

LMU LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Biologie, Dept I, Botanik • Prof. Dr. Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak!

Zur Erzeugung von Pharma-Proteinen in Pflanzen

Seniorenstudium 16. Juli 2007




Gesund durch Tabak



Icon Genetics AG, Research Centre Halle (Saale)
Icon Genetics AG, Research Centre Freising

Bayer Innovation



Gesund durch Tabak

Gliederung

Pflanzen sind anders: Unterschiede in der Biologie

Gentransfer bei Pflanzen: drei verschiedene Plattformen

- Zellkern
- Plastide
- virale Expression
- klassisch
- Magnicon®-Technologie

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Pflanzen sind anders

sie können nicht weglauen



Anpassung vor allem durch „sekundäre Pflanzenstoffe“:
Phenole, Alkaloide, Terpenoide, Flavonoide, Saponine

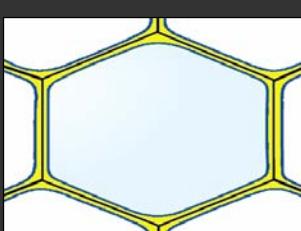
Pflanzen sind dem Chemiker weit überlegen;
Gentechnologie könnte dies noch verstärken

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Pflanzen sind anders

ihre Zellen sind unbeweglich



sie sind von einer Zellwand umgeben, die den benachbarten Zellen gemeinsam ist

die Zellwand (v.a. Zellulose) gibt der Pflanze Stabilität

wir nutzen sie als z.B. als Holz

Gentechnologie könnte diese Ressource besser nutzen

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Pflanzen sind anders

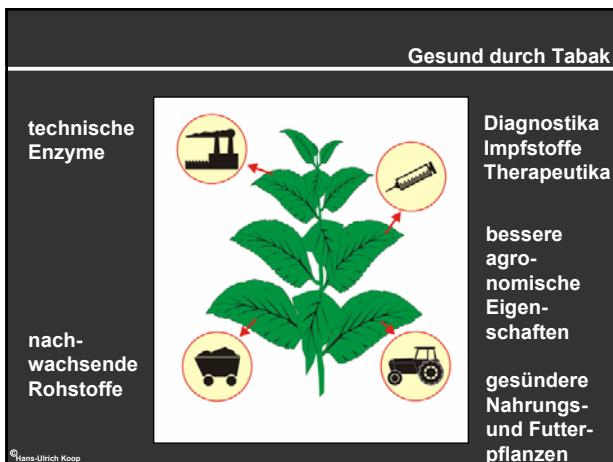
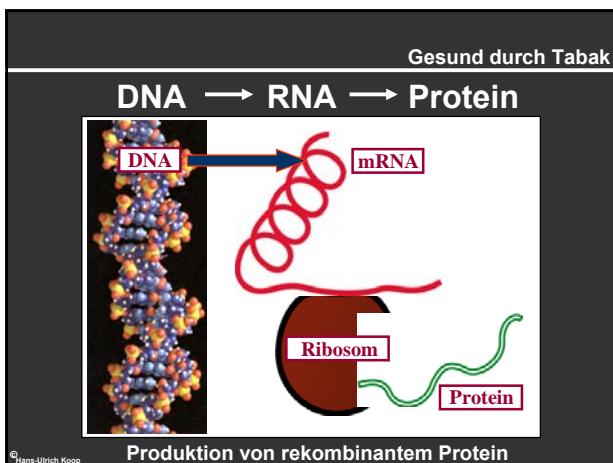
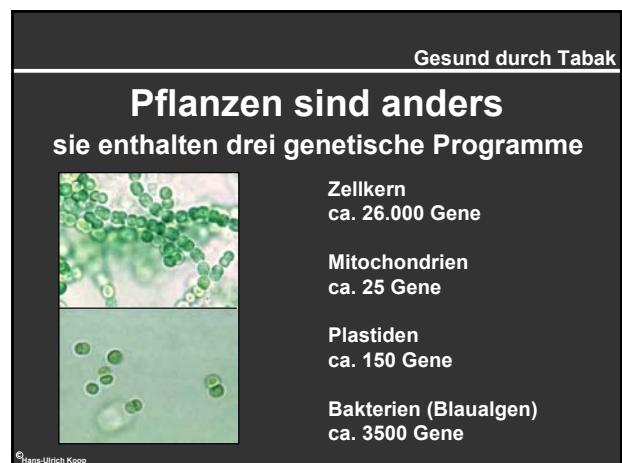
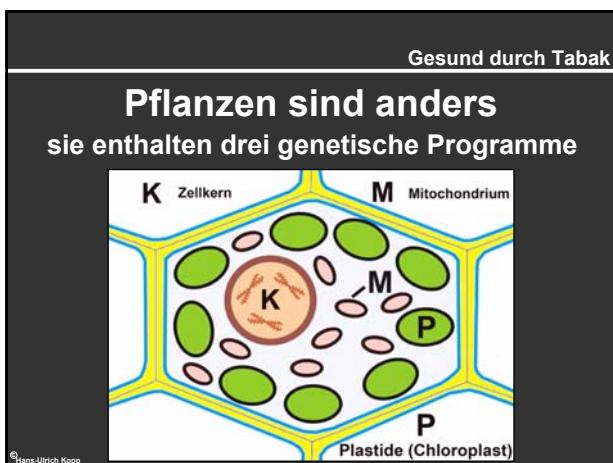
man kann von ihnen Stecklinge machen



Neubildung von Wurzeln
Neubildung von Sprossen
Neubildung von allen Geweben
und dies sogar aus einzelnen isolierten Zellen

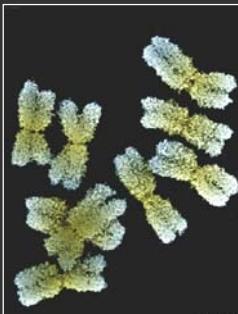
100 000ende „Pflanzen-Dollies“: technisch kein Problem

© Hans-Ulrich Koop



Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern



© Hans-Ulrich Koop

E G. Weinst

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern

Agrobacterium tumefaciens
tumormachendes Bodenbakterium



© Hans-Ulrich Koop

ein kleines Bakterium
macht es uns seit
Millionen von Jahren vor,
wie es geht

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern

Agrobacterium tumefaciens



© Hans-Ulrich Koop

Tumoren
durch bakterielle
Gentechnologie

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern

Agrobacterium tumefaciens

“Genetische Manipulation“ der Pflanzenzelle

Synthese von pflanzlichen
Wachstumshormonen → Wucherung

Synthese von Speicherstoffen, die vom
Agrobacterium verwertet werden können

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern

Agrobacterium tumefaciens
ein “geniales“ System

- Injektion von DNA (T-DNA) in die Pflanzenzelle
- Schutz von Abbau in der Pflanzenzelle
- gezielter Transport in den Zellkern
- Integration in die Kern-DNA
- Genschalter, die im Zellkern aktiv sind

© Hans-Ulrich Koop

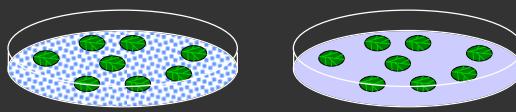
Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Zellkern

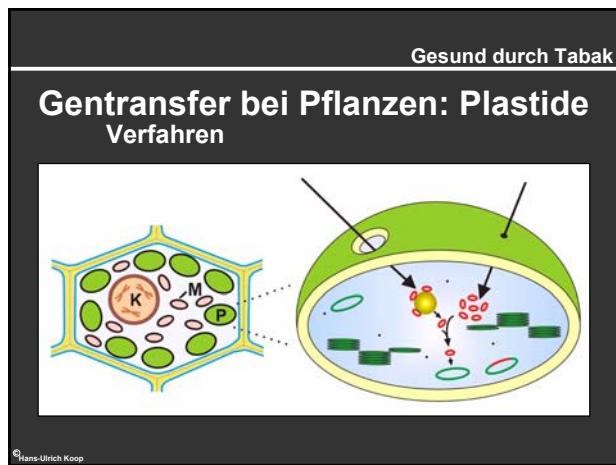
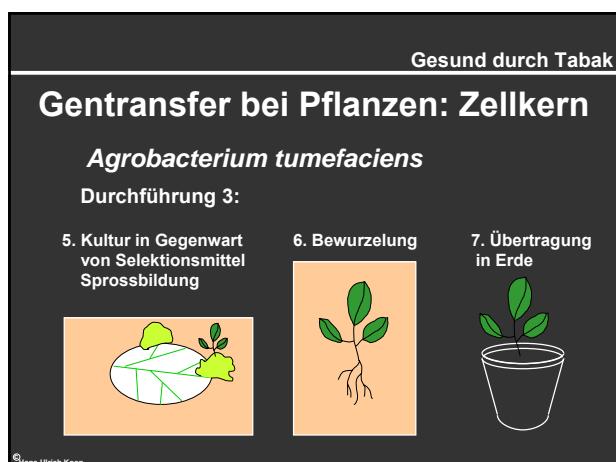
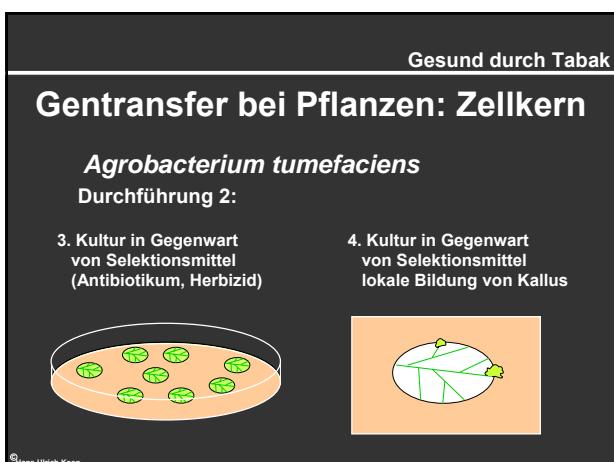
Agrobacterium tumefaciens

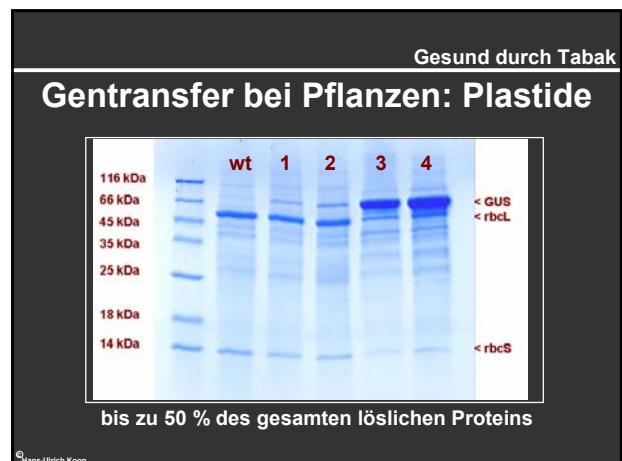
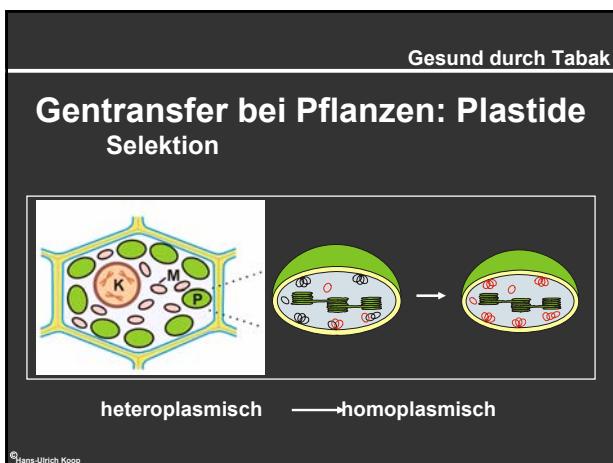
Durchführung 1:

1. Inkubation von Blattstückchen mit Agrobakterien 2. Abtötung der Agrobakterien (Antibiotikum)



© Hans-Ulrich Koop





Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Plastide

biologische Sicherheit

(fast) keine Vererbung durch den Pollen, (fast) keine unerwünschte Ausbreitung

hohe Ausbeute an Genprodukt

10 000 Kopien pro Zelle; bis 50% des löslichen Proteins der Zelle

hohe Präzision

gezielte Insertion; keine Positionseffekte

stabile Produktivität

keine Geninaktivierung ('gene silencing')

Sorteneigenschaften bleiben erhalten

neue Gene nicht im Zellkern

keine Antibiotika-Resistenzgene

automatische Entfernung

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Plastide

in Plastiden exprimierte pharmazeutische Proteine (Auswahl)

Medikamente	Immunmodulator, Krebstherapie
versch. Interferone	Behandl. von Wachstumsstörungen
Somatotropin	Blutersatzstoff
Serumalbumin (HSA)	

Impfstoffe	
Tetanus-Toxinfragment	Impfung gegen Wundstarrkrampf
enterotoxisches Protein	Schutz vor Gastroenteritis
Cholera-Toxinfragment	Impfung gegen Cholera
Parvovirus-Hüllprotein	Impfung gegen Röteln
Potavirus-Hüllprotein	Impfung gegen Diarrhoe

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Plastide

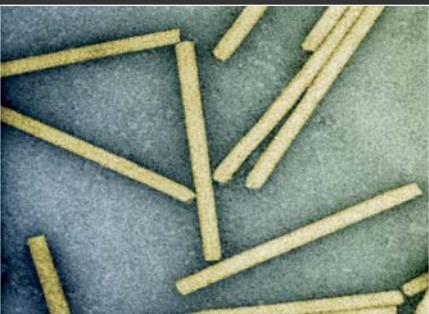


Feldversuch 2005:
Tabak mit pharmazeutischem Protein "PAL" (Phenylketonurie)
Kentucky Tobacco Research and Development Center

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression klassischer Ansatz: vollständiger Virus



© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression klassischer Ansatz: vollständiger Virus



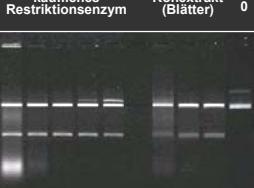
Ausbeute!
vollständige Umprogrammierung
des Wirtes
bis 80% TSP

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression klassischer Ansatz: vollständiger Virus

toxische Proteine (Restriktionsenzym)

<i>Nicotiana benthamiana</i>	käufliches Restriktionsenzym	Rohextrakt (Blätter)	0
			

© Hans-Ulrich Koop 5 d nach Inokulation

Konzentration Aktivität: 20.000 U/g FW

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression klassischer Ansatz: vollständiger Virus

Vorzüge (theoretisch)

- keine transgenen Pflanzen
- Viren werden sehr schnell abgebaut
- sehr hohe Ausbeuten
- sehr schnelle Produktion
- Wachstum und Produktion getrennt
- Produktion toxischer Proteine möglich

© Hans-Ulrich Koop

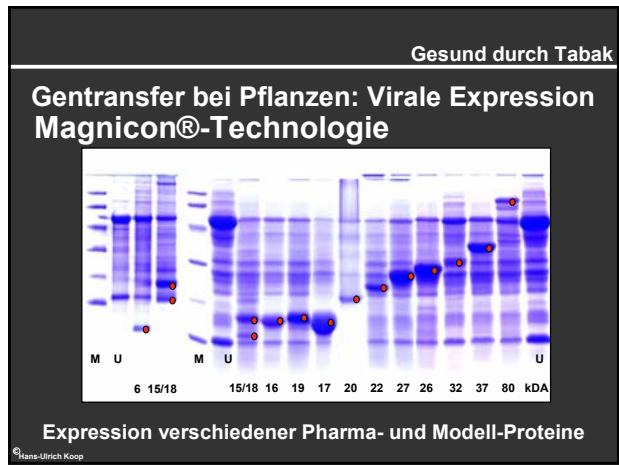
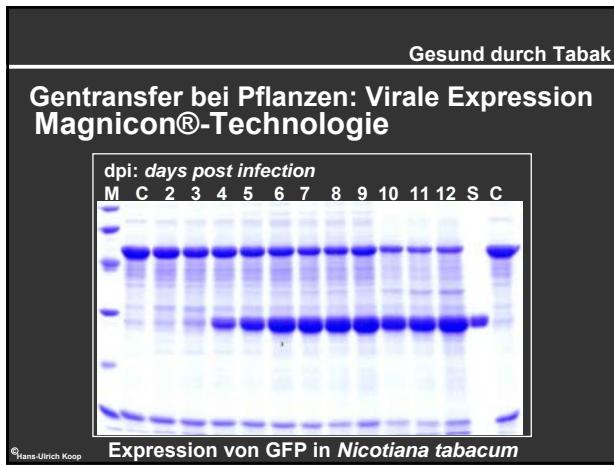
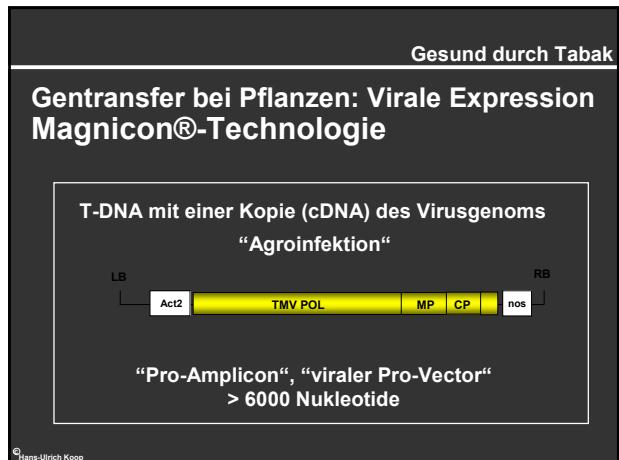
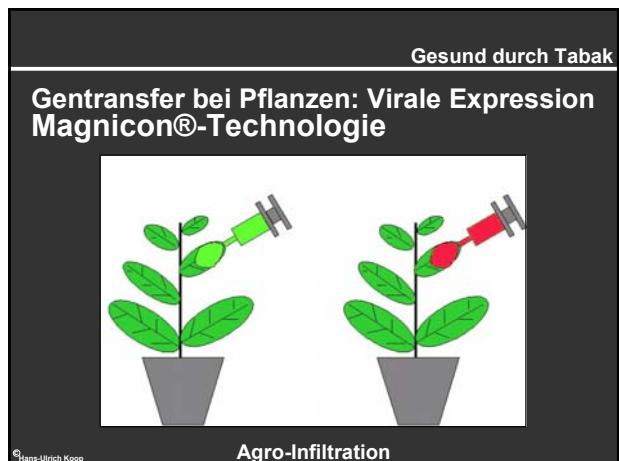
Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression klassischer Ansatz: vollständiger Virus

Probleme

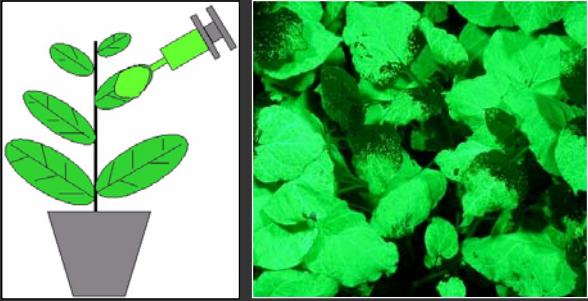
- biologische Sicherheit
- nur ein Protein pro Zelle
- nur kleine Proteine : 1 kbp = 26,4 kDa
- Ausbreitung in der Pflanze schwierig
- genetisch veränderte Viren instabil
- Produktionsmaßstab (scale up) klein

© Hans-Ulrich Koop



Gesund durch Tabak

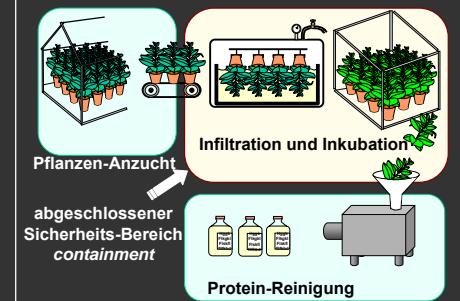
Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie



© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie



© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie



© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie

grüne Gentechnik: aber sicher!

- kein intakter Virus
- keine transgene Pflanze
- Inokulation im abgeschlossenen Bereich
- keine Bildung von Pollen oder Samen
- keine Durchmischung mit Nahrungspflanzen
- keine Durchmischung mit Futterpflanzen
- genetisch defekte Agrobakterien

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

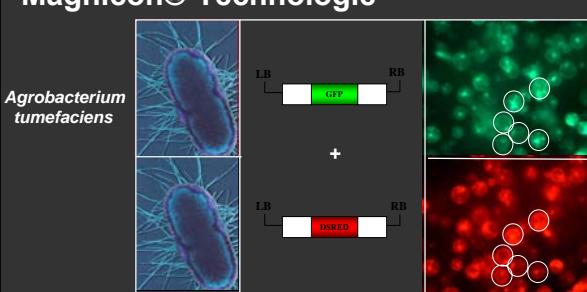
Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie

- 6 Interferone, Wachstumshormone, Wachstumsfaktoren
- 15 Einzelketten-Antikörper, Antikörper-Fusionen, monoklonale Antikörper
- 16 bakterielle Antigene, virale Antigene, Antigen-Mutanten, und -fusionen, Adjuvantien, Epitop-Träger
- 6 Enzyme and Enzym-Inhibitoren tierischer, pflanzlicher mikrobieller oder viraler Herkunft
- 8 weitere Proteine
- >50 Proteine menschlicher, tierischer, pflanzlicher, bakterieller, oder viraler Herkunft darunter viele potenzielle Medikamente

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie



© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Gentransfer bei Pflanzen: Virale Expression Magnicon®-Technologie

Probleme, klassischer Ansatz

- ✓ biologische Sicherheit
- ✓ nur ein Protein pro Zelle
- ✓ nur kleine Proteine : 1kbp = 26,4 kDa
- ✓ Ausbreitung in der Pflanze schwierig
- ✓ genetisch veränderte Viren instabil
- ✓ Produktionsmaßstab (scale up) klein

© Hans-Ulrich Koop

Gesund durch Tabak

Icon Genetics AG, Research Centre Freising

Christian Eibl
Monika Füssl
Timothy Golds
Stefan Herz
Stefan Mühlbauer
Conny Stettner



Anatoli Giritch
Yuri Y Gleba
Victor Klimyuk
Romy Kandzia
Sylvestre Marillonnet
Carola Thöringer
Stefan Werner

Icon Genetics AG, Research Centre Halle (Saale)

© Hans-Ulrich Koop

www.icongenetics.com