



BIO CHEMIE AM SAMSTAG

u^b

b
UNIVERSITÄT
BERN

15. November 2025



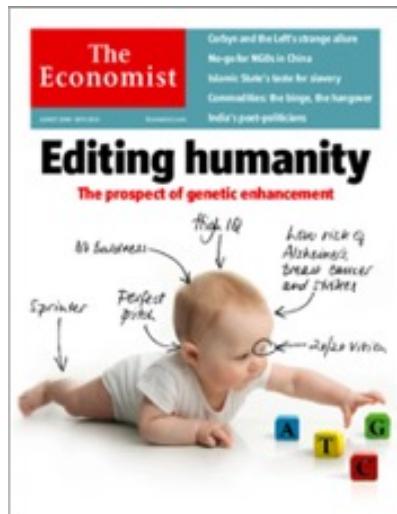
Präzise Genchirurgie mit CRISPR Methoden, Möglichkeiten, Meilensteine

Oliver Mühlemann

Dept. für Chemie, Biochemie und Pharmazie
Universität Bern

oliver.muehlemann@unibe.ch

„Genome editieren mit CRISPR“ große Versprechen - große Ängste



Chemie-Nobelpreis 2020
für Emmanuelle Charpentier
und Jennifer Doudna



NEWS RELEASE
World's First Patient Treated with Personalized CRISPR Gene Editing Therapy at Children's Hospital of Philadelphia

May 15, 2025



LIFESTYLE
How one scientist lost big trying to genetically 'enhance' unborn babies

By Eric Spitznagel
Published Dec. 10, 2022 | Updated Dec. 10, 2022, 10:24 a.m. ET

17 Comments

Frankfurter Allgemeine

GESPRÄCH ZUR GEN-REVOLUTION

Die Zaubерstäbe der Gentechnik

VON JOACHIM MÜLLER-JUNG - AKTUALISIERT AM 19.03.2016 - 13:20

nature

THE INTERNATIONAL WEEKLY JOURNAL OF SCIENCE

Dawn of the
gene-editing age

PAGE 155



EVERYWHERE

Programm

- Nischenforschung führt zu Genschere - ein Plädoyer für die freie Grundlagenforschung
- Wie funktioniert die Genschere?
- Von der Genschere zum Schweizer Sackmesser
- Ethische Fragen und Richtlinien
- Ein paar konkrete Anwendungsbeispiele aus Medizin, Tierzucht und

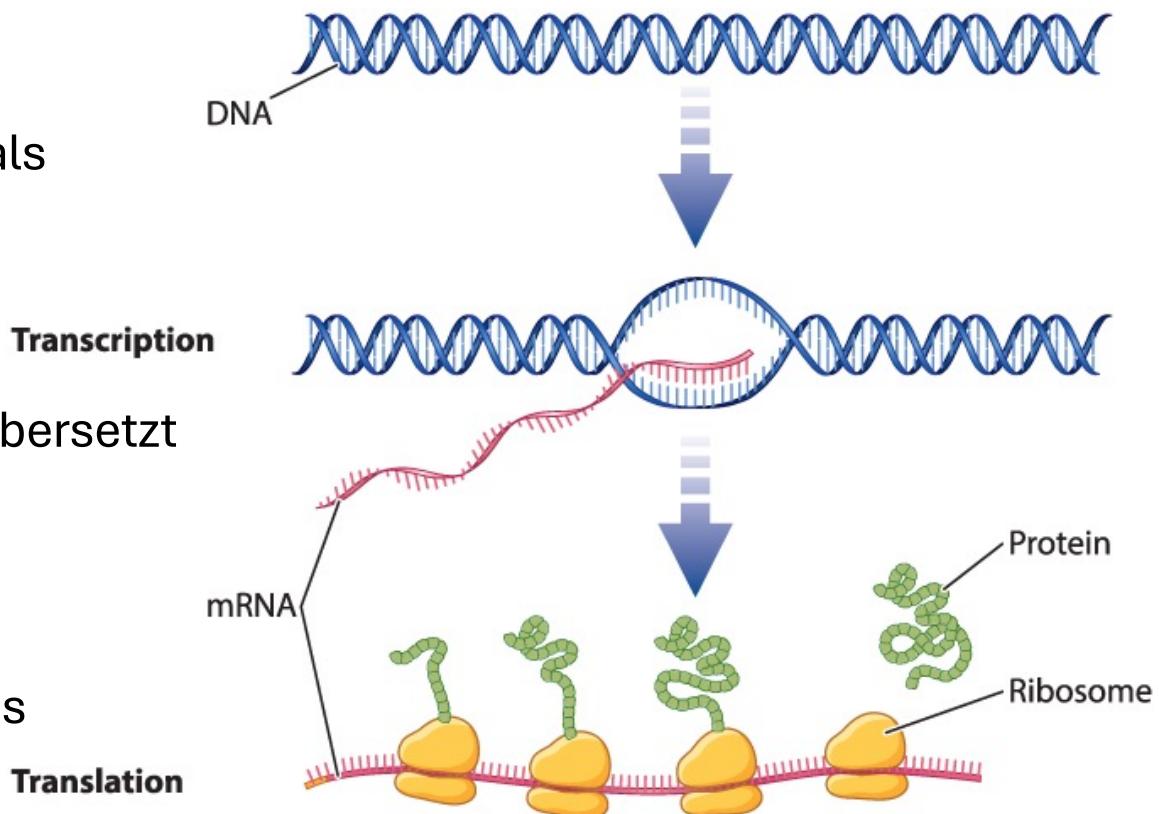
Zur Erinnerung: Genexpression

(m)RNA-Moleküle entstehen durch **Transkription** von DNA-Abschnitten, die als **Gene** bezeichnet werden.

Proteine werden aus mRNA-Molekülen übersetzt (translatiert) mithilfe von Ribosomen.

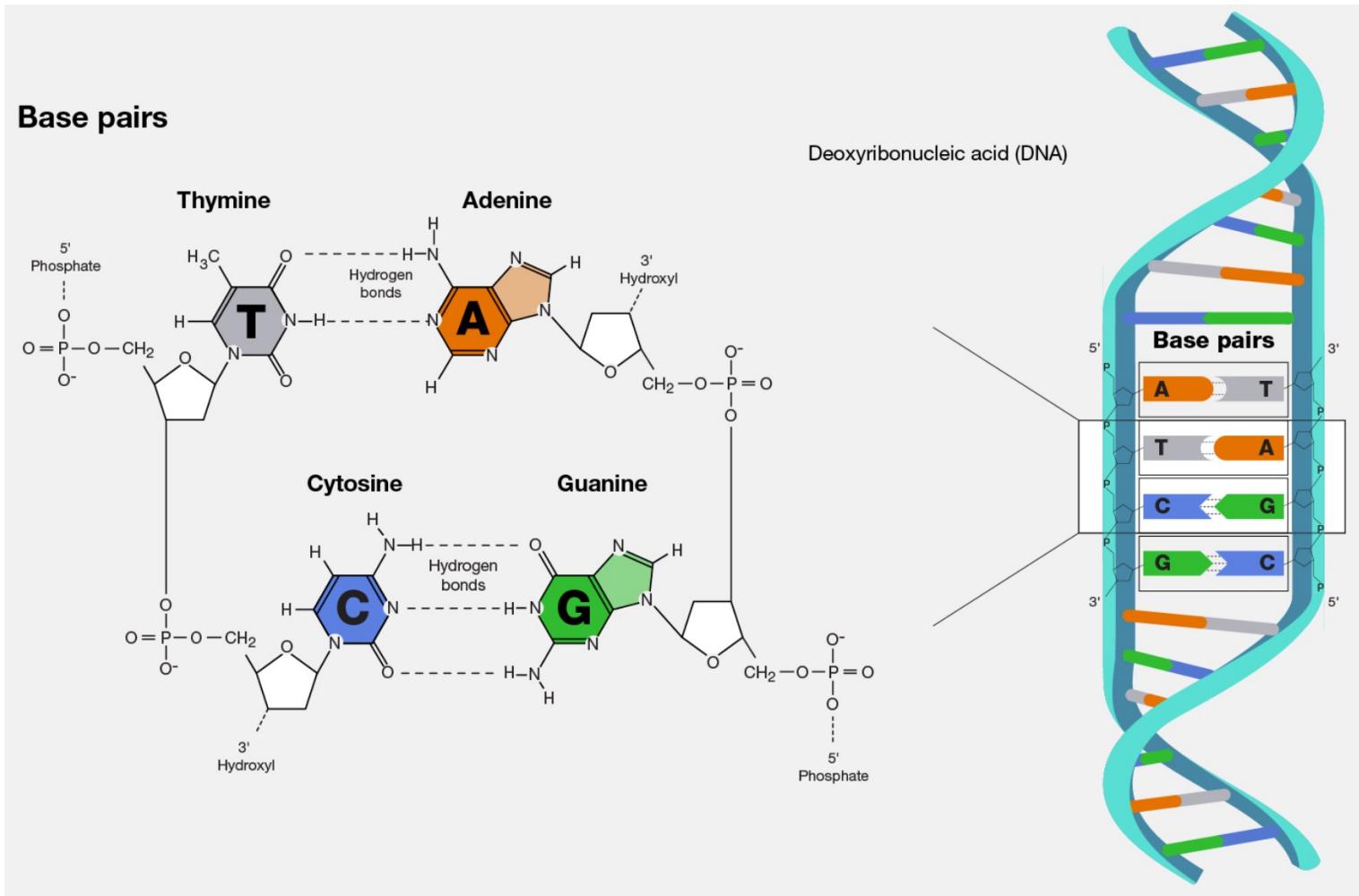
"Nukleotidisch" → "Aminosäuerisch"

Die **Präsenz** und die richtige **Struktur** eines Proteins sind wichtig für bestimmte Eigenschaften der Zelle/des Organismus.



[Morris et al., 2023, Macmillan Learning](#)

Zur Erinnerung: Basenpaarung

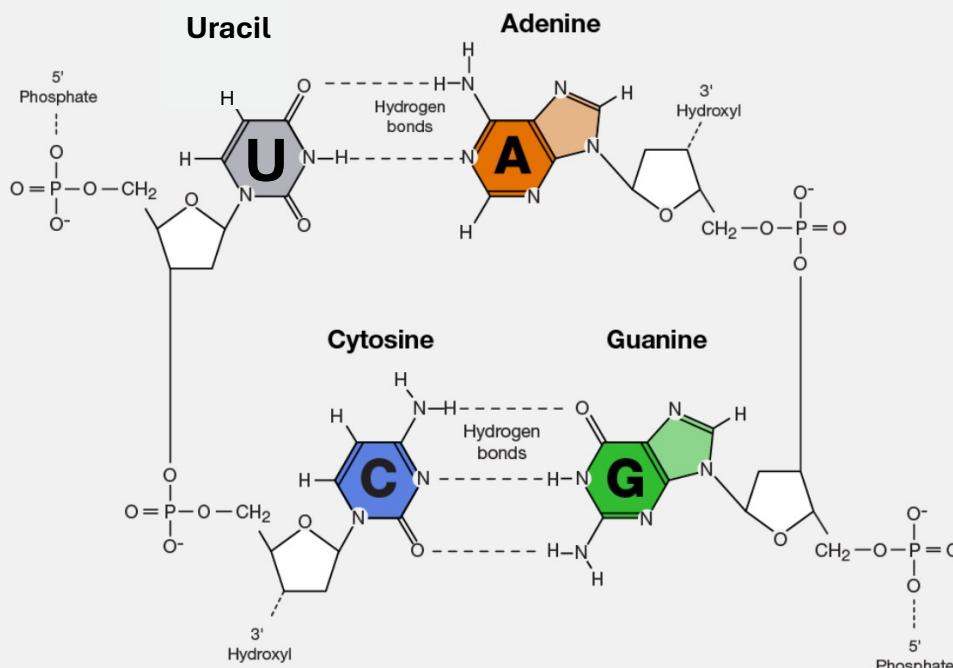


DNA besteht aus **2 antiparallelen Deoxyriboseketten**. Die 2'-Deoxyribosemoleküle sind via Phosphodiesterbindungen zwischen dem 5'- und dem 3'-Kohlenstoffatom (C) verknüpft. Am 1'C jedes Zuckers befindet sich **eine von vier Basen**: **Adenin**, **Guanin**, **Thymin**, **Cytosin**.

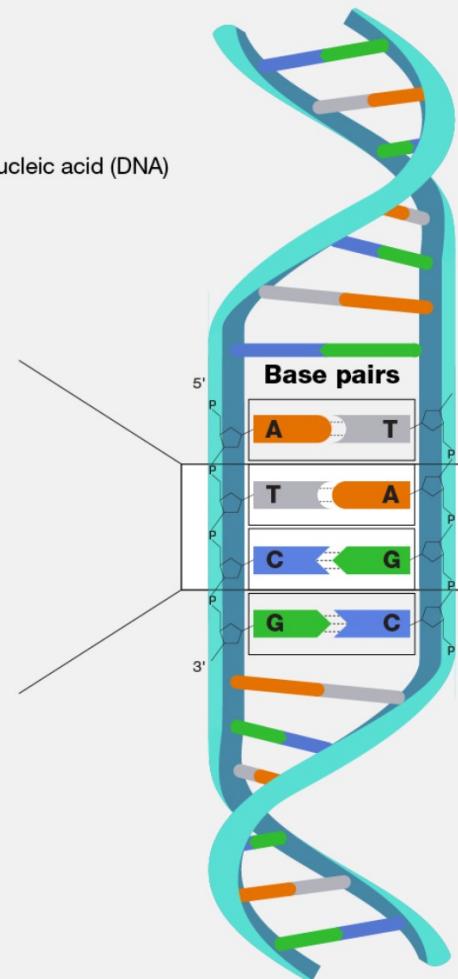
Adenin bildet 2 Wasserstoffbrücken mit **Thymin**, **Guanin** 3 Wasserstoffbrücken mit **Cytosin**

Zur Erinnerung: Basenpaarung

Base pairs



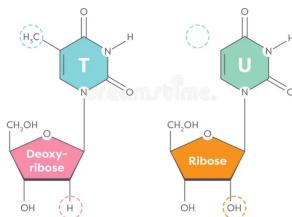
Deoxyribonucleic acid (DNA)



DNA besteht aus **2 antiparallelen Deoxyriboseketten**. Die 2'-Deoxyribosemoleküle sind via Phosphodiesterbindungen zwischen dem 5'- und dem 3'-Kohlenstoffatom (C) verknüpft. Am **1'C jedes Zuckers** befindet sich eine von vier Basen: **Adenin**, **Guanin**, **Thymin**, **Cytosin**.

Adenin bildet 2 Wasserstoffbrücken mit Thymin, Guanin 3 Wasserstoffbrücken mit Cytosin

RNA hat Riboseketten (OH statt H am 2'C) und **dem Thymin fehlt** die **Methylgruppe** am C5 (= **Uracil**), was keinen Einfluss auf die Basenpaarung hat



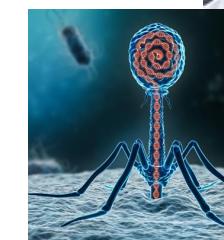
Woher kommt die CRISPR-Cas Genschere?

CRISPR = Clustered Regularly Interspaced Short Palindrome Repeat

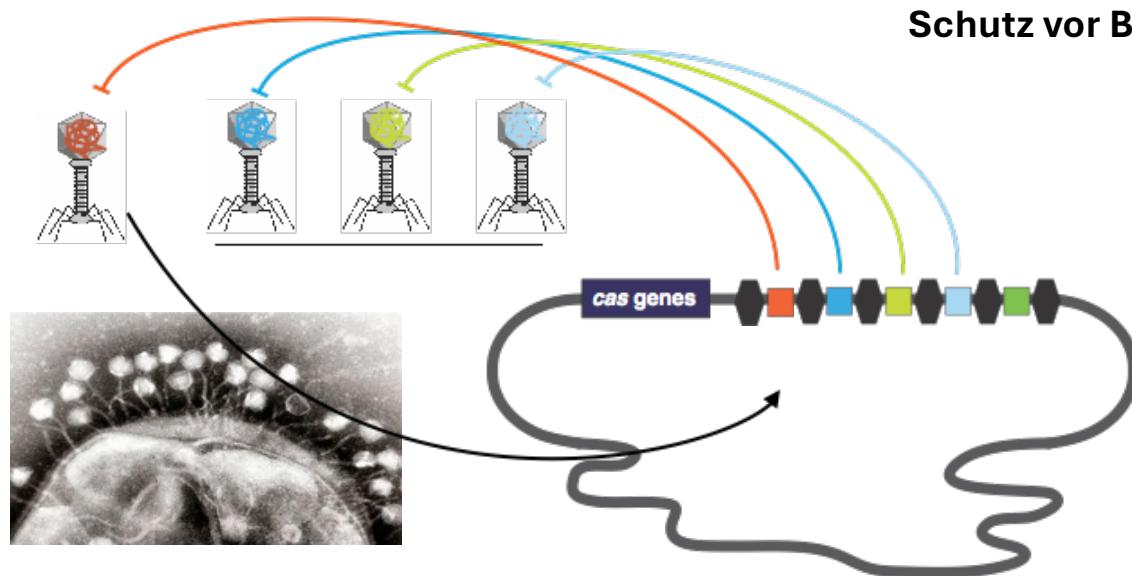
Cas = CRISPR associated protein

→ **Adaptives Immunsystem in Bakterien und Archaeen**

1993 entdeckte **Francisco J.M. Mojica** (Universidad Alicante) den CRISPR Lokus im Genom von Archaeen. 2005 schlug er dessen Rolle für die adaptive Immunität vor.

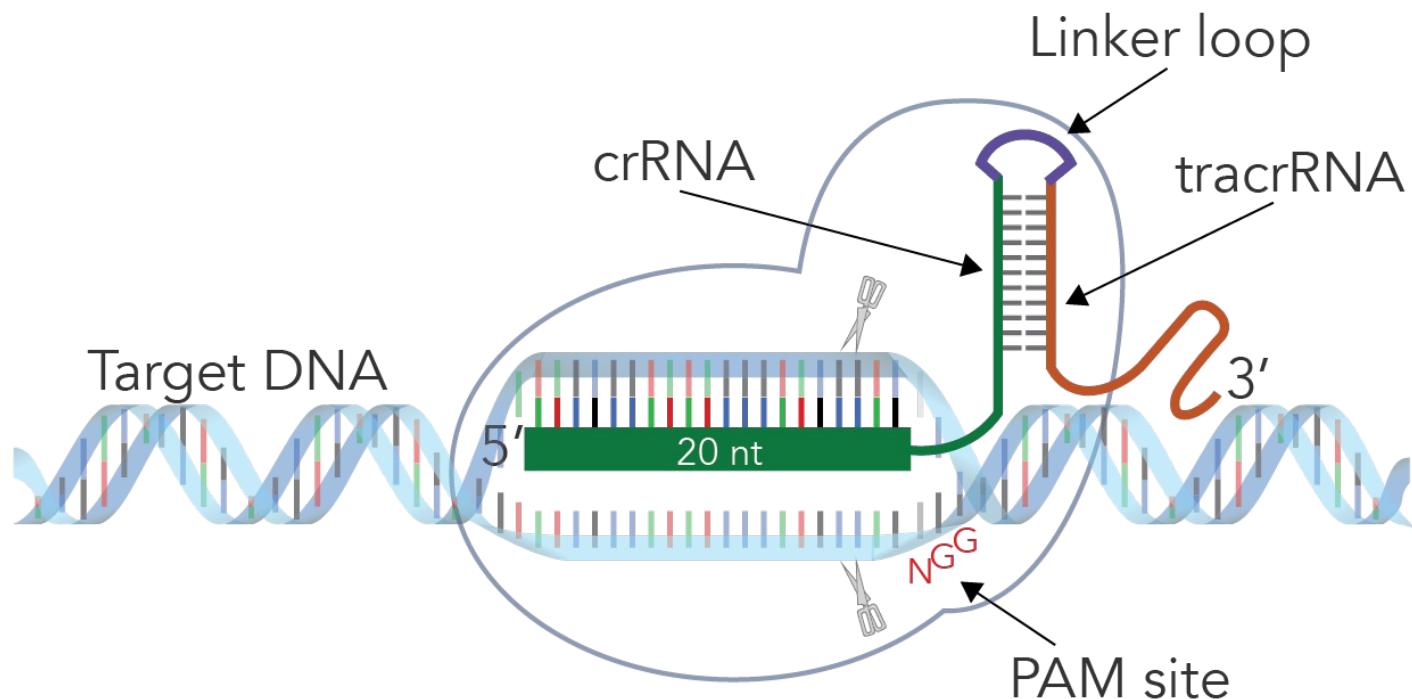


Schutz vor Bakteriophagen



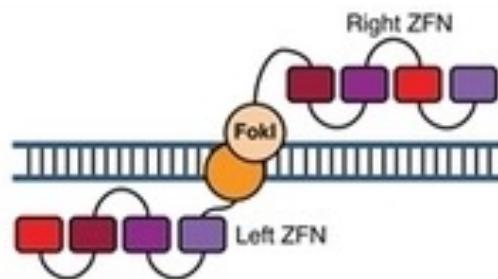
100% der Archaeen und
40% der Bakterien haben
ein CRISPR-Cas System

Eine programmierbare sequenzspezifische Genschere



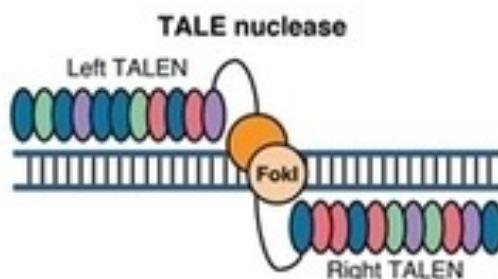
2 Komponenten: Cas9 Protein, crRNA+tracrRNA → gRNA

Genscheren im Vergleich



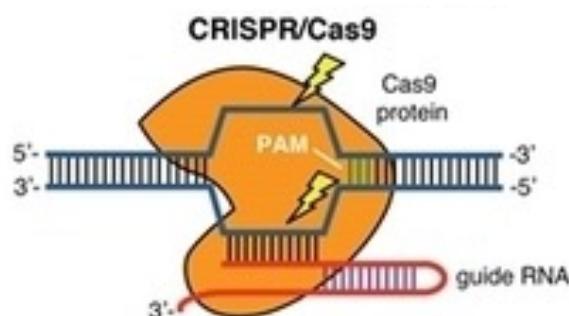
Zink Finger (ZNF) Nukleasen

- Entwickelt in 1990er Jahren
- Sehr effizient
- Kompliziertes Design mit Einschränkungen: jeder ZNF erkennt 3 Basen
Nicht für alle 3-Basen Kombinationen gibt es spezifische ZNF
- Teuer, jede Anwendung braucht eigenes Protein



TALENs (Transcription Factor-Like Effector Nucleases)

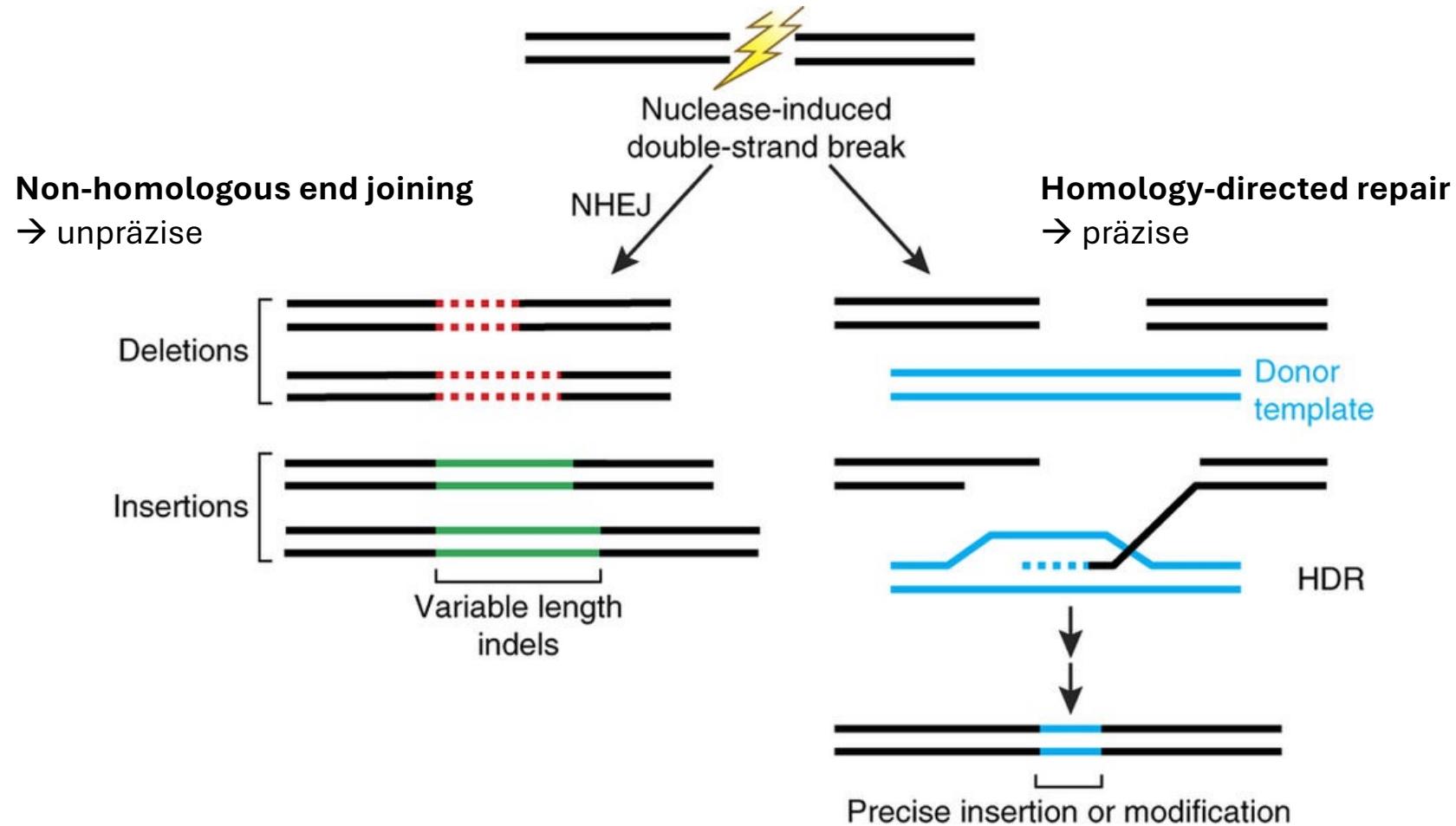
- Entwickelt 2011
- Einfaches, modulares Design: jedes Modul erkennt 1 Base
- Teuer, jede Anwendung braucht eigenes Protein



CRISPR-Cas9

- Entwickelt 2012
- Einfaches Design: Spezifität durch Watson-Crick Basenpaarung zwischen gRNA und Zielsequenz
- Kleine Einschränkung: braucht PAM Motif (NGG)
- Billig und schnell: das Protein bleibt unverändert, jede neue Anwendung braucht nur eine angepasste gRNA

Genomeditierung braucht mehr als eine Schere



Genomeditierung braucht mehr als eine Schere

Benötigte Elemente:

- **Single Guide RNA** (gRNA), deren 5'-Ende komplementär zur Ziel-DNA-Sequenz ist.
- **Protein Cas9**: Das „Scherenprotein“ (= Nuklease)
- **Template DNA** mit homologen Enden zum Zielgen, falls wir präzise editieren wollen (= **Knock in**)

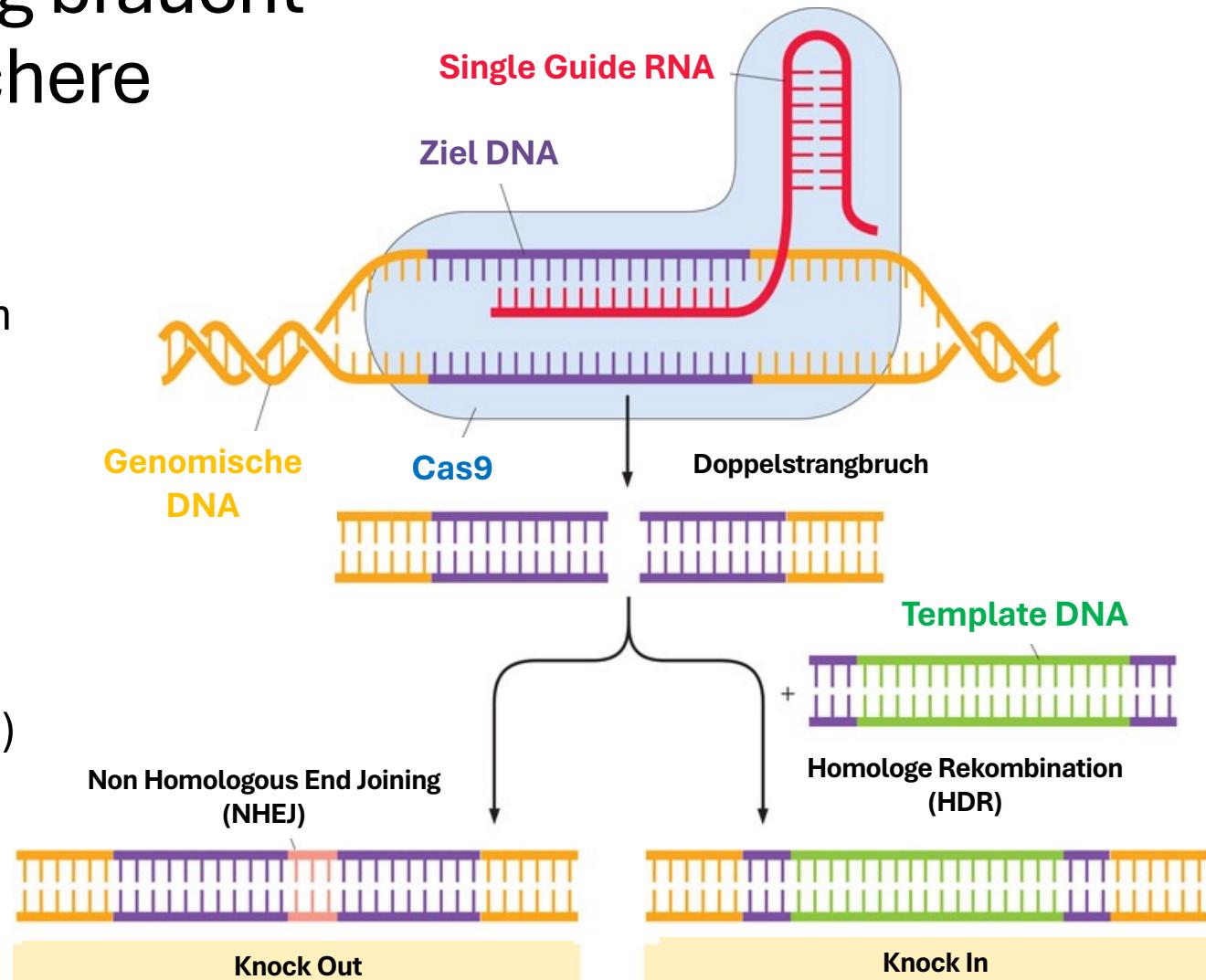
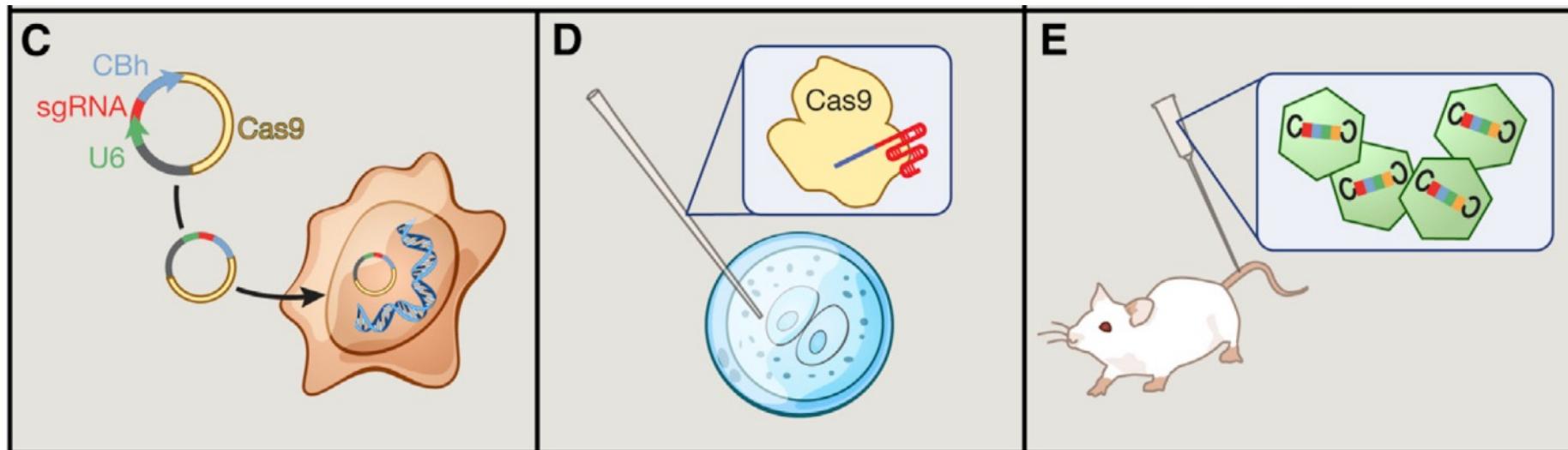


FIGURE 7.6 Wiser, CRC Editions, 2023

Einschleusemethoden um Cas9/gRNA Effektorkomplexe in der Forschung zu benutzen

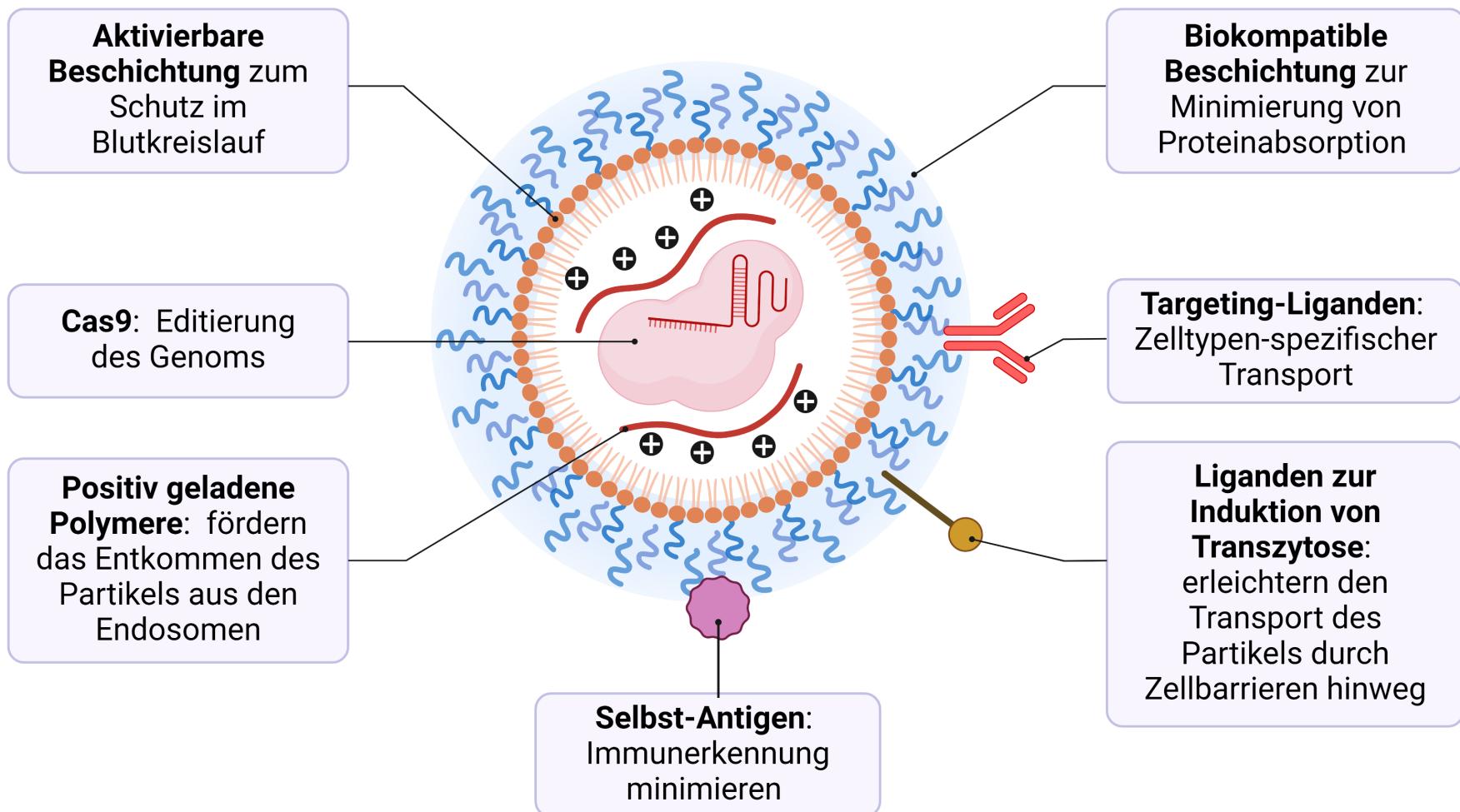


Plasmidvektoren, die für Cas9 und die gRNA kodieren, werden in Zellen gebracht durch Transfektion oder Elektroporation

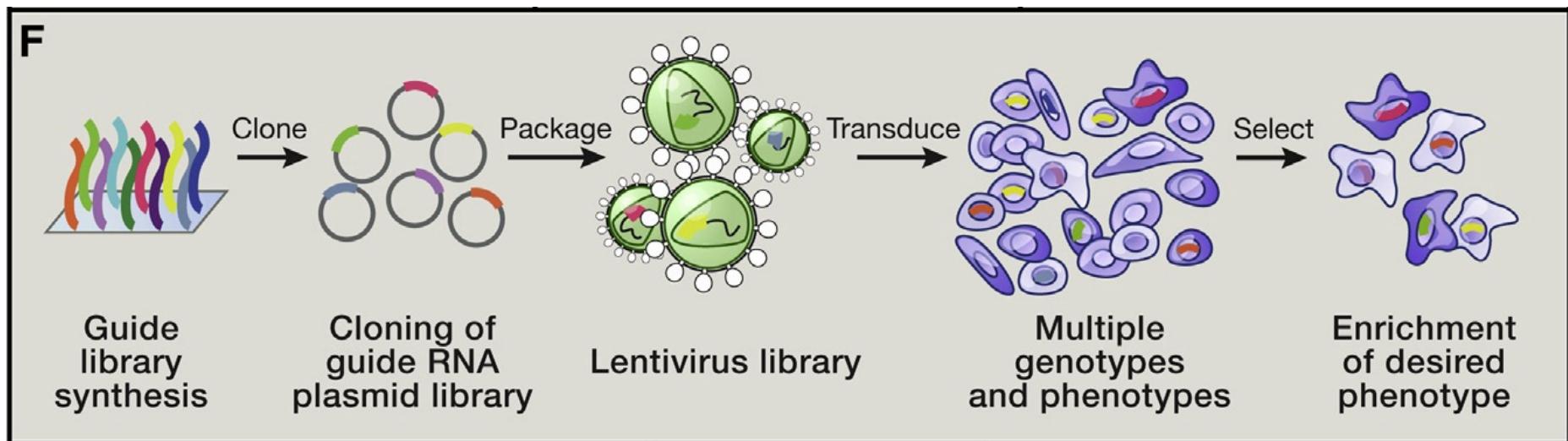
Rekombinantes Cas9 Protein und synthetische gRNA werden *in vitro* zum **aktiven Cas9/gRNA Komplex** assembliert und in die Zellen eingeschleust (Injektion, Transfektion oder Elektroporation)

Virale Vektorsysteme (Lentiviren, Adenoviren, AAV), die für Cas9 und gRNA kodieren, werden benutzt um CRISPR-Cas in Mäusen anzuwenden.

Entwicklung von Nanopartikeln als „Delivery“-Vehikel für medizinische Anwendungen



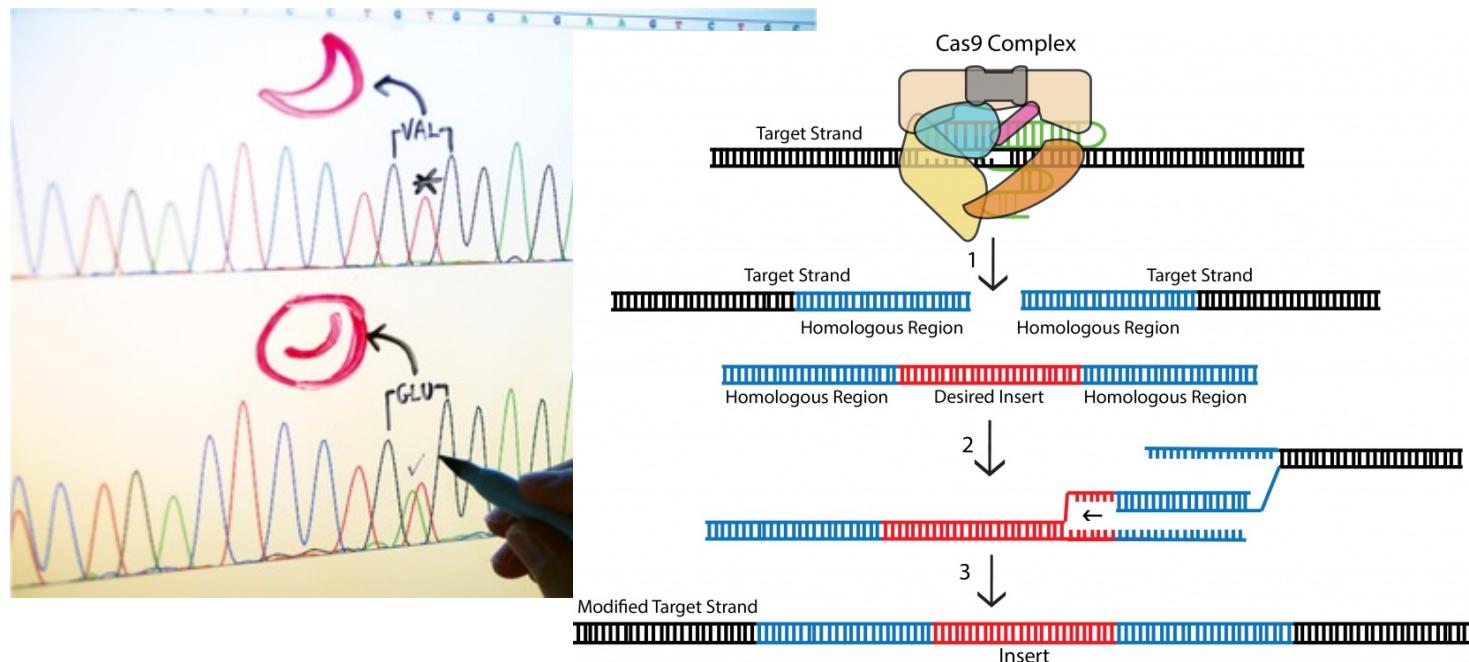
Typische Forschungsanwendung: CRISPER-Cas Knockout Screen



Hsu, Lander & Zhang, Cell 2014

- Produktion einer lentiviralen gRNA Bibliothek mit gRNAs gegen jedes bekannte Gen im Genom. Cas9 Gen ebenfalls im Lentivirus kodiert.
- Zellen mit geeignetem Reportersystem, das einfache Detektion des gesuchten Phänotyps erlaubt (z.B. Fluoreszenz Readout → FACS)
- Transduktion der Reporterzellen mit der lentiviralen Bibliothek
- Selektion der Zellen mit dem gewünschten Phänotyp
- Deep Sequencing der DNA der „positiven“ Zellen → identifiziert Gene, die zum selektierten Phänotyp beitragen.

Präzise Veränderungen im Genom bedingen Homology Directed Repair (HDR)



HDR ist in vielen experimentellen Systemen (z.B. somatische Säugerzellen) ineffizient und deshalb eine der technischen Limitierungen beim Genome Editing.

→ Grosse Anstrengungen die HDR Effizienz zu erhöhen: Donor Template Optimierung, small molecule drugs, etc. Fast alles empirisch, oft „trial and error“.

Strategie zur Verbesserung der Spezifität

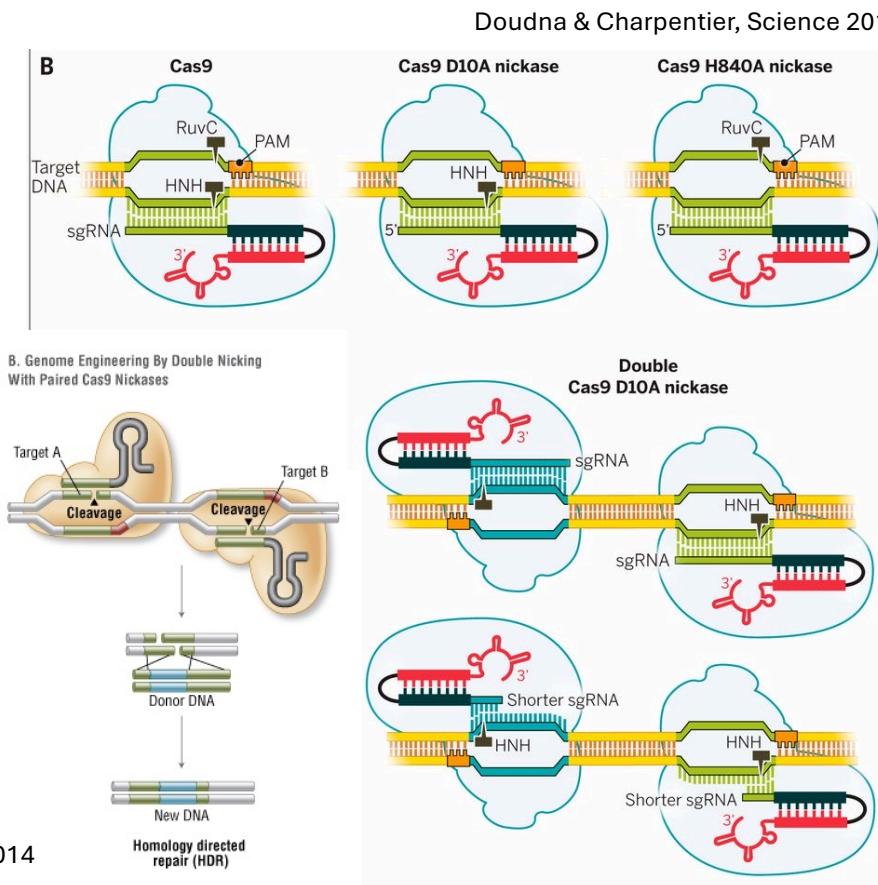
Für medizinische Anwendungen sind keine off-target DNA Schnitte tolerierbar → höhere Spezifität durch Kombination von zwei Cas9/gRNA Komplexen die je nur einen DNA Strang schneiden (Double Nicking Strategy)

Die D10A Mutation inaktiviert die Endonukleaseaktivität der RuvC Domäne, H840A inaktiviert die HNH Domäne

Der DNA Strang wird nur ganz durchtrennt, wenn beide Cas9/gRNA Komplexe unabhängig voneinander an die nahe beieinander liegenden Zielsequenzen binden
→ reduziert off-target Schnitte

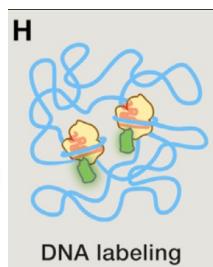
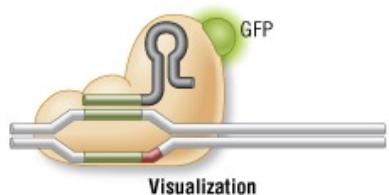
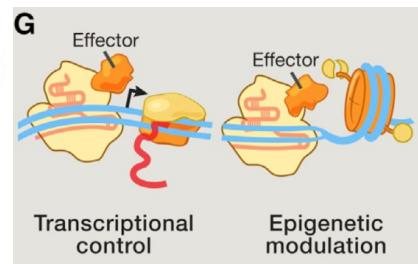
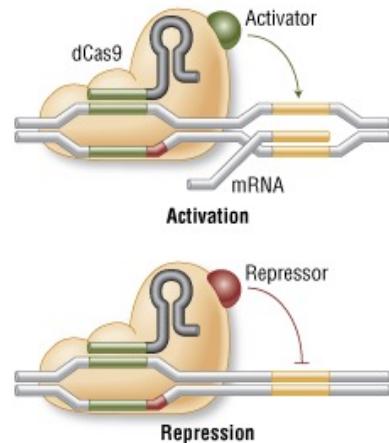
Versetzte Einzelstrangschnitte erhöhen zudem die HDR Effizienz.

Hsu, Lander & Zhang, Cell 2014

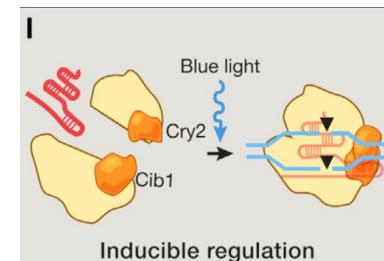


CRISPR-Cas Varianten: von der Schere zum Multifunktionswerkzeug

Lokalisierung eines Proteins an eine bestimmte Stelle im Genom mit einer nuklease-inaktiven Cas9 Variante

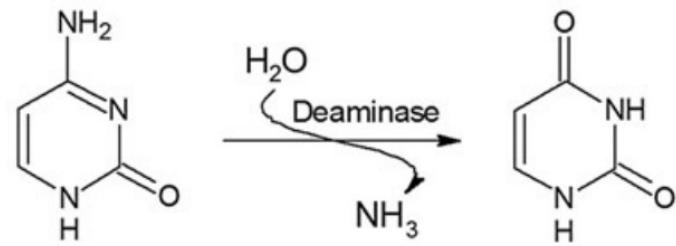


Chemisch oder
optisch induzierbare
Systeme (Split Cas9)



CRISPR-Cas Varianten: von der Schere zum Multifunktionswerkzeug

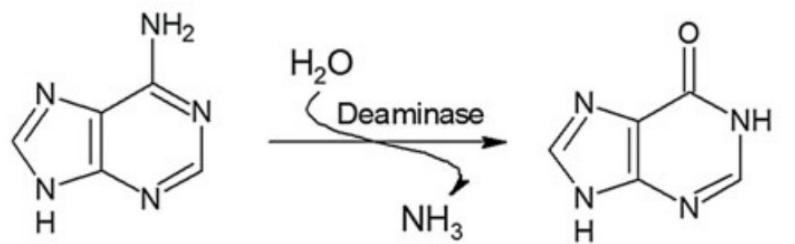
Base editing – Editierung einzelner Basenpaare



Cytosin
(Cytidin)

Enzym:

Cytosin Deaminase



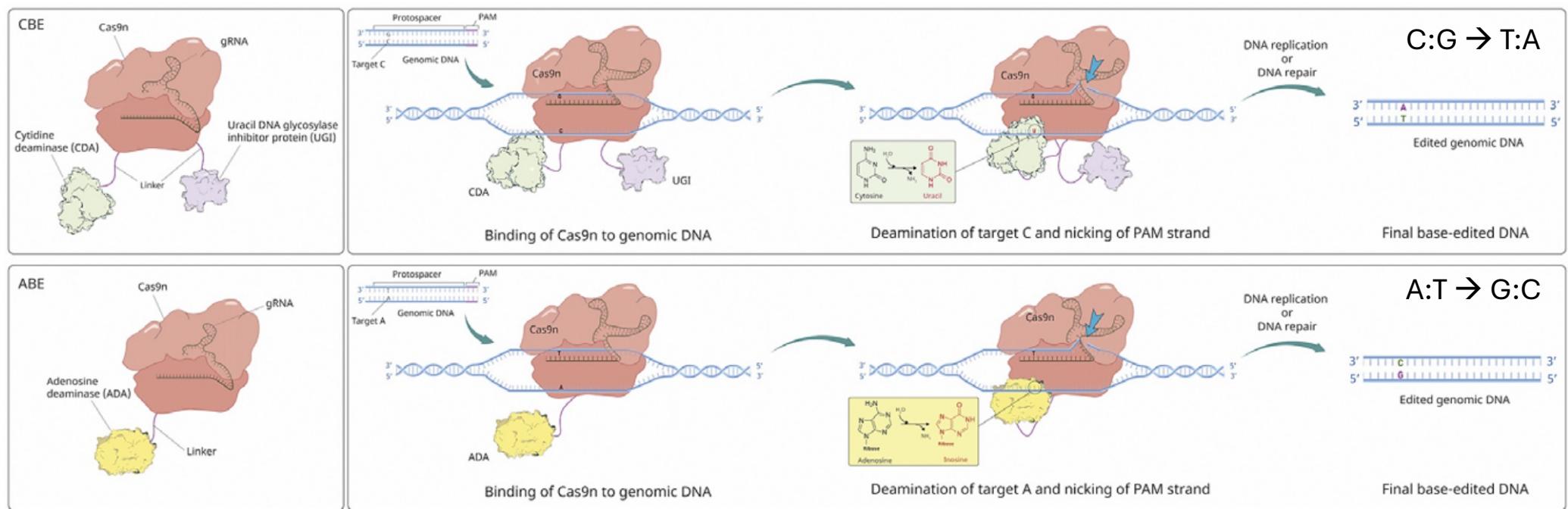
Adenin
(Adenosin)

Adenin Deaminase

CRISPR-Cas Varianten: von der Schere zum Multifunktionswerkzeug



Base editing – Editierung einzelner Basenpaare



Cetin et al. (2025) Expert Reviews in Molecular Medicine, 27, e16, 1–33

<https://doi.org/10.1017/erm.2025.10>

Vorteil: Präziser, da kein DSB (nur SSB) → minimiert Risiko für ungewollte Deletionen/Insertionen
Nachteil: Kann nur 1 Basenpaar editieren

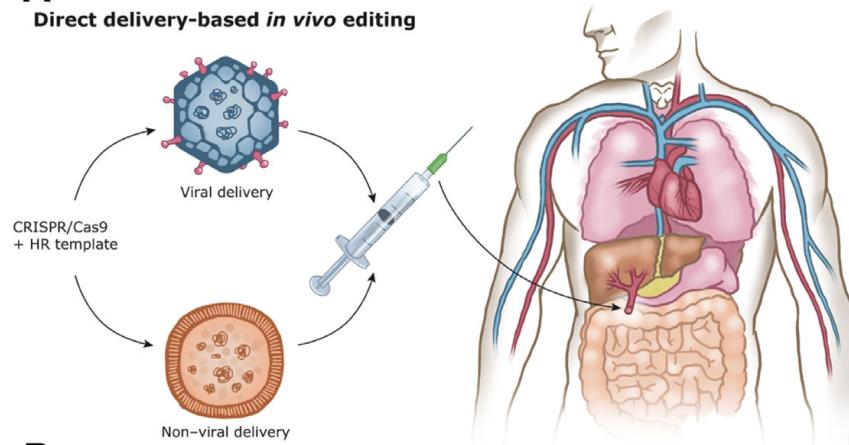
Medizinische Anwendungsbeispiele



In vivo versus *ex vivo* Genome Editing

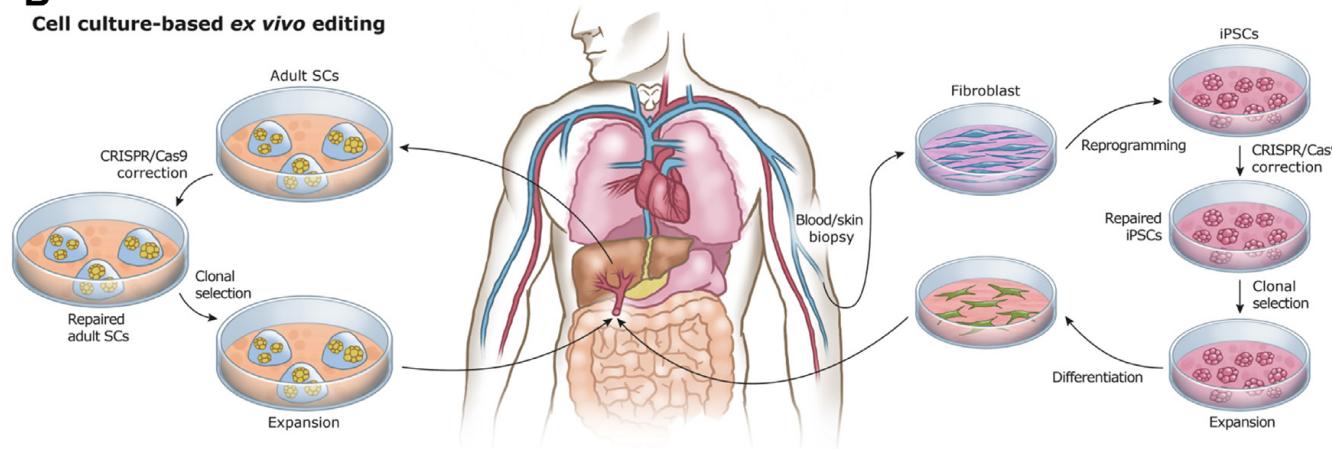
A

Direct delivery-based *in vivo* editing

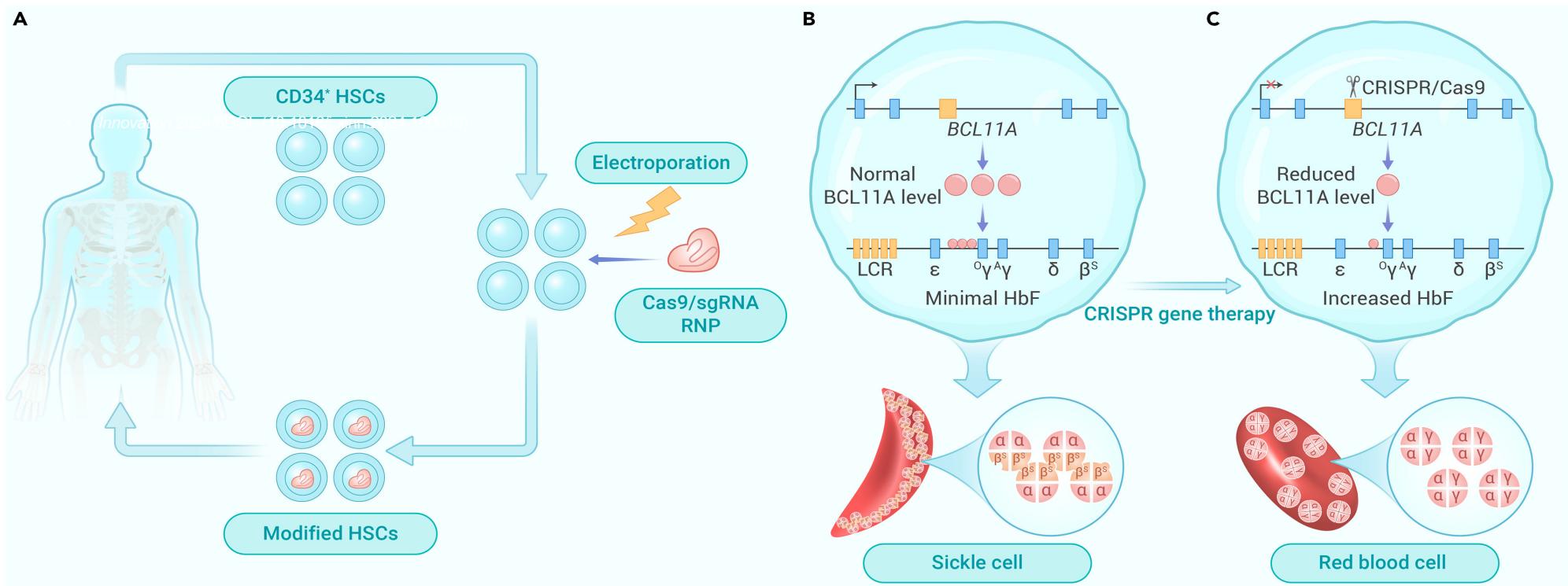


B

Cell culture-based *ex vivo* editing



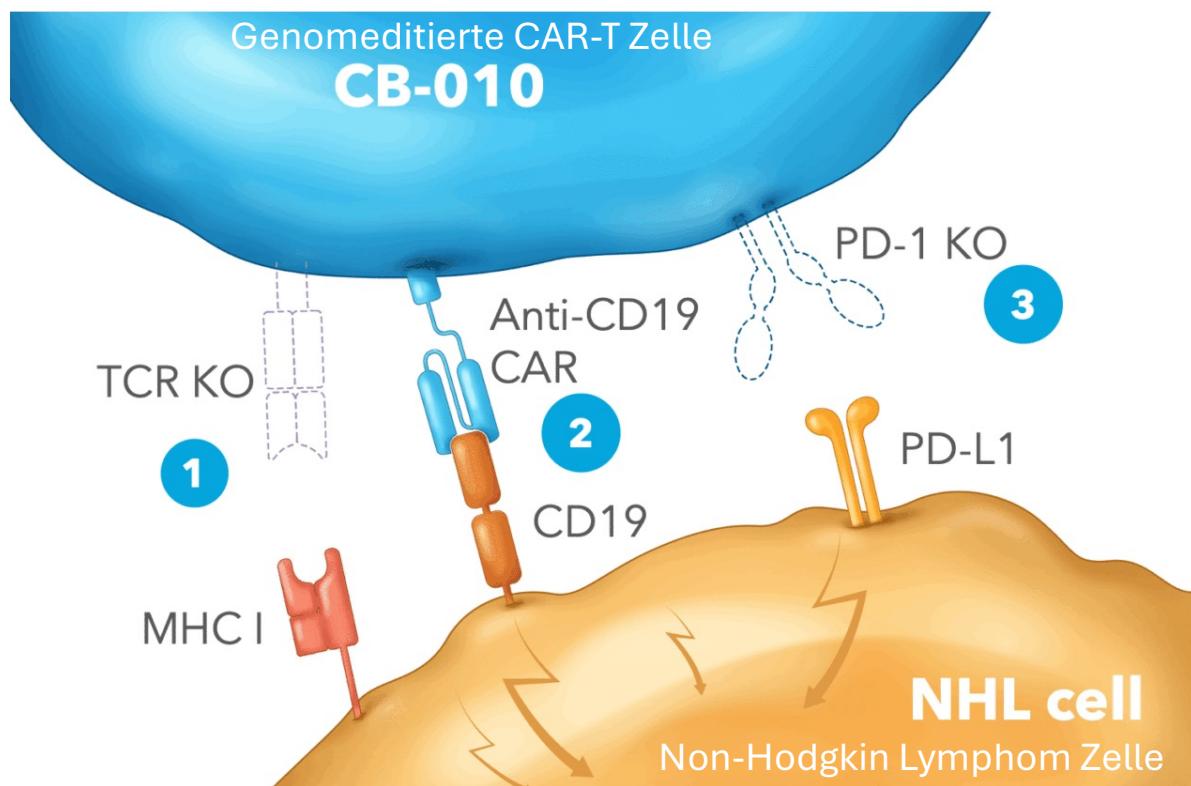
Casgevy – die erste CRISPR/Cas9 Genomeditierungstherapie



Innovation 2024 5 DOI: (10.1016/j.xinn.2024.100619)

Sichelzellanämie (Mutation im β-globin Gen): Inaktivierung einer Bindungsstelle für einen Enhancer des BCL11A Gens → Weniger BCL11A Protein → Aktivierung des fötalen γ-globin Gens → Produktion des fötalen Hämoglobins (ααγγ Tetramer) kompensiert funktionell das defekte postnatale Hämoglobin (ααββ Tetramer).

Klinische Versuche mit editierten CAR-T Zellen um B-Zell Leukämien zu behandeln



Caribou Biosciences hat CAR-T Zellen produziert (CB-010), die spezifisch CD19-positive Lymphomzellen killen.

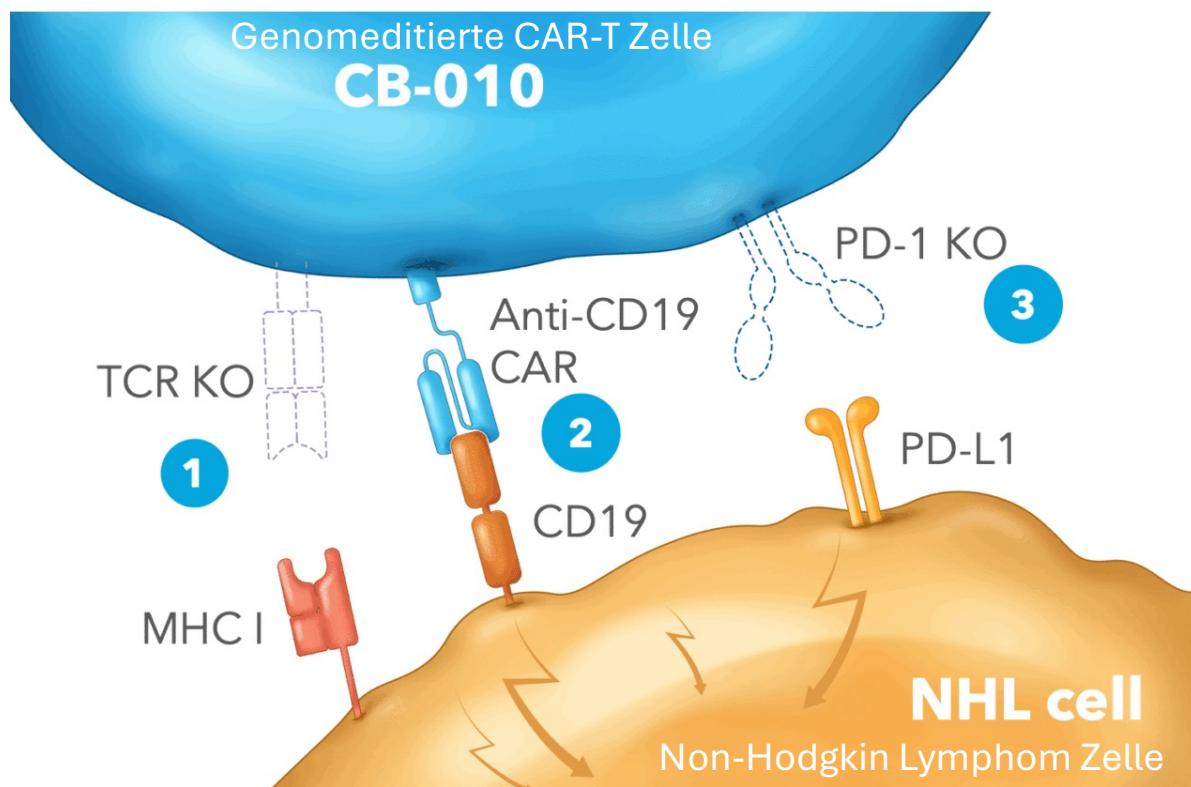
Drei Gene wurden verändert:

- 1.) **TCR knockout** verhindert, dass diese Zellen von einem Donor die Zellen des Patienten attackieren.
- 2.) **Expression** des CD19-bindenden Rezeptors (Anti-CD19 CAR) lässt die CAR-T-Zellen an CD19-Antigen präsentierende Non-Hodgkin-Lymphom-Zellen binden.
3. **PD-1 knockout** verhindert, dass die NHL Zellen via PD-L1 die T Zellen in ihrer Killeraktivität abbremsen können

Caribou is developing differentiated, off-the-shelf CAR-T cell therapies, such as CB-010—a first-line, off-the-shelf cancer immunotherapy to get rid of the PD-1 checkpoint through genome editing.

Aus *Genetic Engineering & Biotechnology News* (8.6.2023)

Klinische Versuche mit editierten CAR-T Zellen um B-Zell Leukämien zu behandeln



Caribou Biosciences hat CAR-T Zellen produziert (CB-010), die spezifisch CD19-positive Lymphomzellen killen.

Bisherige Resultate der klinischen Studien:

- + **Sehr gute initiale Response**
- **Die CAR-T Zellen haben in einigen Patienten nicht lange überlebt → keine Dauerhafte Heilung, Lymphomzellen beginnen erneut zu wuchern**

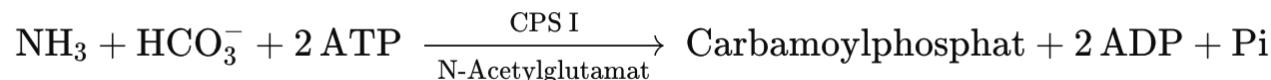
Caribou is developing differentiated, off-the-shelf CAR-T cell therapies, such as CB-010—a first-line, off-the-shelf cancer immunotherapy to get rid of the PD-1 checkpoint through genome editing.

Aus *Genetic Engineering & Biotechnology News* (8.6.2023)

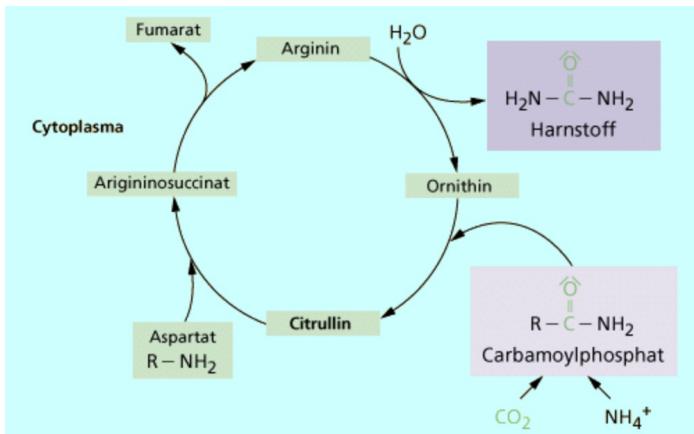
Personalisierte CRISPR Therapie für ein Baby mit CPS1 Defizienz

Erste *in vivo* Anwendung einer CRISPR Base Editing Therapie. Mittels Lipid-Nanopartikel wurde der Base Editor **in die Leber** eingeschleust.

Erste personalisierte CRISPR Therapie: Eine extrem seltene Mutation beider Allele des CPS1 Gens inaktiviert das Enzym Carbamoylphosphat Synthetase 1.



Harnstoffzyklus: In den Mitochondrien der Leberzellen wandelt CPS1 toxischen Ammoniak (aus dem Aminosäureabbau) zu Carbamoylphosphat um, welches weiter zu Harnstoff verstoffwechselt wird.



CPS1 Defizienz → Ammoniak Akkumulation im Blut und Gehirn
→ Tod wegen Hirntoxizität (= Ammoniak-Enzephalopathie) und Leberversagen

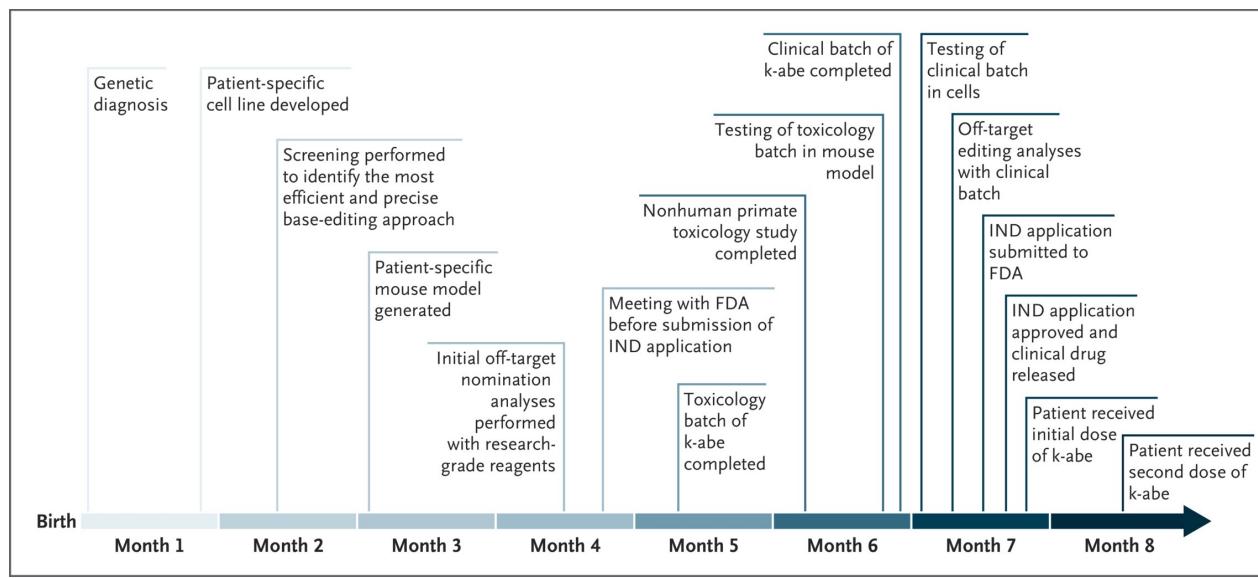
Bisherige Behandlung:

- Eiweissarme Diät
- Ammoniakentfernung durch Hämodialyse („Blutwaschen“)
- Verabreichung von Stickstoff bindenden Substanzen

Personalisierte CRISPR Therapie für ein Baby mit CPS1 Defizienz

Erste in vivo Anwendung einer CRISPR Base Editing Therapie. Mittels Lipid-Nanopartikel wurde der Base Editor **in die Leber** eingeschleust.

Erste personalisierte CRISPR Therapie: Eine extrem seltene Mutation beider Allele des CPS1 Gens inaktiviert das Enzym Carbomylphosphat Synthetase 1.



Schnelle Entwicklung der Therapie:

- CPS1 Defekt bei der Geburt diagnostiziert
- 2 Monate später hatte man bereits ein Mausmodell generiert, um den Base Editor zu testen
- Safety Tests (Off-Target, Toxikologie) innerhalb weniger Monate
- FDA approval nach nur 7 Monaten
- Erste Behandlung im Alter von 7 Monaten
- Zweite Behandlung 3 Woche später

Personalisierte CRISPR Therapie für ein Baby mit CPS1 Defizienz

Erste *in vivo* Anwendung einer CRISPR Base Editing Therapie. Mittels Lipid-Nanopartikel wurde der Base Editor **in die Leber** eingeschleust.

Erste personalisierte CRISPR Therapie: Eine extrem seltene Mutation beider Allele des CPS1 Gens inaktiviert das Enzym Carbomylphosphat Synthetase 1.

Genetik: Die Krankheit wird rezessiv vererbt (= nur krank wenn beide Allele defekt). Korrektur eines Allels reicht, um gesund zu werden.

Beim Patienten KJ: Das paternale Allel hat eine **Frameshift Mutation** → nicht korrigierbar mit Base Editor
Das maternale Allel hat eine **Q335X Punktmutation**, die das Glutamin (Q) Codon 335 (**CAG**) in ein Stop (X) Codon (**TAG**) ändert

	330		340	
Q335 (CPS1 intakt):	...GAC CAG AAG CAG CAG CTG CAG ACC CTG TCC CTG CGC...			
	Asp Gln Lys Gln Leu Gln Thr Leu Ser Leu Arg			

X335 (CPS1 defekt):	...GAC CAG AAG CAG CAG CTG TAG ACC CTG TCC CTG CGC...	
	Asp Gln Lys Gln Leu Stop	



**Welchen Base Editor
brauchen wir?**

- A) Cytosin Base Editor
- B) Adenin Base Editor

Personalisierte CRISPR Therapie für ein Baby mit CPS1 Defizienz

Erste *in vivo* Anwendung einer CRISPR Base Editing Therapie. Mittels Lipid-Nanopartikel wurde der Base Editor **in die Leber** eingeschleust.

Erste personalisierte CRISPR Therapie: Eine extrem seltene Mutation beider Allele des CPS1 Gens inaktiviert das Enzym Carbomylphosphat Synthetase 1.

...Asp Gln Lys Gln Leu **Stop**

X335 (CPS1 defekt): 5' GAC CAG AAG CAG CTG **TAG** ACC CTG TCC CTG CGC 3'
3' CTG GTC TTC GTC GAC **ATC** TGG GAC AGG GAC GCG 5'

Adenin Base Editor (ABE)

- Adenosin Deaminierung → Inosin
- Schnitt des gegenüberliegenden DNA Strangs → DNA Reparaturenzyme entfernen einige Nukleotide und synthetisieren die lädierte Region neu, komplementär zum intakten Strang
- Inosin basenpaart mit Cytidin → A:T Basenpaar zu G:C Basenpaar editiert

Deamination of target A and nicking of PAM strand

Q335 (CPS1 intakt): 5' GAC CAG AAG CAG CTG **CAG** ACC CTG TCC CTG CGC 3'
3' CTG GTC TTC GTC GAC **GTC** TGG GAC AGG GAC GCG 5'
...Asp Gln Lys Gln Leu **Gln** Thr Leu Ser Leu Arg ...

Personalisierte CRISPR Therapie für ein Baby mit CPS1 Defizienz

Evidenz, dass die Behandlung von Baby KJ erfolgreich war:

- 1. Stabile Ammoniakwerte** im Normbereich über Wochen ohne pharmakologische Unterstützung 
- 2. Anstieg von Citrullin und Arginin** im Plasma → Harnstoffzyklus aktiviert 
- 3. Messbare CPS1-Aktivität** in Leberbiopsie 
- 4. Normalisierung der Eiweißtoleranz** (Patient kann normale Nahrung essen) 



Zu früh für abschliessendes Fazit, die Behandlung fand im Februar/März 2025 statt

Somatische vs. Keimbahn Gentherapie

Somatisch

- Genomeditierung in spezifischem Gewebe/Organ, in welchem sich die Krankheit manifestiert
 - ...oder in Stammzellen ausserhalb der Keimbahn (z.B. Blutstammzellen, Muskelstammzellen)
- Die Modifikation wird nicht weiter vererbt

In vielen Ländern grundsätzlich erlaubt, aber bewilligungspflichtig

Keimbahn (Germline)

- Genomeditierung in Keimbahnzellen (Spermium, Eizelle oder deren Vorläuferzellen)
 - ...oder im ganz frühen Embryo
- (fast) alle Zellen des Individuums sind genetisch verändert
- Die Modifikation wird auf die Nachkommen übertragen

In den meisten Ländern verboten (inklusive CH)

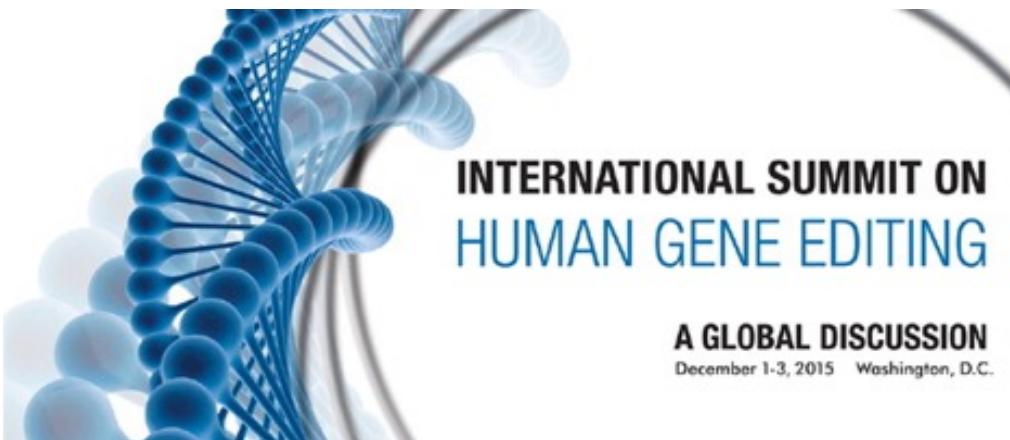
Genomeditierung in der Keimbahn wirft grosse ethische Fragen auf

Eine globale Debatte ist dringend nötig!

“....Fortschritt in der Wissenschaft und Technologie verlaufen oft schneller als die relevanten ethischen, legalen und moralischen Diskurse” (Gabrielle et. al)



Reaktion der Wissenschaft



Einberufen durch:

- The Chinese Academy of Sciences
- The Royal Society (UK)
- U.S. National Academy of Sciences
- U.S. National Academy of Medicine

- Research applications: OK with appropriate regulatory and ethical oversight
- Somatic gene therapy: OK with appropriate evaluation and regulation
- Germline genome editing for clinical use: not OK and should not proceed unless
 - there is widespread societal consensus
 - safety and efficacy issues have been resolved
- *Need for an ongoing forum and discussions*

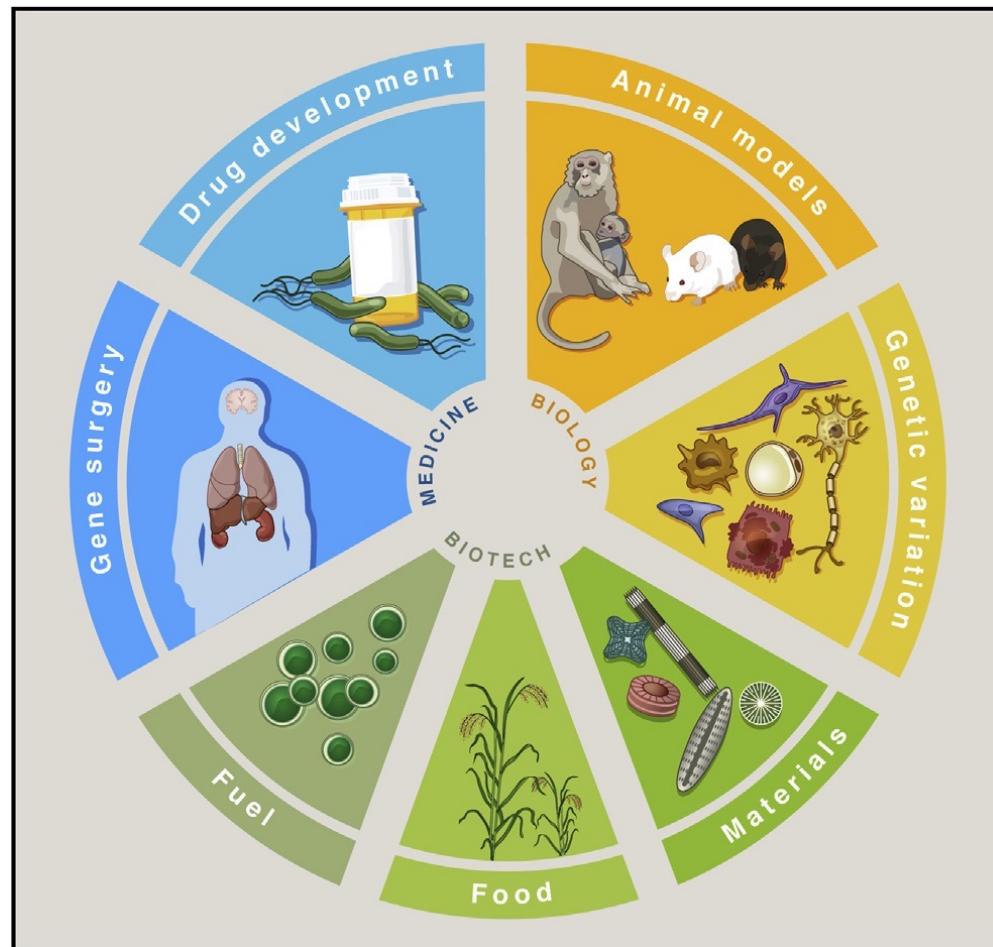
...und trotzdem: die „CRISPR babies“ Lulu und Nana

Am 26. November 2018 gab Jiankui He (Southern University of Science and Technology, Shenzhen) der Presse bekannt, es seien zwei gesunde Zwillinge geboren, in deren Keimbahn (im 2-Zell-Stadium Embryo) sein Team den CCR5 Rezeptor inaktiviert habe, was immun gegen HIV Infektion macht.



- Sofortige und weltweite Verurteilung des „verantwortungs- und sinnlosen Humanexperiments“ durch die Forschergemeinde
- Es gab keine Bewilligungen für diese Experimente, der Forscher wurde entlassen und musste für 3 Jahre ins Gefängnis
- Das „Experiment“ wurde nicht in einer Fachzeitschrift publiziert → wissenschaftliche Analyse schwierig/unmöglich.
- Die Kinder scheinen gesund zu sein, aber genaue Angaben zum Gesundheitsstatus und Langzeitfolgen, sowie Genomdaten sind nicht erhältlich

CRISPR-Cas hat Anwendungsmöglichkeiten in praktisch allen Bereichen der “Life Sciences”



Hsu, Lauer & Zhang, Cell 2014

Gezielte Züchtung (Pflanzen und Tiere)

- Konventionelle Züchtung beruht auf Selektion, da Mutationen / Rekombination nicht gezielt beeinflussbar
- Bisherige genmodifizierende Methoden hinterlassen im Genom zusätzlich zur gewünschten Veränderung weitere DNA Sequenzen (z.B. Selektionsmarker)
- CRISPR-Cas ermöglicht “narbenfreie“ gezielte genetische Modifikation → Precision Breeding

Beispiel:



Aberdeen Angus (beef) cattle
Naturally hornless to a specific
mutation in the *polled* gene



Holstein (and other dairy) cattle
Each year, 1000s of animals are
dehorned for safety reasons

Kürzlich in den Schweizer Medien: „Eber ohne Hoden“

RESEARCH ARTICLE | GENETICS | 8

PNAS

Knockout of the HMG domain of the porcine SRY gene causes sex reversal in gene-edited pigs

Stefanie Kurtz , Andrea Lucas-Hahn , Brigitte Schlegelberger, , and Björn Petersen  [Authors Info & Affiliations](#)

Edited by R. Michael Roberts, University of Missouri, Columbia, MO, and approved November 23, 2020 (received for review May 5, 2020)

December 22, 2020 | 118 (2) e2008743118 | <https://doi.org/10.1073/pnas.2008743118>

- **Knockout** (= Inaktivierung) **des SRY Gens** mit CRISPR-Cas9 Komplexen, die in befruchtete Eizellen injiziert wurden
- Das SRY Gen (= Sex-determining region on the Y chromosome) ist ein Master-Regulator in Säugetieren für die männliche Geschlechtsentwicklung.
- SRY kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der in den noch undifferenzierten Gonadenzellen exprimiert wird und Gene aktiviert (z.B SOX9), welche die Differenzierung in Richtung männlicher Geschlechtsorgane stimulieren.



SRF Tagesschau 1.11.2025



NZZ am Sonntag, 2.11.2025

SRY Knockouts machen XY Tiere phänotypisch weiblich

RESEARCH ARTICLE | GENETICS | 8

PNAS

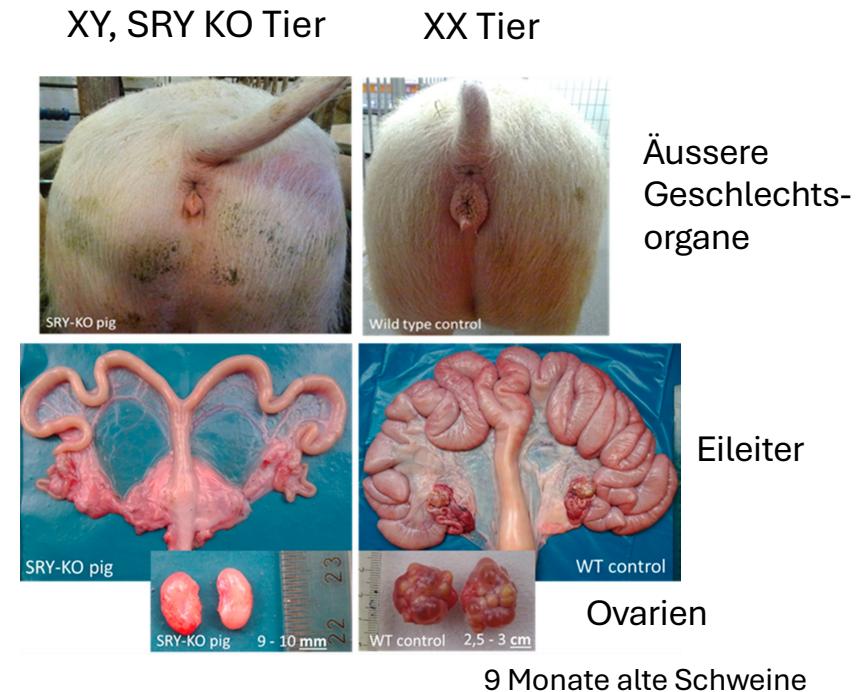
Knockout of the HMG domain of the porcine SRY gene causes sex reversal in gene-edited pigs

Stefanie Kurtz , Andrea Lucas-Hahn , Brigitte Schlegelberger, , and Björn Petersen  [Authors Info & Affiliations](#)

Edited by R. Michael Roberts, University of Missouri, Columbia, MO, and approved November 23, 2020 (received for review May 5, 2020)

December 22, 2020 | 118 (2) e2008743118 | <https://doi.org/10.1073/pnas.2008743118>

- **Knockout** (= Inaktivierung) **des SRY Gens** mit CRISPR-Cas9 Komplexen, die in befruchtete Eizellen injiziert wurden
- Das SRY Gen (= Sex-determining region on the Y chromosome) ist ein Master-Regulator in Säugetieren für die männliche Geschlechtsentwicklung.
- SRY kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der in den noch undifferenzierten Gonadenzellen exprimiert wird und Gene aktiviert (z.B SOX9), welche die Differenzierung in Richtung männlicher Geschlechtsorgane stimulieren.



- **Ohne SRY bilden sich Uterus, Eileiter und Vagina aus, aber die XY Tiere sind steril;** keine normale Oogenese
- **Weibliche Geschlechtsorgane bilden sich, entwickeln sich aber nicht vollständig**

SRY Knockouts sollen Kastration überflüssig machen

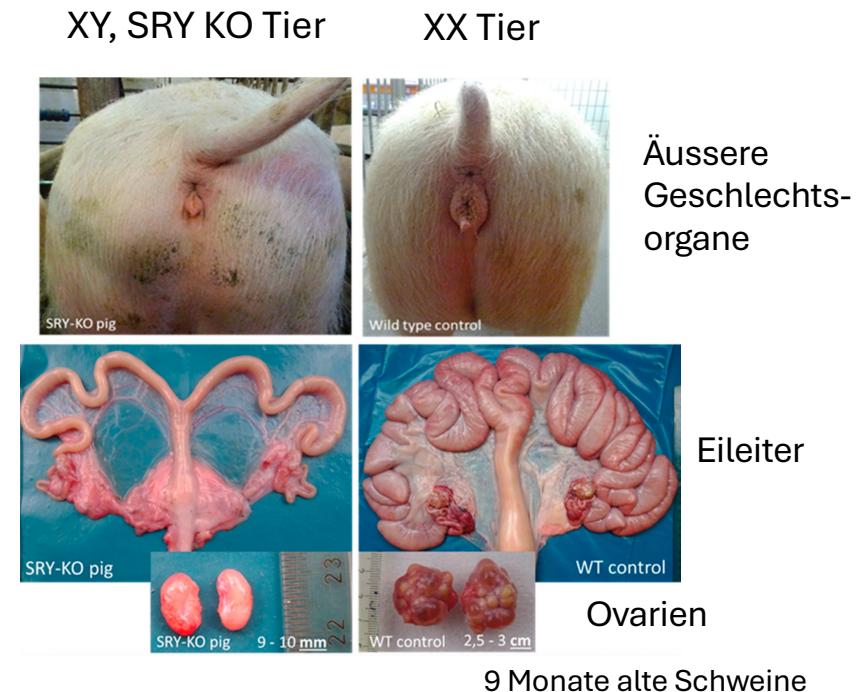
Wozu soll das gut sein?

- Eber bilden in den Leydig-Zellen der Hoden Androstenon (ein steroidales Pheromon; Testosteron Derivat), welches dem Fleisch den „Ebergeruch/-geschmack“ gibt
- Um dies zu verhindern, werden männliche Ferkel in der Schweinezucht kastriert
- SRY Knockout Tiere würden die Kastration überflüssig machen → „Verbesserung des Tierwohls“ (Leo Müller; Nationalrat und Suisag Verwaltungsratspräsident)

Kritik:

Da die XY SRY KO Tiere keine Spermien produzieren, muss der Knockout bei jeder *in vitro* Befruchtung (IVF) in allen XY-Zygoten wieder neu generiert werden. Vererbung geht nicht.

→ Kommerzielle Anwendung unwahrscheinlich, da zu aufwändig und zu teuer verglichen mit der heute gängigen künstlichen Befruchtung der Säue.



9 Monate alte Schweine

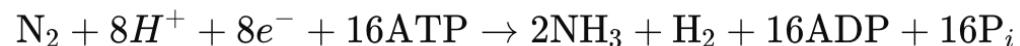
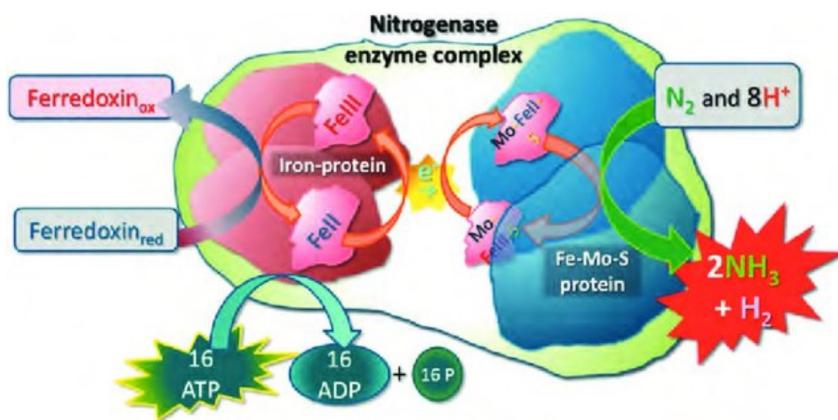
- **Ohne SRY bilden sich Uterus, Eileiter und Vagina aus, aber die XY Tiere sind steril; keine normale Oogenese**
- Weibliche Geschlechtsorgane bilden sich, entwickeln sich aber nicht vollständig

Der „Holy Grail“ der Pflanzenzüchtung: Pflanzen, die Stickstoff aus der Luft aufnehmen können

Cyanobakterien, einige Bodenbakterien (z.B. Azetobakter) und Archaeen, sowie Rhizobien („Wurzelknöllchenbakterien“ der Leguminosen) können Stickstoff (N_2) in Ammoniak (NH_3) umwandeln.

Pflanzen (ausser Leguminosen) und Tiere können das nicht. Ihnen fehlt ...

...der Nitrogenase Enzymkomplex:



Vorteile von N_2 fixierenden Nutzpflanzen:

- **Keine Stickstoff-Dünger mehr nötig** → 1-2% Reduktion der globalen CO_2 Emission und Energieverbrauch
- **Höhere Erträge auf nährstoffarmen Böden**
- **Reduzierte Umweltbelastung durch Dünger** (Nitrat in Gewässern, Lachgas [N_2O] in Atmosphäre)

Schwierigkeiten:

- **Nitrogenase funktioniert nur unter strikt anaeroben Bedingungen** → O_2 -geschützte Organellen
- **Benötigt Komplexe Metallcluster als Kofaktoren** → Entwicklung synthetischer, minimaler Nitrogenase Komplexe ohne solche Kofaktoren
- **Braucht viel ATP** → Das gibt's in Chloroplasten und Mitochondrien, wo aber O_2 hoch ist

Der „Holy Grail“ der Pflanzenzüchtung: Pflanzen, die Stickstoff aus der Luft aufnehmen können

Trends in Biotechnology



Volume 43, Issue 11, November 2025, Pages 2698-2708

Opinion

Towards establishing functional nitrogenase activities within plants

Fang Liu (刘芳)^{1 4}, Zehong Zhao (赵泽宏)^{1 2 4}, Alisdair R. Fernie³, Youjun Zhang (张有君)^{1 2}



Biotechnology | Research Article | 21 December 2023



Nitrogenase cofactor biosynthesis using proteins produced in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*

Authors: Katarzyna Dobrzańska, Ana Pérez-González , Carlos Echavarri-Erasun , Diana Coroian, Alvaro Salinero-Lanzarote, Marcel Veldhuizen, Dennis R. Dean, Stefan Burén  , Luis M. Rubio   | AUTHORS INFO & AFFILIATIONS

50 CellPress
OPEN ACCESS

Cell
Leading Edge

Perspective

De novo protein design—From new structures to programmable functions

Tanja Kortemme^{1,2,3,*}

¹Department of Bioengineering and Therapeutic Sciences, University of California, San Francisco, San Francisco, CA 94158, USA

²Quantitative Biosciences Institute, University of California, San Francisco, San Francisco, CA 94158, USA

³Chan Zuckerberg Biohub, San Francisco, CA 94158, USA

*Correspondence: tanjakortemme@gmail.com

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.12.028>

Ansatz 1: Die Rhizobien Symbiose mit Leguminosen auf andere Nutzpflanzen übertragen

Ansatz 2: Entwicklung eines synthetischen Enzymkomplexes (in Hefe) der N₂ zu NH₃ reduzieren kann und der dann auf Pflanzen übertragen werden kann

Kontinuierliche Fortschritte, aber noch ein weiter Weg zum Ziel

Zusammenfassung

- CRISPR-Cas ist ein **molekularbiologisches Werkzeug mit vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten** in allen Gebieten der Biologie
- CRISPR-Cas ist eines von vielen Beispielen dafür, dass grosse wissenschaftliche Durchbrüche weder planbar noch vorhersehbar sind → **Plädoyer für die freie Grundlagenforschung**
- Wozu wollen wir das Werkzeug benutzen? Welche Anwendungen sind wünschenswert oder nützlich, welche gefährlich oder ethisch bedenklich? → Ein **gesellschaftlicher Diskurs** ist notwendig, **verbindliche Regeln und Gesetze** müssen ausgearbeitet werden.





Danke für ihr
Interesse!

Fragen?

