



PPS-eindrapportage

Algemene gegevens	
PPS-nummer	AF-12156
Titel	Productie van groene grondstoffen door suikerbiet
Roadmap/Koepel	AgriFood 1, valorisatie van reststromen; 2, hogere toegevoegde waarde; en 11, internationaal leiderschap
Uitvoerende kennisinstelling(en)	Wageningen Plant Research, business unit Bioscience
Projectleider onderzoek (naam en emailadres)	Dr. Ingrid van der Meer Ingrid.vandermeer@wur.nl
Penvoerder PPS (namens private partij)	Dr. Ad de Laat Royal Cosun
Contactpersoon overheid	
Werkelijke startdatum	Begin 2013
Werkelijke einddatum	Eind 2015
Korte omschrijving inhoud (bij voorkeur 4 regels, max. half A4)	Het project richtte zich op het maken van een prototype chemiegrondstoffenbiet, en het ontwerpen van een bijbehorend bioraffinage-protocol dat past in de bestaande suikerbietprocessing.

Goedkeuring penvoerder / consortium

De eindrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van evt. opmerkingen over de rapportage.

De penvoerder heeft namens het consortium de eindrapportage	<input type="checkbox"/> goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd
Evt. opmerkingen over de eindrapportage:	

Mutaties ten opzicht van het oorspronkelijke projectplan en follow-up

Zijn er wijzigingen geweest in het consortium / de projectpartners? Zo ja, benoem deze.	Nee
Zijn er inhoudelijke wijzigingen geweest in het project?	Er werden in tweede instantie weefsel-specifieke promotoren gebruikt om de genexpressie te sturen om tegen te gaan dat de eerder gebruikte promotoren al tijdens het weefselkweekstadium tot expressie kwamen.
Is er sprake van knelpunten bij de uitvoering van het project?	De eerste set transgene suikerbietplanten had heel weinig expressoren dan normaal wordt verkregen. De transformanten die opgekweekt konden worden, vertoonden een heel lage itaconzuurophoping. Er lijkt tijdens weefselkweekfase een selectie te zijn tegen hoge expressoren. Daarom werd een nieuwe strategie uitgetest waarbij constructen met weefsel-specifieke promotoren werden ontwikkeld en gebruikt voor transformatie. De transformatie van suikerbiet met deze nieuwe constructen werd door SES-vanderHave uitgevoerd en de transgenen lijnen worden nu (2017) opgekweekt en kunnen dit jaar geanalyseerd worden. Het knelpunt was dat tijdens de 'naakte DNA' transformatie van suikerbiet en de opkweek van transgene plantjes uit de

	<p>suikerbiet huidmondprotoplasten er een selectie tegen hoge expressoren lijkt te bestaan. Het geïntroduceerde genconstruct kan tijdens de weefselkweekfase tot expressie komen en mogelijk is de itaconzuurproductie in deze fase lethaal voor de protoplasten en het callus. Om dit te voorkomen werden nieuwe genconstructen gemaakt waarbij het itaconzuurgen onder de regulatie staat van weefsel specifieke promotoren. Deze promotoren staan niet aan tijdens de weefselkweekfase waardoor er geen itaconzuur wordt geproduceerd in protoplasten en callus.</p> <p>Het onderzoek voor het opzetten van een bioraffinage-protocol is goed gegaan, alleen kon er nog niet met de transgene bieten gewerkt worden.</p>
Is er sprake van afwijkingen van het ingezette budget/de begroting?	Na drie jaar is er door de coördinator (Cosun) een 'no go' gegeven voor het TKI project, waarna het andere bedrijf (SES-vanderHave) zelf met het eigen onderzoek door is gegaan. Voor DLO stopte begin 2016 het project.
Is er sprake van een octrooi-aanvraag (evt. first filing) vanuit deze PPS?	Nee
Is er sprake van spin-offs (contract-onderzoek dat voortkomt uit dit project, aanvullende subsidies die zijn verkregen of spin-off bedrijvigheid)	Nee

Resultaten en deliverables	
1. Welke deliverables zijn opgeleverd? (geef een korte beschrijving per deliverable uit het projectplan)	
2. Indien bepaalde deliverables niet gehaald zijn, wat was daarvoor de reden?	Nog geen transgene suikerbieten die een hoog percentage itaconzuur produceren. Er leek tegen een hoge productie geselecteerd te worden tijdens de weefselkweekfase. Daarvoor werden nieuwe constructen ontworpen en gebruikt voor transformatie.
3. Heeft het project onverwachte (neven)uitkomsten opgeleverd, die vooraf niet waren voorzien? Zo ja, benoem deze.	Nee
4a. Binnen hoeveel jaar zullen de private partijen resultaten uit dit project gaan gebruiken in de praktijk?	Alleen als de nieuwe set transformanten wel veel itaconzuur blijken te produceren, mogelijk binnen 5-10 jaar
4b. Kan het gebruik van de resultaten in de praktijk nog worden versneld, en zo ja, wat is daarvoor nodig?	Nee
4c. Op welke wijze is over het project en de resultaten gecommuniceerd naar de brede doelgroep (incl. niet-deelnemende bedrijven)?	Er is veel gecommuniceerd over de resultaten die eerder behaald waren in aardappel, maar niet over het suikerbietwerk.
5. In hoeverre heeft het project bijgedragen aan de ontwikkeling van de betrokken kennisinstelling(en)? (bijv. wetenschappelijk track record, nieuwe technologie, nieuwe samenwerkingen)	Het project heeft voor DLO geleid tot meer kennis over het (verhogen van) productie van itaconzuur in planten, tot het dissemineren van dit onderzoek op wetenschappelijke congressen, tot een publicatie (in preparation) ,en het onderwerp wordt gebruikt in een college cyclus voor master studenten.
6. Krijgt het project een vervolg	Niet op het gebied van suikerbiet en itaconzuur. Wel werd er

in de vorm van een nieuw project of een nieuwe samenwerking? Zo ja, geef een toelichting.	een nieuw TKI projectvoorstel ingediend met deze partners op gebied van productie van isopreenpolymeren (natuurrubber).
---	---

Highlights: geef een korte beschrijving van de belangrijkste resultaten

Het doel van dit PPS was het opzetten van een productieketen voor groene grondstoffen waarbij de innovatie is gericht op het grootste NL raffinagegewas, suikerbiet. Suikerbiet heeft een zeer hoge productie (25 ton DM/ha) en een zeer hoge biomassa zuiverheid. De NL suikerbietprocessing (Cosun) behoort tot de modernste van Europa en heeft een sterke biobased ambitie. Deze eigenschappen vormen een excellente uitgangspositie voor het inrichten van biobased productieketens die grondstoffen leveren voor de chemie. In dit PPS worden drie sectoren verbonden: Agro, Chemie en Industriële Biotechnologie.

Belangrijkste resultaten:

- Verschillende extractiemethoden voor itaconzuur uit bietenpulp zijn opgezet en uitgetest. Eén daarvan geeft een zeer goede opbrengst met hoge zuiverheid van het itaconzuur
- Biochemische analyse van itaconzuur geproduceerd door de transgene suikerbietwortels toonde aan dat de transgene planten die uit de transformatie kwamen een zeer lage itaconzuurproductie hebben; er lijkt misschien een negatieve selectie te ontstaan tijdens de transformatieprocedure tegen hoge expressoren.
- Er werd een transiente transformatiemethode opgezet voor suikerbiet waarmee de activiteit van genen binnen een dag geanalyseerd kan worden
- Transiente expressie van het itaconzuurgen in suikerbietblad toonde aan dat itaconzuur wel geproduceerd kan worden in suikerbiet, wat aangeeft dat er geselecteerd lijkt te worden bij stabiele transformatie tegen transformanten die het gen hoog tot expressie brengen tijdens de weefselkweekfase.
- Nieuwe genconstructen werden gemaakt waarbij expressie van het itaconzuurgen gedreven wordt door weefsel-specifieke promotoren in plaats van een constitutieve promoter.
- De genconstructen werden gebruikt door SESvanderHave voor stabiele transformatie van suikerbiet en transgenen lijnen zullen geanalyseerd worden in 2017
- Nieuwe moleculaire aanpassingen voor grotere accumulatie van itaconzuur zijn uitgetest in aardappel als modelgewas.

Aantal opgeleverde producten in 2015 (geef in een bijlage de titels en/of omschrijving van de producten of een link naar de producten op openbare websites)

Wetenschappelijke artikelen	Rapporten	Artikelen in vakbladen	Inleidingen/ workshops
- publicatie in voorbereiding	-	-	- invited lecturer voor Biobased master student course WU - Invited speaker voor Eco-Bio congress - Spreker RBB-12 congres Gent

Bijlage: Titels van de producten of een link naar de producten op een openbare website

Website: www.wur.nl/nl/show/Productie-van-bouwstenen-voor-de-chemische-industrie-in-planten.htm