



Interdisziplinäre Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der BBAW

German Stem Cell Network (GSCN)

Daniel Besser, Hannah Schickl

Whitepaper

**Organoide - von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie : Stand der Forschung, Kernaussagen und politische Handlungsempfehlungen zur Organoidtechnologie =
Organoids - from stem cells to future technologies : state of research, core statements and political recommendations for action on organoid technology**

Berlin, November 2020

Persistent Identifier: [urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-34362](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-34362)

Die vorliegende Datei wird Ihnen von der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften unter einer Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (cc by-nc-sa 4.0) Licence zur Verfügung gestellt.



White Paper

Organoide – von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie

Stand der Forschung, Kernaussagen und politische Handlungsempfehlungen zur Organoidtechnologie

Interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht* der BBAW und
German Stem Cell Network (GSCN)



IMPRESSUM

Herausgeber:

German Stem Cell Network (GSCN) e.V.
Interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*,
ein Drittmittelprojekt der Berlin-Brandenburgischen Akademie
der Wissenschaften (BBAW)

Gesamtverantwortung:

Daniel Besser (Geschäftsführer GSCN)

Redaktion:

Hannah Schickl für die interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*
Philipp Graf, BIOCOM AG
Daniel Besser, GSCN
Stefanie Mahler, GSCN

Grafiken:

Andreia Sofia Batista Rocha, IMBA, Wien

Fotos:

GSCN, Sina Bartfeld, Stefan Liebau

Übersetzung:

Baker & Company

Design & Layout: unicom Werbeagentur GmbH

Druck: Medialis

Auflage: 1.600

Die Publikation erscheint mit Unterstützung der Friede Springer Stiftung.

friede springer stiftung

Der Inhalt des White Papers „Organoide – von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie“
ist unter den CC-BY-NC-SA Bedingungen der Creative Commons Lizenz frei verfügbar.

November 2020

Prolog

Die Organoidforschung ist trotz ihrer engen Verknüpfung mit der Stammzellforschung in Deutschland nur wenig im Bewusstsein der breiten Bevölkerung angekommen. Sie wird bisher im deutschsprachigen Raum überwiegend in naturwissenschaftlich orientierten Fachkreisen diskutiert. Organoide sind dreidimensionale, aus Stammzellen *in vitro* entwickelte Zellstrukturen, die Organe nachbilden und diesen hinsichtlich ihrer Zellzusammensetzung und Funktion ähneln. Sie können für die Grundlagenforschung eingesetzt werden und sind vielversprechend für verschiedenste Bereiche der Medizin, z. B. für Medikamentenscreenings und Toxizitätstest, aber auch zur Vorhersage individueller Arzneimittelreaktionen. Die IAG *Gentechnologiebericht* der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften (BBAW) und das German Stem Cell Network (GSCN) möchten mit dem vorliegenden White Paper einen Beitrag dazu leisten, das Forschungsgebiet bekannter zu machen und einen interdisziplinären und gesellschaftlichen Diskurs darüber anstoßen.

Der GSCN-Report zu Organoiden bietet in diesem Sinn einen Überblick über neue Entwicklungen des Forschungsfeldes und seine Anwendungsmöglichkeiten. Hierbei kommen unterschiedliche Forscherinnen und Forscher sowie Stakeholder aus aktuellen Projekten und Unternehmen innerhalb der Organoidforschung zu Wort. Danach folgen von der IAG verfasste Kernaussagen zu Organoiden sowie daraus abgeleitete Handlungsempfehlungen für den Umgang mit der Organoidtechnologie.

Parallel zu diesem White Paper erscheinen der Themenband der IAG *Gentechnologiebericht* „Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft“ (herausgegeben von Sina Bartfeld, Hannah Schickl, Cantas Alev, Bon-Kyoung Koo, Anja Pichl, Angela Osterheider und Lilian Marx-Stölting) sowie eine Sonderausgabe des *Journals of Molecular Medicine* unter dem Titel „3D Organoids“, herausgegeben von Sina Bartfeld, Cantas Alev und Bon-Kyoung Koo.

Wir freuen uns über die fruchtbare Zusammenarbeit und danken allen Mitwirkenden an diesem White Paper sehr herzlich, insbesondere allen beteiligten Autorinnen und Autoren und Interviewten. Die IAG ist der Friede Springer Stiftung für die finanzielle Förderung und der BBAW für die langjährige Unterstützung zu Dank verpflichtet. Das GSCN dankt für die finanzielle Unterstützung durch das Berlin Institute of Health (BIH). Ein herzliches Dankeschön gilt auch Philipp Graf von der BIOCOM AG und den Mitarbeitenden der beiden Geschäftsstellen der IAG und des GSCN für die Realisierung dieser gemeinsamen Publikation.

Boris Fehse
Sprecher der interdisziplinären Arbeitsgruppe
Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften
Hamburg, im Oktober 2020

Daniel Besser
Geschäftsführer des
German Stem Cell Network (GSCN)
Berlin, im Oktober 2020

Inhalt

Winzige Stellvertreter – die Ära der Organoide	4
(German Stem Cell Network)	
Stammzellbasierte Mini-Werkzeuge für die biomedizinische Forschung	5
Neue Krankheitsmodelle: Viren, Krebs und Erbkrankheiten auf der Spur	14
Wegbereiter für eine personalisierte Medizin: Von Testsystemen, Wirkstoffsuchen und regenerativen Therapien	20
Zukunftsperspektiven: Die nächste Organoidgeneration	25
Kernaussagen und Handlungsempfehlungen zu Organoiden	28
(Interdisziplinäre Arbeitsgruppe <i>Gentechnologiebericht</i> der BBAW)	
Kernaussagen zur Organoidtechnologie	28
Handlungsempfehlungen für den Umgang mit der Organoidtechnologie	37
Mitglieder der interdisziplinären Arbeitsgruppe <i>Gentechnologiebericht</i>	42
Publikationen der interdisziplinären Arbeitsgruppe <i>Gentechnologiebericht</i>	44

Winzige Stellvertreter – die Ära der Organoide

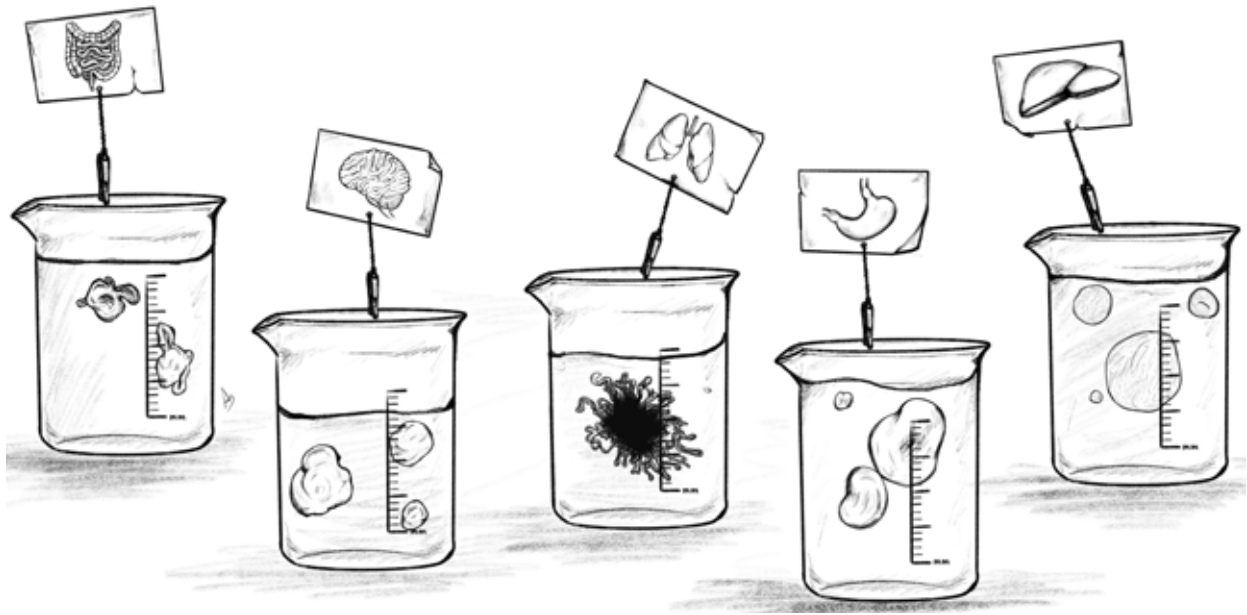
Wie die stammzellbasierten 3D-Modelle die Biomedizin erobern

Sie sind gerade einmal so groß wie Senfkörner, doch innerhalb weniger Jahre sind sie zu Stars der Gesundheitsforschung avanciert: Organoide. Mithilfe raffinierter 3D-Gewebekulturtechniken lassen sich aus Stammzellen intakte Modelle von Gehirnen, Därmen oder Herzen züchten. Auch in Deutschland begeistert sich die Stammzellforschungsgemeinde für das Thema. Denn obwohl Organoide weniger komplex sind, kommen sie ihren großen Vorbildern in der Natur so nahe, dass sich an diesen Modellsystemen entwicklungsbiologische Grundlagen, aber auch Krankheiten auf neue Weise erforschen lassen. Ob Corona-Pandemie, Krebs oder Erbkrankheiten – Organoide sind bereits an vielen Fronten der Medizin als Werkzeuge im Einsatz. Die Mini-Organen sind nicht nur Testsysteme für neue Wirkstoffe. Auch für Diagnostik und regenerative Therapien bergen sie enormes Potenzial. Ein Streifzug durch die aktuelle Organoidforschung in Deutschland und seinen europäischen Nachbarn.

Wenn **Sina Bartfeld** ihre wenige Tage alten Mini-Mägen im Stereomikroskop betrachtet, ist sie immer wieder aufs Neue entzückt. „Die Organoide sind einfach so schön“, freut sich die Biologin, die am Institut für Molekulare Infektionsbiologie der Universität Würzburg eine Nachwuchsforschergruppe leitet. Kaum einen halben Millimeter messen die filigranen Hohlkugeln aus einer einlagigen Zellschicht, an ihren Rändern knospen kleinere Bläschen ab. „Hierin sitzen neben verschiedenen differenzierten Zelltypen die Stammzellen, die ständig für Nachschub an Zellen sorgen“, sagt Bartfeld. Bis zum Kleinstmagen dauert es keine zwei Wochen.

Bartfeld gehört zu einer rasant wachsenden Schar von Forschenden, die dabei sind, mit Organoiden die Biomedizin zu verändern. Ob winzige Därme, Bauchspeicheldrüsen, Herzen, Lebern, Lungen oder Gehirne, in den Laboren der Zellzüchter weltweit gedeihen derzeit nahezu sämtliche Organe des menschlichen Körpers im Miniaturformat. Nicht nur äußerlich erinnern die In-vitro-Winzlinge an ihre leibhaftigen Vorbilder in Menschen oder Tieren. Auch biologische Prozesse laufen in Organoiden erstaunlich realitätsnah ab. „Es ist faszinierend, wie komplex diese Strukturen sind und was sie über das echte Leben verraten“, sagt Bartfeld.

Dieser Report als Teil des White Paper Organoide beleuchtet, wie aktuell weltweit und insbesondere in Deutschland, Österreich und der Schweiz an Organoiden geforscht wird. Es ist ein Streifzug durch eine äußerst dynamische Forschungslandschaft. In den Stammzelllaboren entsteht



Der Organoidmikrokosmos. Mithilfe von Stammzellen lassen sich für nahezu jedes menschliche Organ Organoide herstellen. Die wenige Millimeter großen 3D-Zellgebilde sind faszinierend komplex.

derzeit ein beeindruckender 3D-Mikrokosmos. Um ihn zu erschließen, setzen Forschende die derzeit wohl leistungsfähigsten Technologien der Biowissenschaften ein. Organoide als Modelle schließen eine Lücke in der biomedizinischen Forschung, und bereiten so den Weg hin zu neuen Therapieansätzen, innovativen Medikamenten und einer Gesundheitsforschung, die womöglich mit weniger Tierversuchen auskommt.

Stammzellbasierte Mini-Werkzeuge für die biomedizinische Forschung

Organoide sind aus Stammzellen hergestellte, dreidimensionale Zellverbände, die vom Aufbau her einem Organ im Miniaturformat ähneln. Sie sind mikroskopisch klein – und doch spiegeln sie Architektur und viele Funktionen ihrer großen Pendanten sehr gut wider. 3D-Zellkulturen sind dabei gar kein neuer Trend. Gewebeingenieurinnen und -ingenieure experimentieren seit Jahrzehnten mit 3D-Aggregaten, die aus verschiedenen Zelltypen zusammengesetzt sind. Dennoch: Die entscheidenden Durchbrüche für die Organoidforschung wurden vor etwas mehr als zehn Jahren erzielt. Es gelang, die in den Zellaggregaten schlummernde Fähigkeit zur Selbstorganisation zu erwecken.

Die zwei Wege zum Organoid

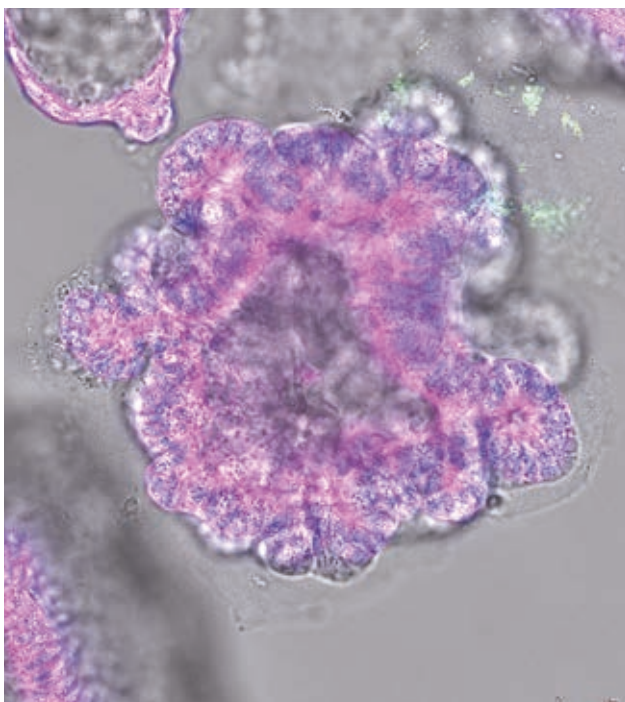
Stammzellen sind als Zellquelle die Schlüsselkomponenten für den Bau von Organoidkulturen. Die Welt der Organoidforschenden lässt sich in zwei Lager mit unterschiedlichen Technologien einteilen: Die eine Technik basiert auf adulten Stammzellen – und damit den Regenerationsmechanismen des Körpers. Diese Gewbestammzellen sorgen bei Verschleiß oder Verletzung beständig

für Nachschub an neuen Zellen. Die andere Zellquelle sind pluripotente Stammzellen, also Zellen, die sich in fast alle der mehr als 200 Zelltypen des Körpers entwickeln können. Dazu zählen embryonale Stammzellen (ES-Zellen) und auch induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen), die aus ausdifferenzierten Hautzellen gewonnen werden können, wenn man sie mit einem berühmten Quartett von Transkriptionsfaktoren umwandelt – das von dem japanischen Forscher **Shinya Yamanaka** entwickelte, nobelpreisgekrönte Prinzip der Zellreprogrammierung.

Adulte Stammzellen zurück im Rampenlicht

Vor ihrer jetzigen Station an der Universität Würzburg hatte Sina Bartfeld im holländischen Utrecht als Postdoktorandin am Hubrecht Institut in der Arbeitsgruppe von **Hans Clevers** gearbeitet – der niederländische Stammzellforscher gilt als einer der Pioniere und Auslöser des jüngsten Zellkultur-Booms. Von der Kaderschmiede des Hubrecht-Instituts aus hat die Organoidtechnologie inzwischen viele Forschungslabore in aller Welt erobert.

„Mit der Technik aus dem Labor von Hans Clevers wird die Nische der adulten Stammzellen in der Petrischale nachgebaut“, erläutert Bartfeld. 2009 war **Toshiro Sato** im Labor von Hans Clevers das Kunststück erstmals bei Dünndarmgewebe gelungen. Ein Schlüssel zum Erfolg: Mit dem Protein LGR5 hatte das Team einen wichtigen Stammzell-Oberflächenmarker gefunden, mit dessen Hilfe adulte Stammzellen leicht aus bei Operationen entferntem Darmgewebe zu isolieren waren. Auch in anderen Bereichen des Körpers lassen sich mit diesem Marker adulte Stammzellen aufspüren, wo diese Zellen für Nachschub an neuem Gewebe sorgen.



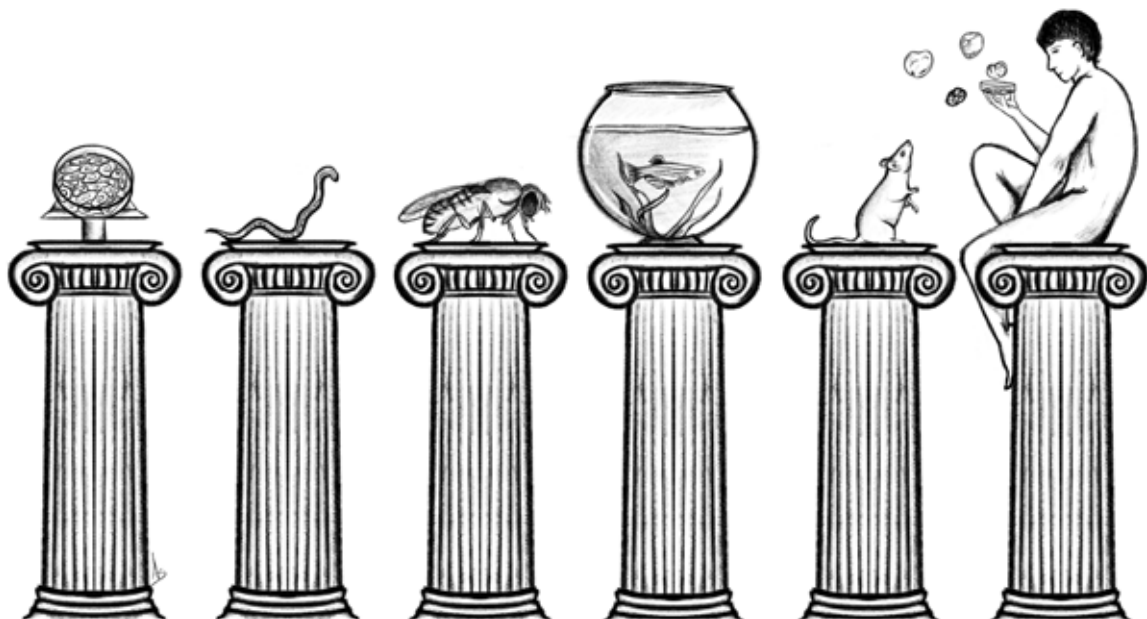
Humane Magenorganoid

Einen weiteren Fortschritt brachten verfeinerte Zellkulturtechniken: Durch Zugabe von Matrigel, einem gelartigen Sekret aus Tumorzellen der Maus, ließ sich die unmittelbare Umgebung von adulten Stammzellen – ihre Nische – sehr gut nachstellen. Eingebettet in diese 3D-Matrix finden die Zellen ein optimales Umfeld vor. Die Zugabe von Wachstumsfaktoren und einiger weiterer Zelltypen genügte – die adulten Stammzellen begannen in der Petrischale, das zu tun, was sie auch in einer echten Darmwand tun: sich selbst erneuern und sich organisieren in Bereiche, die den Zotten oder Krypten entsprechen. In der Petrischale wuchs ein sehr vereinfachter „Mini-Darm“ heran.

Nach den 2009 in *Nature* veröffentlichten Entdeckungen sei das Feld explodiert, so Bartfeld. Die adulten Stammzellen, um die es im Zeitalter der iPS-Zellen ruhiger geworden war, rückten wieder zurück ins Rampenlicht. In Utrecht hätten sich fortan viele ihrer Kolleginnen und Kollegen jeweils ein eigenes Organsystem herausgepickt.

„Das Faszinierende ist, dass sich die Organoide selbstständig organisieren und weiterwachsen“, so Bartfeld. „Wir ahmen die Signale und die Umgebung des Körpers in der Kulturschale nach, den Rest machen die Stammzellen ganz von selbst.“

Ein großer Vorteil: „Mit dieser Kulturtechnik gibt es eine unerschöpfliche Quelle von humanen Zellen eines bestimmten Gewebes. Noch dazu sind die Zellen nicht gentechnisch verändert.“ Ein weiteres Plus: Die Gewinnung der Zellen und die Kulturtechnik sind leicht zu erlernen, noch dazu sind die Organoide leicht zu handhaben. „Einfrieren, auftauen, verschicken – alles kein Problem.“



Biologisches Modellsystem in nächster Nähe zum Menschen. Organoide als experimentelle 3D-Zellkultur-Modelle überbrücken die Lücke zwischen Tiermodellen – wie Fadenwurm, Taufliege, Zebrafisch, Maus – und Mensch.

Trotzdem geraten die Organoidbauer mit adulten Stammzellen an Grenzen. So spiegeln manche Organoide bisher nicht das vollständige Spektrum an Zelltypen wider. „Die Haupteinschränkung ist, dass wir ausschließlich Epithelzellen züchten können“, sagt Vorreiter Hans Clevers. Epithelgewebe kleidet im Körper innere und äußere Oberflächen aus und kommt so etwa auf der Haut, im Magen-Darm-Trakt oder in der Lunge vor. Die drei weiteren Gewebearten des Körpers sind damit für Arbeiten mit adulten Stammzellen bisher nicht zugänglich: Binde- und Stützgewebe wie Knochen und Fett, Muskelgewebe inklusive Herzmuskelgewebe und Nervengewebe.

Pluripotente Stammzellen – die Alleskönner schließen die Lücken

Ein Manko, das Zellbiologinnen und -biologen beheben können, die mit pluripotenten Stammzellen im Labor arbeiten. Denn mit dem jeweils passenden Cocktail aus Wachstumsfaktoren lassen sich sowohl iPS-Zellen als auch ES-Zellen in nahezu jeden Zelltyp des menschlichen Körpers verwandeln.

Einer der ersten, der die Bildung von 3D-Organoiden aus pluripotenten Stammzellen beschrieb, war der früh verstorbene japanische Forscher **Yoshiki Sasai**. Seine 2008 im Fachjournal *Cell Stem Cell* veröffentlichte Beobachtung: Erlaubte er embryonalen Stammzellen, vor der Differenzierung in Nervenzellen einen Zellklumpen zu bilden, fing das Gebilde an, sich von selbst zu einer Struktur zu organisieren, die frühen Entwicklungsstadien von Gehirnbereichen ähnelte. Auch hier bildete eine gelartige 3D-Matrix den Schlüssel zum Erfolg.

Das war für Entwicklungsbiologinnen und -biologen weltweit der Startschuss für die Entwicklung von 3D-Zellkulturen für verschiedenste Organsysteme, neben Strukturen des zentralen Nervensystems unter anderem auch der Niere oder der Bauchspeicheldrüse. Doch kein Organoid hat wohl in den vergangenen Jahren mehr Aufsehen erregt als die erbsengroßen Gehirnmodelle, die im Labor von **Jürgen Knoblich** vom Institut für Molekulare Biotechnologie der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (IMBA) in Wien von der Forscherin **Madeline Lancaster** hergestellt wurden. Aus iPS-Zellen gewonnene neuronale Vorläuferzellen begannen, sich wie von selbst zu sogenannten zerebralen Organoiden zusammenzuschließen. Die neuronalen Gewebekugeln ähneln sowohl äußerlich als auch molekularbiologisch den Strukturen eines embryonalen Gehirns.



Humane Gehirnorganoide

Das Züchten von Hirnorganoiden aus iPS-Zellen ist auch eine Spezialität von **Agnieszka Rybak-Wolf**. Die Biologin leitet die neu geschaffene Organoid-Technologieplattform am Max-Delbrück-Centrum (MDC), die am Standort in Berlin-Mitte angesiedelt ist. „Die Stammzellen lagern sich in Kulturgefäßen zu dreidimensionalen Zellaggregaten zusammen. Diese werden dann mit einem speziellen Mix von Wachstumsfaktoren dazu gebracht, sich in neuronale Zellen zu differenzieren“, beschreibt sie die ersten Schritte. Bettet man den Zellhaufen nun in eine 3D-Matrix ein, so lässt sich auch hier die faszinierende Selbstorganisation beobachten. „Bilden sich neuroepitheliale Ringe, die ein bisschen wie Blütenstrukturen aussehen, ist das ein gutes Zeichen“, erklärt Rybak-Wolf. Nun heißt es warten, bis die Organoide zu der Größe einer Erbse heranreifen und eine komplexere Gewebeorganisation erreichen. Das kann drei Monate und länger dauern. „Typischerweise entspricht das Gehirnalter der Organoide in etwa der 23. bis 28. Schwangerschaftswoche“, sagt Rybak-Wolf.

Eine Zeitspanne, die auch Herausforderungen für die Forschenden birgt: Da pluripotente Stammzellen auf dem Weg zum Organoid einen viel längeren Entwicklungsweg als adulte Stammzellen zurücklegen müssen, sind die Mini-Gehirne im Labor untereinander oft sehr unterschiedlich. Diese Variabilität wird noch verstärkt, weil Hirnorganoide von verschiedenen pluripotenten Stammzelllinien abgeleitet werden können. Eine weitere Schwierigkeit ist die Nährstoffversorgung der 3D-Gewebekulturen. Wachsen sie zu stark, werden die erbsengroßen Kügelchen im Kernbereich mangels eines Gefäßsystems weder mit Sauerstoff noch mit Nährstoffen versorgt und das Gewebe stirbt ab.

Bioanalytische Hightechmethoden im Einsatz

Um die Entwicklung ihrer Organoide in der Kulturschale detailliert zu untersuchen, können Forschende auf modernste Hightechmethoden der Biowissenschaften zurückgreifen.

Um die Zellbiologie im Detail zu durchleuchten, kommt modernste Lichtmikroskopie oder hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie zum Einsatz. Zudem ist die Genome-Editing-Technologie ein unverzichtbares molekularbiologisches Werkzeug geworden. Mithilfe von Designernukleasen wie dem 2020 mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichneten System CRISPR/Cas9 lässt sich das Genom der Zellen, aus denen das Organoid hergestellt wird, gezielt verändern. So lassen sich die Effekte spezifischer Mutationen untersuchen.

Zu den Feldern mit der derzeit wohl spannendsten Entwicklung in der Biotechnologie zählt die Einzelzellanalyse. Sequenzieretechniken der neuesten Generation erlauben es, selbst geringe Spuren Erbsubstanz oder Proteine aus einer Zelle zu erfassen. Ihr prominentester Vertreter ist die Einzelzell-RNA-Sequenzierung. Mit dieser Methode lässt sich über die vorhandenen Boten-RNA-Moleküle (mRNAs) messen, welche Gene zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer einzelnen Zelle aktiv sind. So lässt sich die spezifische Signatur, das molekulare Profil einer Zelle, ermitteln.

Wie gut sich die vielen neuen Zelltechnologien verbinden lassen, um die Entwicklungsbiologie von Geweben und die Organogenese zu studieren, haben die Entwicklungsbiologin **Barbara Treutlein** und ihr Team eindrucksvoll am Beispiel von Organoiden gezeigt: Die Forschenden wollten wissen, wie gut Organoide, die auf der Basis von iPS-Zellen gewonnen werden, die molekularen Prozesse der Organentwicklung in der Natur widerspiegeln.

„Gehirn- wie auch Leberorganoide spiegeln die Genexpressionsmuster sehr gut wider“, berichtet Treutlein. „Sie ähneln allerdings mehr Organgewebe in der embryonalen Entwicklung und nicht den ausgewachsenen Organen.“ Für die Forscherin eröffnet sich aus der Kombination von Einzelzellgenomanalyse und den stammzellbasierten Organoiden ein spannendes neues Forschungsfeld. „Da die Organoide noch zusätzlich mithilfe von Genome-Editing genetisch verändert werden können, können wir Entwicklungsmechanismen der menschlichen Organogenese in bisher unerreichtem Detail durchleuchten“, schwärmt Treutlein, die kürzlich vom Leipziger Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie an die ETH Zürich in das Department für Biosysteme in Basel wechselte und dort Professorin für Quantitative Entwicklungsbiologie ist.

Die Kombination aus Organoidtechnologie und Einzelzellanalyse wird auch unter dem Dach des Berlin Institute of Health (BIH) sehr aktiv ausgebaut. An dieser Forschungseinrichtung für Translationale Medizin wird mit Unterstützung der Berliner Charité und des Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) die dafür notwendige Expertise gebündelt. Da Organoide das Potenzial besitzen, die Medizin disziplinenübergreifend zu revolutionieren, wurde am BIH für das Thema „Organoide und Cell-Engineering“ ein eigener Translations-Hub aufgebaut. Hier vernetzt sich die BIH-Forschungscommunity, um innovative Technologien und Methoden zu entwickeln.

Das MDC-Forschungszentrum Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB) in Berlin-Mitte widmet sich gezielt der Weiterentwicklung von Einzelzelltechnologien und ihrer Interpretation durch Anwendung künstlicher Intelligenz. Hier ist auch die Organoid-Technologieplattform von Agnieszka Rybak-Wolf angesiedelt. Die Plattform baut dabei auf einer umfangreichen Expertise am MDC sowie der Charité zu Stammzellmethoden und Ansätzen der Genomeditierung auf und wird eng mit dem Labor von BIMSB-Gründungsdirektor **Nikolaus Rajewsky** zusammenarbeiten. Er ist Spezialist für neuartige Sequenzierungstechnologien.

Ein Zellatlas für humane Organoide

Einen umfassenden Zellatlas menschlicher Organoide für die biomedizinische Forschung will ein im Sommer 2020 gestartetes EU-Forschungsprojekt erstellen: „HCA|Organoid“ ist der europäische Beitrag zum internationalen Mega-Forschungsprojekt „Human Cell Atlas“ (HCA). In dem Konsortium wollen Forschende aus 18 Ländern eine Referenzdatenbank zusammentragen, in der die Genaktivität aller menschlichen Zelltypen in nie dagewesener Auflösung erfasst werden soll.

Mit dem Zellatlas aus molekularen Referenzkarten soll eine einzigartige öffentliche Ressource entstehen, eine Art Google Maps der humanen Zellbiologie. Finanziell unterstützt wird das ambitionierte Projekt von der philanthropischen Chan-Zuckerberg-Initiative.

In HCA|Organoid arbeiten führende Organoidforschende aus Österreich, den Niederlanden, Deutschland und der Schweiz an einem frei zugänglichen „Organoid Cell Atlas“. Das Konsortium wird von der EU mit 5 Millionen Euro unterstützt. Koordiniert vom IMBA in Wien, sind als hiesige Forschungseinrichtungen das Deutsche Krebsforschungszentrum (DFKZ) und das ebenfalls in Heidelberg angesiedelte European Bioinformatics Institut (EMBL-EBI) beteiligt. Im Rahmen des Projektes sollen zunächst von jeweils hundert Personen sowohl Gehirnanorganoide als auch Darmorganoide erzeugt werden. Diese Organmodelle sollen anschließend mit Einzelzellanalysen charakterisiert werden, um die genetische Vielfalt des Menschen abzubilden und eine umfassende Referenz für die Gesundheitsforschung zu etablieren.

Organentwicklung in bisher unerreichtem Detail erforschen

Der Wiener Stammzellforscher **Jürgen Knoblich** ist überzeugt: Humane Organoide stellen eine neue Generation biologischer Modellsysteme dar, mit denen sich die menschliche Organentwicklung und Erkrankungen in bisher unerreichtem Detail erforschen lassen.

„Humane Organoide überbrücken als experimentelle Modelle die Lücke zwischen Tiermodellen und dem Menschen“, sagt Knoblich. Traditionell setzen Entwicklungsbiologinnen und -biologen auf Modellorganismen wie Fadenwurm, Zebrafisch oder Maus, um Stammzellbiologie und grundlegende Schritte in der Organentwicklung zu verstehen. Doch klar ist: Diese Tiere spiegeln weder Gewebearchitektur noch Genetik und Physiologie des Menschen hinreichend wider.

Die Organoidtechnologie schaffe nun die Möglichkeit, rasch und mit beherrschbarem technischem Aufwand die menschliche Organentwicklung in der Kulturschale nachzuvollziehen. „Gerade für experimentell bisher schwer zugängliche Organsysteme wie das Gehirn öffnet sich hier ein neues Fenster.“ Die stammzellbasierten Hirnorganoide, die die Wiener Biotechnologinnen und -technologe heranzüchten, sind vor allem geeignet, die frühe Hirnentwicklung im Detail zu studieren. Die erbsengroßen Gewebekugeln stellen nicht nur aus genetischer Sicht die Verhältnisse im Menschen besser dar. Auch das Timing stimmt: Die Organoide wachsen und entwickeln sich in der Kulturschale gemäß den zeitlichen Abläufen der menschlichen Embryonalentwicklung.

Für Stammzellforscher Knoblich sind Organoide daher ideale Studienobjekte, um zu verstehen, wie neuronale Stammzellen und Vorläuferzellen in dieser hochkomplexen Umgebung eine große Anzahl an unterschiedlichen Neuronen entstehen lassen – und wie sie sich untereinander vernetzen. Tatsächlich entstehen in den zerebralen Gewebemodellen synaptische Verbindungen. In mehreren Laboren weltweit wurde sogar neuronale Netzwerkaktivität, sogenannte Oszillationen, gemessen.

Knoblich mahnt bei der Interpretation dieser Beobachtungen jedoch zur Vorsicht: Die Eigenschaften und die Relevanz dieser Daten müsse noch weiter untersucht werden. Bisher ließen sich mit Organoidsystemen immer nur winzige Teile des menschlichen Körpers in der Kulturschale nachstellen – nicht aber das Zusammenspiel verschiedener Körperregionen. Die hochkomplexe Gewebearchitektur und räumliche Organisation eines Gehirns werde in den Hirnorganoiden keinesfalls erreicht. „Es ist auch nicht das Ziel des Feldes, hier hochgeordnete Gehirnfunktion nachzubauen“, sagt Knoblich. Außerdem fehlten den Gewebe-Ensembles wichtige Zelltypen, etwa Mikrogliazellen sowie andere Immunzellen und Blutgefäße.

Gehirnorganoide werfen ethische Fragen auf

Zusammen mit dem Münsteraner Stammzellforscher **Hans Schöler**, dem amtierenden Präsidenten des German Stem Cell Network (GSCN), leitet Knoblich derzeit eine interdisziplinäre Arbeitsgruppe der Leopoldina, der Nationalen Akademie der Wissenschaften, zum Thema Hirnorganoide. Sie geht unter anderem der Frage nach, ob die komplexen Gehirnmodelle im Labor künftig so etwas wie Schmerzempfinden oder ein Bewusstsein entwickeln können. „In unseren Diskussionsrunden waren die versammelten Experten einhellig der Ansicht, dass wir meilenweit entfernt sind von einer Struktur, die in irgendeiner Art und Weise kognitive Prozesse nachbilden könnte.“

Die ethische Debatte zu Aspekten der Organoidforschung steht laut **Hannah Schickl** auf nationaler Ebene noch am Anfang. Als wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften (BBAW) hat sie den aktuellen Themenband „Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft“ der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht* koordiniert und hierbei besonders den ethischen und rechtlichen Diskurs verfolgt. Die Kernaussagen und die politischen Handlungsempfehlungen aus dem Themenband sind Bestandteil dieses White Papers.

Die Frage, ob zukünftige komplexere Hirnorganoide potenziell so etwas wie ein Bewusstsein entwickeln könnten, hält die analytische Philosophin und Bioethikerin für „vage“. Bei dem Diskurs seien Ethikerinnen und Ethiker sowie Philosophinnen und Philosophen derzeit zum einen auf das Werkzeug des Gedankenexperiments angewiesen. Zum anderen sei der komplexe Begriff des Bewusstseins sowohl in den Neurowissenschaften als auch in der Philosophie nicht scharf definiert. Solange das Phänomen des Bewusstseins theoretisch derart unbestimmt bleibt und praktisch auch nicht messbar ist, bleibt wohl auch die Debatte um die Bewusstseinsfähigkeit von Hirnorganoiden im Ungefähren.

Eine konkretere Frage stelle sich vor dem Hintergrund, dass die menschliche Hirnentwicklung im Zusammenhang mit rechtlichen Regelungen zu Embryonen, z. B. den deutschen Regelungen zum Schwangerschaftsabbruch oder auch der internationalen 14-Tage-Regel, als normatives Kriterium diskutiert wird. „Das hat entweder Einfluss auf die ethische und rechtliche Bewertung von

menschlichen Hirnorganoiden – und zwar nicht erst von zukünftigen, sondern bereits von bestehenden – oder auf die Einschätzung der menschlichen Hirnentwicklung als normatives Kriterium. Der Fall von Hirnorganoiden macht dabei wieder einmal deutlich, dass ein Schutz basierend auf potenziellen Fähigkeiten nicht konsistent durchzuhalten ist und diese daher als Schutzkriterien – zumindest für einen starken Schutz – aufgegeben werden sollten zugunsten aktueller Fähigkeiten, wie z. B. der Empfindungsfähigkeit oder der Bewusstseinsfähigkeit.“ In jedem Fall müsse diese Frage ethisch und rechtlich geprüft werden, so Schickl.

Der rechtliche Status von Gehirnorganoiden ist in Deutschland bereits Gegenstand von rechtswissenschaftlicher Forschung: Seit dem vergangenen Jahr untersuchen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler der Juristischen Fakultät der Universität Passau den Rechtsrahmen für gegenwärtige und zukünftig denkbare Szenarien der Organoidforschung. Das Team um **Hans-Georg Dederer** ist Teil des Forschungsverbunds „Interaktion humaner Gehirnzellen“ (ForInter), der vom Freistaat Bayern mit insgesamt vier Millionen Euro gefördert wird. Welche bestehenden Gesetze setzen den Rahmen für die Organoidforschung? Wo fehlen Bestimmungen zur Regulierung therapeutischer Anwendungen? Muss ein Gehirnorganoid rechtlich geschützt werden – und wenn ja, in welchem Umfang? Diese Fragen will das Team um Dederer klären und im Falle von Regelungslücken und Unzulänglichkeiten Anpassungsvorschläge für den Gesetzgeber erarbeiten.

Embryoide: Internationale Debatte ist in vollem Gange

Für ethisch und rechtlich brisanter hält Schickl allerdings sogenannte Embryoide. Diese Gebilde entstehen, wenn pluripotente Stammzellen unter speziellen Kulturbedingungen beginnen, per Selbstorganisation eine 3D-Struktur zu formen, die Embryonen ähnelt – sowohl hinsichtlich der entstehenden Zelltypen als auch der Gewebeorganisation. Embryoide werden in Anlehnung an die Synthetische Biologie auch als synthetische Embryonen bezeichnet – entstanden nicht aus der Verschmelzung von Spermium und Eizelle, sondern aus einem Ensemble von Stammzellen in der Kulturschale. Es sei noch offen, wie Embryoide ontologisch einzustufen sind – als menschliche Embryonen oder als neue Entitäten – und welcher normative Status ihnen zugeschrieben werden muss, so Schickl.

Inzwischen wurden bereits entwicklungsfähige Embryoide im Tiermodell erzeugt und pluripotente Stammzellen sind – entgegen weitverbreiteter Ansicht – unter bestimmten Umständen offenbar zur Totipotenz fähig, aus ihnen kann also ein vollständiger Organismus hervorgehen. Vor dem Hintergrund, dass Totipotenz in vielen rechtlichen Regelungen und Richtlinien als zentrales Schutzkriterium angesehen wird, seien das nicht zu unterschätzende Forschungsergebnisse. „International ist die ethische und rechtliche Debatte hier bereits in vollem Gange.“ Und auch hierzulande müssten klare rechtliche Rahmenbedingungen für die Embryoidforschung geschaffen und bestehende Regelungen zu menschlichen Embryonen in vitro überdacht werden.

Neue Krankheitsmodelle: Viren, Krebs und Erbkrankheiten auf der Spur

Organoide ermöglichen nicht nur neue Einblicke in entwicklungsbiologische Prozesse. Sie eröffnen völlig neue Spielräume für die Erforschung von Krankheitsmechanismen. Das Spektrum reicht von Infektionskrankheiten, Krebs, Erbkrankheiten bis hin zu neurodegenerativen Erkrankungen.

Seitdem die iPS-Technologie die Stammzellforschung revolutioniert hat, erhalten Biomedizinerinnen und -mediziner erstmals direkten Zugang zu „authentischem“ humanen Zellmaterial von gesunden Menschen sowie von Patientinnen und Patienten und das in nahezu unerschöpflichen Mengen. Mit molekularen Scheren wie dem Genome-Editing-Werkzeug CRISPR/Cas9 lassen sich zudem präzise Veränderungen im Erbgut der Stammzellen vornehmen. Somit können die Zellen der Krankheitsmodelle im Labor genetisch maßgeschneidert werden.

So werden Organoidkulturen zu In-vitro-Stellvertretern, gleichsam zellbiologische „Avatare“ einer Patientin oder eines Patienten. Die Zellensembles könnten – so die Hoffnung – auf Medikamente genauso oder ähnlich reagieren wie das echte Organ im menschlichen Körper. So ließe sich die Wirkung von Medikamenten effizienter als bisher modellieren und testen, ohne dass Patientinnen und Patienten unnötigen Nebenwirkungen ausgesetzt werden. Das erlaubt zuverlässigere Vorhersagen darüber, ob eine Patientin oder ein Patient mit einer Erkrankung auf eine bestimmte Therapie anspricht. Das ideale Ergebnis wäre eine auf die zellulären Eigenschaften der individuellen Krankheit zugeschnittene Behandlung.

Pandemieforschung: Wie Zika und COVID-19 im Körper wüten

Auch wenn Organoid eine recht neue Entwicklung sind: Sie haben sich in den vergangenen Jahren bereits als wertvolle Werkzeuge bei der Erforschung neuer Infektionskrankheiten und pandemischer Viren erwiesen. Als im Jahr 2016 das von Stechmücken übertragene Zika-Virus auftauchte, rätselten Medizinerinnen und Mediziner sowie Virologinnen und Virologen lange, wie der Erreger im Mutterleib schwere Fehlbildungen des Gehirns von Ungeborenen verursacht. Die Babys litten unter einer sogenannten Mikrozephalie – ihre Köpfe waren viel zu klein entwickelt.

Mit aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Hirnorganoiden kamen die Biomedizinerinnen und -mediziner dem Virus auf die Spur. An den In-vitro-Gewebemodellen ließ sich studieren, dass das Zika-Virus neurale Stammzellen befällt und wie dadurch Mikrozephalie entsteht. Nicht nur das: Wirkstoffscreenings an den mit Zika infizierten Gehirnmodellen förderten eine Reihe schlagkräftiger Medikamente zutage.

Auch bei der Erforschung des Coronavirus SARS-CoV-2 stehen Organoiden zurzeit als Modelle an vorderster Front im Kampf gegen die COVID-19-Pandemie. Als wichtigste Eingangspforte in den Körper standen die Atemwege hierbei zunächst im Fokus.



Werkzeuge der Pandemieforschung. Organoide als Infektionsmodelle helfen zu verstehen, was Viren wie SARS-CoV-2 oder Zika im Körper anrichten und wie man die Ausbreitung der Erreger mit Arzneien stoppen kann.

Ob Corona oder Influenza – wie diese hochansteckenden Viren lebendes Lungengewebe attackieren und was sie hier anrichten, untersucht das Team um **Andreas Hocke** mit modernsten molekularbiologischen und bildgebenden Verfahren. Der Infektionsforscher von der Berliner Charité ist ein Vorreiter bei der Entwicklung von Alternativen zum Tierversuch. Vor mehr als zehn Jahren hat er erfolgreich ein 3D-Lungengewebemodell entwickelt. Es basiert auf menschlichem Lungengewebe, welches an der Charité bei Operationen anfällt. Mittlerweile ist es fester Bestandteil der hiesigen Translationsforschung geworden. Der Haken: Die Gewebestücke sind kurzlebig und nur in begrenzten Mengen verfügbar.

Deshalb experimentiert Hockes Team seit anderthalb Jahren an Lungenorganoiden aus adulten Stammzellen. „Sie sind einfach zu vermehren, lange kultivierbar und spiegeln den zellulären Kontext gut wider. So könnte man sogar chronische Krankheitsgeschehen abbilden“, sagt Hocke. Mittlerweile ist es seinem Team gelungen, die Lungenorganoide im Labor mit SARS-CoV-2 zu infizieren und mehr darüber zu erfahren, welche Zelltypen das Virus in der Lunge ansteuert. Im Fokus steht dabei der Rezeptor ACE2. Wie das 2003 beschriebene Coronavirus SARS-CoV-1 nutzt auch SARS-CoV-2 diesen Rezeptor an der Oberfläche von Zellen, um an diese anzudocken und sein Erbmateriale einzuschleusen. „Unsere Analysen untermauern die Beobachtung, dass die Viren die Zellen in den Lungenbläschen weniger befallen als zunächst angenommen und vielmehr systemische Entzündungsreaktionen initiiert werden, die indirekt zerstörerisch auf die Lungen wirken“, sagt Hocke.

Obwohl auch Hocke fasziniert ist von Organoiden, so weiß er um deren Grenzen: „Ein Lungenorganoid spiegelt sehr gut Grundfunktionen wider – aber es kann nicht atmen“, sagt Hocke. „Dennoch haben wir hiermit eine Ergänzung zu unseren bisherigen Modellen und sie helfen, Tierversuche zu reduzieren.“

Den Atemwegen galt anfangs die volle Aufmerksamkeit der Anti-Corona-Allianzen weltweit. Doch schon bald verdichteten sich die Hinweise, dass COVID-19 auch viele weitere Organsysteme des Körpers betrifft. Dazu zählen Gehirn, Nieren, Darm, Leber, Herz und Bauchspeicheldrüse oder die Plazenta. Sind es tatsächlich neue Virus-Schlachtfelder im Körper – oder nur Folgeschäden einer fehlgeleiteten Immunantwort? Wie geht das Virus im Körper vor? Schnell begannen Organoidforschende auf der ganzen Welt, ihre 3D-Zellkulturen mit dem pandemischen Virus zusammenzubringen. Das Ergebnis: Der COVID-19-Erreger befällt nicht nur Zellen in Organoiden von Lunge, Leber und Niere. Etwa 30 Prozent der COVID-19-Patientinnen und -Patienten zeigen Durchfallerkrankungen und das Virus kann aus dem Stuhl bei manchen Patientinnen und Patienten isoliert werden. Neben **Hans Clevers** in Utrecht studiert auch **Steeve Boulant** am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg die Interaktion des Virus mit den menschlichen Darmzellen an Darmorganoiden. Auch Blutgefäßorganoiden wie die aus dem Labor von **Josef Penninger** vom Life Science Institute an der kanadischen University of British Columbia werden direkt von SARS-CoV-2 infiziert. **Jay Gopalakrishnan** vom Institut für Humangenetik in Köln untersucht zusammen mit Forschenden aus Paris, Köln, Münster und Bonn, wie das SARS-CoV-2 neuronale Zellen in Hirnorganoiden befällt.

Neue Allianz entwickelt Organoidinfektionsmodelle

„Es ist immer noch unklar, inwiefern SARS-CoV-2 weitere Organsysteme direkt infizieren und schädigen kann oder ob diese Schädigungen indirekt durch das Immunsystem ausgelöst werden“, sagt Andreas Hocke. Die Vielfalt der humanen Organoidmodelle biete eine ideale Plattform für die Infektionsforschung. Das soll in einem neuen bundesweiten Forschungsverbund unter dem Dach des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Netzwerks der Universitätsmedizin zur Bekämpfung von COVID-19 erprobt werden. In der Allianz namens „Organo-Strat“ haben sich Partnerinnen und Partner aus neun Standorten zusammengetan, um eine ganze Reihe unterschiedlicher Organoidinfektionsmodelle zu entwickeln.

Charité-Forscher Andreas Hocke koordiniert den Verbund. Auch die Würzburger Gruppe von Sina Bartfeld und der DKFZ-Forscher Steeve Boulant sind mit im Boot. Weitere Partnerinnen und Partner sind an den Hochschulmedizinstandorten in Würzburg, Jena, Heidelberg, Tübingen, Münster, Marburg, Hamburg und Aachen. Auch wenn SARS-CoV-2 im Fokus steht – die geschaffenen Organoidmodelle sollen künftig als Pandemieforschungsplattform eingesetzt werden, wenn neue Erreger auftreten. „Zudem werden wir die Organoidinfektionsmodelle in präklinischen Tests einsetzen, um potenziell wirksame, antivirale Substanzen zu identifizieren“, sagt Hocke.

Ein weiteres vom BMBF gefördertes Corona-Forschungsprojekt mit Lungenorganoiden aus iPSC-Zellen läuft derzeit an der Ruhr-Universität Bochum. Unter dem Projekttitel „Organ-Sars“ wollen die Virologin **Stephanie Pfänder** und der Molekularbiologe **Thorsten Müller** mithilfe von Orga-

noiden ein zuverlässiges Modell für den Einsatz in Hochdurchsatzanalysen entwickeln. Für die Experimente lässt Pfänder das Corona-Virus grün leuchten: Dazu wurde das SARS-CoV-2-Genom mit einer Sequenz für das grün fluoreszierende Protein ausgestattet. „Mit hochauflösender Mikroskopie werden wir die Interaktionen zwischen Virus und Organoid und die Mechanismen der Infektion untersuchen“, so Pfänder. Außerdem will das Bochumer Team das Modellsystem für Wirkstofftests mit antiviralen Substanzen einsetzen.

„Mini-Tumore“ für die individualisierte Krebsmedizin

Auch in der Krebsforschung spielen die stammzellbasierten 3D-Modellsysteme eine immer wichtigere Rolle. An ihren „Mini-Mägen“ untersucht die Würzburger Organoidforscherin **Sina Bartfeld** z. B. die Entstehung von Magenkrebs. Knapp die Hälfte aller Magengeschwüre werden durch Infektionen mit einem von zwei Pathogenen ausgelöst: Das Bakterium *Helicobacter pylori* ist für bis zu 40 Prozent der Fälle verantwortlich, das Epstein Barr Virus (EBV) für bis zu 10 Prozent. In beiden Fällen versteht man aber noch nicht, wie die Infektion zur Krebsentstehung beiträgt. „Wenn wir die Organoide im Labor experimentell infizieren, können wir die Wechselwirkung der Erreger mit den humanen Wirtszellen simulieren und genauer ergründen.“

In ihren Experimenten hat sie beobachtet, dass verschiedene Zelltypen unterschiedlich auf die Infektion reagieren. Derzeit versucht Bartfelds Team zu enträtseln, ob *Helicobacter pylori* sich an alle Zelltypen im Magen anheftet oder ob es eine bestimmte Zielzelle gibt. Auch die Krebsentstehung durch EBV ist hochinteressant. „Bisher ist gar nicht klar, wie dieser Erreger die Schleimhautzellen im Magen genau infiziert“, betont Bartfeld. Langfristig möchte sie gerne besser verstehen, warum einige Patientinnen und Patienten an Krebs erkranken, während andere gesund bleiben.

Organoide bergen zudem interessantes Anwendungspotenzial für die personalisierte Medizin. In diesem Konzept wird versucht, anhand der molekularbiologischen Informationen und der klinischen Situation einer Patientin oder eines Patienten die jeweils beste Therapie zu finden. Bartfeld ist es z. B. gelungen, Organoide nicht nur von gesundem Gewebe, sondern auch von Tumorgewebe von Patientinnen und Patienten herzustellen, denen der Magen aufgrund einer Krebserkrankung entfernt worden war. „Die Experimente haben gezeigt, dass man diese Organoide im Prinzip zu Medikamententests verwenden kann. Andere Gruppen verfolgen jetzt, ob Medikamententests an Organoiden eine gewisse Vorhersagekraft für die Reaktion einer Patientin oder eines Patienten haben könnten. Es besteht die Hoffnung, dass in Zukunft an solchen patientenspezifischen Tumororganoiden getestet werden könnte, welche Medikamente wirksam sind, und welche nicht. Bis dahin ist es aber noch ein weiter Weg“, sagt Bartfeld.

Große Sammlungen von Krebsorganoiden machen die riesige und komplexe Vielfalt von Krebserkrankungen für Laborexperimente zugänglich. Die Tumororganoide können sogar eingefroren,

gelagert und bei Bedarf wieder aufgetaut werden, um sie zu vermehren. Es entstehen „lebende Biobanken“. Ein solches großes Tumorganoidarchiv ist etwa am Hubrecht Organoid Technology (HUB) in den Niederlanden entstanden. Das Zellmaterial sowie damit verknüpfte molekularbiologische und klinische Daten stehen der Wissenschaftscommunity frei zur Verfügung. Wie wertvoll diese Tumorganoide für die Wirkstoffsuche und die Präzisionsmedizin tatsächlich sind, muss sich allerdings erst noch erweisen. Dazu wurden bereits zahlreiche klinische Beobachtungsstudien gestartet.

Mit **Henner Farin**, der am Frankfurter Georg-Speyer-Haus eine Nachwuchsgruppe im Rahmen des Deutschen Konsortiums für Translationale Krebsforschung (DKTK) leitet, hat neben Sina Bartfeld ein weiterer Schützling aus der niederländischen Organoidschmiede von Hans Clevers den Weg zurück nach Deutschland gefunden. In der Mainmetropole erzeugt Farin Darmtumorganoide und erforscht daran Krebsentstehungsmechanismen. „Der klassische Weg, Tumorzellen von Patienten zu isolieren und in Kultur zu nehmen, liefert Zelllinien, die mit dem Originaltumor nicht mehr viel gemeinsam haben“, so Farin.

Die individuellen Schwachstellen eines Tumors ermitteln

Züchte man hingegen Organoide aus dem Krebsgewebe, so könne man den Tumor genetisch sehr stabil nachbilden. „Damit können wir die genetischen Unterschiede zwischen individuellen Tumoren detailliert untersuchen und herausfinden, was das für ihre Eigenschaften bedeutet.“ Kürzlich haben die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler mithilfe der molekularen Schere CRISPR/Cas9 in Organoiden gezielt sogenannte Tumorsuppressorgene ausgeschaltet. „Genetische Screens erlauben uns in Zukunft, die individuellen Schwachstellen eines Tumors zu identifizieren, gegen die sich eine erfolgreiche Therapie richten kann.“, erklärt Farin.

Ein Spezialist für die Herstellung von Krebsorganoiden aus Patientengewebe ist der Stammzellforscher **Kai Kretzschmar**. Auch er ist vor Kurzem aus dem Clevers-Labor in Utrecht nach Deutschland gewechselt und baut seit Anfang 2020 eine Nachwuchsgruppe am Universitätsklinikum Würzburg auf. Als Postdoktorand hat Kretzschmar daran gefeilt, die Protokolle für die Gewinnung von Krebsorganoiden zu optimieren. So gelingt es immer besser, Teile der sogenannten Mikroumgebung – also den Zell-Mix in direkter Nachbarschaft der entarteten Zellen – nachzustellen.

„Kombiniert man Darmkrebsorganoide in der Kulturschale mit Immunzellen, so lässt sich ihre Wechselwirkung gut studieren“, sagt Kretzschmar. Damit seien neue Modelle für Medikamententests greifbar: „An diesen Kokulturen könnte man langfristig auch neuartige Immuntherapien auf ihre Wirksamkeit testen.“ Am Mildred-Scheel-Nachwuchscenter (MSNZ) für Krebsforschung will sich Kretzschmar nun dem Epithel der Mundschleimhaut widmen und wird mithilfe der Organoidtechnologie die Entstehung von Kopf-Hals-Krebs modellieren.

Neuer Blick auf neurodegenerative Erkrankungen

Bahnbrechend sind organoidbasierte Krankheitsmodelle für die Erforschung von neurodegenerativen Erkrankungen. Die menschlichen 3D-Zellkulturen bieten ein viel realistischeres Modell als die bisher üblichen Zellkulturrasen in der Petrischale oder Tiermodelle.

Das Team um **Hans Schöler** vom Max-Planck-Institut für biomolekulare Medizin studiert an Gehirnorganoiden unter anderem Mechanismen der Parkinson-Erkrankung. **Julia Ladewig** am Hector Institute of Translational Brain Research in Mannheim untersucht an den Gehirnmodellen molekulare und zellbiologische Ursachen und therapeutische Angriffspunkte bei psychischen Erkrankungen wie Autismus und Schizophrenie. Zudem lassen sich an den Zellhäufchen in der Petrischale auch Psychopharmaka erproben. **Beate Winner** vom Universitätsklinikum Erlangen versucht der Entstehung seltener neuraler Erkrankungen an den hirnhähnlichen Zellkulturmodellen auf die Spur zu kommen. Und am LIFE & BRAIN Zentrum in Bonn untersucht das Forscherteam um **Oliver Brüstle** gemeinsam mit dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) mittels zerebraler Organoide den Stoffwechsel von Arzneimitteln im zentralen Nervensystem (ZNS).

Zerebrale Organoide dienen dem Team um **Benedikt Berninger** vom Institut für Physiologische Chemie an der Universität Mainz zudem für die Erprobung neuer, vielversprechender Ansätze der Regenerativen Medizin. Eine Strategie für den Ersatz von verlorengegangenen Nervenzellen im Gehirn ist die direkte Umwandlung von sogenannten Gliazellen. „Wir nutzen die Mini-Gehirne als Plattform, um die Umprogrammierung von Gliazellen in Nervenzellen zu studieren“, erläutert Berninger. Auch das Team um **Magdalena Götz** vom Helmholtz Zentrum München widmet sich mithilfe von Hirnorganoiden intensiv der Erforschung dieser Strategie.

Die stammzellbasierten 3D-Krankheitsmodelle für die Neuroforschung werden immer komplexer und ausgereifter: Das Team von **Mina Gouti** am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz-Gemeinschaft (MDC) hat vor Kurzem ein Verfahren entwickelt, mit dem es äußerst weit entwickelte und funktionsfähige neuromuskuläre Organoide erzeugen kann. Die aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Gebilde formten von selbst Nervenzellen, Skelettmuskeln und sogar motorische Endplatten. Das sind die Kontaktstellen von Nervenzellen und Muskeln und der Übertragungsort für Signale, die zu Bewegungen führen. Zur Verblüffung der Forscherin bildeten die selbstorganisierenden Zellstrukturen funktionale Netzwerke aus. Und nach 40 Tagen brachten die Motoneuronen in den Organoiden tatsächlich die Muskeln dazu, zu kontrahieren.

Für Gouti eröffnet das 3D-Zellkulturmodell ganz neue Ansätze, um Erkrankungen zu untersuchen, die zum Absterben von Motoneuronen führen. Dazu zählt die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), eine bisher nicht heilbare Erkrankung, die zu Muskelschwäche und Lähmungserscheinungen führt. Aus iPS-Zellen von ALS-Patientinnen und -Patienten wird das Team um Gouti nun neuromuskuläre Organoide züchten. Sie öffnen ein neues Fenster, um bereits den Beginn der Krankheit in der Petrischale zu beobachten und die Wirkung von Arzneien zu erproben.

Wegbereiter für eine personalisierte Medizin: Von Testsystemen, Wirkstoffsuchen und regenerativen Therapien

Als Modelle für menschliche Krankheitsprozesse sind Organoide inzwischen zu äußerst gefragten Werkzeugen für die medizinische Translation geworden, also die Überführung von innovativen Ansätzen aus dem Labor in die klinische Praxis.

Als Stellvertreter im Labor können die stecknadelkopfgroßen Zellhäufchen – so die Hoffnung – auf Medikamente genauso oder ähnlich reagieren wie das echte Organ im menschlichen Körper. Das große Plus: Dank moderner Stammzelltechnologien lassen sich von jeder Patientin und jedem Patienten individuelle Krankheitsmodelle herstellen. So eröffnen sich neue Möglichkeiten für die Pharmaforschung. An den 3D-Gewebe-Modellen lassen sich Substanzen testen und auf ihre Wirksamkeit erproben. Sie ebnen den Weg für eine personalisierte Medizin.



Vision Human-on-a-Chip. Über Mikrokanäle auf einem Chip lassen sich immer mehr Mini-Organsysteme miteinander verknüpfen. Die Multi-Organ-Chips eignen sich für Wirkstofftests in der Pharmaindustrie.

Testsysteme für die Pharmaforschung

In einem bestimmten Fall haben organoidgestützte Medikamententests sogar schon Einzug in die klinische Routine gehalten: bei Patientinnen und Patienten mit Mukoviszidose. Die auch Cystische Fibrose genannte Stoffwechselerkrankung tritt auf, weil vor allem in der Lunge, aber auch in der Bauchspeicheldrüse oder im Darm ein genetisch veränderter Membrankanal den Wasser- und Salzhaushalt der Epithelzellen nicht richtig reguliert und deshalb zähflüssige Sekrete entstehen. Die Fehlfunktion des Transportkanals kann auf eine große Bandbreite unterschiedlicher und teils seltener Genmutationen zurückgehen, weshalb sich der Erfolg einer Medikamentenbehandlung bisher oft nicht vorhersagen ließ.

Wie ein Team holländischer Kinderärztinnen und -ärzte in Kooperation mit dem Labor von **Hans Clevers** jedoch gezeigt hat, kann der Therapieerfolg recht sicher abgeschätzt werden, wenn man die Medikamente an patientenspezifischen Organoidkulturen aus der Enddarmschleimhaut testet. „Seit vergangenem Jahr bezahlen die niederländischen Krankenversicherungen die individualisierte Organoiddiagnostik“, berichtet Clevers. Denn die Gewebetests ermöglichen einen gezielteren Einsatz der teuren Mukoviszidose-Medikamente. „Für Mukoviszidose sind Organoide bereits ein integraler Bestandteil des niederländischen Gesundheitssystems geworden“, so Clevers.

Innovative Ansätze für die Testung und das Screening neuer Wirkstoffe auf der Basis von 3D-Zellkulturen sind bereits in den Fokus von medizinischen Translationszentren in Deutschland gerückt. Dazu zählt das Hector Institute for Translational Brain Research (HITBR), eine gemeinsame Einrichtung des Zentralinstituts für Seelische Gesundheit (ZI) in Mannheim und des DKFZ in Heidelberg. Das Ziel des HITBR-Teams: neue therapeutische Angriffspunkte für schwere psychiatrische Störungen identifizieren und für die Entwicklung neuer Psychopharmaka validieren.

In München-Planegg beschäftigt sich das Translationsunternehmen ISAR Bioscience GmbH mit Stammzell- und Organoidtechnologien für das Wirkstoffscreening. Und in Österreich hat sich im Jahr 2019 das Biotechnologieunternehmen a:head als Spin-off des IMBA ausgegründet. Es will zerebrale Organoide als Plattform für die Wirkstoffsuche für neue Therapien zur Behandlung von Gehirnerkrankungen etablieren.

Auch im Fall von Tumororganoiden wird das große diagnostische Potenzial der 3D-Zellkulturen zunehmend in der Gesundheitswirtschaft genutzt. Beispielsweise durch die dänisch-deutsche Firma 2cureX. Sie setzt auf Tumoroide von Patientinnen und Patienten, um damit Krebsmedikamente vorab auf ihre Wirkung zu testen. So lässt sich herausfinden, auf welche Medikamente oder welche Kombination von Wirkstoffen der Tumor am besten ansprechen dürfte. Solche In-vitro-Tests sollen Arztentscheidungen auf eine bessere Basis stellen, Nebenwirkungen reduzieren und schneller zum Therapieerfolg beitragen.

Mit Organ-on-a-Chip-Technologie mehr Kontrolle gewinnen

Sollten sich Organoide als Arzneimitteltestsysteme auszeichnen, könnten sie künftig eine Art Vorstufe zu den gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuchen darstellen: Nur diejenigen Wirkstoffe, die sich im Organoid bewähren, würden tatsächlich im Tierversuch geprüft werden. Das allein würde die Anzahl der Experimente an Ratten und Mäusen drastisch reduzieren.

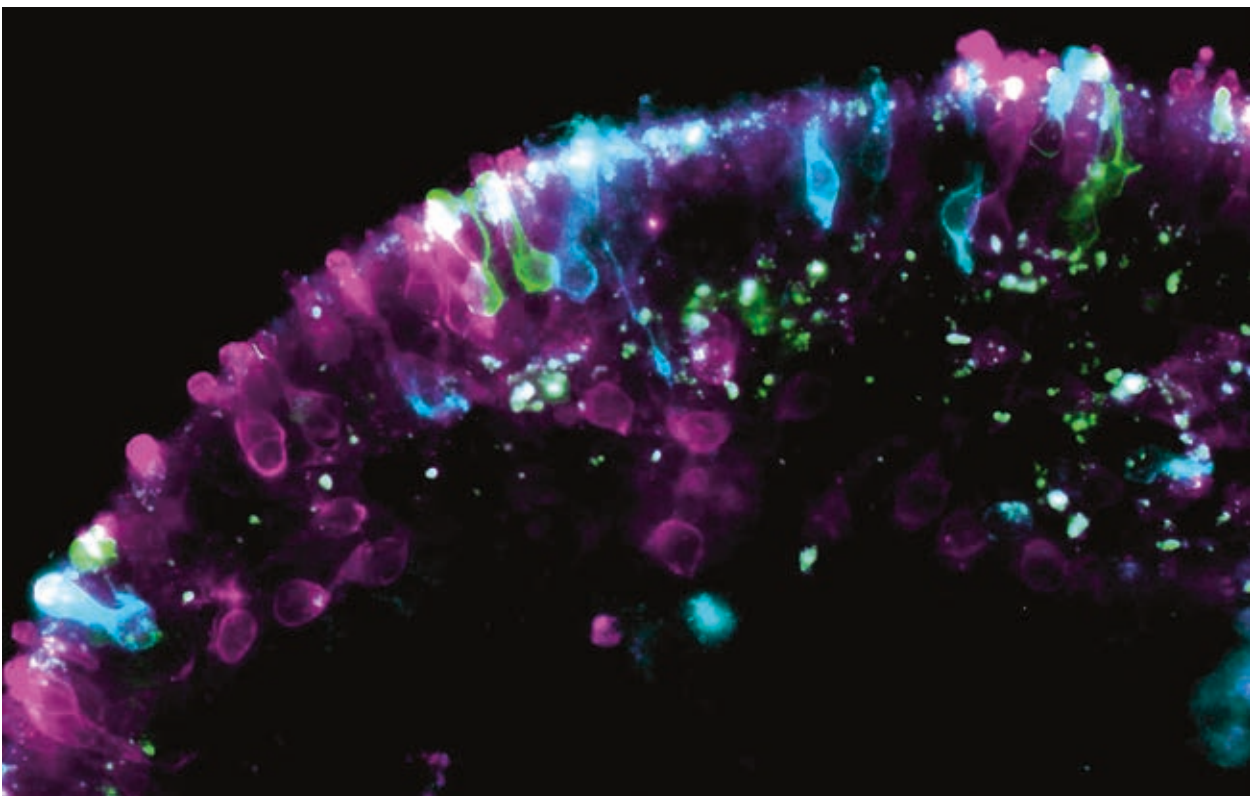
Für den Einsatz in Tests müssen die lebenden 3D-Zellkultursysteme jedoch noch robuster und einheitlicher werden, damit man sie untereinander besser vergleichen kann. Viele Teams tüfteln bereits an der Organoidtechnologie der nächsten Generation. Etwa indem sie Stammzelltechnologien mit Organ-on-a-Chip-Ansätzen verknüpfen. Dafür werden Organoide auf kleinen Objekt-

trägern, sogenannten Mikrofluidik-Biochips, kultiviert. Über feinste Flüssigkeitskanäle, die wie ein künstliches Gefäßsystem funktionieren, werden sie mit Nährlösung versorgt.

„So wollen wir die mikrophysiologische Umgebung eines Mini-Organis möglichst so wie im menschlichen Körper nachbilden“, sagt **Peter Loskill**, Bioingenieur am Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik (IGB) in Stuttgart und an der Universität Tübingen. „Durch die Kombination von Organoiden und Organ-on-a-Chip-Systemen verknüpfen wir komplexe Selbstorganisation mit einer kontrollierten technischen Umgebung“, erläutert der Bioingenieur. Was die Entwicklungsbiologie in der Petrischale nicht leiste, werde durch Hightech ergänzt.

Netzhaut auf einem Chip als Modell für Toxizitätstests

Ein gutes Beispiel für die Herangehensweise der Bioingenieure ist das „Retina-on-Chip“-Modell, das Loskill zusammen mit dem Tübinger Stammzellforscher **Stefan Liebau** entwickelt hat. Netzhautorganoide, wie sie die Forscher aus iPS-Zellen gewinnen, besitzen fast alle relevanten Zelltypen und formen komplexe Gewebe aus mehreren Lagen. Doch einige Schlüsselmerkmale fehlen: darunter das retinale Pigmentepithel (RPE), eine Zellschicht, die eng mit den lichtempfindlichen Photorezeptoren in Kontakt steht. Mangels eines Blutkreislaufs fehlt es zudem an einer kontinuierlichen Nährstoffversorgung.



Fluoreszierend eingefärbte, retinale Organoiden.

Hier kommt das Know-how der Fraunhofer-Ingenieure ins Spiel: Auf kleinen Objektträgern mit biokompatiblen Membranen säen die Wissenschaftler zunächst eine Lage retinales Pigmentepithel in kleinen Vertiefungen aus. Darüber werden in einem zweiten Schritt die Retinaorganoide platziert. Das System besitzt einen Mikrokanal als künstliches Gefäßsystem und lässt sich über ein Pumpsystem mit Nährlösungen, Immunzellen sowie pharmakologischen Wirkstoffen durchströmen. Der Chip spiegelt die physiologischen Verhältnisse in der menschlichen Netzhaut damit in vieler Hinsicht wider und stellt eine aussagekräftige Alternative zum Tiermodell dar.

„Damit können wir beispielsweise Nebenwirkungen neuer Arzneimittel auf die Netzhaut testen“, sagt Loskill. Deshalb arbeitet der Fraunhofer-Forscher bereits mit einer Reihe von Pharmafirmen zusammen – sie nutzen den Retina-on-Chip insbesondere für Toxizitätstests. „Viele neue Wirkstoffkandidaten verursachen Nebenwirkungen im Auge“, so Loskill, „das lässt sich sehr gut an unserem Retinamodell überprüfen“.

Das Jenaer Start-up Dynamic42 GmbH hat sich ebenfalls auf die Herstellung von Organ-on-a-Chip-Systemen spezialisiert. Als Spin-off der Arbeitsgruppe um **Alexander Mosig** vom Universitätsklinikum Jena wurde das Auftragsforschungsunternehmen im Jahr 2018 gegründet. Neben ausgefeilten mikrophysiologischen 3D-Organmodellen für Leber und Darm haben die Jenaer Bioingenieurinnen und -ingenieure ein Modell des menschlichen Lungenbläschens entwickelt, den sogenannten Alveolus-on-a-Chip. Als Testsystem kommt das Modell bereits im Rahmen der Corona-Pandemieforschung zum Einsatz. Die besondere Expertise von Dynamic42 ist es, den Blutfluss in den modellierten Organsystemen nachzustellen, inklusive der darin enthaltenen Immunzellen.

Die Kombination verschiedener Organoidsysteme auf einem Biochip ist wiederum eine Spezialität der Firma TissUse GmbH in Berlin. Im Jahr 2010 als Spin-off des Instituts für Biotechnologie der Technischen Universität Berlin gegründet, verfolgt TissUse die Vision, einen „Menschen auf einem Chip“ zu bauen. Das Team um Forschungsvorstand und Gründer **Uwe Marx** hat bereits mehrere sogenannte Multi-Organ-Chips entwickelt.

Die Organmodelle bestehen hierbei meist aus sogenannten Sphäroiden, also Zellverbänden, die weniger komplex sind als die Organoide. Auf einer objektträgergroßen Platte gedeihen die Modelle in winzigen Kammern. Ein mit Flüssigkeit gefülltes System durchzieht das Konstrukt wie ein Blutkreislauf. „Unsere Multi-Organ-Chips sind hervorragende Prüfstände für die Pharma- und Kosmetikindustrie, um daran Arzneien und Chemikalien zu testen“, sagt Marx. Und das mit hoher physiologischer Relevanz und Aussagekraft. Mit einer Millionenförderung durch das Bundesforschungsministerium im Rahmen der Gründungsoffensive GO-Bio haben die Berliner Biotechnologen schrittweise immer mehr Organsysteme miteinander kombiniert. Das avancierteste Produkt ist der Vier-Organ-Chip. Er besteht aus Darm, Leber, Niere und einem Hautmodul. Demnächst wollen die Gewebeingenieurinnen und -ingenieure einen Zehn-Organ-Chip präsentieren.

Organ-Chips und 3D-Zellkultur, diese Kombination aus Zukunftstechnologien steht auch im Mittelpunkt eines Forschungszentrums, das derzeit in Berlin-Wedding entsteht: Der Simulierte Mensch (Si-M). Der bis 2023 errichtete Forschungsneubau wird das Kernstück des neuen Campus Bio- und Medizintechnologie von Charité und Technischer Universität Berlin. Der 34-Millionen-Euro-Neubau wird gemeinsam von Bund und Land finanziert. In dem von dem TU-Biotechnologen **Roland Lauster** und **Andreas Thiel** vom BIH Center for Regenerative Therapies initiierte Zentrum werden Biowissenschaftlerinnen und -wissenschaftler sowie Ingenieurinnen und Ingenieure unter einem Dach arbeiten, um die nächste Generation humaner Modellsysteme zu entwickeln – etwa zur Erforschung von personalisierten Immuntherapien.

Regenerative Medizin: Organoide als Zellproduktionsplattform

Heilen mit Zellen, das ist das zentrale Konzept der Regenerativen Medizin. Stammzellen stellen eine potenziell unerschöpfliche Zellmaterialquelle dar, um die Funktion verletzter oder zerstörter Gewebe wiederherzustellen oder zu ersetzen. Gerade mit Blick auf die stammzellbasierte Gewebersatztherapie hat sich gezeigt, wie komplex solche Präparate sind. Der Weg von einer experimentellen Anwendung von Stammzellprodukten hin zu einer breiten Nutzung in der medizinischen Praxis ist dabei ein langwieriger Prozess, der viele Jahre dauert.

Doch auch für Ansätze der Regenerativen Medizin können stammzellbasierte Organoide schon wertvolle Beiträge leisten. Beispielsweise Organoide der Bauchspeicheldrüse. Die wichtigsten Erkrankungen dieses inneren Organs sind Diabetes oder Bauchspeicheldrüsenkrebs. Bei Diabetes gehen die insulinproduzierenden Betazellen zugrunde. Deshalb ist die Stoffwechselerkrankung ein aussichtsreicher Kandidat für eine Zellersatztherapie. Daran wird weltweit mit Hochdruck geforscht. Lassen sich natürliche Regenerationsprozesse in der Bauchspeicheldrüse therapeutisch nutzen? Wie können Betazellen in guter Qualität in der Kulturschale hergestellt werden? Solchen Fragen nähert sich die Entwicklungsbiologin **Anne Grapin-Botton** am Dresdener Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik mithilfe von Pankreasorganoiden. Am Max-Planck-Institut in Dresden hat mit **Meritxell Huch** eine weitere Wissenschaftlerin aus der Utrechter Kaderschmiede von Hans Clevers eine Forschungsheimat gefunden. In ihrem Labor verbinden sich entwicklungsbiologische Ansätze zur Differenzierung von Leber- und Bauchspeicheldrüsenorganoiden mit der Aufklärung der Entstehung von Leberkrebs sowie der Herstellung von Betazellen des Pankreas.

Organoide als Wegbereiter für „Organersatz aus dem Labor“ will das Forschungsprojekt eISLET erschließen. Der Verbund aus vier Forschergruppen vom Helmholtz Zentrum München wird von **Heiko Lickert** und **Matthias Meier** geleitet. Ziel ist die Entwicklung einer Organoidtechnologie für eine Zellersatztherapie bei Diabetespatientinnen und -patienten. Das eISLET-Konsortium war beim BMBF-Pilotinnovationswettbewerb zur Förderung von Sprunginnovationen im Frühjahr

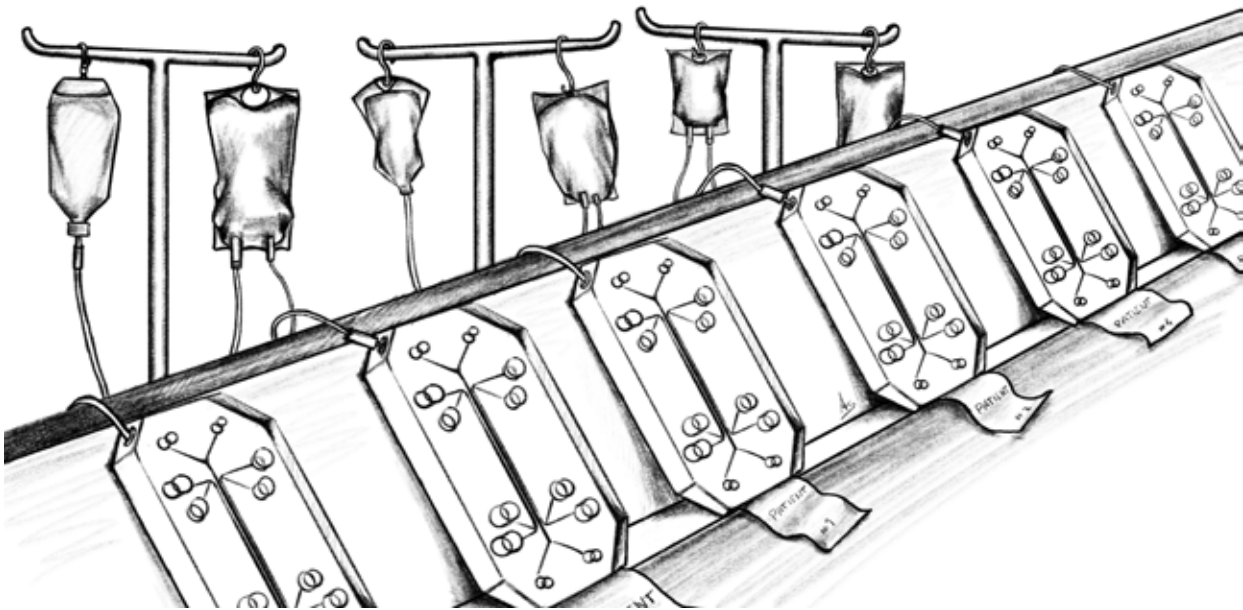
2020 erfolgreich. In den nächsten drei Jahren können die Forschenden 1 Million Euro in Projekte investieren, die darauf abzielen, aus iPS-Zellen Alpha- und Betazellen herzustellen, die für die Bildung voll funktionsfähiger Langerhans-Inseln der Bauchspeicheldrüse unerlässlich sind. Die Idee besteht darin, die Langerhans-Inseln sowohl zellbiologisch als auch physiologisch zu reproduzieren und eine Funktion zu erreichen, die mit den natürlichen Pendanten in der Bauchspeicheldrüse vergleichbar ist.

Zellersatztherapien sind auch bei Augenerkrankungen ein derzeit vielfach klinisch erprobter Ansatz. Zur Behandlung von Netzhauterkrankungen ist hier unter anderem eine Transplantation von Photorezeptorzellen mittlerweile ein realistisches Szenario geworden. Das liegt auch an der Verfügbarkeit von Netzhautorganoiden, mit denen sich die Dresdener Stammzellforscher **Mike Karl** und **Marius Ader** vom Zentrum für Regenerative Therapien der Technischen Universität Dresden (CRTD) beschäftigen: Diese 3D-Kulturen lassen sich im Labor aus humanen iPS-Zellen gewinnen und bilden unter geeigneten Bedingungen große Mengen an Rezeptorneuronen. „Organoide sind quasi eine Produktionsplattform für menschliche Photorezeptoren“, sagt Mike Karl, der die Technologie am Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen in Dresden sowie am CRTD mit seiner Arbeitsgruppe weiterentwickelt und standardisiert hat. Aus einer Organoidkultur ließen sich 300.000 Photorezeptorzellen gewinnen, berichtet Karl. Er geht davon aus, dass bereits eine Transplantation von einigen Hunderttausend Zapfen – die für das hochauflösende, farbige Sehen zuständigen Photorezeptoren – ausreichen könnten, um bei Patientinnen und Patienten mit Makuladegeneration einen therapeutischen Effekt zu erzielen.

Zukunftsperspektiven: Die nächste Organoidgeneration

Nicht einmal 15 Jahre ist es her, dass in den Stammzelllabors die ersten Organoide heranwuchsen. Wie die Entdeckungsreise durch die hiesige Forschungslandschaft in diesem Report offenbart, haben die wenige Millimeter großen 3D-Modelle bereits ihr enormes Potenzial für die biomedizinische Forschung unter Beweis gestellt. An vielen Fronten der Gesundheitsforschung bereichern sie bereits die Werkzeugpalette von Medizin und Biowissenschaften. Da sie als Modelle näher am Menschen sind, könnten sie künftig auch Tierversuche ergänzen.

„Bei aller Faszination muss man sich immer klar machen, dass Organoide derzeit stark reduktionistische Modelle sind“, sagt die Würzburger Infektionsforscherin Sina Bartfeld, „sie sind deutlich weniger komplex als das entsprechende Organ“. Ein Darm im Körper bestehe eben nicht nur wie ein Organoid aus der inneren Schicht der Schleimhaut, sondern sei umgeben von Bindegewebe und Muskelschichten, das Ganze durchzogen von einem Nervensystem und Blutgefäßen. Ein Hirnorganoid ist nicht das gleiche wie ein vollständiges Gehirn.



Die Organoidklinik. Multi-Organ-Chips als Stellvertreter einer Patientin oder eines Patienten könnten zukünftig helfen, die beste Wirkstoffkombination für eine individuelle Therapie ausfindig zu machen. Eine weitere Zukunftsvision: Klinische Studien mithilfe von Organchips.

Bioingenieurinnen und -ingenieure drehen an vielen Stellschrauben, um immer komplexere Organoidmodellsysteme der nächsten Generation zu konstruieren. Die Mega-Herausforderung der 3D-Zellkultur ist die Nachbildung eines funktionierenden Blutgefäßsystems. Mikrofluidische Kanalsysteme auf Biochips können den Blutfluss hierbei immer besser nachahmen, 3D-Druck-Technologien sorgen für immer raffiniertere Stützstrukturen für den Organoidbau. Gewebeingenieurinnen und -ingenieure versuchen unterdessen, Blutgefäßorganoide mit anderen Organsystemen zu kombinieren. Wegweisend sind für die Fachwelt zudem aufwendige Kokulturen aus verschiedenen Zelltypen.

Auf internationaler Ebene ist **James Wells** ein Wegbereiter solcher Ansätze. Dem Entwicklungsbiologen am Cincinnati Children's Hospital Medical Center gelang es, Darmorganoide mit einem rudimentären Nervensystem herzustellen, an denen Well's Team sogar peristaltische Bewegungen beobachtete. Die Organoid-Konstrukteure haben zudem Darmmodelle mit einem funktionalen Immunsystem geschaffen.

Organoide im Labor zu züchten, ist derzeit noch eine sehr kostenintensive Technologie. Das liegt an den Zutaten wie Nährmedien und dem nötigen Mix an Wachstumsfaktoren. Innovationen sind z. B. in Sachen 3D-Matrix gefragt, jener geleeartigen Substanz, in die Stammzellen eingebettet werden, damit sie ein Organoid formen können. Hier versuchen Bioingenieurinnen und -ingenieure, als Alternative zu dem überwiegend verwendeten Matrigel neuartige Hydrogele mit definierten Eigenschaften zu entwickeln. Die weltweite Organoidforschungsszene versucht zudem, sich stärker zu vernetzen und die Laborprotokolle für die Gewinnung der 3D-Winzlinge in der Zellkulturschale zu standardisieren und zu vereinheitlichen. Denn das dürfte ihren Wert als Werkzeug für die biomedizinische Forschung und Translation noch steigern.

Daran mischt Sina Bartfeld mit Enthusiasmus mit. Kürzlich hat ihr Team aus Abschnitten von Magen, Dünn- und Dickdarm Organoide gewonnen und damit eine Art „Miniaturorganbank“ des Magen-Darm-Trakts hergestellt. An den winzigen Stellvertretern untersucht sie, wie die den Verdauungstrakt auskleidende Zellschicht auf Mikroorganismen reagiert – und zwischen gutartigen und feindlichen Bewohnern unterscheidet. „Es ist ausgesprochen schwierig, das komplexe Zusammenspiel von Immunzellen, Schleimhautzellen und Mikroben zu entwirren“, sagt Bartfeld. „Organoide helfen uns, diese verborgene Welt zu entschlüsseln.“

Interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*:

Sina Bartfeld, Stephan Clemens, Tobias Erb, Heiner Fangerau, Boris Fehse, Jürgen Hampel, Ferdinand Hucho, Martin Korte, Stefan Mundlos, Jens Reich, Silke Schicktanz, Jochen Taupitz, Jörn Walter, Eva Winkler und Martin Zenke

Kernaussagen und Handlungsempfehlungen zu Organoiden

Die von der IAG *Gentechnologiebericht* verantworteten Kernaussagen sind folgendermaßen strukturiert: Zuerst erfolgt eine Zusammenfassung des aktuellen Stands und ein Ausblick auf die zukünftige Bedeutung von Organoiden für Forschung und Gesundheitsversorgung sowie ein Überblick über die Rechtslage und ethische Diskussion. Im zweiten Abschnitt werden hieraus Handlungsempfehlungen für die Politik abgeleitet.

Kernaussagen zur Organoidtechnologie

Aus Stammzellen abgeleitete Organoide

Organoide sind dreidimensionale, organähnliche Zellverbände, bei denen sich verschiedene Zelltypen so organisiert haben, wie es näherungsweise für das entsprechende Organ im Körper typisch ist. Sie weisen dabei drei Merkmale auf: Selbstorganisation, Vielzelligkeit und Funktionsfähigkeit. Die Bandbreite der Organe, die mit Organoiden erforscht werden können, wächst rapide an und umfasst u. a. Gehirn, Darm, Niere, Magen, Pankreas, Lunge, Leber, Prostata, Speiseröhre, Gallenblase und den weiblichen Reproduktionstrakt und daneben auch den Embryo (sogenannte Embryoide).

Organoide werden entweder aus pluripotenten Stammzellen oder aus gewebespezifischen adulten Stammzellen gezüchtet. Adulte Stammzellen sind in sehr vielen Geweben vorhanden und dafür zuständig, die Zellen in diesen Geweben zu erneuern. Sie können nur die Zelltypen hervorbringen, die in dem jeweiligen Gewebe vorkommen, z. B. produziert die Stammzelle des Darmepithels nur Zellen des Darmepithels (d. h. Deckgewebe und Drüsengewebe, das im Körper die inneren und äußeren Oberflächen auskleidet), aber keine Muskelzellen oder Nervenzellen. Sie sind damit multipotent. Im Gegensatz dazu können pluripotente Stammzellen alle der über 200 verschiedenen Zelltypen des menschlichen Organismus hervorbringen. Pluripotente Stammzellen werden entweder aus menschlichen Embryonen gewonnen (humane embryonale Stammzellen: hES-Zellen) oder durch eine sogenannte „Reprogrammierung“ von Körperzellen zu humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) erhalten. Diese Körperzellen können von gesunden, aber auch von erkrankten Spenderinnen und Spendern stammen.

Beide Typen von Stammzellen, adulte und pluripotente, können in vitro dafür verwendet werden, Organoide zu züchten. Bei adulten Stammzellen wird dabei die natürliche Umgebung im Gewebe der jeweiligen Stammzelle nachgeahmt: Beispielsweise werden zu einer Stammzelle des Darmepithels die Signalstoffe hinzugegeben, die die Stammzelle auch in vivo im Darm umgeben würden. Als Reaktion auf diese Signale teilt sich die Stammzelle und bildet wie im Körper neues Darmepithel. Aufgrund der Ähnlichkeit zum echten Organ in vivo nennt man das in der Kulturschale entstehende Gebilde „Organoid“. Bei pluripotenten Stammzellen folgt man einem ähnlichen Prinzip, auch hier wird die natürliche Umgebung der Stammzelle in der Kulturschale nachgeahmt. Da aber diese Stammzellen ein viel breiteres Spektrum der Differenzierungsmöglichkeit haben, muss dabei in vitro eine Reihe von Entwicklungsschritten imitiert werden. Dafür wird in der Forschung das Wissen über die Embryonalentwicklung genutzt: In sequenziellen Schritten werden definierte Signalstoffe hinzugegeben, die auch im Körper dafür sorgen, dass die pluripotenten Stammzellen eine bestimmte Entwicklungsrichtung einschlagen. So wie aus Stammzellen in einem frühen Embryo erst nach vielen Entwicklungsschritten eine Darmwand wird, wird auch in der Zellkultur erst nach einigen Wochen aus pluripotenten Stammzellen eine Darmstammzelle, die dann ein Darmorganoid hervorbringt.

Die Verwendung von adulten vs. pluripotenten Stammzellen unterscheidet sich nicht nur in der Kultivierung der Organoide, sondern auch in ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen. Die Organoide aus adulten Stammzellen können bisher nur aus Epithel generiert werden und bleiben auch nur Epithel; so wird beispielsweise eine adulte Stammzelle des Darmepithels immer Darmepithel und nie Bindegewebe produzieren. Bei den aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Organoiden ist das anders: Sie können auch andere Zelltypen enthalten, sind komplexer und heterogener – z. B. enthalten die so gewonnenen Darmorganoide durchaus Bindegewebe. Pluripotente Stammzellen können dadurch zu so unterschiedlichen Organoiden wie Darmorganoiden, Hirnorganoiden und Embryoide differenziert werden. Hirnorganoide und Embryoide können dagegen durch die Technologie der adulten Stammzellen bisher nicht erzeugt werden. Daher resultieren für beide Technologien auch jeweils andere ethische und rechtliche Überlegungen. Trotz dieser Unterschiede haben sie aber teilweise ähnliche Anwendungsgebiete.

Die Bedeutung der Organoidtechnologie für die Biomedizin

Grundlagenforschung und Entwicklungsbiologie

Der Einsatz von Organoiden ist für verschiedene Bereiche der Lebenswissenschaften vielversprechend. In der Grundlagenforschung können etwa die Steuerung der Organentstehung im Körper, die Zelldifferenzierung und die Stabilität von Geweben und Organen (Homöostase) untersucht werden. Dies gilt gerade auch für Gewebe, die in vivo bislang nicht oder nur schwer zugänglich waren, wie z. B. Hirngewebe. Ein großer Vorteil von Organoiden gegenüber zweidimensiona-

len Zellkulturen liegt darin, dass sie viele (idealerweise alle) Zelltypen enthalten, aus denen das Organ in vivo besteht. So können komplexe Vorgänge wie die Interaktion zwischen Zellen besser erforscht werden. Dementsprechend bilden Organoide auch krankheitsspezifische Merkmale besser ab als zweidimensionale Zellkulturen und zum Teil auch besser als Tiermodelle. Beispielsweise gibt es Krankheitserreger, die spezialisiert auf den Menschen sind und Tiere nicht infizieren. Solche Infektionskrankheiten können schon heute besser in Organoiden untersucht werden als im Tiermodell.

Krankheitsmodelle

HiPS-Zellen sind als Krankheitsmodelle seit längerem Hoffnungsträger für die Grundlagenforschung und die personalisierte Medizin. Der Ansatz: Wenn von einer Patientin oder einem Patienten eigene Zellen gewonnen und vermehrt werden können, dann kann auch die jeweils eigene Pathologie erforscht und können für diese Patientin bzw. diesen Patienten passende Medikamente gefunden werden. Durch Organoide wird dies jetzt bereits klinische Realität. Die Organoidtechnologie ergänzt durch zwei entscheidende Weiterentwicklungen die iPS-Zell-Technologie: Erstens können durch die Organoidtechnologie jetzt auch direkt adulte Stammzellen von jeder Patientin und jedem Patienten vermehrt werden. Zweitens können in der dreidimensionalen Kultur komplexe Gebilde so geformt werden, dass Krankheiten besser modelliert werden können. Dadurch ermöglichen Organoide auch die Erforschung von genetisch bedingten Krankheiten oder Infektionen, die für Menschen spezifisch sind oder bei denen sich die Pathologie in Tiermodellen von der menschlichen Pathologie unterscheidet, sodass bislang keine guten Modellsysteme existieren. Ein möglicher klinischer Anwendungsbereich ist beispielsweise die Begleitdiagnostik im Sinne der personalisierten Medizin: Die Wirksamkeit eines Medikaments könnte direkt an aus patientenspezifischen Stammzellen abgeleiteten Organoiden getestet werden. Grundsätzlich ist das mit adulten und iPS-Zellen möglich, aber aufgrund des direkten Zugangs zu adulten Stammzellen werden diese bereits in der klinischen Diagnostik eingesetzt. In den Niederlanden ist eine organoidbasierte patientenspezifische Therapie bereits integraler Bestandteil der Behandlung von Mukoviszidose, und die Kosten für die Organoiddiagnostik werden dabei von den Krankenkassen übernommen. Organoide gewinnen auch in der Krebsforschung an Bedeutung. An Tumorganoiden können beispielsweise breit angelegte Screenings auf neue Krebsmedikamente durchgeführt werden. Daneben könnte die Entwicklung von Tumorganoiden einer Patientin oder eines Patienten zukünftig auch die individuelle Resistenzbildung gegen bestimmte Krebsmedikamente erforschbar machen. Klinische Studien hierzu sind vielversprechend. Durch die Möglichkeit der Nutzung von Organoiden als individuelle Krankheitsmodelle leistet die Organoidtechnologie einen wertvollen Beitrag zu einer personalisierten Medizin.

Genetic Engineering

Organoide können auch mittels unterschiedlicher Methoden, wie z. B. dem Genome-Editing (z. B. CRISPR/Cas), gentechnisch modifiziert werden. Genome-Editing bezeichnet Verfahren, bei denen einzelne DNA-Abschnitte (DNA: Desoxyribonukleinsäure), aber auch größere Genbereiche, aus dem Genom gezielt herausgeschnitten oder durch andere DNA-Abschnitte ersetzt werden. Dabei können aus einzelnen gentechnisch veränderten Zellen klonale Organoide mit den gewünschten genetischen Änderungen erzeugt werden, um etwa im Organoid den Effekt einer spezifischen Mutation zu untersuchen oder auch eine Mutation einer bestimmten Patientin oder eines bestimmten Patienten zu reparieren. Stammzellen können in einem mehrstufigen Verfahren in Zellkultur zuerst mithilfe von Genome-Editing-Verfahren modifiziert, dann vermehrt und in einem nächsten Schritt in das gewünschte Organoid differenziert werden. Das editierte Genom der Stammzellen wird bei der Differenzierung in Organoide an die Tochterzellen weitergegeben.

Regenerative Medizin und Transplantation von Organoiden

Eine zukünftige klinische Anwendungsmöglichkeit ist die Transplantation von Organoiden oder von aus Organoiden abgeleiteten Zellen in der Zellersatz- und regenerativen Therapie. Dabei sind Transplantate sowohl aus eigenem (autologem) als auch aus fremdem (allogennem) Material denkbar. Die Organoidtechnologie würde hier dazu genutzt werden, den gewünschten Zelltyp in den für eine Transplantation notwendigen Mengen herzustellen. Durch den zusätzlichen Einsatz von gentechnischen Methoden könnten zukünftig auch krankheitsauslösende Mutationen korrigiert werden, um gesunde Organoide für eine Transplantation zu differenzieren. Erste Experimente im Tiermodell lieferten bereits vielversprechende Ergebnisse, weitere Studien zur Funktionalität von Organoiden in vivo sind jedoch nötig.

Biobanken

Im Hinblick auf hiPS-Zellen ist bereits das Konzept der „lebenden Biobank“ bekannt. Dabei werden hiPS-Zellen von Spenderinnen und Spendern nach Gruppenmerkmalen sortiert eingefroren. Diese Gruppen können spezielle Patientengruppen sein („nur Patientinnen/Patienten mit Krankheit x“, „alle Patientinnen/Patienten mit Operation y“) oder gesunde Spenderinnen und Spender. Die Zellen können jederzeit aufgetaut und erneut vermehrt oder auch in Organoide differenziert werden. Zusätzlich gibt es jetzt auch die Möglichkeit, adulte Stammzellen in Form von Organoiden einzufrieren. Solche Organoidbiobanken wurden bereits weltweit für viele Organe aufgebaut, beispielsweise gibt es Biobanken von Darmorganoiden, Leberorganoiden und Organoiden der Nieren- und Harnwege. Sie können jeweils Organoide von mehreren Hundert Patientinnen und Patienten umfassen. Je nach wissenschaftlicher bzw. medizinischer Fragestellung können entweder spezielle Gruppen von Organoiden aufgetaut werden oder ganze Biobanken. Diese Banken haben eine besondere Bedeutung für Medikamententests: Die gelagerten Organoide können verwendet werden, um nach neuen Medikamenten zu suchen (Screening) oder die Bedeutung eines

Medikaments für eine Gruppe von Patientinnen und Patienten zu testen (patientenspezifische Wirksamkeit); sie können auch für die Toxikologie eingesetzt werden.

Toxikologie

Bevor ein Medikament am Menschen getestet werden kann, muss untersucht werden, ob das Medikament potenziell toxisch für die Patientin oder den Patienten sein könnte. Dafür werden Tiermodelle verwendet, eine Ergänzung oder sogar Alternative könnten allerdings Medikamententests an Organoiden aus Biobanken sein. Es wird als sinnvoll erachtet, parallel Reihen von Organoiden zu testen und dabei besonders die häufig betroffenen Organe zu betrachten (Leber, Niere, Darm etc.). Die Aussagekraft von Organoidtests im Vergleich zu Tierversuchen für die Wirkung eines Medikaments in Patientinnen und Patienten wird derzeit erforscht. Es besteht die Hoffnung, dass in Zukunft Toxizität und Wirkung an Organoiden getestet und so ein Teil der Tierversuche ergänzt oder sogar ersetzt werden könnten. Für Medikamententests vielversprechend ist auch die sogenannte Organ-on-a-Chip-Technologie, bei der in Zukunft mehrere unterschiedliche Organoide auf einem Chip zu einer Art reduziertem „Mini-Körper“ miteinander verbunden werden könnten.

Grenzen der derzeitigen Organoidforschung

Obwohl Organoide besonders im Vergleich mit herkömmlichen Zellkulturen eine frappierende Ähnlichkeit mit Organen aufweisen, sind sie derzeit (noch) stark reduktionistische Modelle und deutlich weniger komplex als entsprechende Organe. So besteht ein Darm im Körper nicht nur aus der inneren Schicht der Schleimhaut (die aus Epithel besteht), sondern ist umgeben von Bindegewebe und Muskelschichten, darüber hinaus von einem Nervensystem sowie von Blutgefäßen durchzogen und von Mikroorganismen besiedelt. Während Bindegewebe auch in aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Organoiden vorhanden ist, fehlen oft die anderen Komponenten von In-vivo-Organen sowie von ihrer Umgebung im Organismus, die für das Funktionieren des Organs relevant sind. Nachteilig dabei ist, dass viele Wechselwirkungen – zumindest derzeit – noch nicht nachgebildet werden können. Es wird daher bereits an noch komplexeren Organoiden geforscht, etwa an Darmorganoiden mit einem funktionierenden Darm-Nervensystem. Menschlichen In-vivo-Organen möglichst ähnliche Organoide herzustellen, ist dennoch nur eines von verschiedenen Forschungszielen, denn der Vorteil der derzeitigen reduktionistischen Modelle ist, dass gezielt bestimmte Aspekte eines Organs und seiner Funktionen oder spezifische Effekte auf bestimmte Zelltypen untersucht werden können. Organoide stellen damit einen großen Fortschritt für die Biomedizin und vor allem für die aktuelle Forschung dar.

Ethische Aspekte der Forschung an Organoiden: Hirnorganoiden, Embryoide und Mensch-Tier-Chimären

Die Organoidforschung ist mit zahlreichen ethischen Fragen verbunden, die beispielsweise bereits im Kontext der Embryonenforschung, der Forschung mit hES-Zellen, der Erzeugung von Mensch-Tier-Chimären und der Forschung mit Spendermaterial und -daten auch im Rahmen von Biobanken intensiv diskutiert werden. Daneben hat sie aber insbesondere in Bezug auf Hirnorganoiden und Embryoide auch neue, für den Bereich spezifische Fragestellungen aufgeworfen. Diese ethische Diskussion steht insgesamt auch international noch am Anfang.

Aktuell sind die existenten Hirnorganoiden noch weit von einem komplexen, menschlichen Gehirn entfernt. Aber es wurde vielfach die Frage aufgeworfen, ob in Zukunft komplexere Hirnorganoiden oder miteinander fusionierte Organoiden verschiedener Hirnareale (sogenannte „Assembloide“) ein Bewusstsein entwickeln könnten, und wenn, wie ein solches messbar wäre und welche ethisch-rechtlichen Schutzansprüche dann daraus abzuleiten wären. Dies könnte sowohl Hirnorganoiden aus menschlichen als auch aus tierischen Zellen betreffen, wenn man davon ausgeht, dass auch viele höher entwickelte Tiere phänomenale Formen von Bewusstsein entwickeln. Vor dem Hintergrund, dass die Gehirnentwicklung im Menschen zudem bereits in frühen Entwicklungsstadien als normatives Kriterium für den ethischen und rechtlichen Schutz von Embryonen *in vitro* und *in vivo* angesehen wird, stellt sich außerdem die Frage, ob Hirnorganoiden bzw. welche Entwicklungsstadien von Hirnorganoiden einem entsprechenden Schutz unterliegen müssten. Des Weiteren ergeben sich besondere ethische Fragen im Zusammenhang mit humanen Hirnorganoiden, die in lebende Säugetiere (z. B. Ratten, Mäuse, ggf. auch größere Säugetiere) transplantiert werden, um *in vivo* deren Interaktion mit anderen Geweben zu fördern und zu untersuchen. Hierfür wird in der Fachliteratur auch der Begriff „Mensch-Tier-Chimäre“ verwendet. In diesem Fall stellt sich nicht nur die Frage nach der normativen Bedeutung von Speziesgrenzen, wie sie bereits in anderen Bereichen der Stammzellforschung besteht, sondern auch danach, ob entsprechende Chimären dadurch unter Umständen intelligenter und/oder leidensfähiger würden und welche normativen Konsequenzen aus einer solchen Situation wiederum zu ziehen wären. Hinzu kommt, dass die Erzeugung von Mensch-Tier-Chimären auch im Kontext kulturgeschichtlicher Diskussionen um die Mensch-Tier-Grenzziehung bzw. deren Verschmelzung zu sehen ist, insbesondere wenn es um öffentliche und mediale Aufarbeitung geht.

Die Entstehung menschlichen Lebens ist bisher noch eine „Blackbox“ für die Forschung. Wie wird aus einer einzelnen Zelle, der befruchteten Eizelle, etwas so Komplexes wie ein Embryo? Die Forschung an menschlichen Embryonen *in vitro* ist in vielen Ländern aus ethischen, religiösen oder kulturellen Gründen entweder verboten oder eingeschränkt. In den letzten Jahren wurden aus murinen und humanen pluripotenten Stammzellen komplexe, organisierte Strukturen gebildet, die sehr frühen Stadien von Embryonen ähnlich sind. Die Forschung an Maus-Stammzellen ist dabei erheblich weiter als die an humanen Stammzellen. Manche Forscherinnen und Forscher

gehen davon aus, dass es in absehbarer Zeit möglich sein wird, Strukturen zu schaffen, die nicht mehr von einem Embryo unterscheidbar sind. Die neuen Entitäten werden u. a. als „synthetische Embryonen“, „Embryoide“ oder auch „Blastoide“ bezeichnet. Diese sollten nicht verwechselt werden mit den schon lange bekannten „Embryoid Bodies“, die als undifferenzierte Aggregate von pluripotenten Stammzellen weniger komplex und organisiert sind und eine Vorstufe von Embryoiden bilden können. Aufgrund der Ähnlichkeit von Embryoiden mit menschlichen Embryonen werden diese derzeit in Übereinstimmung mit den rechtlichen Regularien vieler Länder zu menschlichen Embryonen nicht länger als 14 Tage kultiviert. Es ist aber eine offene Frage, wie Embryoide ontologisch einzustufen sind (so wie menschliche Embryonen oder anders?), wie sie entsprechend bezeichnet werden sollten und welcher normative Status ihnen zugeschrieben werden muss.

Diese offenen ethischen Fragen müssen auf der Basis einer interdisziplinären und gesamtgesellschaftlichen Debatte diskutiert werden, um politisch wie rechtlich konsensfähige Lösungen zu finden.

Rechtliche Einordnung der Forschung an Organoiden

Obwohl es in Deutschland keine spezifischen Rechtsregeln zur Herstellung und Verwendung von Organoiden gibt, werden sie doch sowohl vom Verfassungsrecht als auch vom einfachen Recht erfasst. Bezüglich der Herkunft des Ausgangsmaterials können Organoide insbesondere unter das Stammzellgesetz (StZG) fallen, das den Import und die Verwendung humaner embryonaler Stammzellen regelt. Die Gewinnung von hES-Zellen ist in Deutschland durch das Embryonenschutzgesetz (ESchG) verboten. Die Forschung an im Ausland generierten und nach Deutschland importierten hES-Zell-Linien ist zwar seit 2002 nach dem Stammzellgesetz zulässig, aber nur in begründeten Ausnahmefällen und unter strengen Voraussetzungen und außerdem nur für Forschungszwecke. Inzwischen mehren sich die Stimmen, die eine grundlegende Revision des Stammzellgesetzes fordern. So wird die Stichtagsregelung ebenso kritisiert wie das aufwendige Genehmigungsverfahren. Beides ist insbesondere auch verfassungsrechtlich problematisch. Sollten konkrete Therapien mit hES-Zellen verfügbar werden, dürfte zudem die Begrenzung der Verwendung von hES-Zell-Linien auf die Forschung nicht mehr haltbar sein – es sei denn, man würde inländischen Patientinnen und Patienten die Therapien vorenthalten wollen.

Die rechtliche Einordnung insbesondere von Embryoiden hängt davon ab, ob sie als menschliche Lebewesen mit einer Entwicklungsfähigkeit ähnlich der von menschlichen Embryonen eingestuft werden. Dann könnte ihnen unter Umständen Menschenwürde und Lebensschutz zuzuweisen sein. Ob sie schon *lege lata* vom Embryonenschutzgesetz erfasst werden, ist völlig ungeklärt. Jedenfalls rechtspolitisch wäre zu überlegen, ob ein so starker rechtlicher Schutz wegen der im Vergleich zu natürlichen Embryonen andersartigen Art der Herstellung unter Vermeidung einer

Befruchtung, wegen der Entstehung in einem völlig anderen Kontext als der Erzeugung von Nachkommen und ggf. auch wegen der Absicht, die Entwicklung der entsprechenden Entitäten in einem sehr frühen Stadium zu beenden, zu verneinen wäre. Rechtspolitisch offen ist auch die Frage, ob weit entwickelte zukünftige Hirnorganoide denselben Regelungen wie Embryonen unterliegen sollten.

Mensch-Tier-Chimärenbildungen sind grundsätzlich sehr wenig durchnormiert. § 7 ESchG verbietet sie lediglich für den Fall, dass dabei menschliche Embryonen einbezogen werden oder durch Befruchtung einer menschlichen Eizelle mit dem Samen eines Tieres bzw. durch Befruchtung einer tierischen Eizelle mit dem Samen eines Menschen ein differenzierungsfähiger menschlicher Embryo entsteht; auch ist es verboten, einen so entstandenen menschlichen Embryo auf eine Frau oder ein Tier zu übertragen oder einen menschlichen Embryo auf ein Tier zu übertragen. Weitere spezielle Regeln enthält das deutsche Recht nicht; das Tierschutzgesetz regelt Tierversuche nur allgemein. Gerade bezüglich der Herstellung von Mensch-Tier-Organoiden oder auch vollständiger Mischwesen (etwa durch Implantation menschlicher Organoide in Tiere oder umgekehrt durch Einfügung tierischer Organoide in menschliche Individuen) existiert eine Reihe von Anwendungsszenarien, die den Ruf nach weiteren Vorschriften haben laut werden lassen. Zentral dürfte insbesondere die Forderung sein, dass entsprechende Forschung von einer auf diese Fragen spezialisierten Ethikkommission bewertet werden muss. Es kann nicht erwartet werden, dass die zur Genehmigung von Tierversuchen zuständigen Behörden und die zu ihrer Unterstützung tätigen (Ethik-)Kommissionen über ausreichende Fachkenntnisse zur Beurteilung der speziellen Fragen von Mensch-Tier-Chimären verfügen.

Mit Blick auf die grundrechtlich geschützten Persönlichkeitsrechte und die besondere Sensibilität von Gesundheitsdaten und genetischen Daten stellen sich je nach Verwendungskontext von Organoiden, die aus Zellen und Geweben von Patientinnen und Patienten bzw. Probandinnen und Probanden abgeleitet wurden, unterschiedliche datenschutzrechtliche Herausforderungen. Zwar ist die Rechtsgrundlage für die Verarbeitung personenbezogener und sensibler Daten, Gesundheitsdaten und genetischer Daten im medizinischen Behandlungskontext, beispielsweise im Zusammenhang mit dem Einsatz von Organoiden zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken, eindeutig bestimmbar, da sie in der Regel im Rahmen des Behandlungsvertrags vorgenommen wird. Allerdings gibt es verschiedene Rechtsgrundlagen, die bei der Verwendung entsprechender patientenspezifischer Daten für Forschungszwecke maßgeblich sein können. Das gilt auch für den weiteren Umgang mit Forschungsergebnissen, z. B. auch im Zuge der Lagerung bzw. Speicherung in einer Organoidbiobank. Hierbei stehen sich die allgemeinen Persönlichkeitsrechte (hinsichtlich des darin enthaltenen Schutzbereichs für personenbezogene Daten der/des Betroffenen) sowie die europäischen Datenschutzgrundrechte, vergleichbar konzeptualisiert, und die Forschungsfreiheit, gegenüber. Die genannten Rechte werden verfassungs- und unionsrechtlich geschützt. Während der Datenschutz eine informierte Einwilligung und damit hohe Anforderungen an die

Spezifizierung von Forschungsvorhaben stellt, verlangt die Forschungsfreiheit einen möglichst umfassenden und einfachen Zugang zu Daten und Materialien auch für nur allgemein gehaltene Forschungsvorhaben. Diese beiden geschützten Rechtspositionen müssen in ein angemessenes Verhältnis zueinander gebracht werden. Die Abwägung der beiden Positionen könnte durch eine Handreichung der jeweiligen Datenschutzaufsichtsbehörde vereinfacht werden und Forschenden hierdurch mehr Rechtssicherheit ermöglichen. Diese Handreichungen wären insbesondere angesichts der Vielzahl an möglichen Rechtsgrundlagen ein wichtiger Beitrag für die Rechtsanwendung und Rechtssicherheit.

Handlungsempfehlungen für den Umgang mit der Organoidtechnologie

Empfehlungen für Forschungsförderungen:

- Die Organoidtechnologie ist noch relativ neu und es ist zu erwarten, dass der zunehmende Erkenntnisgewinn zu neuen Anwendungen in der Biotechnologie, Biomedizin und in der Klinik führen wird. Die Forschung an Organoiden als Krankheitsmodelle und biotechnologische Testsysteme (einschließlich Organs-on-a-Chip) sollte daher gezielt gefördert werden.
- Etablierung von Forschungsnetzwerken: Bei jeder neuen Technologie gibt es eine gewisse Vielfalt an Ansätzen. Um deutschlandweit gemeinsame Standards zu etablieren und starke Synergien zu ermöglichen, sollten insbesondere Forschungsnetzwerke, die Organoide als Krankheitsmodelle und biologische Testsysteme etablieren, validieren und standardisieren, gezielt gefördert werden.
- Einsatz in der Arzneimittelforschung: Organoide und Organoidbiobanken sind vielversprechend insbesondere für die Arzneimittelforschung. Es ist zu erwarten, dass sich Organoide sehr gut als Modelle für präklinische Wirksamkeits- und Toxizitätstests von Medikamenten eignen werden. Dabei werden neue Medikamente vor einem Einsatz am Menschen an Organoiden derjenigen Organe getestet, die für die Verstoffwechslung von Medikamenten eine zentrale Bedeutung haben wie Darm, Leber und Niere. Eine solche Verwendung könnte letztlich auch den Einsatz eines Teils der Tierversuche für diese Tests verringern, wenn nicht sogar ersetzen. Weiterhin können Organoide aus Biobanken verwendet werden, um bestehende Wirkstoffsammlungen nach neuen Medikamenten zu screenen oder Untergruppen von Patientinnen und Patienten zu identifizieren, die selektiv auf eine Behandlung ansprechen. Dies ermöglicht einen spezifischeren Einsatz von Medikamenten. Auch bessere Modelle für Krankheiten sind eine Grundlage für pharmazeutische Forschung, beispielsweise um Wirkmechanismen von Medikamenten zu verstehen und zu optimieren. Pharmazeutisch orientierte Grundlagenforschung und Kooperationen zwischen Forschung und Pharmaindustrie sollten daher gezielt gefördert werden.
- Translation in die Klinik: Die Organoidtechnologie hat ein hohes Potenzial für die personalisierte Medizin. Nach den Erfolgen in den Niederlanden sollte eine organoidbasierte personalisierte Medizin auch allen Mukoviszidose-Patientinnen und -Patienten in Deutschland alsbald zugänglich gemacht werden. Translationale Forschung und klinische Studien mit anderen organoidbasierten personalisierten Therapien, beispielsweise in der Krebstherapie, sollten gezielt gefördert werden. Die Möglichkeiten der Transplantation von Organoiden oder von aus Organoiden abgeleiteten Geweben sollte in der Grundlagenforschung untersucht werden. Da die für die Kultivierung von Organoiden wichtige dreidimensionale Matrix bisher nicht nach den Maßstäben der für die Anwendung am Menschen relevanten guten Herstellungspraxis (GMP)

produziert wird, sind Transplantationen von Organoidmaterial in den Menschen noch ausgeschlossen. Die Suche nach alternativen Matrizes, die nach GMP-Standard produziert werden können, sollte daher gezielt gefördert werden.

- Einsatz von Genome-Editing-Verfahren: Auch für die Organoidtechnologie sollten die Techniken des Genome-Editings konsequent und langfristig erforscht werden, da sich hier neue Möglichkeiten zur patientenspezifischen Therapie und Medikamentenentwicklung (personalisierte Medizin) bislang nicht therapierbarer Erkrankungen eröffnen. Gleichzeitig sollten Sicherheits- und Risikoaspekte möglicher Anwendungen des Genome-Editings gründlich untersucht werden, da nur so eine fachkompetente Beurteilung und Abwägung der Chancen und Risiken für die Translation in die Klinik erfolgen kann.
- Interdisziplinäre Forschung: Da es sich bei der Entwicklung und dem Einsatz von Organoiden um Innovationen handelt, die weitreichende soziale, ethische und rechtliche Fragen aufwerfen und in Zukunft aufwerfen werden, müssen gezielt Forschungsprojekte gefördert werden, die diese Fragen interdisziplinär untersuchen. Bisher gibt es in Deutschland kaum ELSA-Forschungsprojekte zu Organoiden. Dabei wäre eine intensive Beteiligung von Forschenden aus den Geistes- und Sozialwissenschaften vor dem Hintergrund der Vielzahl an offenen Fragen hinsichtlich konzeptueller, ontologischer, ethischer, rechtlicher und gesellschaftlicher Aspekte und Implikationen der Forschung an und Anwendung von Organoiden bedeutsam.

Ethische und rechtliche Empfehlungen:

- Forschung mit hES-Zellen: Auch für die Organoidtechnologie ist die Forschung mit hES-Zellen in absehbarer Zeit nicht durch die Forschung an hiPS- oder adulten Stammzellen zu ersetzen. Die Möglichkeit des Zugriffs auf hES-Zell-Linien auf dem derzeitigen Stand der Forschung ist wesentlich für deutsche Stammzellforscherinnen und -forscher. Die aus dem StZG resultierenden Beschränkungen der Forschungsfreiheit bezogen auf die Forschung mit hES-Zellen sind zudem ethisch umstritten und verfassungsrechtlich nicht gerechtfertigt. Aus diesen Gründen empfehlen wir nachdrücklich eine Aufhebung des durch das StZG festgelegten Stichtags oder zumindest die Einführung eines gleitenden Stichtags. Damit deutsche Patientinnen und Patienten darüber hinaus auch von in Deutschland entwickelten medizinischen Anwendung der Organoidtechnologie profitieren können, ist es zudem notwendig, dass die Einfuhr und die Verwendung von hES-Zellen nicht nur zu Forschungszwecken, sondern auch zu diagnostischen, präventiven und therapeutischen Zwecken zulässig ist.
- Forschung an fetalem Gewebe: Um aus adulten und aus pluripotenten Stammzellen abgeleitete Organoiden als wissenschaftliche Modelle der In-vivo-Umgebung absichern und weiter verbessern zu können, bedarf es ausführlicher Vergleichsstudien sowohl mit adultem als auch mit

fetalem Gewebe. Hierfür sind Forscherinnen und Forscher auf den Zugang zu fetalem Gewebe, das andernfalls verworfen werden würde, angewiesen. Es bestehen in Deutschland bisher keine klaren rechtlichen Regelungen zu der Verwendung fetalen Gewebes und fetaler Zellen zu Forschungszwecken. Eine Verwendung der Zellen und Gewebe toter Feten muss im Falle eines Schwangerschaftsabbruchs unabhängig von der Entscheidung zum Abbruch erfolgen. Ebenfalls muss eine informierte Einwilligung der Schwangeren zu dem geplanten Forschungsvorhaben eingeholt werden. Von den Forschenden wird zudem ein verantwortungsvoller Umgang mit fetalem Gewebe erwartet.

- **Embryoide:** Die menschliche Embryonalentwicklung ist ein Forschungsfeld von zentraler Bedeutung für die Biomedizin. Embryoide bieten eine Möglichkeit, embryonale Entwicklungsprozesse auf Basis von Stammzellen in vitro nachzubilden und so der Forschung zugänglich zu machen. Momentan sind noch viele zentrale ethische wie rechtliche Fragen zum Umgang mit Embryoiden ungeklärt. Es müssen klare rechtliche Rahmenbedingungen für die Embryoidforschung geschaffen werden und bestehende Gesetze zur Forschung an menschlichen Embryonen ihrerseits überprüft werden. Dringend revisionsbedürftig ist z. B. das strikte Verbot der Forschung mit menschlichen Embryonen. Sie sollte in bestimmtem Umfang auch in Deutschland erlaubt werden, und zwar – nach erfolgter Zustimmung der biologischen Eltern – zumindest mit Embryonen, die zwar für Fortpflanzungszwecke erzeugt wurden, aber endgültig nicht mehr dafür verwendet werden und deshalb andernfalls verworfen werden. Es sollte auch eine zukünftig unter Umständen möglich werdende Nutzung von Embryoiden im Reproduktionskontext mit bedacht und in Anbetracht des Wohls des dabei entstehenden Menschen explizit verboten werden.
- **Hirnorganoide:** Bei Hirnorganoiden stellt sich die Frage, ob sie in Zukunft in der Lage sein könnten, ein Bewusstsein zu entwickeln. Es ist bisher weder theoretisch geklärt, welche Eigenschaften konkret unter den Begriff des Bewusstseins zu zählen sind (z. B. Selbstwahrnehmung, Empfindungs-/Leidensfähigkeit, Denken), noch praktisch, wie deren Vorhandensein zu messen wäre. Man sollte sich daher gemeinsam von neurowissenschaftlich-entwicklungsbiologischer und neurophilosophischer Seite um eine Schärfung und Differenzierung der Begriffe und Konzepte möglicher mentaler oder kognitiver Eigenschaften für Hirnorganoide bemühen; diese Diskussion sollte dabei von einer möglichst realistischen, forschungsstandorientierten Einschätzung des zukünftig Möglichen ausgehen. Darauf aufbauend muss geklärt werden, ob und welche ethisch-rechtlichen Schutzansprüche für menschliche und tierische Hirnorganoide und ggf. auch Tiere, auf die diese übertragen werden, daraus abzuleiten wären. Wichtig erscheint zudem, dass vor dem Hintergrund einer internationalen Fokussierung der wissenschaftlichen Debatte um Organoide auf diesen Aspekt nicht andere forschungsethische Fragen aus dem Blick geraten wie die mögliche Reduktion von Tierversuchen, die Aufklärung und Einwilligung von Spenderinnen und Spendern bzw. Patientinnen und Patienten in die Forschung sowie der

ontologische, moralische und rechtliche Status der für die Herstellung von Organoiden verwendeten Zellen. In diesem Zusammenhang ist auch bei Hirnorganoiden die Frage zu stellen, ob sie in ihrem normativen Status demjenigen von menschlichen Embryonen anzupassen sind, sofern dieser Status auf einer frühen Gehirnentwicklung als Schutzkriterium basiert.

- **Aufklärung und Einwilligung in die Forschung:** Aufgrund der dynamischen Entwicklung von Forschungsprojekten und des Einsatzes neuer Technologien in der Organoidforschung sowie des Erfordernisses der breiten Verfügbarkeit und Vernetzbarkeit von Forschungsdaten in Biobanken ist eine informierte Einwilligung (Informed Consent) nicht immer umsetzbar. Eine „breite“ oder „dynamische Einwilligung“ (Broad bzw. Dynamic Consent) könnten eine Alternative darstellen. Jedoch sind hierbei ethische Standards einzuhalten und insbesondere das Grundrecht auf Schutz personenbezogener Daten sowie das Selbstbestimmungsrecht von Patientinnen und Patienten bzw. Spenderinnen und Spendern sind zu gewährleisten. Daher empfehlen sich darüber hinausgehende Maßnahmen zur Steigerung der Transparenz, Datensicherheit und Vertrauensbildung, z. B. die Nennung von Datenverarbeitungsmethoden, Schutzmaßnahmen zur Minderung ihrer Risiken (wie z. B. technisch-organisatorische Zugangsbeschränkungen zu den gesammelten Daten), die Einrichtung einer Webseite zur Information der Studienteilnehmenden über das konkrete Forschungsprojekt und die Einräumung einer Widerspruchsmöglichkeit. Gerade äußerst sensible Forschungsinhalte wie z. B. die Forschung an hES-Zellen, fetalen Zellen und Geweben, Embryonen, Embryoiden sowie Hirnorganoiden sollten Gegenstand einer Einwilligung sein. In diesem Sinne sollte ein mit der Forschungsfreiheit im Einklang stehendes Höchstmaß an Entscheidungsmöglichkeiten der Teilnehmenden über die Verwendung ihrer Daten und Biomaterialien angestrebt werden.
- **Reduktion von Tierversuchen:** Die Nutzung von Organoiden als Krankheitsmodelle und Testsysteme für toxikologische Screenings hat das Potenzial, Tierversuche in Grundlagenforschung und pharmazeutischer Industrie zu ergänzen. Vor dem Hintergrund des international anerkannten Prinzips der 3R („replacement, refinement, reduction“) und dessen Umsetzung durch die EU-Richtlinie „[...] zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere“ (2010/63/EU) ist es wichtig, dass Alternativmethoden entwickelt, validiert und dann eingesetzt werden. Hierfür sind auch die rechtlichen Vorgaben für den sogenannten Verbraucherschutz bezüglich Verträglichkeit und Toxikologie zu überprüfen und anzupassen.

Empfehlung zur Aufklärung und Einbeziehung der breiten Öffentlichkeit:

- **Wissenschaftskommunikation:** Gerade im Bereich der Stammzellforschung, die große Potenziale in sich birgt und dadurch auch mit großen Hoffnungen verbunden ist, hat sich eine verständliche, vorausschauende und realistische Kommunikation von wissenschaftlichen Ergebnissen und therapeutischen Möglichkeiten in den letzten Jahrzehnten als wichtig erwiesen.

Hierbei sollten die verschiedenen Kommunikatoren wie Wissenschaftseinrichtungen, einzelne Forschende und Unternehmen sowie Vereine und Verbände eine angemessene Wissenschaftskommunikation anstreben, die sich an eine breite Öffentlichkeit wendet. Zu diesem Zweck sind (z. B. im Sinne der Guidelines der International Society for Stem Cell Research (ISSCR) von 2016) hohe Anforderungen an die Wissenschaftskommunikation über Stammzellen und daraus abgeleitete Organoide zu stellen. Wissenschaftskommunikation sollte immer auch Grenzen und Probleme der Forschung und Entwicklung aufzeigen, um keine übersteigerten Hoffnungen auf baldige Therapien seitens der Öffentlichkeit aufkommen zu lassen. Forschende und Wissenschaftseinrichtungen sollten zudem über einen ethischen Kodex einer angemessenen Kommunikation ihrer Ergebnisse nachdenken.

- Mögliche ungeprüfte Therapien mit Organoiden oder aus Organoiden gewonnenen Zellen: Weltweit besteht ein großes Angebot an ungeprüften Behandlungen mit Stammzellen, die nicht im Rahmen klinischer Studien auf ihre Sicherheit und Wirksamkeit geprüft wurden und die Gesundheit von Patientinnen und Patienten sowie den Ruf der Stammzellforschung gefährden. Es muss vermieden werden, dass es auch bei Organoiden zu verfrühten und wissenschaftlich nicht gerechtfertigten Anwendungen und Angeboten ohne behördliche Zulassung kommt. Die jeweils geltenden Bedingungen der Marktzulassung von Medikamenten und Therapien sollten überprüft werden, um geeignete Kriterien und Grenzen derselben zu etablieren. Dabei empfehlen sich auch die Entwicklung und Etablierung internationaler Standards für die Regulierung der klinischen Anwendung.
- Breite gesellschaftliche Debatte anstoßen: Die ethische und rechtliche Diskussion um Organoide steht gerade erst in den Anfängen. Es ist daher wichtig, frühzeitig eine breite gesellschaftliche Diskussion zu initiieren, die verschiedene Interessengruppen und die allgemeine Bevölkerung gleichermaßen einbindet. Hierzu können sowohl nationale Institutionen beitragen als auch die Förderung von Forschungsprojekten, die sich mit den ethischen, rechtlichen, sozialen und ökonomischen Bedingungen der Organoidforschung im Detail auseinandersetzen. Es ist dabei darauf zu achten, dass in der öffentlichen und medialen Debatte keine überzogenen Heilsversprechen gemacht werden, sondern eine sachliche, faktenbasierte Diskussion um die Möglichkeiten und Grenzen der Organoidforschung stattfindet.

Mitglieder der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*

Prof. Dr. Boris Fehse (Sprecher der IAG)

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Klinik für Stammzelltransplantation

Prof. Dr. Ferdinand Hucho* (Stellvertretender Sprecher der IAG)

Freie Universität Berlin, Institut für Chemie und Biochemie

Dr. Sina Bartfeld

Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Institut für Molekulare Infektionsbiologie (IMIB)

Prof. Dr. Stephan Clemens

Universität Bayreuth, Institut für Pflanzenphysiologie

Dr. Tobias Erb**

Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Marburg

Prof. Dr. Dr. h. c. Heiner Fangerau

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Geschichte, Theorie und Ethik der Medizin

Dr. Jürgen Hampel

Universität Stuttgart, Institut für Sozialwissenschaften

Prof. Dr. Martin Korte*

Technische Universität Braunschweig, Institut für Zelluläre Neurobiologie

Prof. Dr. Stefan Mundlos

Charité Berlin, Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik

Prof. Dr. Jens Reich*

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin

Prof. Dr. Silke Schicktanz

Universitätsmedizin Göttingen, Institut für Ethik und Geschichte der Medizin

Prof. Dr. Jochen Taupitz

Universität Mannheim, Fakultät für Rechtswissenschaft und Volkswirtschaftslehre

Prof. Dr. Jörn Walter

Universität des Saarlandes, Institut für Biowissenschaften

Prof. Dr. Dr. Eva Winkler

Ruprechts-Karls-Universität Heidelberg, Universitätsklinikum, Medizinische Fakultät

Prof. Dr. Martin Zenke

RWTH Aachen, Universitätsklinikum, Institute for Biomedical Engineering

* Mitglied der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften

** Mitglied der Jungen Akademie

Publikationen der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*
Publications of the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*

Bücher/Books:

- Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2018): **Vierter Gentechnologiebericht**. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden. Unter: https://www.nomos-elibrary.de/10.5771/9783845293790.pdf?download_full_pdf=1 [05.11.2020].
- Zenke, M. et al. (Hrsg.) (2018): **Stammzellforschung**. Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Nomos, Baden-Baden. Unter: <https://www.nomos-elibrary.de/10.5771/9783845287720.pdf> [05.11.2020].
- Walter, J./Hümpel, A. (Hrsg.) (2017): **Epigenetik**. Implikationen für die Lebens- und Geisteswissenschaften. Nomos, Baden-Baden.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2015): **Dritter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2013): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle wissenschaftliche, wirtschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. 3. neubearb. u. erg. Aufl. Forum W, Limburg.
- Köchy, K./Hümpel, A. (Hrsg.) (2012): **Synthetische Biologie**. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Forum W, Dornburg.
- Fehse, B./Domasch, S. (Hrsg.) (2011): **Gentherapie in Deutschland**. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. 2. akt. u. erw. Aufl. Forum W, Dornburg.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2009): **Zweiter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Forum W, Dornburg.
- Engelhard, M. et al. (2009): **Genetic Engineering in Livestock**. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Schmidtke, J. et al. (Hrsg.) (2007): **Gendiagnostik in Deutschland**. Status quo und Problemerkundung. Supplement zum Gentechnologiebericht. Forum W, Limburg.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2007): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle Entwicklungen in Wissenschaft und Wirtschaft. Spektrum, München.
- Wobus, A. M. et al. (Hrsg.) (2006): **Stammzellforschung und Zelltherapie**. Stand des Wissens und der Rahmenbedingungen in Deutschland. Supplement zum Gentechnologiebericht. Spektrum, München.
- Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2005): **Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Spektrum, München.
- Hucho, F./Köchy, K. (2003): **Materialien für einen Gentechnologiebericht**. Grundlagenforschung, Medizinische Anwendung, ökonomische Bedeutung. Spektrum, Heidelberg.
- Köchy, K. et al. (Hrsg.) (2002): **Gentechnologie als Wirtschaftsfaktor**. Spektrum, Heidelberg, Berlin.

Broschüren/Booklets:

- Walter, J./Schickl, H. (2019): **Einzelzellanalyse in Forschung und Medizin**. Eine Stellungnahme der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*. BBAW, Berlin.
- IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2018): **Vierter Gentechnologiebericht**. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2018): **Stammzellforschung**. Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2017): **Epigenetik**. Implikationen für die Lebens- und Geisteswissenschaften. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2015): **Dritter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Reich, J. et al. (Hrsg.) (2015): **Genomchirurgie beim Menschen**. Zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie. Analyse der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2013): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle wissenschaftliche, wirtschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2012): **Synthetische Biologie**. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2011): **Gentherapie in Deutschland**. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2009): **Zweiter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Beier, H. et al. (2009): **Neue Wege der Stammzellforschung**. Reprogrammierung von differenzierten Körperzellen. Hg v. Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin. Unter: https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user_upload/Webseitendateien/Themen/Statement_Neue_Wege_der_Stammzellforschung.pdf [05.11.2020].

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2007): **Gendiagnostik in Deutschland**. Status quo und Problemerkundung. Zusammenfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2005): **Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Sonstige Publikationen/Other Publications:

Fehse, B. et al. (2018): **Debatte 19 – Die Gentechnologie in der Gesellschaft**: Von großen Versprechungen, hohen Erwartungen und Missverständnissen. Streitgespräche in den Wissenschaftlichen Sitzungen der Versammlung der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften am 01. Dezember 2017. Hg. v. Grötschel, M., Berlin. Unter: <https://edoc.bbaw.de/frontdoor/index/index/docId/2926> [05.11.2020].

Zenke, M. (Hrsg.) (2017): **Special Issue: Stem cells**. From biomedical research towards clinical applications. In: Journal of Molecular Medicine 95(7). Unter: <https://link.springer.com/journal/109/95/7/page/1> [05.11.2020].

Ropers, H. H. et al. (2013): **Stellungnahme zu den neuen Sequenzierungstechniken und ihren Konsequenzen für die genetische Krankenversorgung**. Hg. v. Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin. Unter: https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user_upload/Webseitendateien/Dokumente/Stellungnahmen-Gendiagnostik-1.pdf [05.11.2020].

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2003): **Positionen der philosophischen Ethik zur Frage des Klonens**. Infoblatt. Berlin.

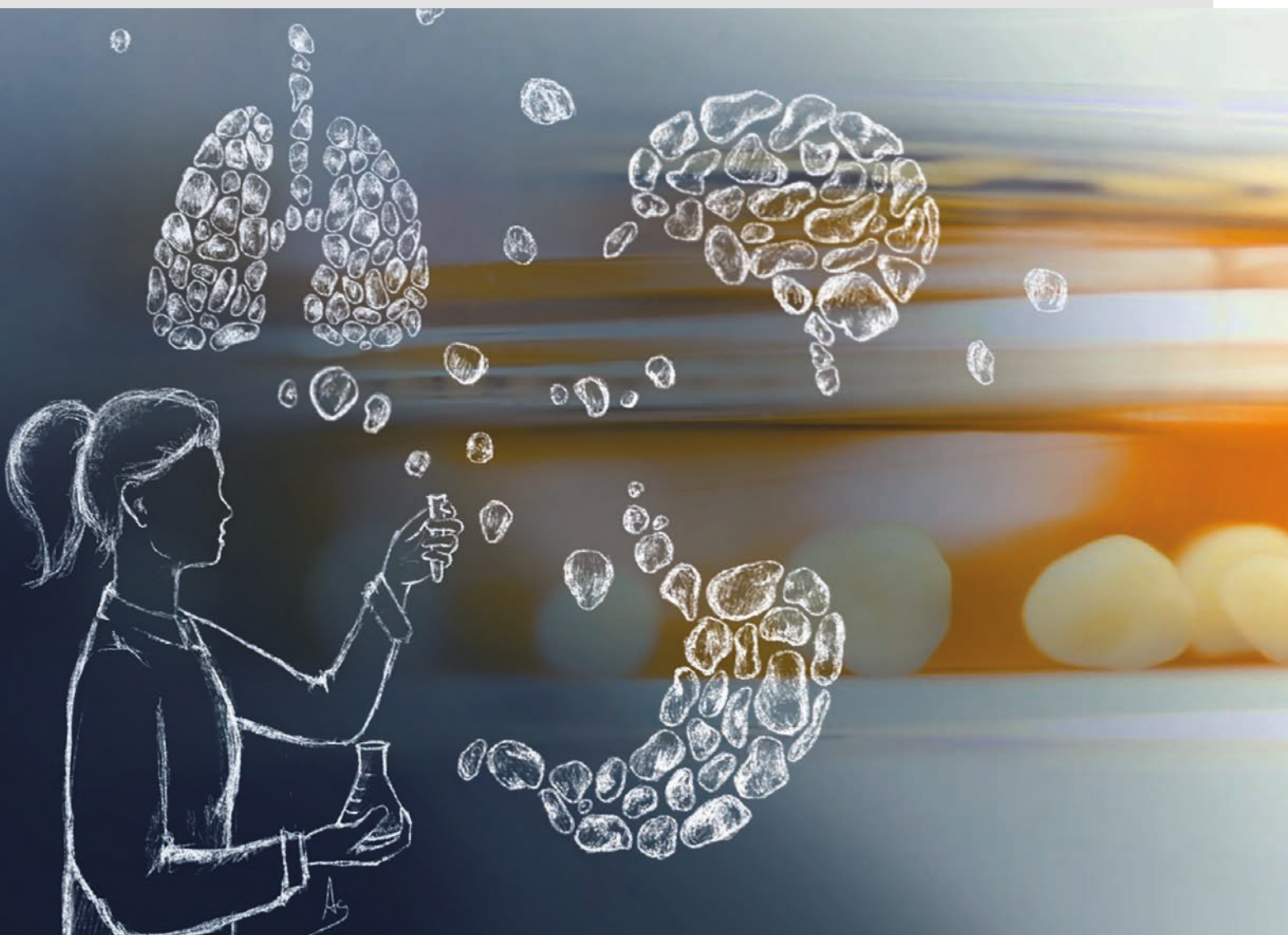
IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2002): **Datenbanken zur Molekularbiologie und Genetik**. Infoblatt. Berlin.

White Paper

Organoids – from stem cells to future technologies

State of research, core statements and political recommendations for action on organoid technology

Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report* of the BBAW
and the German Stem Cell Network (GSCN)



IMPRINT

Publisher:

German Stem Cell Network (GSCN) e.V.
Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*,
a third-party funded project of the Berlin-Brandenburg Academy
of Sciences and Humanities

Responsibility:

Daniel Besser (Managing Director GSCN)

Editors:

Hannah Schickl for the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*
Philipp Graf, BIOCOM AG
Daniel Besser, GSCN
Stefanie Mahler, GSCN

Graphics:

Andreia Sofia Batista Rocha, IMBA, Vienna

Photos:

GSCN, Sina Bartfeld, Stefan Liebau

Translation:

Baker & Company

Design & Layout: unicom Werbeagentur GmbH

Print: Medialis

Circulation: 1.600

This publication appears with the support of the Friede Springer Stiftung.

friede springer stiftung

The content of the White Paper „Organoids – from stem cells to future technologies“
is freely available under the terms of the Creative Commons License (CC-BY-NC-SA).

November 2020

Preface

Despite its close ties to stem cell research, organoid research in Germany has barely been aware in public consciousness. To date, discussion of this issue in German speaking countries has been predominantly confined to the scientific community. Organoids are three-dimensional cellular structures grown from stem cells in vitro. They mimic bodily organs, exhibiting similar cellular compositions and functions. Organoids can be used for basic research and offer great promise for medical research in an extremely wide range of fields, such as drug screening, toxicity tests, and individual drug-response. Through this White Paper, the Interdisciplinary Research Group (IAG) *Gene Technology Report* of the Berlin-Brandenburg Academy of Sciences and Humanities (BBAW) and the German Stem Cell Network (GSCN) hope to raise public awareness of this research field and stimulate an interdisciplinary public debate on organoids.

To this end, the GSCN report on organoids offers a tour of the latest developments in this major research field and of current and potential future applications. The focus is on current organoid research projects and companies, with viewpoints from a range of researchers and stakeholders. This is followed by the IAG's core statements and recommendations for action on the use of organoids.

Parallel with this white paper, the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report* is also publishing two further works – “Organoide. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft” (edited by Sina Bartfeld, Hannah Schickl, Cantas Alev, Bon-Kyoung Koo, Anja Pichl, Angela Osterheider and Lilian Marx-Stölting) and a special issue of the *Journal of Molecular Medicine* entitled “3D Organoids”, edited by Sina Bartfeld, Cantas Alev and Bon-Kyoung Koo.

We are grateful for the fruitful collaboration and would like to thank everyone who contributed to this white paper, especially all of the authors and interviewees. The IAG is indebted to the Friede Springer Foundation for its financial support and the BBAW for its long-standing support. The GSCN thanks the Berlin Institute of Health (BIH) for its financial support. Warmest thanks also go to Philipp Graf from BIOCOM AG and the central offices of the IAG and the GSCN for enabling the realization of this joint publication.

Boris Fehse
Spokesperson for the Interdisciplinary
Research Group *Gene Technology Report* of the
Berlin-Brandenburg Academy of Sciences and
Humanities
Hamburg, October 2020

Daniel Besser
German Stem Cell Network (GSCN)
Managing Director
Berlin, October 2020

Inhalt

Tiny substitutes – the age of organoids	4
(German Stem Cell Network)	
Miniaturized, stem cell-based biomedical research tools	5
New disease models – drilling down on viruses, cancer and genetic disorders	13
Blazing a trail for personalized medicine – test systems, drug screening and regenerative therapies	19
Future scenarios – the next generation of organoids	24
Core statements and recommendations for action on organoids	26
(Interdisciplinary Research Group <i>Gene Technology Report</i> of the BBAW)	
Core statements on organoid technology	26
Recommendations on the use of organoids	33
Members of the Interdisciplinary Research Group <i>Gene Technology Report</i>	38
Publications of the Interdisciplinary Research Group <i>Gene Technology Report</i>	40

Tiny substitutes – the age of organoids

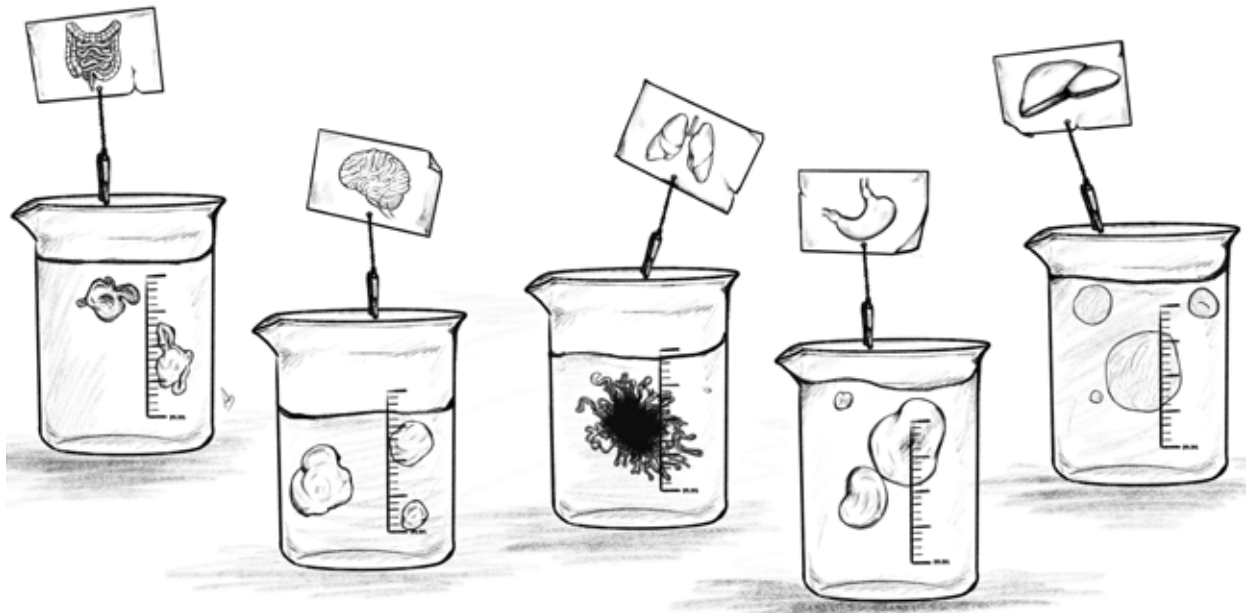
How tiny stem cell-derived 3D models are taking over biomedicine

They may be just the size of a mustard seed, but over the last few years organoids have advanced to stardom status in the health research field. Thanks to sophisticated 3D tissue culture techniques, it is now possible to use stem cells to grow self-enclosed reductionist model versions of brains, intestines or hearts. In Germany too, stem cell researchers are enthusiastically adopting this new technology. Although organoids are less complex, they model their *in vivo* counterparts so closely, that organoids offer completely new ways of performing research into developmental biology and disease processes. From the coronavirus pandemic, to cancer, to genetic disorders, organoids are already in use at many different frontiers in medicine. But these “mini organs” are far more than just test systems for new drug candidates. They also offer huge potential for diagnostics and regenerative therapies. Take a tour around the latest organoid research in Germany and its European neighbours.

Sina Bartfeld heads a junior research group at the Institute for Molecular Infection Biology at the University of Würzburg. Every time she looks down her stereo microscope and sees her “mini-stomachs” – each just a few days old – she is always enraptured. “Organoids are just so beautiful,” she opines. Barely half a millimetre across, these delicate, hollow balls consist of just a single layer of cells. Tiny blebs bulge out from their edges. “In addition to a variety of differentiated cell types, they also contain stem cells, which provide a constant supply of new cells,” explains Bartfeld. It takes less than two weeks to produce these stomach models.

Bartfeld is one of a rapidly growing band of researchers who are using organoids to transform biomedicine. From intestines, pancreases and hearts to livers, lungs and brains, simplified miniature versions of almost every organ in the human body are currently blossoming in cell culture labs around the world. And these tiny *in vitro* models don’t just look like their real life human or animal counterparts. They also mirror astonishingly closely the biological processes taking place in them. “What’s fascinating is just how complex these structures are, and what they reveal to us about real life,” says Bartfeld.

This report, part of the Organoids White Paper, aims to provide an insight into current research on organoids globally, and in Germany, Austria and Switzerland in particular. It offers a guided tour of an extremely dynamic research field. An astonishing 3D microcosm is currently being



The organoid microcosm. With the help of stem cells, organoids can be produced for almost every human organ. The 3D cell structures, which are only a few millimetres in size, are fascinatingly complex.

created in stem cell labs the world over. To explore this microcosm, researchers are deploying some of the most powerful life sciences technologies currently available. The use of organoids as model systems closes a major gap in biomedical research, paving the way for new therapeutic approaches, innovative drugs, and potentially to reducing the use of animal experiments in healthcare research.

Miniaturized, stem cell-based biomedical research tools

Produced from stem cells, organoids are miniature three-dimensional balls of cells with structures which mimic those of an organ. Though microscopic in scale, they nonetheless mirror the architecture and many of the functions of their macroscopic counterparts with impressive fidelity. 3D cell cultures are by no means a new trend. Tissue engineers have been experimenting with 3D aggregates composed of a mixture of cell types for decades. But the decisive breakthroughs in organoid research date back to just over ten years ago. That's when researchers succeeded in awakening the intrinsic ability of these cell aggregates to self-organize.

The two routes to building an organoid

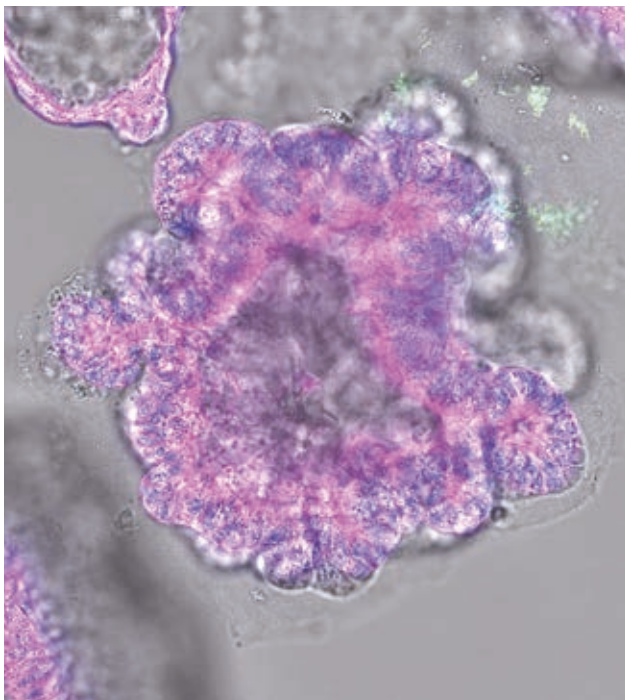
Stem cells are key components in creating organoid cultures, as they produce the cells required. The world of organoid research can be divided into two camps, involving two different techniques. One harnesses adult stem cells, the body's natural regenerative mechanism. These stem cells live in the tissues of the body and produce a constant supply of new cells to replace cells that

are worn out or damaged. The other source of cells are pluripotent stem cells. These cells are able to develop into almost any of the more than 200 different cell types in the human body. The term covers both embryonic stem cells (ES cells) and induced pluripotent stem cells (iPS cells). The latter can be obtained by transforming fully differentiated skin cells using a set of four transcription factors – a reprogramming technique which won Japanese scientist **Shinya Yamanaka** the Nobel Prize.

Adult stem cells back in the limelight

Before taking up her current post at the University of Würzburg, Sina Bartfeld worked as a postdoc at the Hubrecht Institute in Utrecht in the Netherlands, where she was part of a research group led by Dutch stem cell researcher **Hans Clevers**. Clevers is one of the pioneers of and catalysts for the current cell culture boom. From the crucible of the Hubrecht Institute, organoid technology has spread to research labs the world over.

“Using techniques developed in Hans Clevers’ lab, we can recreate the adult stem cell niche in a culture dish,” explains Bartfeld. This trick was first performed in 2009 by **Toshiro Sato**, working in Hans Clevers’ lab in Utrecht, using tissue from the small intestine. One of the keys to the team’s success was identifying the LGR5 protein as a stem cell surface marker that could be used to easily isolate adult stem cells from intestinal tissue removed during surgery. This marker can also be used to sniff out adult stem cells in other parts of the body, where they are involved in producing new tissue.



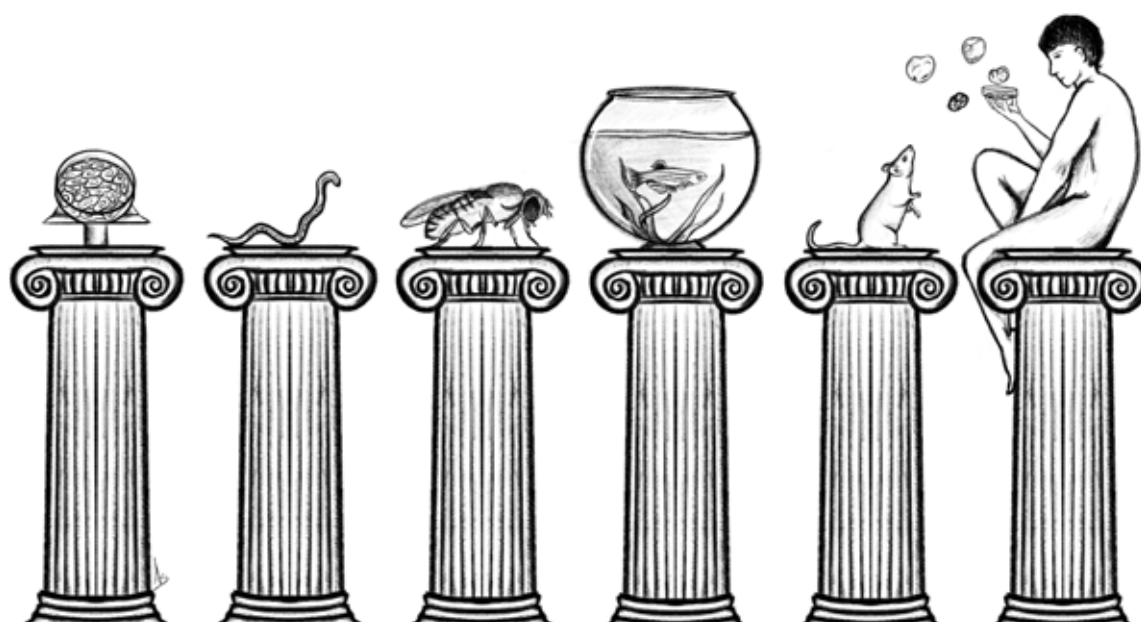
Human stomach organoids

Further progress was achieved through refinements in cell culture techniques. By adding Matrigel, a gel-like substance secreted by mouse cancer cells, researchers were able to closely recreate the microenvironment inhabited by adult stem cells – their niche. This 3D matrix provides a highly agreeable environment for cells. After that, all that’s required is the addition of growth factors and a few other cell types and the adult stem cells begin to do in a Petri dish what they do in the wall of the intestine – to renew themselves and organize themselves into zones corresponding to villi or crypts. They grow in vitro into a highly simplified “miniature intestine”.

Publication of these results in *Nature* in 2009 led to an explosion of activity in the field, explains Bartfeld. Having been very much overshadowed by iPS cells, adult stem cells found themselves back in the limelight. Many of her Utrecht colleagues at this point moved on to working on specific organ systems.

“What’s fascinating about organoids is that they self-organize and then continue growing,” says Bartfeld. “We emulate the signals and the environment in the body in a culture dish – the rest is all down to the stem cells.”

A major advantage is that, “this culture technique gives us an inexhaustible source of human cells from a specific tissue. Plus, the cells are not genetically modified.” A further bonus is that the technique for obtaining and culturing these cells is easy to learn, and the organoids are also easy to handle. “Freeze them, thaw them, pop them in the post – no problem.”



Biological model system in close proximity to humans. Organoids as experimental 3D cell culture models bridge the gap between animal models – such as threadworms, fruit flies, zebra fish, mice – and humans.

Nevertheless, there are limits to what organoid builders can achieve using adult stem cells. Some current organoids don’t contain the full spectrum of cell types. “The main limitation is that we can only grow epithelial cells,” explains organoid pioneer Hans Clevers. Epithelial tissue lines surface on the inside and outside of the body, and are found in places like the skin, gastrointestinal tract and lungs. The body contains three other tissue types which can’t be mimicked using adult stem cells – connective tissue such as bone and fat, muscle tissue, including heart muscle, and nervous tissue.

Pluripotent stem cells – all-rounders bridge the gaps

Cell biologists can overcome this shortcoming by using pluripotent stem cells. That's because, with the right cocktail of growth factors, both iPS and ES cells can be transformed into almost any cell type in the human body.

One of the first scientists to describe the use of pluripotent stem cells to form 3D organoids was Japanese researcher **Yoshiki Sasai**, who sadly passed away long before his time. His observation, published in the journal *Cell Stem Cell* in 2008, was that, if by allowing embryonic stem cells to form a clump of cells before undergoing differentiation into nerve cells, the clump of cells begins to organize itself into a structure that resembles the early stages of brain development. Once again, the key to success was a gel-like 3D matrix.

In response, developmental biologists worldwide set to work developing 3D cell cultures for a wide range of organ systems, ranging from the central nervous system to the kidneys and pancreas. But the organoid that has made the biggest splash in recent years has been the pea-sized brain models created in **Jürgen Knoblich's** lab at the Institute of Molecular Biotechnology of the Austrian Academy of Sciences (IMBA) in Vienna by researcher **Madeline Lancaster**. Neuronal progenitor cells produced from iPS cells began to aggregate to form cerebral organoids almost of their own accord. The external structure and molecular biology of these tiny balls of neural tissue resembles that of an embryonic brain.

Biologist **Agnieszka Rybak-Wolf** is another researcher who specializes in using iPS cells to grow cerebral organoids. She heads the newly set up Organoid Platform at the Max Delbrück Center



Human brain organoids

(MDC) in Berlin. “In culture flasks the stem cells clump together to form three-dimensional cell aggregates. Using a special mix of growth factors, they are then induced to differentiate into neuronal cells.” If you embed this cell cluster in a 3D matrix, you can once again observe this fascinating process of self-organization. “If you get neural rosettes forming – they look a bit like flowers – that’s a good sign,” explains Rybak-Wolf. Now it’s time to wait while the organoids grow to the size of a pea, mature and tissue organization becomes more complex. This can take three months or more. “The brain age of these organoids typically corresponds to around the 23rd to 28th week of gestation,” as Rybak-Wolf explains.

But this time scale presents challenges for the researchers. Since, in becoming an organoid, pluripotent stem cells have to travel along a much longer developmental pathway than adult stem cells, these “mini-brains” in the laboratory can be highly variable. This variability is further exacerbated by the fact that cerebral organoids in a culture dish are derived from different pluripotent stem cells. Nutrient supply in 3D tissue cultures is a further difficulty. The lack of a vascular system means that the core of these pea-sized clumps is not directly supplied with oxygen or nutrients, so that if their growth is too strong much of this core tissue dies off.

Highly advanced bioanalytical techniques

To study the development of their organoids in detail, researchers resort to some very advanced biomedical techniques. In order to gain a detailed understanding of their cell biology, they rely on the most advanced, leading-edge light microscopy and high-resolution fluorescence microscopy techniques. Genome editing has also become an indispensable molecular biological tool. Thanks to designer nucleases like CRISPR/Cas9 – which won its developers the 2020 Nobel Prize for Chemistry – researchers can make targeted changes to organoid cell genomes, enabling them to investigate the effects of specific mutations.

Single-cell analysis is one of the most exciting recent advances in biotechnology. Next generation sequencing techniques make it possible to analyze even the faintest traces of genetic material or proteins from a cell. The best-known example is single-cell RNA sequencing. By looking at the population of messenger RNA (mRNA) molecules, this technique enables researchers to determine which genes are active in a single cell at a specific point in time. This can be used to determine the specific signature of a cell, its molecular profile.

Taking organoids as an example, developmental biologist **Barbara Treutlein** and her team have delivered an impressive demonstration of how the wide variety of new cell biology techniques can be combined to study tissue development and organogenesis. The researchers wanted to know how well 3D organoids produced from iPS cells model molecular processes involved in organ development in vivo.

“Both brain and liver organoids mirror in vivo gene expression patterns very narrowly,” says Treutlein. “However, they more closely resemble organ tissue during embryonic development than mature organs.” Treutlein believes that the combination of single-cell genomic analysis and stem cell-derived organoids opens up an exciting new field of research. “Being able to genetically modify organoids using genome editing means that we can now explore the mechanisms involved in human organogenesis in unprecedented detail,” enthuses Treutlein, who recently moved from the Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology in Leipzig to the Department of Biosystems of ETH Zurich in Basel, where she is active as Professor of Quantitative Developmental Biology.

The translational medicine research institute, the Berlin Institute of Health (BIH), is also highly active in promoting the combined use of organoid technology and single-cell analysis. To this end, with the support of the Charité university hospital in Berlin and the Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC), it aims to bring together a broad range of essential expertise. In view of the fact that organoids have the potential to revolutionize many different medical disciplines, the BIH has set up a dedicated Organoids and Cell Engineering Translation Hub. This is where the BIH research community links up to develop innovative methods and technologies.

The Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB, part of the MDC) is specifically dedicated to the continuing development of single-cell technologies and harnessing artificial intelligence to interpret results from these technologies. The institute is also home to Agnieszka Rybak-Wolf’s Organoid Platform. The Organoid Platform builds on the MDC and Charité’s extensive expertise in stem cell techniques and genome editing and will work closely with BIMSB founding director **Nikolaus Rajewsky’s** laboratory. Rajewsky is a specialist in novel sequencing techniques.

A human organoid cell atlas

Launched in summer 2020, the EU’s HCA | Organoid project is Europe’s contribution to the international Human Cell Atlas (HCA) project and aims to create a comprehensive human organoid cell atlas for use in biomedical research. A consortium of researchers from 18 countries is aiming to compile a reference database of gene activity in all human cell types featuring unprecedented resolution. The cell atlas, made up of molecular maps, is intended to establish a unique public resource – the Google Maps of human cell biology. This ambitious project has received funding from the philanthropic Chan Zuckerberg Initiative.

Engaging in the HCA | Organoid project, leading organoid researchers from Austria, the Netherlands, Germany and Switzerland will work on an open-access Organoid Cell Atlas. The consortium is funded by a €5 million grant from the EU. The project is being coordinated by the IMBA in Vienna. German participants are the Deutsche Krebsforschungszentrum (DFKZ) and the European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), both in Heidelberg. The project will start by producing brain organoids and intestinal organoids each from one hundred individuals. The organoids will then be

characterized using single-cell analysis, with the aim of mapping human genetic diversity and of establishing a comprehensive reference database for use in health research.

Understanding organ development in unprecedented detail

Vienna-based stem cell researcher **Jürgen Knoblich** is convinced that human organoids represent a new generation of biological model systems that will enable human organ development and diseases to be researched in unprecedented detail.

“As experimental models, human organoids bridge the gap between animal models and humans,” says Knoblich. To understand stem cell biology and the key stages of organ development, developmental biologists have traditionally relied on model organisms such as nematodes, zebrafish and mice. It’s clear, however, that these animal models mirror tissue architecture, human genetics and human physiology only imprecisely.

The advent of organoids has now made it possible to rapidly mimic the process of human organ development in vitro by way of techniques that are not excessively technically complex. “This opens up new possibilities, particularly for organ systems that are difficult to perform experiments on, such as the brain.” The stem cell-derived cerebral organoids cultured in Vienna are especially useful for studying the details of early brain development. It’s not just in terms of genetics that these pea-sized balls of tissue better model the situation in humans. They also match up in terms of timing – the organoids grow and develop at the same pace as human embryos.

For Knoblich, organoids are therefore ideal for studying how neural stem cells and progenitor cells give rise to such a large variety of different neurons in this highly complex environment, and how they interact with each another. And in fact, the cells in these cerebral tissue models form actual synapses. A number of laboratories worldwide have recorded neural network activity – so-called oscillations.

Knoblich urges caution in interpreting these observations, however. More research into the characteristics and relevance of this data is needed. To date, organoid systems have only been able to model tiny portions of the human body in vitro, and have not been able to model interactions between different parts of the body. Brain organoids are a long way from realizing the highly complex tissue architecture and spatial organization of a real brain. “Modeling higher order brain functions is also not what the field is trying to do,” explains Knoblich. In addition, these tissue aggregates lack key cell types, such as microglia, other immune cells and blood vessels.

Brain organoids raise ethical questions

Together with **Hans Schöler**, a stem cell researcher based in Münster and current President of the German Stem Cell Network (GSCN), Knoblich heads an interdisciplinary working group on brain or-

ganoids at the Leopoldina National Academy of Sciences. The group looks at issues such as whether these complex brain models might in future be able to develop something like pain perception or consciousness. “At our meetings, the assembled experts have unanimously been of the opinion that we are miles away from a structure that could in any way reproduce cognitive processes.”

In **Hannah Schickl**’s opinion, in Germany the debate on the ethics of these aspects of organoid research is still in its infancy. As a research assistant at the Berlin-Brandenburg Academy of Sciences (BBAW), Schickl coordinated the recently published volume “Organoid. Ihre Bedeutung für Forschung, Medizin und Gesellschaft” by the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*, in the course of which she took a particular interest in the debate on ethical and legal issues. The key points and recommendations for political action set out in the above volume form part of this White Paper.

As an analytical philosopher and bioethicist, Schickl considers the question of whether future, more complex brain organoids might potentially develop something like consciousness to be “vague”. Ethicists and philosophers grappling with this question currently have to rely on thought experiments. In addition, consciousness is a complex concept, and neither neuroscientists nor philosophers have succeeded in clearly defining what it is. While the phenomenon of consciousness remains theoretically unclear and until we have a way of measuring it in practice, any debate on the consciousness of cerebral organoids is destined to remain fairly abstract.

The fact that human brain development as a normative criterion feeds into the debate around legal issues on embryos such as termination of pregnancy and the 14-day rule raises a more specific question. “Either it alters our ethical and legal assessment already of existing (and not only future) human brain organoids or it alters our assessment of human brain development as a normative criterion. Brain organoids show once again that protection based on potential abilities cannot be sustained consistently. They should be given up as protection criteria – at least for a strong protection – in favor of actual abilities like e.g. sensitivity or consciousness.” Either way, this is a question which needs to be examined, says Schickl.

In Germany, legal academics are already undertaking research on the legal status of brain organoids. For the last year or so, academics from the Faculty of Law at the University of Passau have been examining the legal framework for existing and potential future organoid research scenarios. The team, headed by **Hans-Georg Dederer**, is part of the Interaction of Human Brain Cells (ForInter) research network, funded by a €4 million grant from the State of Bavaria. Which existing laws make up the legal framework for organoid research? Where is there a need for additional regulation of therapeutic applications? Do brain organoids need to be given legal protection, and if so, how far should this protection extend? These are the questions that Dederer’s team are seeking to address. Should they identify omissions or other shortcomings, they will also develop proposals for updating existing legislation.

Embryoids stoke intense international debate

Far more ethically and legally sensitive in Schickl's opinion is the issue of embryoids. Embryoids are produced when pluripotent stem cells in special cultures start to self-organize to form a 3D structure which resembles an embryo – both in terms of the cell types it contains and in its tissue organization. In a nod to the discipline of synthetic biology, embryoids are also known as synthetic embryos – produced not by the fusion of a sperm and egg cell, but from stem cells aggregating together in a culture dish. How embryoids should be classified ontologically (as human embryos or as novel entities), and what their normative status should be remain unanswered questions, as Schickl points out.

Animal embryoids capable of undergoing development have now been created. In addition, contrary to popular belief, pluripotent stem cells are, under certain circumstances, apparently capable of totipotency, so that they could give rise to a complete organism. Given that many legal regulations and guidelines treat totipotency as a key criterion in determining whether cells are worthy of protection, the significance of this research should not be underestimated. “The ethical and legal aspects of this are currently the subject of intense international debate.” In Germany too, there is a need for a clear legal framework for embryoid research. Existing rules on human embryos in vitro are also in need of review.

New disease models – drilling down on viruses, cancer and genetic disorders

But organoids don't just offer new insights into developmental processes. They also give rise to exciting new opportunities for researching disease mechanisms. The spectrum ranges from infectious diseases and cancer to genetic disorders and neurodegenerative diseases.

The revolution in stem cell research ushered in by iPS cells means that biomedical researchers for the first time have direct access to 'real' human cellular material from both healthy people and individuals with disease, in almost inexhaustible quantities. Using 'molecular scissors', such as genome editing tool CRISPR/Cas9, they can make precise changes to stem cell genomes. It is thereby possible to produce disease model cells with tailored genetic modifications in a laboratory.

This enables organoid culture to serve as in vitro patient surrogates – cell-biological 'avatars'. The hope is that these organoids will react to drugs in the same or a similar way as the actual organ in the human body. This would provide researchers with a more efficient way of modeling and testing the effect of a drug without exposing patients to unnecessary side effects. That would enable medics to more accurately predict whether a patient would respond to a specific therapy. The ideal outcome would be treatment tailored to the cellular characteristics of the individual disease.

Pandemic research: how Zika and COVID-19 ravage the body

Organoids may be quite a recent development, but they have already proven themselves to be valuable tools for researching new infectious diseases and pandemic viruses. When the mosquito-borne Zika virus emerged in 2016, doctors and virologists spent a long time puzzling out how the pathogen is able to cause severe brain malformations in unborn babies. Affected babies were found to have microcephaly, meaning that their heads had failed to develop to a normal size.

By using brain organoids produced from pluripotent stem cells, biomedical researchers soon picked up the virus' trail. Using their in vitro tissue models, researchers were able to determine that the Zika virus infects neural stem cells and to study how this leads to microcephaly. And that's not all – screening potential active substances on brain organoids infected with Zika virus helped to identify a number of powerful drugs.

As models for researching the SARS-CoV-2 coronavirus, organoids are also currently at the forefront of the fight against the COVID-19 pandemic. The initial focus has been on the most important point of entry into the body, the respiratory tract.



Tools of pandemic research. Organoids as infection models help to understand what viruses such as SARS-CoV-2 or Zika do in the body and how the spread of the pathogens can be stopped with drugs.

Andreas Hocke's team is using the latest molecular biology and imaging techniques to investigate how highly contagious viruses such as influenza and coronaviruses attack living lung tissue and what they do to it. Hocke is an infectious diseases researcher at the Charité in Berlin and a pioneer in developing alternatives to animal experiments. Ten years ago, he developed a 3D lung tissue model derived from human lung tissue removed during operations at the Charité. It is now an established translational research tool there. The big drawback is that these tissue fragments are short-lived and available in limited quantities only.

For the last 18 months, Hocke’s team has therefore been experimenting with lung organoids produced from adult stem cells. “They are easy to multiply, can be cultured for long periods and closely mirror the cellular context. They can even be used to model chronic disease processes,” explains Hocke. His team has now succeeded in infecting these lung organoids with SARS-CoV-2 and in learning more about which cell types the virus seeks out in the lungs. The focus is on the ACE2 receptor. Like the SARS-CoV-1 coronavirus described in 2003, SARS-CoV-2 uses this cell surface receptor to attach to cells and inject them with its genetic material. “Our investigations lend weight to the observation that the virus infects alveolar cells less than first thought, but instead triggers a systemic inflammatory reaction which has an indirect destructive effect on the lungs,” says Hocke.

Hocke is fascinated by organoids, but he is also well aware of their limitations. “A lung organoid mirrors basic functions very closely, but it doesn’t breathe,” notes Hocke. “Nonetheless they complement our existing models and help to reduce animal experiments.”

Global anti-COVID alliances were initially entirely focused on the respiratory tract. But evidence soon began to accumulate that SARS-CoV-2 also affects many other organ systems, including the brain, kidneys, gut, liver, heart, pancreas and placenta. But are these really new viral battlegrounds within the body, or is this just collateral damage from a misdirected immune response? What does the virus do within the body? Organoid researchers around the world quickly started to expose their 3D cell cultures to the virus. They found that the COVID-19 pathogen does not just infect lung, liver and kidney organoid cells. Around 30 percent of COVID-19 patients have diarrhoea, and in some patients the virus can be isolated from stool samples. In addition to **Hans Clevers** in Utrecht, **Steeve Boulant** from the Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg is also using intestinal organoids to study how the virus interacts with human intestinal cells. SARS-CoV-2 has also been found to directly infect blood vessel organoids, like the organoids produced in **Josef Penninger**’s laboratory at the Life Sciences Institute at the University of British Columbia in Canada. Working with researchers from Paris, Cologne, Münster and Bonn, **Jay Gopalakrishnan** from the Institute of Human Genetics in Cologne is investigating how SARS-CoV-2 infects neuronal cells in brain organoids.

New alliance develops organoid infection models

“It remains unclear to what extent SARS-CoV-2 can directly infect and damage other organ systems or whether this damage is triggered indirectly by the immune system,” says Andreas Hocke. The diversity of human organoid models provides the perfect platform for infectious disease research. This is set to be put to the test by a new nationwide research alliance organized by the University Medical Network to Combat COVID-19, which is funded by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF). The alliance, which goes by the name Organo-Strat, involves partners from nine locations who have come together to develop a range of different organoid-based models of infection.

The alliance is being coordinated by Charité researcher Andreas Hocke. Sina Bartfeld's group in Würzburg and DKFZ researcher Steeve Boulant are also on board. University medical faculties in Würzburg, Jena, Heidelberg, Tübingen, Münster, Marburg, Hamburg and Aachen are also involved in the initiative. Although the focus is firmly on SARS-CoV-2, the aim is for the organoid models created to serve as a platform for future pandemic research when new pathogens emerge. "We're also going to use these organoid models of infection for preclinical testing to help identify potentially effective antiviral drugs," explains Hocke.

A further BMBF-funded coronavirus research project, involving lung organoids produced from iPS cells, is currently underway at Ruhr-Universität Bochum. With the help of organoids, virologist **Stephanie Pfänder** and molecular biologist **Thorsten Müller** are aiming to develop a reliable model for use with high-throughput analyses. The project goes by the name Organ-Sars. In her experiments, Pfänder makes the coronavirus glow green. This is achieved by inserting a sequence coding for a green fluorescent protein into the SARS-CoV-2 genome. "We will be drawing on high-resolution microscopy to investigate interactions between the virus and organoid, and to study mechanisms of infection," explains Pfänder. The Bochum-based team are also planning to deploy their model system in testing antiviral drugs.

"Mini tumors" for personalized cancer treatment

Stem cell-based 3D model systems are also increasingly important in cancer research. Würzburg-based organoid researcher **Sina Bartfeld**, for example, is using stomach organoids to study the carcinogenesis of stomach cancer. Just under 50% of stomach ulcers are caused by infection with one of two pathogens. The *Helicobacter pylori* bacterium is responsible for up to 40 percent of cases, while the Epstein Barr virus (EBV) accounts for up to 10 percent. In both cases, however, we don't yet understand how the infection contributes to the development of cancer. "By experimentally infecting organoids in the lab, we can simulate the interaction between the pathogens and their human host cells and investigate these interactions in more detail."

Her experiments have shown that different cell types react differently to infection. Bartfeld's team is currently trying to determine whether *Helicobacter pylori* attaches to all cell types in the stomach or whether there is a specific target cell. How EBV causes cancer is also an extremely interesting question. "Currently, it is not clear exactly how EBV infects cells of the gastric mucosa," notes Bartfeld. Long term, she hopes to achieve a better understanding of why some patients develop cancer while others stay healthy.

Organoids also have potentially interesting applications in personalized medicine. Personalized medicine involves using molecular biology and clinical data for a specific patient to try to find the optimum therapy for that patient. Bartfeld has, for example, succeeded in producing organoids

not just from healthy tissue, but also from tumor tissue from patients who have had their stomach removed due to cancer. “Our experiments have shown that these organoids can in principle be used to test possible drugs. Other groups are now investigating whether drug tests involving organoids are able to predict how the patient will respond to those drugs in practice. The hope is that patient-specific tumor organoids could in future be used to determine which drugs are effective against that tumor and which are ineffective. We’ve still got a long way to go before we get to that point, however,” says Bartfeld.

Large collections of cancer organoids make the vast complexity and diversity of cancer amenable to laboratory experiments. Tumor organoids can be frozen, stored, thawed and multiplied as required. The result is living biobanks. Hubrecht Organoid Technology (HUB) in the Netherlands has compiled an extensive tumor organoid archive. HUB provides researchers with free access to cellular material and associated molecular biology and clinical data. How useful these tumor organoids will prove in practice for finding new active substances and for precision medicine remains to be seen. Numerous clinical observational studies are currently underway to find out.

Henner Farin heads a junior research group at Georg-Speyer-Haus in Frankfurt as part of the German Cancer Consortium (DKTK). Like Sina Bartfeld, he is a protégé of Hans Clevers’ Dutch organoid foundry who has made his way back to Germany. In Frankfurt, Farin creates intestinal tumor organoids and uses them to research mechanisms of carcinogenesis. “The conventional method for isolating and culturing tumor cells from patients produces cell lines that have little in common with the original tumor,” explains Farin.

Identifying a tumor’s individual weak points

If, however, the cancer tissue is taken to grow organoids, a very genetically stable tumor model can be created. “We can use this to study in detail the genetic differences between individual tumors and work out what this means in terms of their characteristics.” The researchers recently employed the CRISPR/Cas9 ‘molecular scissors’ system to switch off tumor suppressor genes in organoids. “Genetic screens will in future enable us to identify a tumor’s individual weak points, which we can successfully target with a suitable therapy,” describes Farin.

Stem cell researcher **Kai Kretzschmar** specializes in producing cancer organoids from patient tissue. Kretzschmar also came to Germany recently from Hans Clevers’ lab in Utrecht and, since early 2020, has been establishing a junior research group at the University Hospital of Würzburg. As a postdoc, Kretzschmar worked on optimising protocols for producing cancer organoids. Researchers are becoming increasingly adept at reproducing components of the microenvironment (the mix of cells in the immediate vicinity of the cancer cells).

“Mixing colon cancer organoids with immune cells in a culture dish is a good model for studying the interplay between them,” says Kretzschmar. This raises the possibility of new models for drug testing. “Long-term, these co-cultures could also be used to test the efficacy of novel immunotherapies.” Working at the Mildred Scheel Early Career Center for Cancer Research (MSNZ), Kretzschmar now wants to focus on the oral mucosal epithelium and is aiming to employ organoid technology in modeling the carcinogenesis of head-neck cancer.

A new perspective on neurodegenerative diseases

Neurodegenerative diseases are one area of research where organoid disease models are proving genuinely groundbreaking. The advent of human 3D cell cultures means that neuroscientists now have a disease model which is much more realistic than the traditional Petri dish cell culture lawns and animal (e.g. mouse) models. There is barely a neuroscience-oriented stem cell research team in the country that isn't using organoids for disease research.

Hans Schöler's team at the Max Planck Institute for Biomolecular Medicine is using brain organoids to study topics including the mechanisms underlying Parkinson's disease. **Julia Ladewig** at the Hector Institute of Translational Brain Research in Mannheim is employing brain organoids to investigate the molecular and cell biological causes of developmental and mental health disorders such as autism and schizophrenia, as well as potential therapeutic targets in these disorders. These tiny balls of cells in a Petri dish can also be used to test potential psychotropic drugs. Based on brain-like cell culture models, **Beate Winner** at Universitätsklinikum Erlangen is trying to unravel the pathogenesis of rare neurological disorders. And **Oliver Brüstle** at the LIFE & BRAIN Center in Bonn has joined forces with the Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) to study CNS drug metabolism in cerebral organoids.

Benedikt Berninger's team at the University of Mainz Institute of Physiological Chemistry has also opted for cerebral organoids in testing promising new approaches in regenerative medicine. The direct transformation of glial cells is one strategy for replacing lost nerve cells in the brain. “We are using these ‘mini-brains’ as a platform for studying the reprogramming of glial cells into nerve cells,” explains Berninger. **Magdalena Götz's** team at Helmholtz Zentrum München is also researching this strategy with the help of brain organoids.

Stem cell-based 3D disease models for neurological research are becoming ever more complex and ever more sophisticated. **Mina Gouti's** team at the Max Delbrück Center for Molecular Medicine in the Helmholtz Association (MDC) has recently developed a process for generating extremely highly developed, functioning neuromuscular organoids. Derived from pluripotent stem cells, the organoids spontaneously form nerve cells, skeletal muscle and even motor end plates. Motor end plates are the points of contact between nerve cells and muscles and the point at

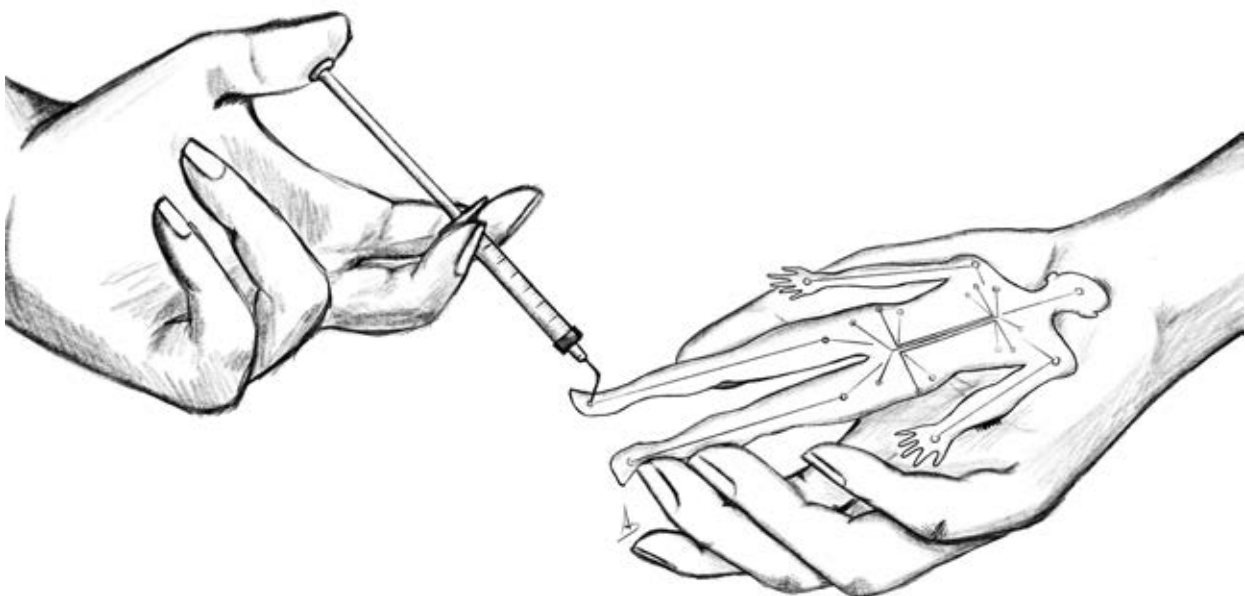
which the signals which cause muscles to move are transmitted to the muscle. To Gouti's astonishment, the self-organizing cellular structures have formed functional networks. After 40 days, the motor neurons in the organoids were actually able to trigger muscle contraction.

In Gouti's view, this 3D cell culture model opens up the possibility of completely new approaches to investigating diseases involving the death of motor neurons. One such disease is amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a currently incurable disease that causes muscle weakness and loss of movement. Gouti's team are now planning to grow neuromuscular organoids from iPS cells from people with ALS. These organoids will offer a new means of observing the early stages of the disease in vitro, and new options for testing the effects of different drugs.

Blazing a trail for personalized medicine – test systems, drug screening and regenerative therapies

As models for human disease processes, organoids have become extremely popular tools for translational medicine – the process of transferring innovative research findings from the laboratory to the clinic.

By acting as surrogate organs, the hope is that these pinhead-sized balls of cells will respond to drugs in the same or a similar way to the real organ in the body. The big advantage they offer is that, using advanced stem cell technologies, it is possible to create an individualized disease model for every patient. This opens up entirely new possibilities for pharmaceutical research. These 3D tissue models can be harnessed to test active substances and investigate their efficacy. They pave the way for personalized medicine.



Vision human-on-a-chip. More and more model organ systems can be interconnected via microchannels on a chip. The multi-organ chips are suitable for drug testing in the pharmaceutical industry.

Test systems for pharmaceutical research

Cystic fibrosis is one area where organoid-based drug testing is already part and parcel of clinical practice. Cystic fibrosis occurs due to a genetic mutation which causes a change in a membrane channel. This means that the channel is no longer able to correctly regulate the balance of water and salt in epithelial cells, resulting in a build up of thick secretions. This particularly affects the lungs, but also impacts on the pancreas and gut. This misfiring membrane channel can be caused by a wide variety of different genetic mutations, some of them quite rare. As a result, until now it has often been hard to predict whether one specific drug will be effective in a particular patient.

Working with Hans Clevers' laboratory, a team of Dutch paediatricians has now demonstrated that, by testing the drug on patient-specific organoid cultures produced from rectal mucosal tissue, it is possible to predict the success of drug treatment with very high accuracy. "Since last year, Dutch health insurers have been paying for individualized organoid diagnostics," notes Clevers. These organoid tests mean that doctors can now better target this expensive cystic fibrosis drug to those patients who will benefit from it. "For cystic fibrosis, organoids have become an integral component of the Dutch health system," says Clevers.

Innovative approaches to testing and screening new drug candidates based on 3D cell cultures are also on the agenda for translational medicine institutes in Germany. That includes the Hector Institute for Translational Brain Research (HITBR), a partnership between the Central Institute of Mental Health (ZI) in Mannheim and the DKFZ in Heidelberg. The HITBR team's goal is to identify new therapeutic targets in severe psychiatric disorders and validate them for the development of new psychotropic drugs.

Translational medicine company ISAR Bioscience GmbH, located in Munich's Planegg district, is working on stem cell and organoid technologies for drug screening. Austrian biotech company a:head was spun off from the IMBA in 2019 with the aim of establishing cerebral organoids as a platform for research into new drugs for treating brain diseases.

Tumor organoids too offer huge diagnostic potential, and this potential is increasingly being exploited for healthcare applications. Danish-German company 2cureX, for example, is employing tumor organoids from cancer patients to test the effects of cancer drugs prior to use. This enables them to determine which drug or combination of drugs is most effective against the specific tumor. In vitro tests like these should provide doctors with a better basis for decision-making, reduce side effects and help make treatments work faster.

Improving control with organ-on-a-chip

If organoids do turn out to be suitable as drug testing systems, in future they could find use in preliminary testing prior to legally-required animal experiments. Only active substances which pass the organoid test would go on to be tested in animals. This one step alone would drastically reduce the number of experiments performed on rats and mice.

But before they can be put to work in testing and enable better comparison between them, these living 3D cell culture systems need to be made more robust and consistent. Already a number of teams are working on the next generation of organoids. One option for achieving this is combining stem cell techniques with organ-on-a-chip technology. This involves culturing the organoids on small microscope slides known as microfluidic biochips. The organoids are supplied with nutrients by way of extremely fine fluid channels that act as an artificial vascular system.

“The aim is to place the organoid in a micro-physiological environment which simulates as closely as possible the environment in the human body,” says **Peter Loskill**, bioengineer at the Fraunhofer Institute for Interfacial Engineering and Biotechnology (IGB) in Stuttgart and at the University of Tübingen. “By combining organoids and organ-on-a-chip systems, we are bringing complex self-organization into a controlled technical environment,” explains Loskill. In developmental biology, where Petri dishes fall short, high-tech is stepping in.

Retina on a chip as a model for toxicity testing

The retina-on-chip model Loskill has developed with Tübingen-based stem cell researcher **Stefan Liebau** is a good example of the bioengineering approach. Based on iPS cells, the researchers have created retinal organoids which possess almost all important cell types and form complex, multi-layered tissue. Nonetheless, they still lack a number of key features, among them retinal pigment epithelium, a layer of cells which sits in close contact with the light-sensitive photoreceptors in vivo. The absence of a circulatory system also means that they lack a continuous supply of nutrients.

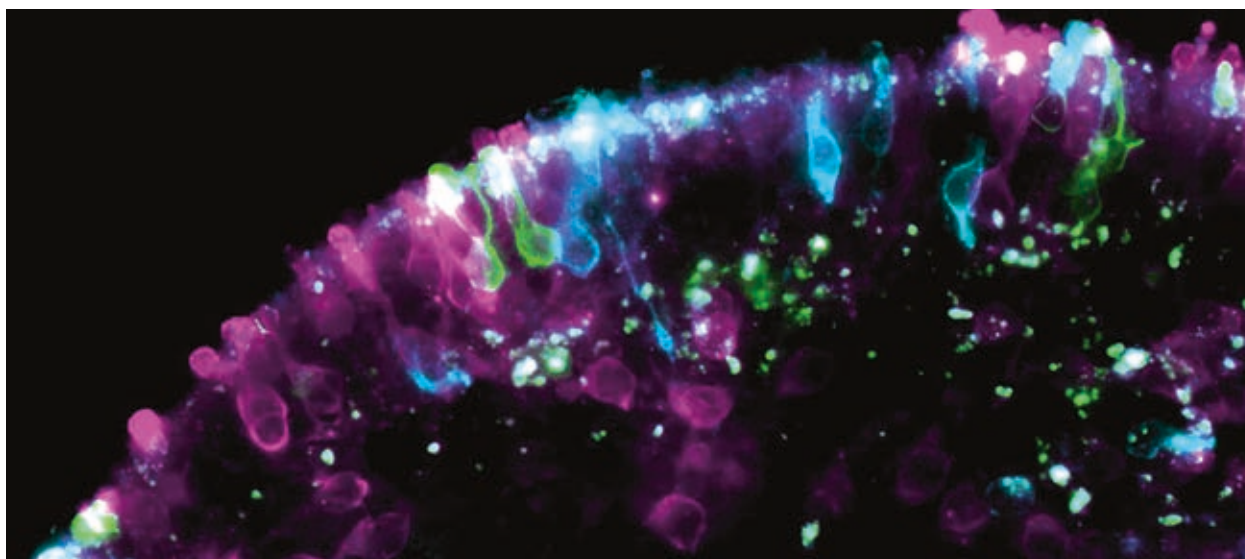
This is where the Fraunhofer engineers’ expertise comes into play. First the researchers seed a layer of retinal pigment epithelium in small indentations on small microscope slides equipped with biocompatible membranes. Next, they place retinal organoids on top of this epithelium. The system includes a microchannel, which acts as an artificial vascular system and, by way of pump system, can be used to bathe the material with nutrient solutions, immune cells or drugs. The chip therefore mirrors physiological conditions in the human retina in a number of ways and represents a powerful alternative to animal models.

“This allows us, for example, to test new drugs to see if they have any retinal side effects,” explains Loskill. The Fraunhofer researcher is already working with a number of pharmaceutical companies, which are deploying the retina-on-chip system primarily for toxicity testing. “Lots of novel drug candidates cause side effects involving the eye,” explains Loskill. “Our retina model is very good for examining and testing such effects.”

Jena-based start-up Dynamic42 GmbH is another organ-on-a-chip specialist. Dynamic42 is a contract research organization which was spun off from **Alexander Mosig**’s working group at Jena University Hospital in 2018. In addition to sophisticated microphysiological 3D liver and intestinal organ models, the Jena bioengineers have also developed a human alveolus model, an alveolus-on-a-chip. The model is already being employed as a test system for coronavirus research. Dynamic42’s particular area of expertise is in reconstructing blood flow in modeled organ systems, including blood-borne immune cells.

Berlin-based TissUse GmbH in turn specializes in combining multiple organoid systems on a biochip. Founded in 2010 as a spin-off from the Institute for Biotechnology at TU Berlin, TissUse’s vision is to build a ‘human-on-a-chip’. The team, headed by research director and founder **Uwe Marx**, has already developed a number of multi-organ chips.

Their organ models largely consist of ‘spheroids’, clumps of cells that are somewhat less complex than conventional organoids. The models are housed in tiny chambers on a plate the size of a microscope slide. A fluid-filled system runs through the structure mimicking a circulatory system. “Our multi-organ chips are excellent test benches for testing drugs and chemicals for the pharmaceutical and cosmetics industries,” says Marx. With a high relevance in physiological terms. Backed by millions of euros in funding from the Federal Ministry of Education and Research’s GO-Bio initiative, aimed at encouraging start-ups, the Berlin company has gradually combined more and more organ systems.



Fluorescent staining of a retinal organoid.

The most advanced product is a four-organ chip consisting of intestine, liver, kidney and a skin module. The tissue engineering company is planning to unveil a ten-organ chip in the near future.

A combination of organ chips and 3D cell cultures is also the focus for “Der Simulierte Mensch” (the simulated human), a research centre currently under construction in Berlin’s Wedding district. The new research building, due for completion in 2023, will be the centerpiece of a new joint Charité and TU Berlin biotechnology and medical technology campus. The new €34 million building is jointly funded by the federal and state governments. The centre was initiated by TU biotechnologists **Roland Lauster** and **Andreas Thiel** from the BIH Center for Regenerative Therapies and will enable life science researchers and engineers to work together under one roof to develop the next generation of human model systems – enabling research in fields such as personalized immunotherapy, for example.

Regenerative medicine – organoids as cell production platforms

The core concept in regenerative medicine is the use of cells to heal disease. Stem cells represent a potentially inexhaustible source of cells for replacing or restoring the function of injured or destroyed tissue. Stem cell-based tissue replacement therapies have proven to be extremely complex. The path leading from experimental use of stem cell products to extensive applications in medical practice is long and winding and takes many years.

But in regenerative medicine too, stem cell-derived organoids have a valuable role to play. Take pancreatic organoids for example. The two most significant pancreatic diseases are diabetes and pancreatic cancer. Diabetes results from the death of insulin-producing beta cells. That makes it a promising candidate for cell replacement therapy and has led to an intensive international research effort in this area. Is it possible to make use of natural regenerative processes within the pancreas? How can we culture high quality beta cells? Working with pancreatic organoids, these are the questions that developmental biologist **Anne Grapin-Botton** is grappling with at the Max Planck Institute for Molecular Cell Biology and Genetics in Dresden. **Meritxell Huch** is another researcher from Hans Clevers’ Utrecht talent factory to have found a home at the Max Planck Institute in Dresden. Her laboratory combines developmental biology approaches to the differentiation of liver and pancreatic organoids with the carcinogenesis of liver cancer and beta cell production in the pancreas.

Using organoids to blaze a trail for laboratory-grown replacement organs is the goal of the eISLET research project. A partnership between four research groups at the Helmholtz Zentrum München, the project is led by **Heiko Lickert** and **Matthias Meier**. The objective is to develop an organoid-based cell replacement therapy for diabetes. In spring 2020, the eISLET consortium was one of the winners in a BMBF pilot innovation competition aimed at promoting disruptive innova-

tions. Over the next three years, the researchers will be able to invest €1 million in projects aimed at producing alpha and beta cells from iPS cells. These cells are essential for the formation of fully functional pancreatic islets of Langerhans. The idea is to produce cell biologically and physiologically accurate islets of Langerhans which are functionally comparable with islets in vivo.

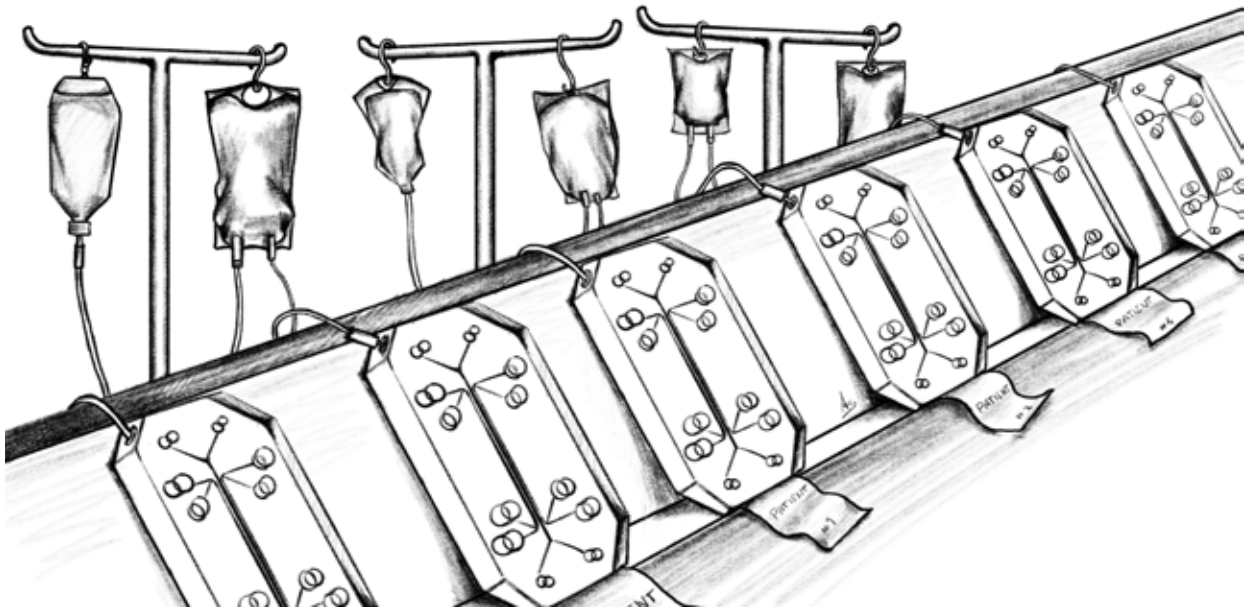
A number of cell replacement therapies for ophthalmic disorders are also currently undergoing clinical testing. Treating retinal disorders by transplanting photoreceptor cells is now becoming a realistic scenario. The availability of retinal organoids has played a key role in this development, and it is these organoids which are the area of expertise of Dresden-based stem cell researchers **Mike Karl** and **Marius Ader** at the Center for Regenerative Therapies (CRTD) at TU Dresden. 3D retinal cultures can be produced in the laboratory from human iPS cells and, under the right conditions, form large quantities of photoreceptor cells. “Organoids can act as a kind of production platform for human photoreceptors,” says Mike Karl. At the German Center for Neurodegenerative Diseases in Dresden and the CRTD, Karl and his team have been working to further advance and standardize this technology. An organoid culture can produce 300,000 photoreceptor cells, explains Karl. For patients with macular degeneration, Karl thinks that transplantation of just a few hundred thousand cones – the photoreceptors responsible for high-resolution color vision – might be sufficient to achieve a therapeutic effect.

Future scenarios – the next generation of organoids

Less than 15 years have passed since the first organoids were cultured in stem cell laboratories. As our journey of discovery through the German research scene makes clear, these 3D models, just a few millimetres in size, have already proven their huge potential for biomedical research. They are already enriching the medicine and life sciences toolbox on a number of health research fronts. More human-like than animal models, they could in future complement animal experiments.

“Fascinating as they are, we need to be clear that organoids are still strongly reductive models,” notes Würzburg infectious diseases researcher Sina Bartfeld. “They are significantly less complex than the corresponding organ.” Unlike organoids, real intestines (for example) do not consist of just the inner mucous membrane layer. They are also surrounded by connective tissue and muscle layers, and enmeshed in a network of nerves and blood vessels. A brain organoid is not the same as a complete brain.

Bioengineers are leveraging many different factors to construct the next generation of increasingly complex organoid models. The big challenge for 3D cell culture is replicating a functional vascular system. Microfluidic channel systems on biochips are becoming increasingly proficient in mimicking blood flow, while 3D printing technologies enable the production of ever more sophisticated support structures for organoid construction. Meanwhile, tissue engineering specialists



The organoid clinic. In the future, multi-organ chips as a proxy for a patient could help to identify the best combination of active ingredients for the individual therapy. Another vision for the future: clinical studies using organ chips.

are hard at work on bringing together blood vessel organoids and other organ systems. Elaborate co-cultures made up of multiple cell types are also breaking new ground.

Internationally, this kind of approach is being pioneered by **James Wells**. Working at Cincinnati Children’s Hospital Medical Center, the developmental biologist has succeeded in producing intestinal organoids with a rudimentary nervous system which have even been observed to make peristalsis-like movements. Organoid builders have also created intestine models with a functional immune system.

The need for ingredients such as nutrient media and the growth factors that organoids require to develop means that growing organoids in the laboratory is currently still a very expensive process. Innovation is called for in areas such as the gel-like 3D matrices in which stem cells are embedded to enable them to form organoids. As an alternative to the Matrigel which predominates at present, bioengineers are working to develop novel hydrogels with defined characteristics. The global organoid research community is also trying to improve networking, and to standardize and improve the consistency of laboratory protocols for generating these tiny 3D objects. This would make them even more useful as biomedical research and translational medicine tools.

Sina Bartfeld is enthusiastically involved in this process. Her team has recently produced organoids from stomach, small intestine and large intestine tissue to create a kind of ‘miniature gastrointestinal tract organ bank’. She is using these tiny surrogate organs to study how the layer of cells which lines the digestive tract responds to microorganisms and how it differentiates between benign and hostile residents. “Unraveling the complex interplay between immune cells, mucosal cells and microbes is extremely difficult,” notes Bartfeld. “Organoids help us to unlock the secrets of this hidden world.”

Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*

Sina Bartfeld, Stephan Clemens, Tobias Erb, Heiner Fangerau, Boris Fehse, Jürgen Hampel, Ferdinand Hucho, Martin Korte, Stefan Mundlos, Jens Reich, Silke Schicktanz, Jochen Taupitz, Jörn Walter, Eva Winkler and Martin Zenke

Core statements and recommendations for action on organoids

The core statements from the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report* are structured as follows: The first part comprises a summary of the current state of affairs, a prospective look at the significance of organoids for future research and health care, and an overview of the legal situation and ethical considerations. The second part explores derived recommendations for action for policymakers.

Core statements on organoid technology

Organoids derived from stem cells

Organoids are three-dimensional organ-like groups of cells in which different cell types have self-organized in a way that approximates the type of organization seen in the corresponding bodily organ. They have three characteristic features – self-organization, multicellularity and functionality. The range of organs on which research can be carried out using organoids is growing rapidly and includes the brain, gut, kidney, stomach, pancreas, lungs, liver, prostate, oesophagus, gallbladder and the female reproductive tract. In addition, research is also being carried out on embryo-like organoids (embryoids).

Organoids are created either from pluripotent stem cells or from tissue-specific adult stem cells. Adult stem cells are present in a very wide variety of tissues and are responsible for renewing the cells in these tissues. They are only able to produce those cell types that are present in the tissue from which they originate. Intestinal epithelial stem cells, for example, only produce intestinal epithelial cells (i.e. the epithelium and glandular tissue that lines interior and exterior body surfaces), and do not produce muscle or nerve cells. They are therefore multipotent. Pluripotent stem cells, by contrast, are able to give rise to every one of the more than 200 different cell types in the human body. Pluripotent stem cells are obtained either from human embryos (human embryonic stem cells or hES cells) or by ‘reprogramming’ somatic cells to produce human induced pluripotent stem cells (hiPS cells). These somatic cells can be obtained from healthy donors or from donors with disease.

Both types of stem cell, adult and pluripotent, can be used to grow organoids in vitro. In the case of adult stem cells, researchers attempt to mimic the natural environment in the tissue from which the stem cell is obtained. In the case of an intestinal epithelial stem cell, for example, researchers would add the same signaling molecules as would be present in the intestinal environment in vivo. The stem cell reacts to these signaling molecules by dividing and forming new intestinal epithelium, just as in the body. Because of its similarity to the actual in vivo organ, the structure created in culture using these techniques is called an ‘organoid’. The principle is similar for pluripotent stem cells, with researchers once again attempting to mimic the stem cell’s natural environment in a culture dish. However, because these stem cells can differentiate into a much wider range of cell types, researchers have to mimic a series of developmental steps in vitro. To achieve this, researchers make use of our knowledge of embryonic development. Defined signaling molecules are added in a series of sequential steps – the same signaling molecules which ensure that pluripotent stem cells follow a specific development pathway in the body. Just as stem cells in an early embryo develop into the gut wall only after passing through a number of previous developmental stages, it likewise takes several weeks for pluripotent stem cells to develop into intestinal stem cells, and to in turn give rise to an intestinal organoid.

Adult and pluripotent stem cells differ in the way they are used to produce organoids and each has its own advantages and disadvantages. At present, organoids produced from adult stem cells can only be produced from epithelial cells and remain purely epithelial in character. An adult intestinal epithelial stem cell, for example, will always produce intestinal epithelium, and will never produce connective tissue. This is not the case for organoids derived from pluripotent stem cells. They can also contain other cell types, are more complex and are more heterogeneous. Intestinal organoids produced using pluripotent stem cells, for example, do indeed contain connective tissue. This means that pluripotent stem cells can differentiate into organoids as diverse as intestinal organoids, brain organoids and embryoids. It is not currently possible to make brain organoids or embryoids using adult stem cells. The two techniques also differ in certain ethical and legal respects. Despite these differences, there is considerable overlap in terms of their application.

The role of organoids in biomedicine

Basic research and developmental biology

Organoids offer great promise for a number of life sciences fields. In the basic research field, they can provide insights into how organ formation is controlled in vivo, into cell differentiation and into how tissues and organs are able to persist as stable structures (homeostasis). This is especially useful in the case of tissues that are difficult or impossible to access in vivo, such as the brain. One major advantage of organoids over two-dimensional cell cultures is that they contain a wide range (ideally all) of the cell types that make up the organ in vivo. This means they can be used

to study complex processes such as interactions between cells. It also means they are better than two-dimensional cell cultures – and in some cases even than animal models – at modeling disease states. Take, for example, the case of pathogens which specifically infect humans and have no animal host. Already today, organoids represent a better model for studying such infectious diseases than animals.

Disease models

Due to their potential as disease models, hiPS cells have long been a beacon of hope for basic research and personalized medicine. The basic approach involves obtaining and multiplying cells from a patient with a specific illness, enabling researchers to research the specific pathology directly and to identify appropriate medicines for that specific patient. Thanks to organoids, this is already clinical reality. The use of organoids complements the use of pure iPS cells with two decisive developments: Firstly, organoids can now be used directly to multiply adult stem cells from any patient. Secondly, three-dimensional cultures allow the production of complex structures, allowing better modeling of disease. As a result, organoids also enable research into diseases with a genetic origin, human-specific infections, and infections where the pathology in animal models differs from that in humans, with the result that satisfactory system models have not been available to date. One potential clinical application is in companion diagnostics for personalized medicine. This involves testing the efficacy of a drug directly on organoids produced from the patient's own stem cells. In principle, this could be done using either adult or iPS cells. In practice, however, because adult stem cells are directly accessible, it is these which are actually being used in the clinical diagnostics. In the Netherlands, an organoid-based patient-specific therapy is already being employed in the treatment of cystic fibrosis, with the cost of these organoid-based diagnostic tests being reimbursed by health insurers. Organoids are also becoming more and more important in cancer research. Tumor organoids, for example, can be used to screen a wide range of substances in the search for new cancer drugs. In addition, patient-specific tumor organoids could in future enable clinicians to investigate the development of tumor resistance to specific cancer drugs. Clinical trials in this area are already showing a great deal of promise. The ability to use organoids as individual disease models enables organoids to make a valuable contribution to the field of personalized medicine.

Genetic engineering

Organoids can also be genetically modified. A variety of techniques are available (e.g. genome editing with CRISPR/Cas9) enabling the genetic modification of organoids. Genome editing refers to techniques in which large or small stretches of DNA (DNA: deoxyribonucleic acid) are selectively deleted from the genome or replaced by alternative DNA sequences. By way of this technique, a single genetically modified cell can be used to produce clonal organoids containing specific genetic changes in order, for example, to investigate the effect of a specific mutation or to correct a pa-

tient-specific mutation. This is a multi-stage process – stem cells are first genetically modified by way of genome editing, then multiplied in a cell culture, and induced to undergo differentiation into the target organoid in the next step. During differentiation into the organoid, the modified stem cell genome is passed on to the daughter cells.

Regenerative medicine and organoid transplantation

One future clinical application involves transplanting organoids or cells derived from them into humans, which is known as cell replacement therapy, stem cell therapy or regenerative medicine. This could involve either autologous transplants using cells donated by the target patient him or herself, or allogeneic transplants entailing cells donated by someone else. In this case, the role of organoid technology would be to produce the right type of cell in sufficient quantities for transplantation. By way of additional genetic engineering techniques, it might in future be possible to correct disease-causing mutations, enabling the production of healthy organoids for transplantation. Initial experiments involving animal models are already delivering promising results, but further studies on organoid functionality in vivo are needed.

Biobanks

Living biobanks have been set up for hiPS cells. This involves freezing donated hiPS cells and sorting them into groups with specific characteristics, such as just patients with disease x, all patients who have undergone operation y, or healthy donors. The cells can be thawed out as required and induced to multiply or differentiate into organoids. It is also now possible to freeze adult stem cells in organoid form. Organoid biobanks for a number of organs have already been set up at various sites around the world. There are, for example, biobanks for intestinal organoids, liver organoids, and kidney and urinary tract organoids. Each can contain organoids from several hundred patients. Depending on the scientific or medical issue a researcher is interested in, they can thaw out either specific groups of organoids or entire biobanks. These biobanks are particularly expedient for drug testing. The stored organoids can be used to screen for new drugs or to determine how effective a drug is in specific patient groups. They can also be deployed in toxicology testing.

Toxicology

Before a drug is tested on people, extensive testing needs to be carried out to ensure the drug is free of toxic effects, which entails animal models. A complementary or even alternative option could be to test candidate drugs on organoids taken from biobanks. The generally accepted approach involves testing a number of organoids in parallel, and focusing on organs that are commonly affected by drug toxicity (liver, kidney, intestine, etc.). Research on how organoid tests compare to animal experiments in predicting drug efficacy in patients is currently ongoing. Hopes are high that it will in future be possible to test drug toxicity and efficacy based on organoids, either supplementing the results from animal experiments or dispensing with the need for ani-

mal toxicity experiments completely. Organs-on-chips are another promising approach for drug testing. In future, this technique could enable multiple different organoids to be linked together on a chip to form a miniature ‘human-on-a-chip’.

Limitations of current organoid research

Although organoids bear a striking similarity to organs, especially compared to conventional cell cultures, as models, at present, they are still strongly reductive, and are far less complex than the corresponding organ. Real intestines, for example, do not consist solely of the inner mucous membrane layer (made up of epithelium), but are also surrounded by connective tissue and muscle layers, enmeshed in a network of nerves and blood vessels, and populated with microorganisms. While connective tissue is present in organoids grown from pluripotent stem cells, they still lack many other components of in vivo organs, as well as the local environment within the body, which also exerts an effect on organ function. One disadvantage – at present at least – is that it is not yet possible to replicate many of these interactions. Researchers are therefore working to produce more complex organoids, such as intestinal organoids with a functioning enteric nervous system. Producing organoids that more closely resemble in vivo human organs is just one of a number of research goals. One advantage of current, reductionist models is that they can be used to study specific aspects of an organ or organ function, or specific effects on specific cell types. Organoids therefore represent a major step forward in biomedicine and a major research advance.

Ethical aspects of organoid research – brain organoids, embryoids and human-animal chimeras

Organoid research raises numerous ethical issues, and these are the subject of intense debate. These are particularly relevant in areas such as embryo research, research involving hES cells, the creation of human-animal chimeras and research entailing donor material and data from biobanks. Organoids, particularly brain organoids and embryoids, also throw up a whole range of highly specific new issues. The global debate on the ethical issues raised by organoids is still in its infancy.

Existing brain organoids are still a long way from having the complexity of a human brain. There has, however, been repeated speculation about the possibility that future, more complex brain organoids or fused organoids from different brain areas (‘assembloids’) could develop awareness, how, if they did, could we measure this, and what ethical and legal protection they might be entitled to. If we assume that many higher animals also develop some form of consciousness, this would then apply to both human and animal-derived brain organoids. In humans, brain de-

velopment has a major bearing on the point at which in vitro and in vivo embryos are subject to ethical and legal protection, even at very early stages of development. This raises the question of whether brain organoids should be subject to similar protection and what degree of development would be required for a brain organoid to be afforded such protection. In addition, the issue of human brain organoids transplanted into living mammals (e.g. rats, mice and potentially larger mammals) for the purpose of studying how they interact with other tissues in vivo raises particular ethical questions. Such animals are known as human-animal chimeras. This raises questions not just about the legal significance of species boundaries, familiar from other areas of stem cell research, but also about whether this might make chimeras more intelligent or more capable of suffering, and what implications this might have. In addition, the creation of human-animal chimeras also needs to be viewed in the context of the cultural history of how we look at the distinction between humans and animals and areas where this distinction is blurred. This applies in particular to public education and media work.

The question as to how human life comes into being remains opaque for research to date. How does a single fertilized egg cell transform itself into something as complex as an embryo? For ethical, religious or cultural reasons, many countries prohibit or restrict research on human embryos in vitro. In recent years, murine and human pluripotent stem cells have been used to create complex, organized structures similar to very early stage embryos. Research on mouse stem cells is considerably more advanced than research on human stem cells. Within the foreseeable future, some researchers believe we will be able to create structures which are indistinguishable from an embryo. These are variously known as synthetic embryos, embryoids or blastoids, and are not to be confused with embryoid bodies, which are undifferentiated aggregates of pluripotent stem cells. Embryoid bodies are less complex and organized and can form a preliminary stage of embryoids. In view of their similarity to human embryos and in keeping with regulations on research involving human embryos in many countries, embryoids are not currently cultured for more than 14 days. How embryoids should be classified ontologically (like human embryos or something else altogether?), what they should be called and what their legal status should be remain unanswered questions.

To arrive at consensual political and legal solutions to these ethical questions, an interdisciplinary and broad public debate will be necessary.

The legal status of organoid research

Although there are no specific legal regulations on the production and use of organoids in Germany, they do fall within the scope of both constitutional and non-constitutional law. Given the origin of the material from which they are produced, organoids are likely to fall within the scope of the Stem Cell Act (*Stammzellgesetz*), which regulates the import and use of human embryonic

stem cells. In Germany the preparation of hES cells is prohibited by the Embryo Protection Act (*Embryonenschutzgesetz*). Under the Stem Cell Act, since 2002, it has been legal to carry out research on hES cell lines produced in another country and imported into Germany, but only in justified exceptional cases, under strict conditions and only for research purposes. There are growing calls for the Stem Cell Act to be fundamentally revised. The rules on cut-off dates and the laborious approval process have been much criticized. Both are also problematic under constitutional law. Furthermore, in the event that specific treatments involving the use of hES cells were to become available, the fact that the use of hES cell lines is limited to research purposes would become untenable, since it would mean specifically preventing patients in Germany from accessing such treatments.

The legal status of embryoids in particular depends on whether or not they are classified as human beings with a developmental capacity similar to that of human embryos. In this case they might be considered to be in possession of human dignity and deserving of the protection afforded to human life. Whether they are covered by the Embryo Protection Act as it stands is entirely unclear. Legal policymakers certainly need to consider whether such emphatic legal protection is justified given that the way they are produced differs from a natural embryo, with no fertilization involved, that they come into being in a context entirely unrelated to reproduction, and potentially also in view of the fact that they are produced with the intention of terminating their development at a very early stage. The question of whether future, highly developed brain organoids should be subject to the same rules as embryos also remains a matter of debate in legal policymaking circles.

Human-animal chimeras largely fall through the regulatory cracks. Section 7 of the Embryo Protection Act prohibits their creation only in the event that they contain material from human embryos, or that a human embryo capable of differentiation is produced by fertilising a human egg cell with animal semen or by fertilising an animal egg cell with human semen. Transferring a human embryo produced as above to a woman or animal and transferring a human embryo to an animal are also prohibited. The corpus of German law does not contain any other regulations specifically relating to human-animal chimeras; the animal protection law regulates animal experimentation only generally. There are a number of potential applications involving the production of human-animal organoids or even complete hybrid organisms (e.g. by implanting human organoids into animals or by implanting animal organoids into humans), and these have elicited calls for further regulation. A key demand is that any such research should have to be evaluated by an ethics committee which specializes in these particular issues. It cannot be assumed that the bodies responsible for approving animal experiments and the ethics committees which support them possess sufficient expertise to evaluate issues specific to human-animal chimeras.

With regard to the German *Persönlichkeitsrechte* (the right to live as one pleases, protected under the German Basic Law), and the highly sensitive nature of health and genetic data, the use

of organoids derived from cells and tissues from healthy people or people with specific diseases present a variety of data protection challenges. In the context of providing medical treatment (e.g. involving the diagnostic or therapeutic use of organoids), the legal basis for processing sensitive personal, health and genetic data is clearly determinable, since such treatment is generally carried out in the context of a contract for treatment. There are, however, a range of legal principles which could apply when using such patient data for research purposes. This applies also to how products of research are treated subsequently, for example in the context of storage in an organoid biobank. This pits academic freedom against *allgemeine Persönlichkeitsrechte* (the general right to live as one pleases) and the basic rights granted under European data protection legislation. These rights are protected under both German constitutional and European Union law. Data protection requires informed consent, with the consequence that research projects must be carefully scoped. Academic freedom, by contrast, requires wide-ranging, straightforward access to data and materials, even for quite vaguely formulated research projects. Both of these rights and freedoms enjoy legal protection and have to be carefully weighed against each other. Striking the right balance between these two conflicting interests would be made easier if the relevant data protection supervisory authorities were to issue some guidance. This would provide researchers with greater legal clarity. In view of the wide range of applicable legislation, such guidance would make an important contribution to determining which legislation applies and providing greater legal clarity.

Recommendations for action on the use of organoids

Recommendations for research funding

- Organoids are still a relatively new technology. As our understanding of this technology grows, new biotechnology, biomedical and clinical applications are likely to arise. There should therefore be targeted funding for research using organoids as disease models or biotechnological test systems (including organs-on-chips).
- Establish research networks: With any new technology, a variety of approaches will be tried. To establish common standards Germany-wide and facilitate significant synergies, there should be targeted funding for research networks that are working to establish, validate and standardize organoids as disease models and biological test systems.
- Drug research: One area in which organoids and organoid biobanks promise major benefits is drug research. Organoids are expected to make excellent models for preclinical efficacy and toxicity testing. This would involve testing new drugs on organoids corresponding to organs which play a major role in drug metabolism – such as the intestines, liver and kidneys – prior to performing human trials. These tests might also dispense with the need for some or all of the

animal experiments currently performed for this purpose. Organoids from biobanks could also be used to screen existing libraries of drug candidates to identify new drugs or subgroups of patients who respond to treatment. This would enable drugs to be targeted more precisely at those who would benefit from them. Better disease models are also useful in pharmaceutical research, where they can help in areas such as understanding and optimising drug mechanisms of action. There should therefore be targeted funding for pharmaceutical basic research and partnerships between research institutes and the pharmaceutical industry.

- Translation into clinical applications: Organoids hold huge potential in the field of personalized medicine. Following its successful use in the Netherlands, organoid-based personalized medicine should be made available to all cystic fibrosis patients in Germany as soon as possible. There should be targeted funding for translational medical research and for clinical trials involving other organoid-based personalized therapies, for example in oncology. Basic research should be carried out to explore the potential offered by transplantation of organoids or of tissues derived from them. The three-dimensional matrix required to culture organoids is not currently produced in accordance with good manufacturing practice (GMP). Since this is a requirement for use in humans, this means it is not currently possible to transplant organoid materials into humans. There should therefore be targeted funding for developing alternative matrices that can be produced in accordance with GMP.
- Genome editing: There should be thoroughgoing, long-term research into the use of genome editing in organoids. This technique offers the possibility of patient-specific therapies and drug development (personalized medicine) for currently untreatable diseases. Detailed research into the safety and risks of potential genome editing applications should be carried out. This is essential for properly evaluating the opportunities and risks involved in translation into clinical applications.
- Interdisciplinary research: In view of the fact that the development and use of organoids involves innovations that present far-reaching social, ethical and legal questions and will continue to raise further such questions in future, there should be targeted funding for interdisciplinary research projects examining these questions. There are hardly any ELSA research projects on organoids underway in Germany at present. In view of the large number of unanswered questions relating to the conceptual, ontological, ethical, legal and social implications of organoid research and organoid applications, researchers from the humanities and social sciences should make a significant contribution to this research.

Ethical and legal recommendations:

- Research involving hES cells: There is no prospect that organoid research using hiPS and adult stem cells will be able to take the place of research based on hES cells in the foreseeable future. In the current research environment, being able to access hES cell lines is essential for stem cell researchers in Germany. The restrictions on academic freedom and on research involving hES cells imposed by the Stem Cell Act are ethically controversial and not justified under constitutional law. We therefore strongly recommend that the cut-off date set by the Stem Cell Act should be abolished, or at least that a floating cut-off date should be introduced. To enable German patients to benefit from medical organoid applications developed in Germany, the import and use of hES cells needs to be permitted for diagnostic, preventive and therapeutic purposes, not just research purposes.
- Research on foetal tissue: Verifying and improving organoid models of the in vivo environment using organoids derived from adult and from pluripotent stem cells requires detailed comparative studies using both adult and foetal tissue. Such studies are dependent on access to foetal tissue that would otherwise be discarded. In Germany, the legal situation with respect to the use of foetal tissue and foetal cells for research purposes is unclear. No pregnancy should be terminated for the purpose of enabling cells and tissues from the aborted foetus to be used for research. Researchers should also have to obtain the pregnant woman's informed consent for the planned research project. Researchers are also expected to treat foetal tissue responsibly.
- Embryoids: Human embryonic development is a key area of biomedical research. Embryoids offer the ability to use stem cells to replicate embryonic developmental processes in vitro, greatly facilitating research in this area. Currently, a number of important ethical and legal questions on the use of embryoids remain unanswered. A clear legal framework for embryoid research needs to be created, and there needs to be a review of existing legislation on research involving human embryos. There is an urgent need to review the strict prohibition on research involving human embryos, for example. Such research should be permitted within certain limits in Germany, and at the very least – with the informed consent of the biological parents – with embryos that were created for reproductive purposes but will no longer be used for this purpose and would otherwise be discarded. Consideration should also be given to the potential future use of embryoids in a reproductive context. For the wellbeing of the people who might be born as a result, this needs to be explicitly prohibited.
- Brain organoids: With brain organoids, the question arises of whether they might in future be able to develop consciousness. From a theoretical perspective, it remains unclear what specific properties are intrinsic to the concept of consciousness (e.g. self-awareness, the capacity to feel/suffer, thought), nor is it clear how they can be measured in practice. A joint endeavour involving neuroscientists, developmental biologists and neuro-philosophers is needed to

clarify and demarcate terms and concepts relating to potential mental or cognitive properties of brain organoids. This debate needs to be based on a realistic assessment of what may be possible in future based on the current state of research. These insights should then be applied in clarifying whether and to what extent human and animal brain organoids and potentially animals into which they are transplanted should enjoy ethical and legal protection. The international scientific debate around organoids tends to focus on this specific point, but it is important that other ethical questions are not neglected. These include, for example, the potential of organoids to reduce the need for animal experiments, donor and patient education and consent for research, and the ontological, moral and legal status of the cells used to create organoids. This raises the question of whether the legal status of brain organoids should be adjusted to match that of human embryos, given that early stages of brain development serve as a cut-off point for the protected status of the latter.

- Information and consent for research: In view of the dynamic nature of organoid research projects, as well as the deployment of new technologies and the need for research data in biobanks to be widely availability and networkable, obtaining informed consent is not always feasible. The use of broad or dynamic consent would be one alternative. It is important to ensure that ethical standards are observed, and in particular that the fundamental right to privacy, and the right of patients and donors to decide how their data and samples should be used are maintained. Additional measures to improve transparency and data security, and build trust are therefore advised. Examples include clarifying data processing methods, protective measures to reduce data processing risks (e.g. technical and organizational limitations on access to data), setting up a website to inform study participants about specific research projects and providing them with the opportunity to object to the use of their data and materials. Consent should be sought in particular for highly sensitive areas of research. These include, for example, research involving hES cells, foetal cells and tissues, embryos, embryoids and brain organoids. With this in mind, efforts should be made to ensure that donors and patients are able to determine how their data and biomaterials are used to the maximum possible extent consistent with academic freedom.
- Less reliance on animal experiments: As disease models and for toxicology screening, organoids have the potential to complement animal experiments carried out in the context of basic research and by the pharmaceutical industry. Against the backdrop of the internationally recognized principle of the 3Rs ('replacement, refinement, reduction') and its implementation by EU directive 2010/63/EU on the protection of animals used for experiments and other scientific purposes, developing, validating and then using alternative methods is a high priority. Achieving this would, however, require changes to consumer protection legislation relating to tolerance and toxicology.

Recommendation on educating and involving the public:

- **Science communication:** Stem cell research offers huge potential and hopes are high that it will deliver major advances. In recent decades it has become clear that it is important to communicate research results and treatment options comprehensibly, clear-sightedly and realistically. The various entities involved in communicating this information – scientific institutions, individual researchers, businesses and professional associations – should make appropriate efforts to communicate their work to the wider public. The highest standards should be applied to communication about stem cells and organoids produced from stem cells, in keeping, for example, with the 2016 guidelines of the International Society for Stem Cell Research. To avoid creating unrealistic public expectations of the impending availability of stem cell-based treatments, communication should always be clear about the limits of and problems involved in research and development. Researchers and scientific institutions should also give consideration to a code of ethics for the proper communication of research results.
- **Potential unproven therapies involving organoids or cells obtained from organoids:** Around the world, patients are being offered a wide range of unproven stem cell-based treatments the safety and efficacy of which has not been verified in clinical trials. These represent a danger to patient health and damage the reputation of stem cell research. Steps need to be taken to ensure that organoids too do not become the subject of premature, scientifically unjustified uses without being properly licensed. The conditions that need to be met to obtain marketing authorization for drugs and other treatments should be reviewed and updated to establish appropriate criteria for and impose suitable limits on such treatments. International standards for regulating clinical applications should be developed and implemented.
- **Initiating a broad public debate:** The ethical and legal debate revolving around organoids is in its infancy. It is therefore important to initiate a broad, timely public discussion, in which the various interested parties and the general public are equally involved. National institutions can contribute to this debate, as can the provision of funding for research projects that look in detail at the ethical, legal, social and economic background to organoid research. It is important to ensure that public debate and media reporting is not colored by exaggerated accounts of future cures, but remains an objective, fact-based debate on the possibilities offered by and limitations of organoid research.

Members of the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*

Prof Dr Boris Fehse (Spokesperson of the IAG)

University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Clinic for Stem Cell Transplantation

Prof Dr Ferdinand Hucho* (Deputy Spokesperson of the IAG)

Free University of Berlin, Institute of Chemistry and Biochemistry

Dr Sina Bartfeld

University of Würzburg, Institute for Molecular Infection Biology (IMIB)

Prof Dr Stephan Clemens

University of Bayreuth, Department of Plant Physiology

Prof Dr Tobias Erb**

Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology, Marburg

Prof Dr Dr h c Heiner Fangerau

University of Düsseldorf, Department of the History, Philosophy and Ethics of Medicine

Dr Jürgen Hampel

University of Stuttgart, Institute of Social Sciences

Prof Dr Martin Korte*

Technical University of Braunschweig, Institute of Cellular Neurobiology

Prof Dr Stefan Mundlos

Charité Berlin, Institute of Medical Genetics and Human Genetics

Prof Dr Jens Reich*

Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin

Prof Dr Silke Schicktanz

Göttingen University Medical Center, Department of Medical Ethics and History of Medicine

Prof Dr Jochen Taupitz

University of Mannheim, School of Law and Economics

Prof Dr Jörn Walter

Saarland University, Institute of Biosciences

Prof Dr Dr Eva Winkler

Heidelberg University Hospital, Medical Faculty

Prof Dr Martin Zenke

University Hospital Aachen, Institute for Biomedical Engineering

* Member of the Berlin-Brandenburg Academy of Sciences and Humanities

** Member of Die Junge Akademie

Publikationen der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*
Publications of the Interdisciplinary Research Group *Gene Technology Report*

Bücher/Books:

- Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2018): **Vierter Gentechnologiebericht**. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden. Unter: https://www.nomos-elibrary.de/10.5771/9783845293790.pdf?download_full_pdf=1 [05.11.2020].
- Zenke, M. et al. (Hrsg.) (2018): **Stammzellforschung**. Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Nomos, Baden-Baden. Unter: <https://www.nomos-elibrary.de/10.5771/9783845287720.pdf> [05.11.2020].
- Walter, J./Hümpel, A. (Hrsg.) (2017): **Epigenetik**. Implikationen für die Lebens- und Geisteswissenschaften. Nomos, Baden-Baden.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2015): **Dritter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie. Nomos, Baden-Baden.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2013): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle wissenschaftliche, wirtschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. 3. neubearb. u. erg. Aufl. Forum W, Limburg.
- Köchy, K./Hümpel, A. (Hrsg.) (2012): **Synthetische Biologie**. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Forum W, Dornburg.
- Fehse, B./Domasch, S. (Hrsg.) (2011): **Gentherapie in Deutschland**. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. 2. akt. u. erw. Aufl. Forum W, Dornburg.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2009): **Zweiter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Forum W, Dornburg.
- Engelhard, M. et al. (2009): **Genetic Engineering in Livestock**. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Schmidtke, J. et al. (Hrsg.) (2007): **Gendiagnostik in Deutschland**. Status quo und Problemerkundung. Supplement zum Gentechnologiebericht. Forum W, Limburg.
- Müller-Röber, B. et al. (Hrsg.) (2007): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle Entwicklungen in Wissenschaft und Wirtschaft. Spektrum, München.
- Wobus, A. M. et al. (Hrsg.) (2006): **Stammzellforschung und Zelltherapie**. Stand des Wissens und der Rahmenbedingungen in Deutschland. Supplement zum Gentechnologiebericht. Spektrum, München.
- Hucho, F. et al. (Hrsg.) (2005): **Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Spektrum, München.
- Hucho, F./Köchy, K. (2003): **Materialien für einen Gentechnologiebericht**. Grundlagenforschung, Medizinische Anwendung, ökonomische Bedeutung. Spektrum, Heidelberg.
- Köchy, K. et al. (Hrsg.) (2002): **Gentechnologie als Wirtschaftsfaktor**. Spektrum, Heidelberg, Berlin.

Broschüren/Booklets:

- Walter, J./Schickl, H. (2019): **Einzelzellanalyse in Forschung und Medizin**. Eine Stellungnahme der interdisziplinären Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*. BBAW, Berlin.
- IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2018): **Vierter Gentechnologiebericht**. Bilanzierung einer Hochtechnologie. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2018): **Stammzellforschung**. Aktuelle wissenschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2017): **Epigenetik**. Implikationen für die Lebens- und Geisteswissenschaften. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2015): **Dritter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Reich, J. et al. (Hrsg.) (2015): **Genomchirurgie beim Menschen**. Zur verantwortlichen Bewertung einer neuen Technologie. Analyse der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2013): **Grüne Gentechnologie**. Aktuelle wissenschaftliche, wirtschaftliche und gesellschaftliche Entwicklungen. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2012): **Synthetische Biologie**. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2011): **Gentherapie in Deutschland**. Eine interdisziplinäre Bestandsaufnahme. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2009): **Zweiter Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Beier, H. et al. (2009): **Neue Wege der Stammzellforschung**. Reprogrammierung von differenzierten Körperzellen. Hg v. Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin. Unter: https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user_upload/Webseitendateien/Themen/Statement_Neue_Wege_der_Stammzellforschung.pdf [05.11.2020].

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2007): **Gendiagnostik in Deutschland**. Status quo und Problemerkundung. Zusammenfassung. BBAW, Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2005): **Gentechnologiebericht**. Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland. Kurzfassung. BBAW, Berlin.

Sonstige Publikationen/Other Publications:

Fehse, B. et al. (2018): **Debatte 19 – Die Gentechnologie in der Gesellschaft**: Von großen Versprechungen, hohen Erwartungen und Missverständnissen. Streitgespräche in den Wissenschaftlichen Sitzungen der Versammlung der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften am 01. Dezember 2017. Hg. v. Grötschel, M., Berlin. Unter: <https://edoc.bbaw.de/frontdoor/index/index/docId/2926> [05.11.2020].

Zenke, M. (Hrsg.) (2017): **Special Issue: Stem cells**. From biomedical research towards clinical applications. In: Journal of Molecular Medicine 95(7). Unter: <https://link.springer.com/journal/109/95/7/page/1> [05.11.2020].

Ropers, H. H. et al. (2013): **Stellungnahme zu den neuen Sequenzierungstechniken und ihren Konsequenzen für die genetische Krankenversorgung**. Hg. v. Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin. Unter: https://www.gentechnologiebericht.de/fileadmin/user_upload/Webseitendateien/Dokumente/Stellungnahmen-Gendiagnostik-1.pdf [05.11.2020].

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2003): **Positionen der philosophischen Ethik zur Frage des Klonens**. Infoblatt. Berlin.

IAG Gentechnologiebericht (Hrsg.) (2002): **Datenbanken zur Molekularbiologie und Genetik**. Infoblatt. Berlin.