

GEFÖRDERT VOM



**Bundesministerium
für Bildung
und Forschung**

Zuwendungsempfänger:

Technische Universität Dresden

**Verbundvorhabentitel: Entwicklung, Erprobung sowie konkrete Vorbereitung
der Kommerzialisierung einer allgemein anwendbaren Heilungsstrategie für β -
Ketten-Hämoglobinopathien**

Verantwortlicher Autor:

Prof. Dr. Frank Buchholz

Förderkennzeichen:

03ZU1111FA

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03ZU1111FA gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei dem Autor.



Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Teil I: Kurzbericht

Berichtszeitraum: 01.10.2021 – 30.09.2024

Verbundvorhabentitel: SaxoCell-HemRec: Entwicklung, Erprobung sowie konkrete Vorbereitung der Kommerzialisierung einer allgemein anwendbaren Heilungsstrategie für β -Ketten-Hämoglobinopathien

Koordinator:

Prof. Dr. Frank Buchholz
TU Dresden
Tatzberg 47/49, 01307 Dresden

Partner:

Thomas Schäfer
DKMS Life Science Lab gGmbH
St. Petersburger Str. 2
01069 Dresden

Förderkennzeichen:

03ZU1111FA

Frank
Buchholz

Digitally signed
by Frank
Buchholz
Date: 2025.03.27
12:54:13 +01'00'

Datum, Unterschrift Zuwendungsempfänger/Projektleiter*in

Ursprüngliche Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde:

Das Vorhaben HemRec hatte es sich zum Ziel gesetzt, eine allgemein anwendbare Heilungsstrategie für β -Ketten-Hämoglobinopathien zu entwickeln, zu erproben und konkret für die Kommerzialisierung vorzubereiten. Für die endgültige Therapie sollten hämatopoetische Stammzellen von betroffenen Individuen *ex vivo* mit einer im Labor hergestellten Designer-Rekombinase behandelt werden. Ziel war es, dass durch Expression der Rekombinase in den hämatopoetischen Stammzellen (HSC) ein kleines DNA-Fragment aus dem menschlichen Chromosom 2 herausgeschnitten wird, was zur Inaktivierung des BCL11A-Gens führt. Da BCL11A ein Hauptregulator der Hämoglobinschaltung ist, führt die Inaktivierung des Gens zur Induktion der γ -Hämoglobinexpression. Die autologe Transplantation der modifizierten HSC soll hierbei zur langfristigen Produktion roter Blutkörperchen führen, die dann fötales Hämoglobin (Hämoglobin F, HbF) exprimieren. Durch die genetische Modifikation sollen die schwerwiegenden Symptome gelindert werden, die bei Patienten mit Sichelzellerkrankung und β -Thalassämie auftreten.

Zur Realisierung des Vorhabens sollten Sequenz-spezifische Rekombinasen (SSRs) als Gen-Editierungswerkzeuge umprogrammiert werden, damit diese spezifisch das BCL11A Gen inaktivieren. SSRs erlauben präzises Genom-Editing, ohne dabei auf zelluläre DNA-Reparatur angewiesen zu sein und besitzen die einzigartige Fähigkeit zum Schneiden mit nachfolgender Verknüpfung der prozessierten DNA *in vivo*. SSRs fungieren dabei als Tetramere und können je nach Orientierung der Erkennungssequenzen zu verschiedensten DNA-Umordnungen, wie Exzision, Inversion, Translokation oder Kassettenaustausch führen. Im Vergleich zu gängigen Gen-Editierungswerkzeugen, wie z.B. CRISPR-Cas9, führen Designer SSRs zuverlässige und exakte doppelstrangbruchfreie Editierungen durch, welche ohne unberechenbare Indel-Bildungen und Resistenzentstehungen auskommen.

Herkömmliche Behandlungsmethoden bieten nur eine symptomatische Therapie, die zu einer vorübergehenden Linderung der bestehenden Symptome führt, z. B. zur Verringerung von Infektionen oder zur Verhinderung von Schmerzattacken. Die kurative Option ist die Stammzelltransplantation, die jedoch mit hohen Risiken verbunden ist und bei der Mehrzahl der Patienten an der Nichtverfügbarkeit von Spendern scheitert. Das hier verwendete Rekombinase-System soll es ermöglichen, Spender-unabhängig und permanent diese Krankheiten effektiv und sicher zu therapieren.

Ablauf des Vorhabens

1. Im ersten Schritt wurden unter Heranziehung unserer bioinformatischen Pipeline mögliche Zielsequenzen identifiziert. Nach Auswahl der besten Zielsequenz, unter der Berücksichtigung von Off-Target-Analysen, wurden sowohl Heterotetramere, als auch Heterodimere-Rekombinasen evolviert und Aktivitätstests in *E.coli* durchgeführt.
2. Im nächsten Schritt erfolgten Deep-Sequencing Analysen (DEQ-Seq) zur Identifizierung der besten Heterodimere, welche bei unterschiedlichen Expressionsleveln hinsichtlich ihrer Effizienz in Bakterien getestet wurden.

Parallel wurden Reporterzelllinien generiert, um die Aktivität der SSRs ebenfalls in diesen zu testen und erneut die vielversprechendsten Klone zu selektieren.

3. Im letzten experimentellen Schritt war die Testung der SSRs in primären Zellen geplant, wobei das entsprechende Ethik-Votum für das notwendige Spendermaterial eingeholt wurde. Alle Arbeiten mit primären HSC wurden etabliert. Dies umfasst die Isolation, Kultivierung und Findung des optimalen Elektroporationsprotokolls, sowie die Differenzierung der HSC in Erythrozyten. Darüber hinaus wurden auch alle Assays für eine umfassende Analyse der gentechnisch modifizierten HSC, wie qPCR, Western Blot (WB) und die intrazelluläre Färbung von Hämoglobin F (HbF) etabliert. Zudem war die Testung der veränderten HSC im Mausmodell geplant. Der dafür eingereichte Antrag zur Durchführung des Tierversuchsvorhabens wurde genehmigt und ein erster Versuch zur Etablierung der Transplantation der primären humanen Zellen durchgeführt.
4. Im letzten Schritt des Vorhabens sollte ein GMP-Protokoll zur Herstellung der Zellpräparate entwickelt als auch die klinische Testung vorbereitet werden. Dies beinhaltete erste Recherchen als auch unverbindliche Angebote für die Bereitstellung diverser Prozess-Komponenten.

Wesentliche Ergebnisse

Zwei Rekombinasen mit unterschiedlichen Zielstellen wurden entwickelt, die als Heterodimer die Expression von BCL11A inaktivieren. Gerichtete Evolution der HemRec-Rekombinase-Bibliotheken wurde durchgeführt, gefolgt von Hochdurchsatz-Sequenzierungen zur Effizienzanalyse an den Zielstellen sowie an drei potenziellen Off-Target-Stellen im menschlichen Genom. Die Rekombinase-Aktivität wurde zunächst in Bakterien validiert und anschließend in HeLa-BCL11A-Reporterzelllinien sowie HUDEP-Zellen getestet, wobei eine gezielte Ausschaltung von BCL11A nachgewiesen wurde. Drei Rekombinasen mit einer Aktivität von über 5% wurden identifiziert, und durch Optimierungsstrategien konnte die Aktivität auf über 35% gesteigert werden. Zudem wurde die präzise Deletion des endogenen BCL11A Fragments nachgewiesen. Off-Target-Analysen und Toxizitätsstudien der selektierten HemRec-Rekombinasen wurden durchgeführt, während Strategien zur Verbesserung der Spezifität und Toleranz in Säugetierzellen entwickelt wurden. Zudem wurde das humanisierte Mausmodell NBSGW als geeignet identifiziert und die erforderlichen Genehmigungen für Tierversuche sowie die Nutzung von primärem Spendermaterial eingeholt. Im Rahmen des Projekts wurden bereits alle zukünftigen Arbeiten an primären humanen Stammzellen etabliert. Erste Business-Case-Analysen zu einem potenziellen Markteintritt wurden erstellt, und ein grober GMP-Prozess-Entwurf wurde kalkuliert.



Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Teil II: eingehende Darstellung pro Zuwendungsempfänger

Berichtszeitraum: 01.10.2021 – 30.09.2024

Verbundvorhabentitel: Entwicklung, Erprobung sowie konkrete Vorbereitung der Kommerzialisierung einer allgemein anwendbaren Heilungsstrategie für β -Ketten-Hämoglobinopathien

Koordinator:

Prof. Dr. Frank Buchholz
TU Dresden
Tatzberg 47/49, 01307 Dresden

Partner:

Thomas Schäfer
DKMS Life Science Lab gGmbH
St. Petersburger Str. 2
01069 Dresden

Förderkennzeichen:

03ZU1111FA

Frank
Buchholz

Digitally signed by
Frank Buchholz
Date: 2025.03.27
12:53:48 +01'00'

Datum, Unterschrift Zuwendungsempfänger/Projektleiter*in

Ausführliche Darstellung der durchgeführten Arbeiten

AP1 – Präklinische Entwicklung der BCL11A Rekombinase (Monat 01 – 24)

Unter Heranziehung der etablierten bioinformatischen Pipeline als auch der Durchführung von entsprechenden Off-Target-Analysen konnten die besten Zielsequenzen identifiziert und erfolgreich in pEVO-Evolutionsvektoren zur weiteren Optimierung integriert werden. Basierend auf Vergleichsanalysen zeigten heterodimere Rekombinasen eine höhere Aktivität als heterotetramere Varianten, was ihre Eignung für die gezielte BCL11A-Inaktivierung bestätigte. Darüber hinaus konnte Aktivität für beide Rekombinase-Typen in *E. coli* auf der Zielsequenz nachgewiesen werden.

AP2 – Evolutionsentwicklung und Off-Target Analyse mittels Deep-Sequencing (Monat 1 – 24)

Sequenzierung und bioinformatische Analyse der Rekombinase-Bibliotheken

Die Rekombinase-Bibliotheken wurden in verschiedenen Entwicklungsstufen mittels Deep-Sequencing (DEQ-Seq) analysiert, um Mutationsmuster während des Evolutionsprozesses zu dokumentieren. Zwölf vielversprechende Varianten wurden ausgewählt, per PCR amplifiziert und in Reporter-Vektoren kloniert, um ihre Aktivität in Bakterien zu testen.

Optimierung heterotetramerer Rekombinasen

Vielversprechende Rekombinasen wurden bei unterschiedlichen Expressionsleveln in Bakterien getestet, wodurch die Ergebnisse aus AP 2.1 bestätigt werden konnten. Die effizientesten Rekombinasen zur gezielten Target-Sequenz-Rekombination wurden weiter charakterisiert.

Herstellung und Validierung von Reporterzelllinien

HeLa- und HUDEP-2-Reporterzelllinien zur Untersuchung der Rekombinase-Aktivität wurden erfolgreich generiert. Drei vielversprechende Rekombinase-Varianten mit mehr als 5% Aktivität wurden identifiziert und weiter optimiert (z. B. Codon-Optimierung, Monomerverhältnis-Anpassung). Die beste Rekombinase erreichte eine Rekombinationsrate von über 35%, wobei die Zell-Viabilität nach Expression beeinträchtigt war.

Off-Target-Analysen und Spezifitätssteigerung

Erste Tests ergaben keine Rekombination an drei vorhergesagten Off-Target-Sequenzen. Zusätzliche Analysen zeigten jedoch unerwartete Off-Target-Effekte, die eine reduzierte Zell-Viabilität erklären. Zur Spezifitätssteigerung wurden basierend darauf zwei Strategien entwickelt:

1. Zinkfingerdomänen-Fusion zur Erhöhung der Spezifität, basierend auf den etablierten ZNF-Domänen Zif268 und Zif D7L.
2. Counter-Selection-Evolution mit 24 Zyklen, gefolgt von einem Hochdurchsatz-Screening mittels Deep-Sequencing.

Aufgrund dieser Optimierungsmaßnahmen verzögerte sich sowohl das Arbeitspaket als auch der dazugehörige Meilenstein 6. Aus diesem Grund wurde das Arbeitspaket als auch der Meilenstein mit in die zweite Förderperiode übertragen (Vorhaben Edit-Save – AP 1.1.3 / MS 1)

AP3 – Testung an hämatopoetischen Stammzellpräparaten und im Mausmodell (Monat 13 – 36)

Testung in primären Zellen

Die Genehmigung der Ethikkommission zur Nutzung von humanen Spenderzellen wurde erfolgreich eingeholt. Methoden zur Elektroporation, Differenzierung in Erythrozyten sowie Analysen mittels qPCR, Western Blot (WB) und intrazellulärer Hämoglobin-F-Färbung (HbF) wurden etabliert. Erste CRISPR-basierte Tests mit hämatopoetischen Stammzellen (HSCs) zeigten je nach Spender unterschiedliche HbF-Expression, wobei zwei Spender eine signifikante Hochregulierung von γ -Globin und HbF in CD235a⁺-Zellen (30–40%) aufwiesen. Die funktionale Testung wurde erfolgreich abgeschlossen. Da die finale Rekombinase nicht im Förderzeitraum generiert werden konnte und somit der Meilenstein 7 nicht erreicht werden konnte, wurde die *in vitro* Testung der HemRec Rekombinase in primären hämatopoetischen Stammzellen in die zweite Förderphase verschoben (siehe Vorhaben Edit-Save; AP 1.2).

Testung im Mausmodell

Die Genehmigung für die geplanten Tierversuche wurde erteilt. Als Modell wird die NBSGW-Maus verwendet, die ein Anwachsen menschlicher HSCs ohne vorherige Bestrahlung ermöglicht und eine verbesserte humane Erythropoese aufweist. In einem Titrationsexperiment konnte anhand des erzielten humanen Chimärismus die optimale Zahl an zu transplantierenden HSCs ermittelt werden. Dieser Versuch wurde im Juni 2024 erfolgreich abgeschlossen. Allerdings wurde ersichtlich, dass die Anzahl der Zellen, die man nach Transplantation aus den Tieren isolieren kann, weit unter der liegt, die bisher *in vitro* für die Analysen eingesetzt wurden. Daher ist ein weiterer Etablierungsversuch notwendig, bei dem die angepassten Assays nach Isolation humaner Zellen getestet werden sollen. Dieser Versuch soll in der Förderphase 2 von SaxoCell stattfinden.

Vor der Transplantation von HSCs, die mit der HemRec Rekombinase modifiziert wurden, wird die beste Rekombinase in *in vitro* Experimenten ermittelt. Diese soll zu einem Anstieg der HbF-exprimierenden Zellen von mindestens 25% führen. Die nachfolgenden *in vivo* Experimente umfassen:

- Primäre Transplantation der editierten HSCs und Analyse der Editierungsfrequenz, sowie Bestimmung der HbF-Ausprägung
- Sekundäre Transplantation zur Untersuchung des Potenzials der HSC zur langfristigen Selbsterneuerung

Da der finale Editor nicht am Ende der ersten Förderperiode vorlag, wurde das Arbeitspaket und der Meilenstein 8 entsprechend in die Förderphase 2 von SaxoCell überführt (Vorhaben Edit-Save; AP 1.4)

AP4 – Entwicklung eines GMP-Protokolls zur Herstellung der Zellpräparate; Vorbereitung der klinischen Testung mit indischen Partnern (Monat 25 – 36)

Erste Recherchen und Marktanalysen zur Entwicklung eines GMP-konformen Herstellungsprotokolls wurden durchgeführt. Dazu wurden unverbindliche Angebote für Prozesskomponenten eingeholt und Kontakte mit potenziellen Vertragsherstellern (CDMOs) im akademischen und industriellen Bereich geknüpft.

Basierend auf diesen Informationen wurde ein vorläufiges Herstellungsmodell skizziert und grob kalkuliert. Die endgültigen Protokollanforderungen hängen jedoch von den Ergebnissen der Tierversuche und regulatorischen Vorgaben ab.

Da sich die Tierversuche verschoben haben und die geplante Realisierung partiell in SaxoCell Phase 2 transferiert werden musste, hat sich AP4 dementsprechend ebenfalls partiell in die Förderphase 2 (Vorhaben Edit-Save; AP 1.5) verschoben.

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

| <i>Bewilligte Positionen Finanzposition</i> | <i>Bewilligte Mittel (Euro)</i> | <i>Verausgabte Mittel (Euro)</i> | <i>Saldo (Euro)</i> |
|--|--|---|--------------------------------|
| <i>Beschäftigte E12 – E15 (812)</i> | 129.327,67 | 129.327,72 | 0,05 |
| <i>Beschäftigte E1 – E11 (817)</i> | 135.366,52 | 135.229,72 | 136,80 |
| <i>Beschäftigungsentgelte (822)</i> | 8.301,45 | 8.301,45 | 0,00 |
| <i>Vergabe von Aufträgen (835)</i> | 23.800,00 | 23.800,00 | 0,00 |
| <i>Verbrauchsmaterial (838)</i> | 300.993,42 | 303.170,61 | - 3.246,48 |
| <i>Dienstreisen Inland (844)</i> | 860,00 | 705,70 | 154,30 |
| <i>Dienstreisen Ausland (845)</i> | 1.440,00 | 647,04 | 792,96 |
| <i>Summe Direkte Kosten</i> | 600.089,06 | 601.182,24 | - 1.093,18 |

Gemäß dem Umwidmungsantrag vom 22.05.2024 und dem entsprechenden Änderungsbescheid vom 06.08.2024 wurden sämtliche bewilligten Mittel zweckgebunden innerhalb der vorgesehenen Positionen sowie in Übereinstimmung mit den geltenden Regelungen der NABF (Stand November 2019) verwendet.

Kurze Erläuterungen zu den einzelnen bewilligten Positionen (siehe auch Umwidmungsantrag vom 22.05.2024):

Wissenschaftliches Personal

Die für die Ausführung der inhaltlichen Projektarbeit vorgesehene Position des/der Doktorand/in konnte zum 01.11.2021 erfolgreich besetzt werden.

Nicht-Wissenschaftliches Personal

Nach erforderlicher Neu-Ausschreibung der Position der Technischen Assistenz konnte diese erfolgreich zum 01.03.2022 besetzt werden.

Beschäftigungsentgelte

Die WHK-Position wurde erfolgreich besetzt, und die vorgesehenen Arbeiten im Rahmen des Projekts konnten planmäßig durchgeführt werden.

Position Vergabe von Aufträgen

Ursprünglich waren in dieser Position Kosten für Sequenzierungen und tierexperimentelle Arbeiten eingeplant. Da die tierexperimentellen Arbeiten aufgrund erforderlicher Optimierungsexperimente zeitlich verschoben und in die Förderphase 2 verlagert werden mussten, wurden innerhalb dieser Position lediglich die angefallenen Sequenzierkosten abgerechnet. Dies wurde entsprechend im Umwidmungsantrag vermerkt.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Die eingesetzten Personalressourcen, bestehend aus einer Doktorandin und einer Technischen Assistentin (TA), waren entscheidend für die erfolgreiche Umsetzung der Arbeitspakete. Die Doktorandin leitete maßgeblich die Validierungs- und Optimierungsexperimente, während die TA insbesondere die Zellkulturarbeiten zur Rekombinase-Evolution, die Probenvorbereitung für die Sequenzierung sowie molekularbiologische Arbeiten wie PCR, Klonierung und Expressionsanalysen unterstützte.

Die Arbeitspakete 1–3 umfassten umfangreiche Zellkulturexperimente sowie Klonierungs- und Sequenzierarbeiten, darunter die Sequenzierung der Rekombinase-Bibliotheken, die Herstellung und Kultivierung von Reporterzelllinien sowie die Durchführung von Off-Target-Analysen. Hierfür waren insbesondere Materialien wie Restriktionsenzyme, Polymerasen, DNA-Oligonukleotide und Kulturmedien für *E. coli* erforderlich. Zudem entstanden wesentliche Kosten für Zellkulturmedien und -reagenzien für HeLa- und HUDEP-2-Zellen, Enzyme für PCR und Klonierungsarbeiten, Elektroporationsreagenzien zur Steigerung der Rekombinase-Aktivität sowie Materialien für Deep-Sequencing-Experimente. Wie bereits im Zwischenbericht 2023 vermerkt, führten die notwendigen Optimierungskampagnen zu zusätzlichen Experimenten und damit zu einem erhöhten Verbrauchsmittelbedarf.

Die in AP4 durchgeführten Arbeiten erforderten vor allem personelle Ressourcen, da umfassende Recherchen, Abstimmungen mit potenziellen Vertragsherstellern (CDMOs) und die erste Skizzierung eines möglichen GMP-Herstellungsprozesses durchgeführt wurden. Die Doktorandin war an der Analyse regulatorischer Anforderungen sowie der Auswertung der eingeholten Angebote beteiligt, während die Abstimmungen mit CDMOs und die Entwicklung der Prozesskalkulation koordinierte Unterstützung erforderten.

Da die relevanten Details für das GMP-Protokoll maßgeblich von den Ergebnissen der Tierversuche und den regulatorischen Vorgaben abhängen, musste AP4 aufgrund der Verschiebung der Tierversuche teilweise in die Förderphase 2 verlagert werden. Die personellen Kosten in dieser Phase waren jedoch notwendig und angemessen, um die

Grundlagen für den zukünftigen Herstellungsprozess frühzeitig zu evaluieren und die Umsetzung in der nächsten Förderphase effizient voranzutreiben.

Voraussichtlicher Nutzen / Verwertungsplan

Das im Rahmen dieses Projekts entwickelte innovative Rekombinase-Editierungssystem bietet bedeutende wissenschaftliche, wirtschaftliche als auch gesellschaftliche Perspektiven.

Akademischer Nutzen:

Die entwickelten Technologien und Methoden werden die Forschung im Bereich der Genom-Editierung weiterhin erheblich voranbringen. Insbesondere die Optimierung der Entwicklungszeiten für neue Designer-Rekombinasen ermöglicht eine effizientere und gezieltere Herstellung dieser biotechnologischen Werkzeuge. Zudem fließen die erfassten Sequenzierdaten in eine wachsende Datenbank ein und tragen zur Verbesserung eines Deep-Learning-Algorithmus bei, der künftig die Vorhersage neuer Spezifitäten und damit die gezielte Entwicklung weiterer Designer-Rekombinasen erleichtert. Darüber hinaus liefern die gewonnenen Erkenntnisse zur Einschleusung der Rekombinasen in hämatopoetische Stammzellen (HSCs) wertvolle wissenschaftliche als auch technische Grundlagen. Diese Erkenntnisse lassen sich potenziell auf andere Krankheitsbilder übertragen, in denen HSCs eine therapeutische Rolle spielen.

Wirtschaftlicher Nutzen / potenzieller Verwertungsplan

Die im Projekt entwickelten Designer-Rekombinasen besitzen erhebliches wirtschaftliches Verwertungspotenzial. Durch die potenzielle Patentierung der BCL11A-spezifischen Designer-Rekombinase als therapeutisches Gen-Editierungstool für β -Hämoglobinopathien entsteht eine vielversprechende Grundlage für zukünftige Lizenzierungen und Kooperationen mit biotechnologischen oder pharmazeutischen Unternehmen.

Gesellschaftlicher Nutzen

Die im Projekt entwickelte Rekombinase-Technologie tragen zur Weiterentwicklung neuer Heilungsmethoden für schwerwiegende genetische Erkrankungen bei. Die gezielte Inaktivierung von BCL11A mittels Designer-Rekombinasen stellt einen innovativen Therapieansatz für β -Hämoglobinopathien wie Sichelzellanämie und β -Thalassämie dar. Eine erfolgreiche Umsetzung dieser Technologie könnte langfristig zu einer heilenden Behandlung führen und damit die Lebensqualität zahlreicher Patient:innen erheblich verbessern. Darüber hinaus können die gewonnenen Erkenntnisse zur HSC-Editierung möglicherweise auf weitere genetische Erkrankungen übertragen werden, was den medizinischen Fortschritt in der regenerativen Medizin und der Gentherapie weiter vorantreibt.

Bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Ende 2023 wurde das CRISPR/Cas Medikament Casgevy zugelassen. Obwohl Casgevy® vielversprechende Ergebnisse zeigt, gibt es mehrere Gründe, warum es möglicherweise nicht für alle Patienten die optimale Behandlungsoption darstellt. So

sind die Kosten für die Therapie extrem hoch und der Behandlungsprozess sehr aufwendig. Außerdem sind die langfristige Sicherheit und Wirksamkeit fragwürdig und die Verfügbarkeit sehr eingeschränkt. Die Marktchancen für eine Rekombinase-basierte Therapie wird deshalb weiterhin als hoch eingeschätzt.

Veröffentlichungen

1. Hoersten J, Ruiz-Gómez G, Paszkowski-Rogacz M, Gilioli G, Guillem-Gloria PM, Lansing F, Pisabarro MT, **Buchholz F** (2024). Engineering spacer specificity of the Cre/loxP system. *Nucleic Acids Research* 2024 Jun 13. doi: 10.1093/nar/gkae481.
2. Mukhametzyanova L, Schmitt LT, Torres-Rivera J, Rojo-Romanos T, Lansing F, Paszkowski-Rogacz M, Hollak H, Brux M, Augsburg M, Schneider PM, **Buchholz F** (2024). Activation of recombinases at specific DNA loci by zinc-finger domain insertions. *Nature Biotechnology* 2024 Jan 31. doi: 10.1038/s41587-023-02121-y.
3. Schmitt LT, Schneider A, Posorski J, Lansing F, Jelcic M, Jain M, Sayed S, Buchholz F, Sürün D (2023). Quantification of evolved DNA-editing enzymes at scale with DEQSeq. *Genome Biol.* 2023 Nov 6;24(1):254. doi: 10.1186/s13059-023-03097-3.