproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen werden. Die Forschenden zeigen, dass ihr neues Enzym auch Nebenströme der Papierindustrie zu wertvollen Biochemikalien umwandeln kann. Eine gross technische Anwendung wird aktuell zusammen mit einem Industriepartner ausgelotet.

Quellen: Shizuka Fujimaki et al. 2024, [Engineering a coenzyme-independent dioxygenase for one-step production of vanillin from ferulic acid](#), Applied and Environmental Microbiology Vol. 90, in press ([doi:10.1128/aem.00233-24](#)); [Bioengineered Enzyme Creates Natural Vanillin from Plants in One Step](#), Tokyo University of Science, 16.05.2024.

Produktion von humanen Milch-oligosacchariden (HMOs) in Pflanzen

Muttermilch enthält eine einzigartige Kombination von Nähr- und Wirkstoffen und versorgt den Säugling mit allem, was er braucht. Nach Milchzucker und Fetten als Energielieferanten stellt eine Gruppe von verzweigten Zuckermolekülen, die HMOs (humane Milch-Oligosaccharide), mit etwa 10 bis 15 Gramm pro Liter Muttermilch den drittichtigsten Bestandteil dar. HMOs sind resistent gegen Verdauung im oberen Magen-Darm-Bereich und erreichen so unverändert den unteren Verdauungstrakt. Dort dienen sie nützlichen Mikroorganismen der Darmflora als Nahrung. Ein ausgewogenes Mikrobiom im Darm trägt zu Gesundheit und guter Entwicklung von Körper, Hirn und Immunsystem bei. Auch kognitive Fähigkeiten werden gefördert.

Aufgrund der gesundheitsfördernden Eigenschaften werden HMOs zunehmend auch Säuglingsnahrungsprodukten zugegeben, um eine vollständige Ernährung sicherzustellen. Allerdings ist die Herstellung von HMOs aufwändig. Eine chemische Synthese ist möglich, aber sehr teuer. Daher hat sich die biotechnologische Produktion einzelner HMOs durch genetisch angepasste Mikroorganismen in Bioreaktoren etabliert. So können allerdings nur etwa fünf der 200 bekannten HMOs hergestellt werden.

Ein grosses Forschungsteam von der kalifornischen Berkeley-Universität um Patrick M. Shih zeigt jetzt, dass auch genetisch

modifizierte Pflanzen als effiziente biologische Fabriken für HMOs eingesetzt werden können. Dabei machen sich die Forschenden zunutze, dass Pflanzen von Natur aus über einen effizienten Kohlenhydratstoffwechsel verfügen. Durch vorübergehende («transiente») Expression verschiedener spezialisierter Biosynthese-Gene aus anderen Organismen loteten sie das Spektrum der möglichen HMO-Produktion in *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen aus, einer im Labor besonders einfach handhabbaren Tabak-Art. Anschliessend erzeugten sie Pflanzen, bei denen die externen Stoffwechselfgene stabil im Genom integriert wurden.

Tatsächlich konnten die Forschenden so eine Vielfalt von HMOs aus allen bekannten Klassen, mit einem potenziell breiteren Gesundheitsnutzen, in guter Ausbeute erzeugen sowie grössere Moleküle, als dies bei der biotechnologischen Produktion mit Mikroorganismen möglich ist. Ökonomische Analysen zeigen, dass eine HMO-Produktion in Pflanzen wirtschaftlicher sein könnte als die bisherigen Verfahren. Das könnte eine breitere Anwendung in der Ernährung ermöglichen.

Quellen: Collin R. Barnum et al. 2024, [Engineered plants provide a photosynthetic platform for the production of diverse human milk oligosaccharides](#), Nature Food 5:480–490; Huayi Hu & Hao Du 2024, [A comprehensive framework for the production of plant-based molecules](#), Nature Food (News & Views) 5:461–462; [Can engineered plants help make baby formula as nutritious as breast milk?](#), Berkeley News, 13.06.2024.

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

Folgen Sie uns



info@scienceindustries.ch
scienceindustries.ch

Nordstrasse 15 - Postfach
CH-8021 Zürich

Tel. + 41 44 368 17 11