

**LGL**

## 7. Fachtagung Gentechnik

„Synthetische Biologie“

in Oberschleißheim, am  
8. November 2017

Band 10 der Schriftenreihe Gentechnik  
für Umwelt und Verbraucherschutz

Wir danken dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz (StMUV) für die finanzielle Unterstützung der 7. Fachtagung Gentechnik. Für eine bessere Lesbarkeit haben wir bei manchen Personenbezeichnungen auf ein Ausschreiben der weiblichen Form verzichtet. Selbstverständlich sind in diesen Fällen Frauen und Männer gleichermaßen gemeint.

**Herausgeber:** Bayerisches Landesamt für  
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)  
Eggenreuther Weg 43, 91058 Erlangen

**Telefon:** 09131 6808-0  
**Telefax:** 09131 6808-2102  
**E-Mail:** [poststelle@lgl.bayern.de](mailto:poststelle@lgl.bayern.de)  
**Internet:** [www.lgl.bayern.de](http://www.lgl.bayern.de)

**Druck:** Kaiser Medien GmbH, Nürnberg  
**Bildnachweis:** Bayerisches Landesamt für  
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit  
Titel: Fotolia.com © meletver - stock.adobe.com

**Stand:** September 2018  
**Autoren:** Die Manuskripte sind namentlich gekennzeichnet.  
Die Autoren sind für den Inhalt ihrer Manuskripte  
sowie die rechtmäßige Verwendung der Bilddateien selbst  
verantwortlich. Der Inhalt der Manuskripte stellt nicht  
unbedingt die Meinung des Herausgebers dar.

Bei fachlichen Fragen wenden Sie sich bitte an:

Dr. Nina Köhler

Telefon: 09131 6808-5498

E-Mail: [nina.koehler@lgl.bayern.de](mailto:nina.koehler@lgl.bayern.de)

PD Dr. Armin Baiker

Telefon: 09131 6808-5291

E-Mail: [armin.baiker@lgl.bayern.de](mailto:armin.baiker@lgl.bayern.de)

Dr. Ulrich Busch

Telefon: 09131 6808-5234

E-Mail: [ulrich.busch@lgl.bayern.de](mailto:ulrich.busch@lgl.bayern.de)

© Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit  
alle Rechte vorbehalten

Gedruckt auf Papier aus 100 % Altpapier

ISSN 1866-7767

Druckausgabe

ISSN 1866-7775

Internetausgabe

ISBN 978-3-96151-034-4

Druckausgabe

ISBN 978-3-96151-035-1

Internetausgabe

Diese Druckschrift wird kostenlos im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit der Bayerischen Staatsregierung herausgegeben. Sie darf weder von den Parteien noch von Wahlwerbern oder Wahlhelfern im Zeitraum von fünf Monaten vor einer Wahl zum Zweck der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für Landtags-, Bundestags-, Kommunal- und Europawahlen. Missbräuchlich ist während dieser Zeit insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken und Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist gleichfalls die Weitergabe an Dritte zum Zweck der Wahlwerbung. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die Druckschrift nicht in einer Weise verwendet werden, die als Parteinahme der Staatsregierung zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte. Den Parteien ist es gestattet, die Druckschrift zur Unterrichtung ihrer eigenen Mitglieder zu verwenden. Bei publizistischer Verwertung – auch von Teilen – wird um Angabe der Quelle und Übersendung eines Belegexemplars gebeten. Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte sind vorbehalten. Die Broschüre wird kostenlos abgegeben, jede entgeltliche Weitergabe ist untersagt. Diese Broschüre wurde mit großer Sorgfalt zusammengestellt. Eine Gewähr für die Richtigkeit und Vollständigkeit kann dennoch nicht übernommen werden. Für die Inhalte fremder Internetangebote sind wir nicht verantwortlich.



BAYERN | DIREKT ist Ihr direkter Draht zur Bayerischen Staatsregierung. Unter Telefon 089 122220 oder per E-Mail unter [direkt@bayern.de](mailto:direkt@bayern.de) erhalten Sie Informationsmaterial und Broschüren, Auskunft zu aktuellen Themen und Internetquellen sowie Hinweise zu Behörden, zuständigen Stellen und Ansprechpartnern bei der Bayerischen Staatsregierung.

## Inhaltsverzeichnis

Vorwort .....	4
1. Synthetische Biologie – Herausforderungen für die Wissenschaft und Gesellschaft .....	6
2. Vom Genom über das Proteom zur Synthetischen Biologie .....	18
3. Von der Entschlüsselung der Designprinzipien des Lebens zum Design von synthetischen biomolekularen Systemen .....	31
4. Perspektiven der Synthetischen Biologie für die Gewinnung neuartiger biomolekularer Werkzeuge und Wirkstoffe.....	45
5. Bioethische Aspekte der Synthetischen Biologie .....	53
6. Synthetische Biologie und Genome Editing – Perspektiven parlamentarischer Technikfolgenabschätzung auf Potenziale und Herausforderungen neuer Gentechnologien .....	72
7. Synthetische Biologie – (k)eine neue Wissenschaft? .....	85
8. Untersuchung eines Do-it-yourself Gentechnik-Baukastens aus den USA .....	95

## Vorwort

Sehr geehrte Leserinnen und Leser,

das Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) veranstaltete am 08. November 2017 die 7. Fachtagung Gentechnik. Der Schwerpunkt der gut besuchten Tagung lag dabei auf dem Thema der Synthetischen Biologie. Zahlreiche Dozenten aus Behörden, Universitäten und Forschungseinrichtungen referierten zu verschiedenen Aspekten dieses Themas. Die Veranstaltung richtete sich insbesondere an Fachpersonal aus Wissenschaft, Behörden und der Praxis.



Es war uns eine besondere Ehre, für den ersten Vortrag Herrn Prof. Dr. Hacker, Präsident der Leopoldina (Nationale Akademie der Wissenschaften), zu dem Thema „Synthetische Biologie – Herausforderungen für Wissenschaft und Gesellschaft“ begrüßen zu dürfen. Prof. Hacker ging in seinem Vortrag näher auf die Chancen und auf eventuelle Gefahren der Synthetischen Biologie ein.

Der nachfolgende Themenblock der Fachtagung beinhaltete Vorträge über die Entwicklung von „-omics“ Technologien bis zur Synthetischen Biologie sowie über den Schritt von der Entschlüsselung des Lebens zum Design synthetischer, biomolekularer Systeme. Anschließend wurden konkrete medizinische Anwendungsbeispiele der Synthetischen Biologie im Bereich des Proteinengineerings vorgestellt.

Im nächsten Themenblock wurde auf die Frage eingegangen, ob Leben konstruierbar sei. Diese Frage wurde zunächst anhand eines Bottom-up Ansatzes der Synthetischen Biologie erörtert, wobei die Konstruierbarkeit einer Protozelle und die Möglichkeit zur Erschaffung eines neuen lebenden Systems diskutiert wurde. Anschließend wurde näher auf bioethische Aspekte der Synthetischen Biologie eingegangen.

Der letzte Themenblock beschäftigte sich mit der Fragestellung, ob es sich bei der Synthetischen Biologie um eine neue Technologie handelt oder ob sie lediglich einen neuen Forschungsansatz darstellt, der „klassische“ Methoden der Molekularbiologie neu verwendet und ingenieurswissenschaftliche Elemente aufzeigt. Mit der „Do-it-yourself Biologie“ wurde ein weiterer Teilbereich der Synthetischen Biologie angesprochen und anhand eines konkreten Beispiels (Do-it-yourself Gentechnikbaukasten aus den USA) diskutiert.

Mein besonderer Dank gilt dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz (StMUV) für die Förderung eines wissenschaftlichen Projekts auf dem Gebiet der Synthetischen Biologie und der gentechnischen Sicherheitsforschung sowie für die finanzielle Unterstützung der 7. Fachtagung Gentechnik.

Ihnen wünsche ich eine interessante Lektüre und hoffe, dass diese Ihnen wertvolle Hinweise für Ihre Arbeit geben kann.

Erlangen, im Juli 2018

Ihr

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Zapf', written in a cursive style.

Dr. Andreas Zapf

*Präsident des Bayerischen Landesamtes für  
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit*

# 1. Synthetische Biologie – Herausforderungen für die Wissenschaft und Gesellschaft

**Jörg Hacker, Sandra Kumm**

Leopoldina, Nationale Akademie der Wissenschaften

## Einleitung

Die synthetische Biologie hat sich in den vergangenen Jahren als dynamisches Forschungsfeld innerhalb der Lebenswissenschaften etabliert. Sie ist ein interdisziplinärer Wissenschaftszweig, in dem vor allem Forscher aus den Biowissenschaften, der Chemie, der Informationstechnologie sowie den Ingenieurwissenschaften zusammenarbeiten. Ausgehend von diesem interdisziplinären Charakter konnte bisher keine von allen beteiligten Akteuren akzeptierte Definition der synthetischen Biologie gefunden werden. Im Kern geht es jedoch darum, die molekulare Architektur von biologischen Systemen zu verstehen, umzugestalten oder neu zu entwerfen. Dabei unterscheidet die synthetische Biologie zwischen dem Bottom-up- und dem Top-down-Ansatz. Während beim Bottom-up-Ansatz aus einfachen biologischen und chemischen Bausteinen komplexe Biosysteme von Grund auf erstellt werden, zielt der Top-Down-Ansatz darauf ab, existierende Biosysteme in einfache Bestandteile „abzurüsten“, bis nur die minimale Ausstattung der notwendigsten Komponenten übrigbleibt. Mit der Erschaffung von Minimalzellen oder zukünftigen Protozellen wird es Forschern möglich, das System Zelle besser zu verstehen aber auch Einblicke in den Ursprung des Lebens zu gewinnen. Dabei werfen die Methoden und Visionen der synthetischen Biologie die Frage auf, wo die Grenze zwischen etwas Lebendigem und etwas nicht Lebendigem verläuft, wie sich diese Grenzen eventuell verschieben oder aufheben.

## Was ist Leben?

Dabei stellt sich die Frage „Was ist Leben?“. Bei allem Fortschritt der Wissenschaften, kann diese Frage auch heute noch nicht eindeutig beantwortet werden. Im Jahr 1943 gab der Physiker Erwin Schrödinger am Trinity College in Dublin seine berühmten „Schrödinger Lectures“. Diese veröffentlichte er 1944 in dem Band „What is Life?“<sup>1</sup> und seither haben sich viele Naturwissenschaftler mit dieser Grundfrage der Biologie auseinandergesetzt. Erwin Schrödinger beschäftigte sich unter anderem mit der physikalischen Struktur der genetischen Information und stellte die Hypothese auf, dass die Erbsubstanz ein aperiodisches Kristall sein müsse, dessen Struktur die Information enthalte, dank der sich aus einer befruchteten Eizelle ein voll ausgewachsenes Individuum einer bestimmten Art entwickle. In seinem Werk heißt es weiter: „Vielleicht bildet sogar das ganze Chromosom... eine Einheit, einen großen Atomverband mit vielen einzelnen Untergruppen.“

Der Molekularbiologe James Watson war von der Idee Erwin Schrödingers, dass Gene und Chromosomen der Schlüssel zur Erforschung des Lebens sind, so beeindruckt, dass er unbedingt wissen wollte, was ein Gen ist. Im Jahr 1953 hat er gemeinsam mit dem Physiker Francis Crick eine Antwort gefunden<sup>2</sup>. Der Stoff, aus dem die Gene sind, besteht aus einer Doppelhelix aus Desoxyribonukleinsäure (DNA).

Durch die Aufklärung der Struktur der DNA wurde erkannt, dass die Gene den Bauplan für die Übersetzung in Proteine vorgeben und in diesem Sinne die Grundlage des Lebens darstellen. Das Zeitalter der Molekularbiologie hatte begonnen und brachte eine ganze Reihe bahnbrechender Entdeckungen, aus denen sich die moderne Gentechnik in den letzten Jahrzehnten nahezu explosionsartig entwickelt hat.

Durch diese Erforschung der Grundstrukturen des Lebendigen erhalten wir immer wieder neue Einblicke in die komplexen Systeme der Lebewesen. Aber welche notwendigen Bedingungen müssen erfüllt sein, um Leben zu charakterisieren? Drei wesentliche Eigenschaften haben sich für alle Lebewesen als Definitionskriterien ergeben:

---

<sup>1</sup> E. Schrödinger, *What is Life?*, Cambridge 2012.

<sup>2</sup> J. Watson, D. Crick, „Molecular Structure of Nucleic Acids“, in: *Nature*, 4356/1953, S. 737-738.

- 1) Die erste Eigenschaft ist der Stoffwechsel oder Metabolismus. Dieser muss zumindest während einer Lebensphase vorhanden sein und dient dem Aufbau und der Erhaltung der Körpersubstanz sowie der Energiegewinnung und damit der Aufrechterhaltung der Körperfunktionen. Der Stoffwechsel bedingt wiederum die Kompartimentierung durch Membranen.
- 2) Das zweite Merkmal ist die Fähigkeit zur Selbstreproduktion.
- 3) Die dritte Eigenschaft ist die mit der Reproduktion verbundene genetische Variabilität als Voraussetzung für eine evolutionäre Entwicklung.

Die ersten beiden Eigenschaften, autonomer Metabolismus und Reproduktionsfähigkeit, würden sicherlich alle Naturwissenschaftler als essentielle Lebenscharakteristika betrachten. Beim evolutionären Potential ist dies schon anders. Nanowissenschaftler, die im Labor mit Hilfe der synthetischen Biologie tätig sind, würden das evolutionäre Potential vielleicht als ein Kriterium für Leben bezeichnen, das nicht so fundamental ist wie die beiden anderen Kennzeichen.

Auf der anderen Seite sind auch die Merkmale Stoffwechsel und Vermehrungsfähigkeit nicht universell gültig. Sie würden viele hypothetische Frühstadien der Entwicklung des Lebens sowie Grenzformen des Lebens, wie Viren, ausschließen. Viren gelten im klassischen Sinne nicht als Lebewesen, da ihnen die Fähigkeit zur Proteinbiosynthese fehlt und sie daher fremde Zellen benötigen, um sich zu reproduzieren. Sie benutzen zudem den Stoffwechsel anderer Organismen, sind aber in der Lage, diesen für ihre Bedürfnisse zu manipulieren. Allerdings besitzen sie die Fähigkeit zur Mutation und haben somit ein evolutionäres Potential. Deutlich macht dies die Suche nach ständig neuen Impfstoffen. Wolfhard Weidel beschrieb Viren als „geborgtes Leben“<sup>3</sup>. Sind Viren also gleichsam zwischen Leben und Nicht-Leben hin und her pendelnde Objekte?

In den letzten Jahren wurden mehrere Riesenviren entdeckt, die diese Grenze womöglich verschieben. Minivirus, Megavirus, Pandoravirus oder Klosneuvirus haben die Größe von Bakterien und ihr Erbgut enthält mehr Gene als normalerweise bei Vi-

---

<sup>3</sup> W. Weidel, *Virus. Die Geschichte vom Geborgten Leben*, [Verständliche Wissenschaft](#), Band 60, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957.

ren üblich<sup>4567</sup>. Die molekulare Analyse ergab zudem Gene, unter anderem für die Proteinbiosynthese, die bisher nur von zellulären Organismen bekannt waren. Im Februar 2018 haben Jonatas Abrahão von der Aix-Marseille Universität und sein Team eine Studie veröffentlicht, in der sie in zwei extremen Lebensräumen – in alkalischen Salzseen in Brasilien und Meeressedimenten in 3000 Meter Tiefe vor der Atlantikküste Brasiliens – zwei weitere Riesenvirenarten entdeckt haben<sup>8</sup>. Mit ihrem Genom wäre eine fast vollständige Proteinbiosynthese möglich. Besäßen diese sogenannten Tupanviren Ribosomen, könnten sie selbst Proteine herstellen. Sie weisen zudem die Anleitung für den vollständigsten Translationsapparat, der jemals bei einem Virus gefunden wurde, auf. Die Entdeckung dieser Viren lässt damit die Grenze zwischen Viren und „echtem Leben“ weiter verschwimmen.

Für den evolutionären Ursprung dieser Riesenviren gibt es bisher keine definitiven Beweise. Sie könnten von normalen Viren abstammen, die immer mehr Gene von ihren Wirten übernommen haben. Oder sie sind aus zellulären Vorgängern entstanden, die einen Großteil ihrer Zellmaschinerie reduziert haben. Diese Grenzstellung der Viren zwischen Belebtem und Unbelebtem wirft für die Forschung – und insbesondere auch für die synthetische Biologie – sowohl konzeptionelle als auch experimentelle Fragen auf, die anhand der folgenden Beispiele verdeutlicht werden.

### **Prominente Beispiele der synthetischen Biologie**

2002 ist es dem Virologen und Biochemiker Eckard Wimmer erstmals gelungen, ein Virus künstlich herzustellen. Dazu haben er und sein Team Nukleinsäure mit der Sequenz des Kinderlähmungsvirus durch DNA-Synthese künstlich erzeugt<sup>9</sup>. Werden die auf diese Weise erzeugten DNA-Stränge in Zellen eingeschleust, entstehen in Folge komplette, natürliche Polioviren. Die synthetische Biologie eröffnet in diesem Zusammenhang neue Möglichkeiten der Bekämpfung von Infektionskrankheiten. Denk-

---

<sup>4</sup> B. La Scola, S. Audic, C. Robert, L. Jungang, X. de Lamballerie, M. Drancourt, R. Birtles, J. M. Claverie, D. Raoult, "A giant virus in amoebae", in: *Science*, 299(5615)/2003, S. 2033.

<sup>5</sup> D. Arslan, M. Legendre, V. Seltzer, C. Abergel, J.-M. Claverie, „Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae“, in: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(42)/2011, S. 17486-17491.

<sup>6</sup> N. Philippe, M. Legendre, G. Doutre, Y. Couté, O. Poirot, M. Lescot, D. Arslan, V. Seltzer, L. Bertaux, C. Bruley, J. Garin, J. M. Claverie, C. Abergel, "Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes", in: *Science*, 341(6143)/2013, S. 281-286.

<sup>7</sup> F. Schulz, N. Yutin, N. Ivanova, D. R. Ortega, T. K. Lee, J. Vierheilig, H. Daims, M. Horn, M. Wagner, „Giant viruses with an expanded complement of translation system components“, in: *Science*, 356(6333)/2017, S. 82-85.

<sup>8</sup> J. Abrahão, L. Silva, L. S. Silva, J. Khalil, R. Rodrigues, T. Arantes, F. Assis, P. Boratto, M. Andrade, E. G. Kroon, B. Ribeiro, I. Bergier, H. Seligmann, E. Ghigo, P. Colson, A. Levasseur, G. Kroemer, D. Raoult, B. La Scola, "Tailed giant Tupanvirus possesses the most complete translational apparatus of the known virosphere", in: *Nature Communications*, 9(1)/2018, S. 749.

<sup>9</sup> J. Cello, A. V. Paul, E. Wimmer, "Chemical synthesis of a poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template", in: *Science* 297(5583)/2002, S. 1016-1018.

bar wäre zum Beispiel ein neuer Impfstoff gegen Polio, der Lebendviren verwendet. Das Erbgut dieser Lebendviren könnte zielgerichtet synthetisiert werden und so eine bessere Kontrolle des Impfstoffes möglich machen. Des Weiteren könnten gezielt eingebaute Sequenzen Mutationen verhindern, die das Virus erneut gefährlich machen würden. Denkbar wäre diese Strategie auch zur Bekämpfung der Grippeviren.

Im Jahr 2008 gelang es dann Wissenschaftlern um den Biochemiker Craig Venter erstmals, das komplette Genom eines Bakteriums, *Mycoplasma genitalium*, mit knapp 600.000 bp, synthetisch herzustellen<sup>10</sup>. Und nur zwei Jahre später, 2010, erregte das Forscherteam erneut Aufsehen mit der Erschaffung einer „synthetischen Zelle“<sup>11</sup>. Für dieses künstliche Bakterium mit dem Namen *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 haben die Forscher zunächst das Erbgut eines Laborstammes von *Mycoplasma mycoides* aus chemischen Rohmaterial synthetisiert und in ein zuvor von der DNA befreites Bakterium, *Mycoplasma capricolum*, übertragen und so eine funktionsfähige *M. mycoides* Zelle geschaffen. Bis heute ist jedoch die vollständige Synthese eines Bakteriums inklusive der Zellhülle noch nicht möglich.

2016 machten Craig Venter und sein Team erneut Schlagzeilen, als sie ihre Studie über ein Bakterium mit dem bislang kleinsten im Labor produzierten Genom veröffentlichten<sup>12</sup>. Die DNA von *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn3.0 umfasst 473 Gene. Zum Vergleich besitzt *M. mycoides* JCVI-syn1.0 noch 901 Gene. Allerdings ist von circa zwei Drittel dieser 473 Gene die Funktion noch nicht geklärt. Man kann daher zwar von einem sehr kleinen Genom, jedoch noch nicht von einem Minimalgenom sprechen.

Auch die Medizin nutzt bereits erste Erkenntnisse aus der synthetischen Biologie und ein Durchbruch gelang mit der Markteinführung des ersten mit halbsynthetischem Artemisinin produzierten Malariamedikaments im Jahr 2014<sup>13</sup>. Artemisinin ist ein hochwirksames Malariamedikament, allerdings ist seine Herstellung sehr aufwendig, da es aus einer seltenen tropischen Pflanze gewonnen wird, die nur in wenigen Gegen-

---

<sup>10</sup> D. G. Gibson, G. A. Benders, C. Andrews-Pfannkoch, E. A. Denisova, H. Baden-Tillson, J. Zaveri, T. B. Stockwell, A. Brownley, D. W. Thomas, M. A. Algire, C. Merryman, L. Young, V. N. Noskov, J. I. Glass, J. C. Venter, C. A. Hutchinson III, H. O. Smith, „Complete Chemical Synthesis, Assembly, and Cloning of a *Mycoplasma genitalium* Genome”, in: *Science*, 319(5867)/2008, S. 1215-1220.

<sup>11</sup> D. G. Gibson, J. I. Glass, C. Lartigue, V. N. Noskov, R.-Y. Chuang, M. A. Algire, G. A. Benders, M. G. Montague, L. Ma, M. M. Moodie, C. Merryman, S. Vashee, R. Krishnakumar, N. Assad-Garcia, C. Andrews-Pfannkoch, E. A. Denisova, L. Young, Z.-Q. Qi, T. H. Segall-Shapiro, C. H. Calvey, P. P. Parmar, C. A. Hutchinson III, H. O. Smith, J. C. Venter, „Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome”, in: *Science*, 329(5987)/2010, S. 52-56.

<sup>12</sup> C. A. Hutchinson, R. Y. Chuang, V. N. Noskov, N. Assad-Garcia, T. J. Deerinck, M. H. Ellisman, J. Gill, K. Kannan, B. J. Karas, J. F. Pelletier, Z. Q. Qi, R. A. Richter, E. A. Strychalski, L. Sun, Y. Suzuki, B. Tsvetanova, K. S. Wise, H. O. Smith, J. I. Glass, C. Merryman, D. G. Gibson, J. C. Venter, „Design and synthesis of a minimal bacterial genome”, in *Science*, 351(6280)/2016, aad6253.

<sup>13</sup> <http://www.sanofi.de/l/de/de/layout.jsp?cnt=9482898E-C5B2-4F4B-8411-2D10044062F8>

den angebaut wird. Im Jahr 2006 ist es Wissenschaftlern mit Hilfe der synthetischen Biologie gelungen, einen alternativen Stoffwechselweg zu entwickeln<sup>14</sup>. Anstelle der Pflanzen können Hefezellen benutzt werden, deren Stoffwechsel entsprechend verändert wurde und denen zusätzlich Pflanzenenzyme eingebaut wurden. Die Forscher konnten so einen Vorläufer von Artemisinin produzieren, der wiederum über einen einfachen chemischen Prozess in ein fertiges Malariamedikament umgewandelt werden kann. 2014 gelang dann schließlich der Sprung in die industrielle Produktion. Damit hat es ein synthetischer Stoffwechselweg erstmals vom Labor bis zur erfolgreichen Anwendung geschafft.

Ein weiteres Highlight in der Forschung der synthetischen Biologie kam 2016 aus Deutschland<sup>15</sup>. Eine Forschergruppe am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg unter Leitung von Tobias Erb hat einen weiteren künstlichen Stoffwechselweg entwickelt, der das Kohlendioxid aus der Luft um 20 Prozent effizienter in organische Substanz umwandelt als es Pflanzen schaffen. Tobias Erb und sein Team entdeckten zunächst, dass es in der Natur Enzyme gibt, die Kohlendioxid weitaus effektiver fixieren können als das bei der Photosynthese entscheidende RuBisCo<sup>16</sup>. Sie haben dann einen komplett neuen Zyklus entworfen, bei dem insgesamt 17 verschiedene Enzyme aus neun verschiedenen Organismen zum Einsatz kommen. Darunter befinden sich auch drei sogenannte Designer-Enzyme, welche die Forscher gentechnisch hergestellt haben. Die künstliche Photosynthese gilt unter anderem als vielversprechender Baustein einer zukünftigen nachhaltigen Energieversorgung und könnte zur Produktion von Rohstoffen wie Biodiesel, Antibiotika oder anderer Substanzen genutzt werden.

## Dual Use

Im Jahr 2012 wurden in *Science*<sup>17</sup> und *Nature*<sup>18</sup> Artikel veröffentlicht, welche die Ergebnisse zweier Forschergruppen veröffentlichten, die Grippeviren (Vogelgrippeviren

---

<sup>14</sup> D.-K. Ro, E. M. Paradise, M. Ouellet, K. J. Fischer, K. L. Newman, J. M. Ndungu, K. A. Ho, R. A. Eachus, R. S. Ham, J. Kirby, M. C. Y. Chang, S. T. Withers, Y. Shiba, R. Sarpong, J. D. Keasling, "Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast", in: *Nature*, 440/2006, S. 940-943.

<sup>15</sup> T. Schwander, L. Schada von Borzyskowski, S. Burgener, N. S. Cortina, T. J. Erb, „A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro“, in: *Science*, 345/2016, S. 901-904.

<sup>16</sup> T. J. Erb, B. S. Evans, K. Cho, B. P. Warlick, J. Singh, B. M. Wood, H. J. Imker, J. V. Sweedler, F. R. Tabita, J. A. Gerlt, "A RubisCO-like protein links SAM-metabolism with isoprenoid biosynthesis", in: *Natural Chemical Biology*, 8/2012, S. 926-932.

<sup>17</sup> S. Herfst, E. J. A. Schrauwen, M. Linster, S. Chutinimitkul, E. de Wit, V. J. Munster, E. M. Sorrell, T. M. Bestebroer, D. F. Burke, D. J. Smith, G. F. Rimmelzwaan, A. D. M. E. Osterhaus, R. A. M. Fouchier, "Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets", in: *Science*, 336/2012, S. 1534-1541.

vom Typ H5N1) mit neuen Eigenschaften hergestellt hatten. Normalerweise verbreitet sich H5N1 zwischen Vögeln. Die Experimente der beiden Forscherteams um Ron Fouchier und Masaki Imai haben jedoch gezeigt, dass die Viren durch nur wenige Mutationen auch zwischen Säugetieren übertragbar werden. 2018 beschrieben dann Mikrobiologen in einer wissenschaftlichen Studie, wie sie ein längst ausgestorbenes Pferdepockenvirus nachgebaut haben<sup>19</sup>. Dieses haben sie aus chemisch synthetisierten DNA-Fragmenten zusammengesetzt und mit einigen weiteren Schritten ein vermehrungsfähiges Virus geschaffen. Wie zu erwarten, entfachte sich in beiden Fällen eine intensive Diskussion über die Notwendigkeit, derartige Forschungsergebnisse überhaupt zu veröffentlichen.

Wie bei jeder neuen Technologie, die einen bedeutenden Einfluss entwickelt, ist auch bei der synthetischen Biologie die Frage nach den nicht beabsichtigten Nebenfolgen frühzeitig zu behandeln. So steigt mit der Veröffentlichung der Baupläne von Viren beispielsweise auch die Gefahr, dass diese für ungewünschte Zwecke missbraucht werden könnten.

Dazu hat der Deutsche Ethikrat im Mai des Jahres 2014 das Positionspapier „Biosicherheit – Freiheit und Verantwortung in der Wissenschaft“ veröffentlicht<sup>20</sup>. In seinen Empfehlungen geht es dem Deutschen Ethikrat zunächst um die Motivierung und Sensibilisierung der Wissenschaftler für Biosecurity-Fragen und er vertritt die Auffassung, dass die Forscher selbst in der Lage sein müssen, das Risiko- und Missbrauchspotential ihrer Forschung einzuschätzen. Konkret empfiehlt der Ethikrat: 1) in der Wissenschaftsgemeinschaft das Bewusstsein für Missbrauchsgefahren zu schärfen, 2) einen bundesweit gültigen Forschungskodex zu erstellen, 3) die Berücksichtigung von Aspekten des *dual use research of concern* (DURC) bei der Forschungsförderung und 4) den Erlass von gesetzlichen Regelungen. Dazu zählen die gesetzliche Definition von DURC, die Einsetzung einer DURC-Kommission sowie die Verpflichtung sich als Wissenschaftler durch diese Kommission beraten zu lassen.

Auf die Veröffentlichung des Ethikrates folgte im Juni 2014 die gemeinsame Stellungnahme der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina „Wissenschaftsfreiheit und Wissenschaftsverantwortung“.

---

<sup>18</sup> M. Imai, T. Watanabe, M. Hatta, S. C. Das, M. Ozawa, K. Shinya, G. Zhong, A. Hanson, H. Katsura, S. Watanabe, C. Li, E. Kawakami, S. Yamada, M. Kiso, Y. Suzuki, E. A. Maher, G. Neumann, Y. Kawaoka, “Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA / H1N1 virus in ferrets”, in: *Nature*, 486/2012, S. 420-430.

<sup>19</sup> R. S. Noyce, S. Lederman, D. H. Evans, „Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments“, in: *PLOS ONE*, 13(1)/2018, e0188453.

<sup>20</sup> Deutscher Ethikrat, „Biosicherheit – Freiheit und Verantwortung in der Wissenschaft“, Stellungnahme 2014.

tung – Empfehlungen zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung<sup>21</sup>. Darin plädieren die beiden Institutionen dafür, das Problembewusstsein für einen möglichen Missbrauch von Erkenntnissen der Forschung zu stärken und etwaige Risiken zu minimieren, ohne aber die Freiheit der Forschung und deren Weiterentwicklung zum Wohle der Gesellschaft unverhältnismäßig einzuschränken. Sie empfehlen zudem die Einrichtung von Kommissionen für Ethik sicherheitsrelevanter Forschung (Tab. 1.1).

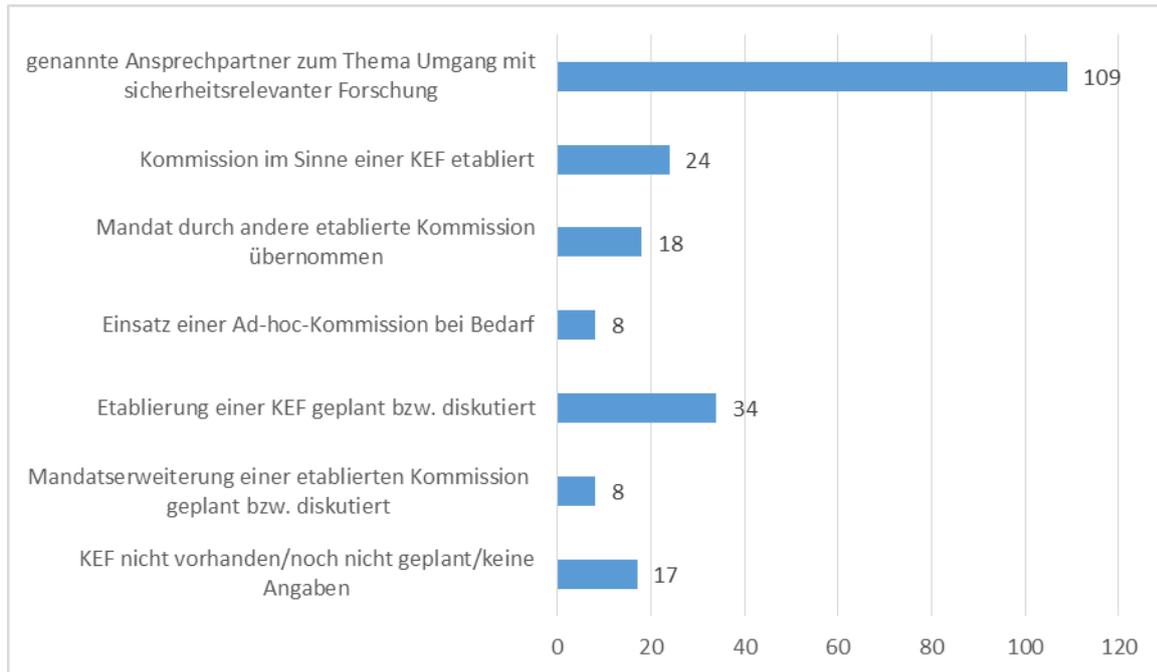
**Tabelle 1.1:** Empfehlungen zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina<sup>21</sup>

- (1) **Beachtung von ethischen Grundsätzen durch den Forschenden über rechtliche Regeln hinaus**
- (2) **Risikoanalysen von Forschungsvorhaben**
- (3) **Risikominimierung**
- (4) **Prüfung von (geplanten) Veröffentlichungen auf Risiken**
- (5) **Dokumentation und Mitteilung von Risiken**
- (6) **Schulung, Aufklärung und Bewusstseinschärfung**
- (7) **Klarheit über die verantwortliche Person**
- (8) **Verfügbarkeit von Compliance-Stellen**
- (9) **Definition von Ethikregeln durch die Forschungsinstitutionen**
- (10) **Einrichtung von Kommissionen für Ethik sicherheitsrelevanter Forschung (KEF)**

Daraufhin wurde der „Gemeinsame Ausschuss zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung“ von der Leopoldina und der Deutschen Forschungsgemeinschaft eingerichtet. Der Ausschuss soll die Forschungsinstitutionen bei der nachhaltigen Umsetzung der oben genannten Empfehlungen zu „Wissenschaftsfreiheit und Wissenschaftsverantwortung“ unterstützen (Abbildung 1.1). So hat der Gemeinsame Ausschuss unter anderem eine Mustersatzung für die Kommissionen für Ethik sicherheitsrelevanter Forschung (KEF) vorgelegt, um für die Einrichtung von KEFs an den deutschen Hochschulen, Forschungseinrichtungen und Forschungsgesellschaften eine Hilfestellung zu bieten<sup>22</sup>. Er dient zudem als Kontaktstelle für Fragen und als Plattform für den Erfahrungsaustausch.

<sup>21</sup> Deutsche Forschungsgemeinschaft, Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, „Wissenschaftsfreiheit und Wissenschaftsverantwortung – Empfehlungen zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung“, Stellungnahme 2014.

<sup>22</sup>[https://www.leopoldina.org/fileadmin/redaktion/Ueber\\_uns/Kooperationen/Mustersatzung\\_fu%CC%88r\\_KEFs\\_2016-03-18.pdf](https://www.leopoldina.org/fileadmin/redaktion/Ueber_uns/Kooperationen/Mustersatzung_fu%CC%88r_KEFs_2016-03-18.pdf)



**Abbildung 1.1:** Der Gemeinsame Ausschuss von Deutscher Forschungsgemeinschaft und Leopoldina, Rückmeldungen der Ansprechpartner zum Umgang mit sicherheitsrelevanter Forschung. Daten Oktober/2017. Weitere Details und der aktuelle Stand sind online abrufbar unter: <http://www.leopoldina.org/nc/de/ueber-uns/kooperationen/gemeinsamer-ausschuss-dual-use/kommissionsliste/>

## Synthetische Biologie und Gesellschaft

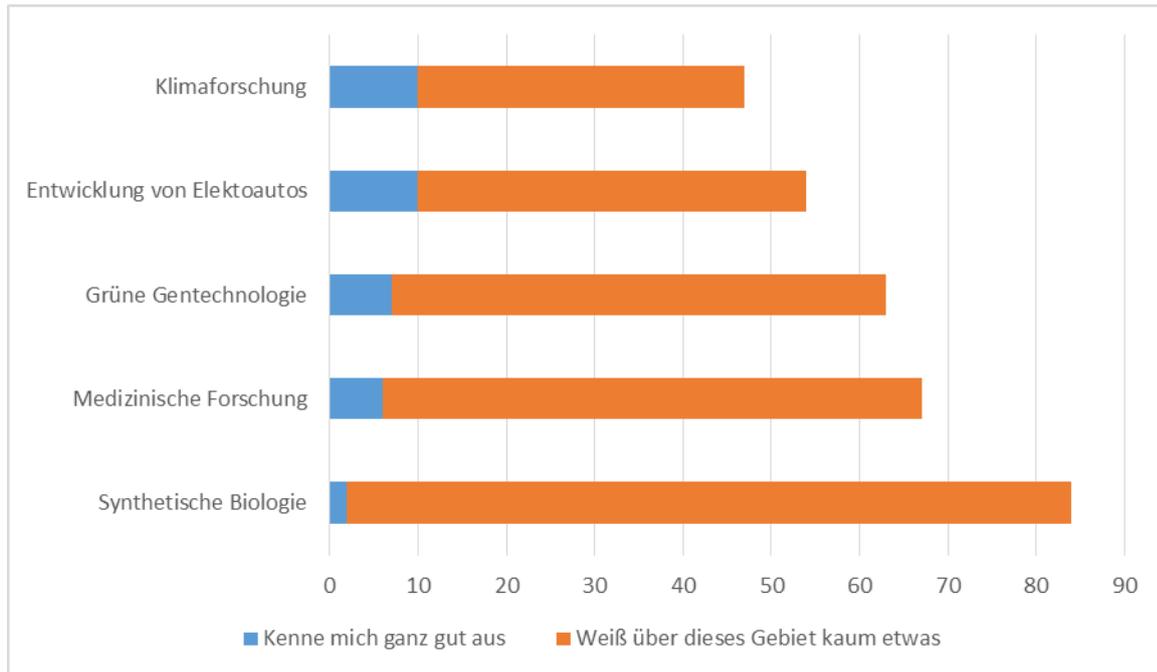
Neben ethischen Fragen zu den Risiken und zur Sicherheit der synthetischen Biologie spielt auch die öffentliche Meinung für die Offenheit einer Gesellschaft gegenüber neuen Forschungsbereichen und Technologien eine herausragende Rolle. Bereits im Jahr 2009 haben die Deutsche Forschungsgemeinschaft, die Deutsche Akademie der Technikwissenschaften acatech und die Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina eine gemeinsame Stellungnahme zu den möglichen Chancen und Risiken der synthetischen Biologie erarbeitet<sup>23</sup>. Darin wird betont, dass Chancen und Risiken der synthetischen Biologie, soweit möglich, abgeschätzt werden und die Lehren daraus bereits in das Design und die Anwendungsbedingungen der neuen Technologie einfließen müssen. Als wichtigste Handlungsempfehlungen resultieren daraus die konsequente weitere Beobachtung des Wissenschafts- und Technikfelds einschließlich regelmäßiger Überprüfung, ob nationale und internationale Förder- und Regulierungsmaßnahmen angemessen erscheinen, sowie ein umfassender gesellschaftlicher Dialog über Chancen, Risiken und den weiteren Umgang damit. Zudem ist der frühzeitige und offene Dialog mit der Öffentlichkeit wie bei jeder neuen Technologie wichtig.

<sup>23</sup> Deutsche Forschungsgemeinschaft, acatech – Deutsche Akademie der Technikwissenschaften, Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, „Synthetische Biologie“, Stellungnahme 2009.

Vor diesem Hintergrund hat die Leopoldina in Kooperation mit dem Institut für Demoskopie Allensbach eine Studie zur Akzeptanz wissenschaftlicher Innovationen am Beispiel der synthetischen Biologie durchgeführt und gleichzeitig die Chancen analysiert, diese Akzeptanz durch eine systematische Wissenschaftskommunikation zu verbessern. Die Ergebnisse wurden im Januar 2015 in einem Diskussionspapier „Die Synthetische Biologie in der öffentlichen Meinungsbildung“ veröffentlicht<sup>24</sup>. Das Papier stellt vier Faktoren heraus, welche die Vermittlung des Themas „Synthetische Biologie“ und die öffentliche Debatte über neue Forschungs- und Technologiefelder entscheidend beeinflussen: 1) Alltagsnähe herstellen, 2) transparent und ergebnisoffen informieren, 3) verständlich und zielgruppengerecht kommunizieren und 4) die Rolle der Medien berücksichtigen. Die Analyse hat gezeigt, dass das Interesse an der synthetischen Biologie in der Bevölkerung gering ist, sie wird von der Mehrheit der Befragten als abstraktes Gebiet mit wenig Alltagsnähe wahrgenommen (Abbildung 1.2). Zudem nennen sowohl die befragten Wissenschaftler als auch die befragten Journalisten die synthetische Biologie als eines der am schwierigsten zu vermittelnden Themen. Das insgesamt sehr geringe Interesse an diesem Forschungsfeld konnte jedoch im Rahmen der Umfrage durch Konkretisierung des Nutzens teilweise um das Sechsfache gesteigert werden. Während nur zehn Prozent der Befragten ein ausgeprägtes Interesse an synthetischer Biologie haben, sind 58 Prozent an der potentiellen Anwendung zur Herstellung künstlicher Zellen für die Krankheitsbekämpfung interessiert. Mögliche Unsicherheiten und Risiken werden von der Bevölkerung eher toleriert, wenn das konkrete Potential neuer Forschungsgebiete wie der synthetischen Biologie für die Lösung wichtiger Probleme als hoch eingestuft wird. Die Umfrage ergab auch, dass die wirtschaftliche Bedeutung der synthetischen Biologie für die Meinungsbildung relevant ist. Beispiele wie die mögliche Rolle bei der Herstellung von Treibstoffen beispielsweise durch veränderte Algen oder Cyanobakterien steigern die Einschätzung der wirtschaftlichen Relevanz der synthetischen Biologie in der Bevölkerung.

---

<sup>24</sup> Institut für Demoskopie Allensbach, Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina, „Die Synthetische Biologie in der öffentlichen Meinungsbildung“, Diskussionspapier 2015.



**Abbildung 1.2:** Einschätzung des eigenen Wissensstandes zu verschiedenen Wissenschaftsgebieten. Verändert nach Daten aus<sup>24</sup>.

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die weitere Entwicklung der synthetischen Biologie nicht allein an ihren wissenschaftlichen Ergebnissen gemessen wird. Sie hängt auch davon ab, womit die Gesellschaft synthetische Biologie in Zukunft assoziiert und wie sie diesen Forschungszweig einschätzt. Die Kommunikation und die Auseinandersetzung mit diesem Thema sind folglich eine Herausforderung für Politik, Wissenschaft und Gesellschaft.

### Schlussbetrachtung

In seinen Naturwissenschaftlichen Schriften schrieb Johann Wolfgang von Goethe: „In jedem lebendigem Wesen ist das, was wir Teile nennen, dergestalt unzertrennlich vom Ganzen, dass sie nur in und mit demselben begriffen werden können, und es können weder die Teile zum Maß des Ganzen noch das Ganze zum Maß der Teile angewendet werden, ...“<sup>25</sup>. In diesem Sinne umfasst die synthetische Biologie verschiedene Ansätze, um biologische Systeme zu entwerfen, nachzubauen oder zu verändern. Dabei verbindet sie Methoden aus dem Bereich der Lebenswissenschaften mit Konstruktionsprinzipien aus den Ingenieurwissenschaften. Die synthetische Biologie weist ein großes gesellschaftliches Potential, beispielsweise für die Herstellung therapeutischer Substanzen oder Treibstoff, auf.

<sup>25</sup> J. W. von Goethe, S. Seidel (Hrsg.), Berliner Ausgabe, Kunsttheoretische Schriften und Übersetzungen [Band 17-22], Band 18, Berlin 1960.

Jedoch stellen sich auch ethische Fragen und Fragen zu den Risiken und zur Sicherheit dieses relativ jungen Wissenschaftszweiges. Des Weiteren spielt die öffentliche Meinung für die Offenheit einer Gesellschaft gegenüber neuen Forschungsbereichen und Technologien eine entscheidende Rolle.

## 2. Vom Genom über das Proteom zur Synthetischen Biologie

**Michael Hecker**

Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Institut für Mikrobiologie

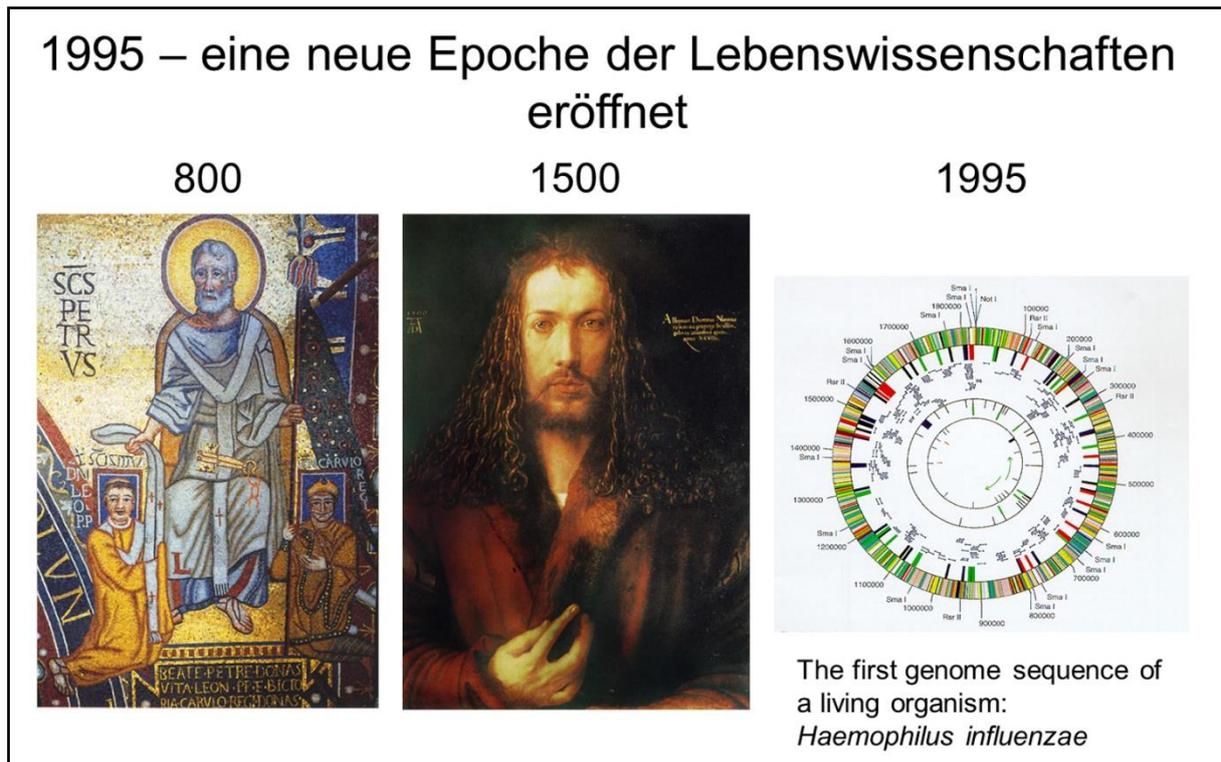
### **Einführung**

Bakterien bilden seit Jahrzehnten beliebte Zellfabriken für die Produktion „fremder Proteine und Metabolite“, damit für Produkte, die für die Pharmaindustrie oder die weiße Biotechnologie, denken wir an Waschmittelenzyme und vieles mehr von Bedeutung sind. Dabei besteht ein Ziel der Synthetischen Biologie darin, die nahezu unerschöpfliche Synthesekapazität der bakteriellen Produktionsstätten für die Herstellung der gewünschten Produkte zu nutzen (siehe Stellungnahme „Synthetische Biologie“ von der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina, der acatech und der Deutschen Forschungsgemeinschaft, 2009). Gegenwärtig erlebt die Synthetische Biologie einen enormen Schub; das liegt am Zeitalter der Genomics, das mit der Genomsequenzierung begann und über die OMICS-Technologien bis zur Bioinformatik und Systembiologie reicht. Dabei spielt gegenwärtig die Synthese ganzer Genome im Reagenzglas als Meisterleistung der Synthetischen Biologie oder das genome editing (CRISPR-cas), das uns alle in Atem hält, eine besondere Rolle (siehe auch Stellungnahme der Nationalen Akademie Leopoldina, der acatech und der Union der Deutschen Akademien der Wissenschaften zum Thema: Chancen und Grenzen des genome editing, September 2015).

Ein neues Ziel der Synthetischen Biologie ist es, mit Hilfe des genomischen Wissens den Produktionsprozess zu optimieren, um die bakterielle Syntheseleistung in Richtung wirtschaftlich bedeutender Produkte zu lenken. Damit steht im ersten Teil des Beitrages die Frage im Mittelpunkt, was wir heute über die bakteriellen Syntheseleistungen und über ihre wichtigsten Werkzeuge, die Proteine wissen, um im Folgenden der Frage nachzugehen, wie man das neue Wissen über die Proteomics für die Belange der Synthetischen Biologie nutzbar machen kann. Hierfür wurden zwei Beispiele ausgewählt, einmal Bemühungen um die Konstruktion einer Minimalzelle als Produktionsstätte für die Synthetische Biologie. Das zweite Beispiel geht der Frage nach, wie metabolische Wege in der Zelle organisiert sind und warum dieses Wissen für die Synthetische Biologie von Bedeutung sein kann.

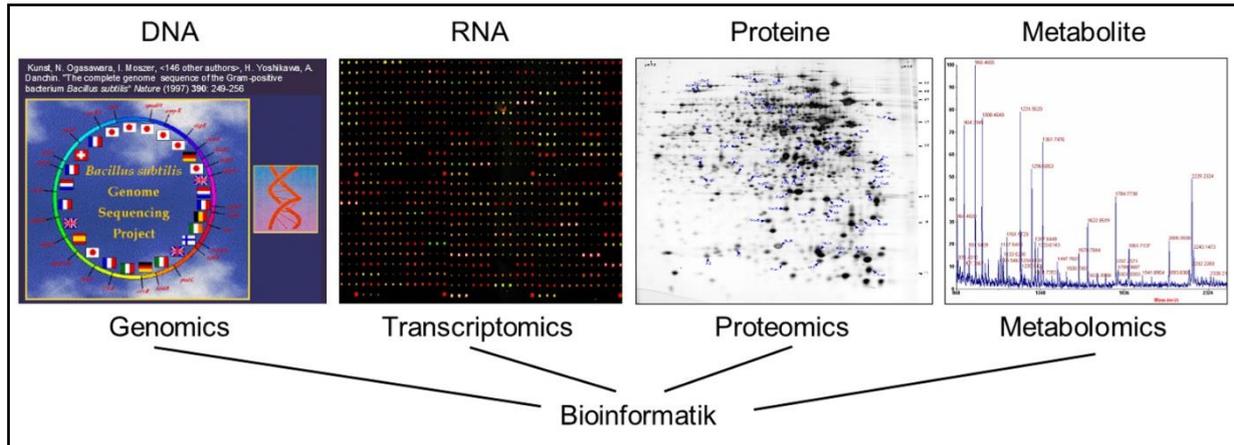
## Functional Genomics / Proteomics und das Leben der Bakterien

Die uralte Frage des Menschen – oft gestellt, seitdem es Menschen gibt, von der Antike bis in die Neuzeit –, die Frage nach den Geheimnissen des Lebens, nach der Natur grundlegender Lebensprozesse, kann heute, zumindest für einfache Organismen, als grundsätzlich beantwortet gelten. Wir sind gegenwärtig Zeugen einer Entwicklung, für die sehr treffend der Begriff „genomische Revolution“ gewählt wurde. Ein wichtiger Ausgangspunkt dieses Paradigmenwechsels in den Lebenswissenschaften war die Vorlage der ersten vollständigen Genomsequenz eines lebenden Organismus, des Bakteriums *Haemophilus influenzae* im Jahre 1995. Gerhard Gottschalk aus Göttingen, einer der Pioniere der mikrobiellen Genomik in Europa, hat dieses Ereignis mit großen Ereignissen der Kunst- oder Weltgeschichte verglichen (Abbildung 2.1). Und nur sechs Jahre später folgte die Publikation der humanen Genomsequenz, zelebriert im Weißen Haus zu Washington mit Bill Clinton, Tony Blair zugeschaltet, zum Thema „Decoding the book of life“ - eine Metapher, die bisher nur der Bibel zustand. Das geschickt gewählte Thema verspricht die neue Dimension: Erstmalig kann Leben in seiner Vollständigkeit und nicht nur Teile davon studiert und verstanden werden. So ist die Vorlage des ersten vollständigen Bauplanes des Menschen ein Jahrhundertereignis.



**Abbildung 2.1:** Die Sicht des Mikrobiologen Gerhard Gottschalk, einer der Pioniere der europäischen mikrobiellen Genomics, auf das Jahr 1995, das einen Wendepunkt in den Lebenswissenschaften einleitete. Gerhard Gottschalk hat diese erste Genomsequenzierung eines Lebewesens mit großen Ereignissen der Welt- oder Kunstgeschichte verglichen, die sich um Jahrhundertwenden ereigneten.

Doch der anfänglichen Euphorie folgte bald eine gewisse Ernüchterung, bietet die Genomsequenz doch nur den Bauplan des Lebens, nicht das Leben selbst. Was mit dem Bauplan passiert, wie er in das wirkliche Leben umgeschrieben wird, entscheidet vor allen Dingen die fein abgestimmte Kontrolle der differentiellen Genexpression, die darüber wacht, welche Gene wann und mit welcher Intensität in Proteine umgeschrieben werden. Heute sind die Wissenschaftler in der Lage, mit Hilfe der „Omics-Techniken“ die Gesamtheit der Transkripte (mRNAs), die berühmten „non-coding“ RNAs eingeschlossen, der Proteine oder der Metabolite zu erfassen (Abbildung 2.2). Da die Proteine die wichtigsten Werkzeuge aller Lebensprozesse sind, kommt der Proteomics eine herausragende Rolle zu, das „virtuelle Leben der Gene in das reale der Proteine“ zu übertragen. So wie die Gene im Genom zusammengefasst werden, bilden alle Proteine eines lebenden Systems das Proteom. Und nicht zuletzt ist die Bioinformatik gefragt, aus der enormen Datenvielfalt neues Wissen abzuleiten (siehe Hecker 2017).

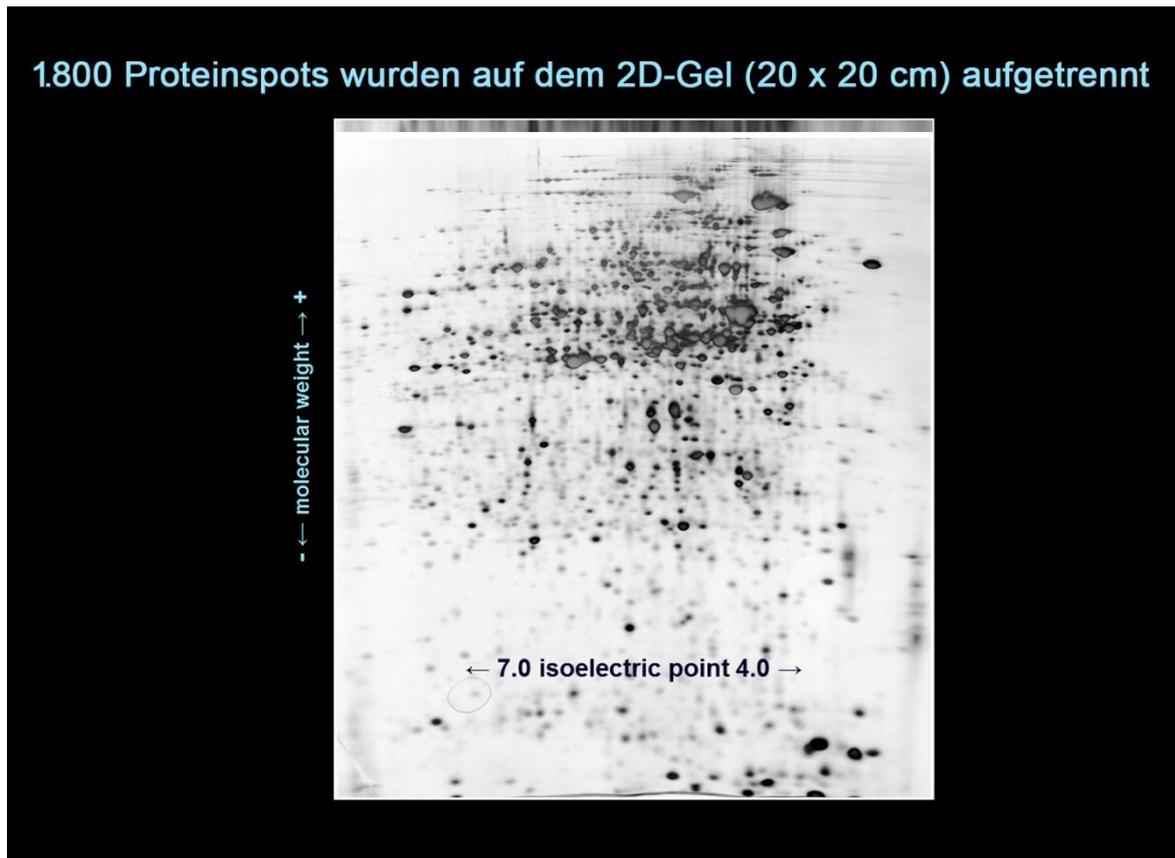


**Abbildung 2.2:** Von der Genomsequenz über die Proteine zum Leben. Mit Hilfe der Omics-Technologien von der Genomics bis zur Metabolomics kann der Weg vom Genom zur Zellphysiologie experimentell verfolgt werden. Eine Schlüsselstellung kommt dabei der Bioinformatik zu, aus der ungeheuren Vielfalt von Daten neues Wissen abzuleiten (siehe Hecker 2017).

Die Proteine als wichtigste Werkzeuge des Lebens können als Enzyme, als Strukturproteine, als Träger von Signaltransduktions- oder Genexpressionskaskaden und vieles mehr agieren. Dabei ist jedes Protein anders, jedes einzelne Protein hat aufgrund seiner charakteristischen Aminosäurefolge, festgelegt durch die Basensequenz der DNA, seine unverwechselbare Funktion und folglich seinen unverwechselbaren Platz im Leben der Zelle. Erst das geordnete Zusammenspiel der Proteine macht ihr Leben aus. Wenn man Lebensprozesse verstehen will, muss man wissen, welche Proteine in der Zelle vorkommen, welche Funktion sie dort ausüben, wo sie sich innerhalb oder außerhalb der Zelle anordnen, wie sie miteinander agieren, sich stimulieren, hemmen oder gar zerstören. Das war die Motivation meiner Arbeitsgruppe vor mehr als 25 Jahren, alle Proteine eines Organismus zu identifizieren, um seine Lebensprozesse neu und umfassend zu verstehen. Der Mensch mit seinen vielleicht weit mehr als 100 000 Proteinen ist dafür noch hoffnungslos zu komplex. Einzellige Bakterien sind wegen ihrer geringen Komplexität – nur wenige Hundert oder Tausend Proteine können ihr Leben ausmachen – geradezu ideale Modellsysteme, um den Weg vom Genom über die Proteine zum Leben zu verfolgen.

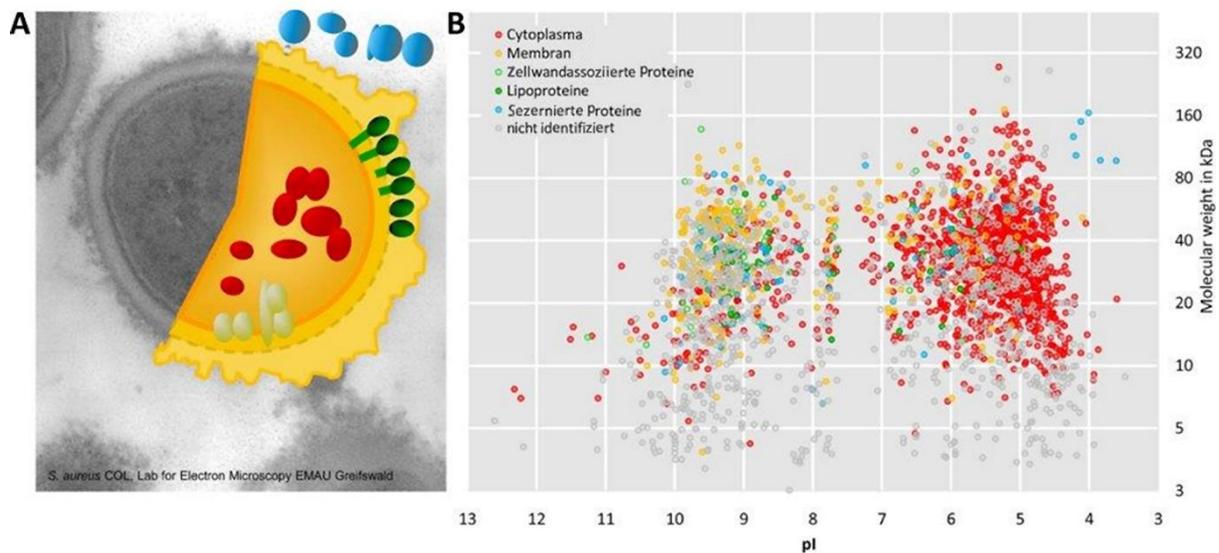
Vor mehr als 20 Jahren haben wir zunächst mit der gelbasierten Proteomanalyse begonnen, das Proteininventar von Modellorganismen wie *Bacillus subtilis* oder später auch *Staphylococcus aureus* zu erfassen (Abbildung 2.3).

## 1.800 Proteinspots wurden auf dem 2D-Gel (20 x 20 cm) aufgetrennt



**Abbildung 2.3:** Auftrennung von Proteinen durch zweidimensionale Polyacrylamidgelelektrophorese (*Staphylococcus aureus*). Jedes Protein findet aufgrund seiner „Markenzeichen“, seiner Größe und Ladung, seinen unverwechselbaren Platz auf dem Gel. In der Folge werden die Proteine durch MALDI-TOF-Massenspektrometrie identifiziert.

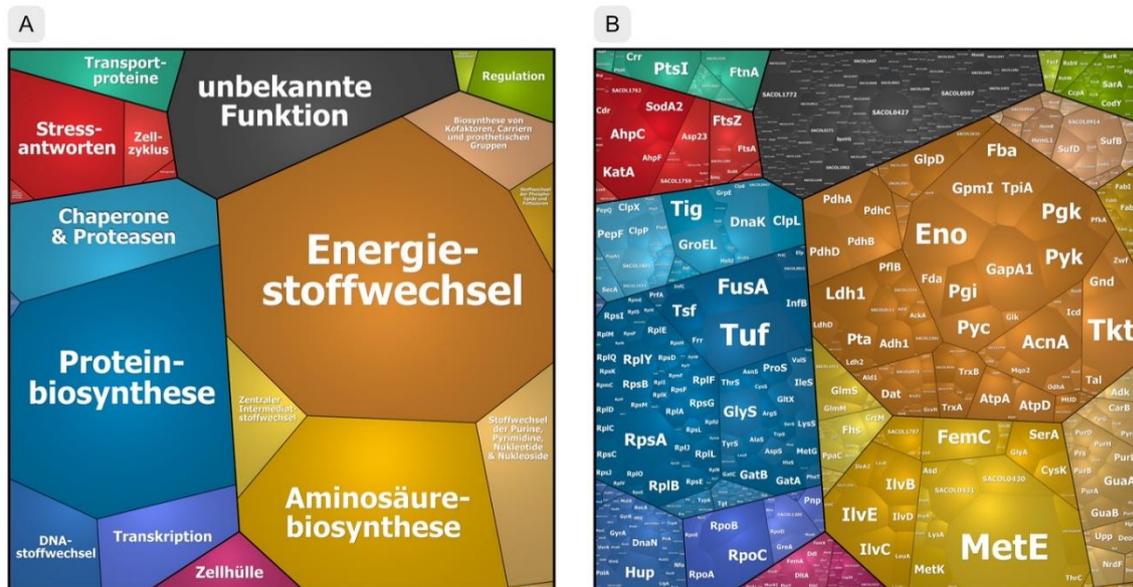
Heute setzen wir dafür die weit empfindlichere gelfreie Proteomanalyse ein, mit deren Hilfe wir mehr als 2/3 der aus der Genomsequenz vorausgesagten Proteine identifiziert und zum Teil auch quantifiziert haben. Wenn man davon ausgeht, dass zum jeweiligen Zeitpunkt nicht alle Gene in Proteine umgeschrieben werden, haben wir eine Abdeckung des Proteoms von nahezu 90 % erhalten (Abbildung 2.4). So kann man sich vorstellen, dass das Gesamtproteom von *Staphylococcus aureus* ein wertvolles Werkzeug ist, um seine Pathophysiologie umfassend zu verstehen (Hecker et al. 2018). Ganz besonders wichtig ist es in diesem Zusammenhang, die Dynamik des Proteininventars in Beantwortung infektiöser Stimuli des Wirtes zu studieren, zumal gerade die nach Einwirken der Signale des Wirtes neu gebildeten Proteine für sein Überleben im humanen Wirt essentiell sind.



**Abbildung 2.4:** Das Gesamtproteom von *Staphylococcus aureus*. – a. A) Die untersuchten Subfraktionen. B) – b. Ein virtuelles 2D-Gel. Jeder Punkt repräsentiert ein Protein. C) – c. Übersicht über die vorausgesagten und direkt gemessenen Proteine (modifiziert nach Becher et al. 2009).

Durch Einsatz der sogenannten Voronoi-Treemaps, mit deren Hilfe das An- und Abschalten der Synthese von 1400 cytosolischen Proteinen sichtbar zu machen ist (Abbildung 2.5), kann man Leben von Bakterien in einer Vollständigkeit als „Tanz ihrer Proteine“ visualisieren und auch verstehen, wie das vor 20 Jahren noch undenkbar schien, da sich die Dynamik bakterieller Lebensprozesse, etwa der Übergang vom Wachstums- in den Nichtwachstumszustand, insbesondere in der Änderung der Menge und Aktivität ihrer Proteine widerspiegeln. So sehen wir in Beantwortung infektionsrelevanter Stimuli, wie zum Beispiel in Beantwortung von Sauerstoffhunger viele Reaktionen, die aus der Literatur bekannt sind, jetzt aber in einer detaillierten Kinetik; und wir sehen Reaktionen, die noch keiner gesehen hat als Basis für nachfolgende Untersuchungen (Zühlke et al. 2016). Damit ist die „road map“ der physiologischen Proteomics vorgegeben. Sie darf nicht enden in einer schier unübersichtlichen Liste, die Hunderte von Proteinen enthält, mit denen man wenig anfangen kann. Der Panoramablick der Proteomics sollte eher Dinge sichtbar machen, die unserem Auge bisher verborgen blieben; eine wichtige Voraussetzung für das Formulieren neuer Hypothesen, um am Ende neues Wissen zu generieren. Schließlich ha-

ben wir auch quantitative Daten für die Mehrzahl cytosolischer Proteine erhalten mit der Anzahl von Proteinmolekülen pro Zelle, von mehr als 20 000 am Beginn einer langen Liste bis zu lediglich 50 oder 100 am Ende. Aus diesen Daten können wir die Investition der Zelle für die Basismodule des Stoffwechsels berechnen, wie die Ta-  
 be.1 zeigt (siehe Otto et al. 2010, Buescher et al. 2012, Becher et al. 2009, Zühlke et al 2016, Hecker et al. 2018).



**Abbildung 2.5:** Voronoi-Treemaps. Die Zuordnung der Proteine zu Funktionseinheiten. Die Größe der Vierecke ist ein Maß für die vorhandene Menge (nach Bernhardt, unveröffentlicht).

Unser Ziel, sichtbar zu machen, was die globale Regulation der Genexpression vorgibt, nämlich jedes Protein zur rechten Zeit in der benötigten Menge der Zelle zur Verfügung zu stellen, ist damit erreicht. Was ist der nächste Schritt? Die Vorlage des Proteininventars macht noch nicht das Leben aus. Die entscheidende Frage ist doch die: Wie organisieren die einzelnen Proteine, die in einer genau abgestimmten, von der Zelle „geforderten“ Menge den Ribosomentunnel verlassen, das zelluläre Leben. Leben ist mehr als ein ungeordnetes Gemisch von Proteinen, Leben beginnt erst mit dem „Tanz der Proteine“. Die Herausforderung der kommenden Jahre ist es zu begreifen, wie die Lücke von der Bereitstellung der Proteine am Ribosom bis zum Leben geschlossen werden kann, wie die das Ribosom verlassenden Proteine das eigentliche Leben organisieren. Von Bernd Bukau aus Heidelberg wissen wir, dass die Proteine bereits während der Bildung am Ribosom ihre zugehörigen Partner suchen und finden. Das ist der Beginn eines Prozesses, der vermutlich in der Vorlage eines dynamischen, hoch sensiblen und hochgradig geordneten Proteinnetzwerkes gipfelt, das alle zellulären Prozesse steuert. Darüber hinaus werden die einzelnen Proteine in vielfältiger Weise modifiziert, vor Unbilden der zellulären Umwelt geschützt, wenn dennoch verletzt, repariert und nur in hoffnungslosen Fällen oder in solchen, wenn

die Proteine funktionslos geworden sind, abgebaut (Proteinqualitätskontrolle, siehe Junker et al. 2018, Gerth et al. 2017). Dieses Netzwerk in seiner Dynamik zu verstehen, zu lernen, welche Aufgabe jedes einzelne Protein im Netzwerk übernimmt, wie und wo es sich dort anordnet, um seine Funktion zu erfüllen, wie schließlich das Leben jedes einzelnen Proteins von der „Geburt am Ribosom bis zum Tode im Proteasom“ oder anderswo verläuft, dass alles zu verstehen ist eine große Herausforderung, ein Reiz zukünftiger zellbiologischer Forschung.

## **Proteomanalyse und Synthetische Biologie**

### **Verringerung der Komplexität bakterieller Zellfabriken**

Wir haben Lebensprozesse als Tanz ihrer Proteine verfolgt, und es wird noch einige Jahre dauern, bis wir selbst bei wenig komplexen Bakterien die Lücke zwischen den die Ribosomen verlassenden Proteinen und den eigentlichen Lebensprozessen schließen können. Es tummeln sich selbst bei Bakterien noch zu viele Proteine auf dem hoffnungslos überfüllten Weg von den Proteinen zum Leben. Um diesen Weg „gangbarer“ zu machen, denkt man in der Synthetischen Biologie daran, die Anzahl der miteinander agierenden Proteine systematisch zu reduzieren. Das kann durch umfangreiche Genomdeletionen erreicht werden, mit deren Hilfe Gene und damit auch Proteine entfernt werden, die für das Wachstum im Bioreaktor nicht mehr benötigt werden, wenn sie auch in der Interaktion mit der natürlichen Umwelt eine entscheidende Rolle spielen. Am Ende sollten die entstandenen Minimalzellen nur noch die für Wachstum und Vermehrung erforderlichen Proteine enthalten. Solche Minimalzellen als Produkte der Synthetischen Biologie sind nicht nur ideale Modellsysteme für das Studium der Interaktion der deutlich weniger gewordenen Proteine; gleichzeitig sollten sie ideale Zellfabriken darstellen, die – vom im Bioreaktor nicht mehr benötigten Ballast befreit - ihre Produktionskapazität ganz auf das gewünschte fremde Produkt konzentrieren können.

Ein alternativer Weg zur Verringerung der Komplexität lebender Systeme ist die Suche nach Genomen, die an sich von Natur aus „benachteiligt sind“ und nur eine Minimalausstattung an Genen erhalten haben. Schon Mitte der 90er Jahre war bekannt: *Mycoplasma pneumoniae* zum Beispiel hat die Natur nur 687 Gene geschenkt. Nur 687 Gene braucht ihr Leben, ein für die damalige Zeit aufregendes Resultat. Später haben Venter und Mitarbeiter durch gezielte Mutagenese diese Zahl auf 473 reduzieren können. Eine Meisterleistung der synthetischen Biologie um Craig Venter, die seit 2010 immer wieder Schlagzeilen macht, war die Synthese eines Mycoplasmengenoms im Reagenzglas und seine Übertragung auf eine genomfreie Zelle, die so zu neuem Leben erweckt wurde (Gibson et al. 2010; Hutchison et al. 2016). Allerdings ist das, was Venter auch in Aussicht stellte, nämlich hiermit eine

ideale, minimierte Produktionsstätte der Synthetischen Biologie, etwa für Medikamente oder Biotreibstoffe geschaffen zu haben, noch in weiter Ferne, zumal Mycoplasmen als zukünftige Produktionsstätten der Biotechnologie wegen ihrer schweren Handhabbarkeit im Labor völlig ungeeignet sind.

Man kann die Komplexität lebender Systeme über einen ganz anderen Ansatz auf ein wirkliches Minimum reduzieren, wenn man einzelne Funktionsmodule des Lebens aus dem Zellverband herauslöst und ihr Agieren im zellfreien System studiert; etwa die Selbstorganisation metabolischer Pathways oder das Agieren der für die Zellteilung wichtigen Min-Proteine, wie das Petra Schwille in München in überzeugender Weise für *Escherichia coli* verfolgt (Schwille 2010). Das ist hier nicht zu vertiefen, sondern Gegenstand des Beitrages von Petra Schwille.

Meine Arbeitsgruppe war an einem Ansatz auf der anderen Seite der Komplexitäts-skala beteiligt, nämlich an der Deletion größerer Genome von Modellorganismen, die sich bereits als Produzenten im Bioreaktor bewährt haben wie *Bacillus subtilis*, finanziert von der EU im Projekt BaSynthec. Die erste Frage, die wir in einem Vorgänger- EU-Konsortium, an dem auch Japaner beteiligt waren, gestellt haben, war die: Welche Gene von *B. subtilis* sind absolut lebenswichtig und müssen folglich in einem Minimal-Bacillus in jedem Fall erhalten bleiben? In dem Konsortium wurden Mutanten in nahezu allen Genen erzeugt und nachfolgend ihre Lebensfähigkeit und vieles mehr studiert. Das uns alle höchst überraschende Ergebnis: In nur 271 Genen war eine Mutantengeneration nicht möglich, nur 271 Gene wurden gefunden, auf deren Produkte die Zelle offensichtlich nicht verzichten kann und die an der Genexpression, am Anabolismus, am Energiestoffwechsel, um nur die wichtigsten zu nennen, beteiligt sind (Kobayashi et al. 2003). Das Ergebnis hat sogar den „Spiegel“ beschäftigt, der seinerzeit schrieb: Bakterium überlebt mit nur 271 Genen!

Allerdings musste die Zahl später nach oben deutlich korrigiert werden, schon deshalb, da oft essentielle Gene zur Sicherheit sogenannte back up-Systeme aufweisen; erst, wenn auch diese zerstört sind, zeigt sich ihre essentielle Funktion für das Leben.

In der Folge haben Jörg Stülke und Mitarbeiter aus Göttingen in einem neuen Ansatz die 271 Gene auf 642 Gene erweitert, die eine Minimalzelle von *B. subtilis* unbedingt enthalten sollte. Und schließlich haben Stülke, Altenbuchner und andere das 4,2 Mega Basenpaar-enthaltende Genome durch großangelegte Deletionen systematisch verkleinert. Mit fast 40 % Deletionen dürfte diese die größte, die jeweils erreicht wurde, sein; allerdings ist es zum 642 Gen-Bacillus immer noch ein weiter Weg (Reuß et al., 2017). Schon heute steht die Frage, ob der um fast 40 % „verkleinerte“ Stamm bereits für die Biotechnologie interessant sein könnte. Immerhin hat Jan Maarten van Dijl aus Groningen die Minimalzelle getestet und mit ihr eine hohe Ausbeute eines sekretierten Antigens, das für die Vakzinierung wichtig sein könnte, erreicht (Vortrag

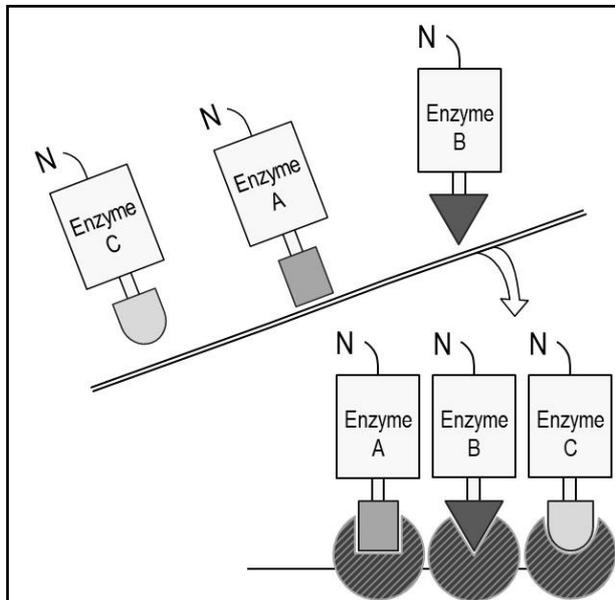
auf der 19. International Conference on Bacilli and Gram-Positive Bacteria, Berlin 2017). Das sind aber lediglich erste Anfänge, hier muss man weitere gezielte Analysen abwarten.

## **Die Organisation von Stoffwechselwegen und ihre Verbindung zur Synthetischen Biologie**

Wir gehen davon aus, dass auch der Stoffwechsel, der immerhin bei Bakterien etwa die Hälfte aller Proteine „beschäftigt“, hochgradig organisiert in der Zelle abläuft, wie Jörg Stülke für das sogenannte Glykosom in *B. subtilis* zeigen konnte (siehe Comichau et al. 2009). Vermutlich werden die Intermediate in der Glykolyse nicht frei diffundieren, sondern von Enzym zu Enzym weitergereicht, wodurch auf der Enzymoberfläche extrem hohe lokale Substratkonzentrationen auftreten können. Ähnlich funktionieren anabole Synthesewege; auch hier gibt es verschiedene Lösungswege der Natur, die sich alle darin ähneln, dass die Intermediate geordnet von Enzym zu Enzym weitergeleitet werden, ob in einem Fusionsenzym mit mehreren „Köpfen“ oder mit Hilfe mehrerer, miteinander agierender Enzyme, die über Protein-Protein-Interaktionsflächen direkt miteinander verbunden sind und die Substrate im Innern oder an der Oberfläche weiterleiten (siehe Conrado et al. 2008).

Maßgeschneiderte synthetische Stoffwechselwege sind ein wichtiges Instrument der Synthetischen Biologie, um meist von natürlichen Synthesewegen ausgehend, oft unter Hinzuziehung eines „metabolic engineering and design“ den Plänen des Experimentators angepasst, zu dem erwünschten Produkt führen können. Im einfachsten Fall kann man die gewünschten Produkte, etwa Antibiotika in einem neuen Produzenten herstellen, wenn ihm vorher die dafür erforderlichen Gene, meist in Operons angeordnet, vom natürlichen Wirt übertragen wurden. Das mag gut funktionieren, wenn die beteiligten Enzyme von der polycistronischen mRNA auch im fremden Produzenten der Reihe nach abgelesen werden und „sich kennen“, und vermutlich auch im fremden Wirt miteinander geordnet agieren. Schwieriger wird es, wenn die am Biosyntheseweg beteiligten Enzyme im „metabolic design“ aus unterschiedlichen Organismen stammen und sich vorher „nie gesehen haben“, d.h. keine gemeinsame Evolution erlebt haben. Es gibt eine Reihe solcher, aus unterschiedlichen Organismen „zusammengewürfelter“ Biosynthesewege. Ein prominentes Beispiel ist die Synthese des Anti-Malaria-Medikaments Artemisinin in *Escherichia coli*, das auf Enzyme von *E. coli*, der Hefe und der Pflanze *Artemisia* zurückgreift. In solchen und ähnlichen Fällen sollte man dafür sorgen, dass die sich bisher „fremden Enzyme im fremden Wirt finden“, um den Syntheseweg geordnet ablaufen zu lassen. In vitro ist das hier und da gelungen, wenn man auf an Oberflächen immobilisierte Enzyme oder auch auf Cross-linking –Ansätze zurückgreift. In anderen Fällen hat man C-terminale

Bindedomänen in die Enzyme eingefügt, die an passende Domänen, auf einem Gerüst der Reihe nach angeordnet, binden (Abbildung 2.6), so dass die Enzyme im fremden Organismus dennoch die Substrate geordnet weitergeben können (siehe Conrado et al. 2008).



**Abbildung 2.6:** Mit Hilfe verschiedener Techniken können in neuen Biosynthesewegen die beteiligten Enzyme der Reihe nach angeordnet werden, um die Intermediate geordnet von einem Enzym zum nächsten weiter zu leiten (zur weiteren Erläuterung siehe Text).

Um eine optimale Produktsynthese zu erreichen, sollte man also über die Anordnung der Enzyme in metabolischen Pathways in der Zelle informiert sein, insbesondere dann, wenn man neue maßgeschneiderte Stoffwechselwege in der Synthetischen Biologie verfolgt. Damit wird deutlich, dass das Wissen um die Anordnung der Proteine in der Zelle durchaus auch von praktischer Bedeutung sein kann. Allerdings stehen die Wissenschaftler erst am Anfang, wenn es darum geht, durch eine geeignete Anordnung der beteiligten Enzyme eine optimale Syntheseleistung für neue Produkte zu erreichen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass wir in der Synthetischen Biologie nicht nur intelligente Biosynthesewege und neue Produkte benötigen, sondern auch entsprechend angepasste, optimierte Produzenten, in Zukunft auch solche, die genomischen Ballast verloren haben, um all „ihr Können“ auf die Produktion des gewünschten Produktes zu konzentrieren. Mit diesem Ausblick sollte noch einmal deutlich werden, dass die Kenntnis des Proteininventars der Zelle sowie seiner räumlichen Anordnung, über die wir zurzeit nur fragmentarisches Wissen haben, nicht nur für das Verständnis der molekularen Mechanismen lebender Systeme von zentraler Bedeutung ist. Darüber hinaus wird die Synthetische Biologie der Zukunft zunehmend auf solche fundamentalen Ergebnisse zurückgreifen müssen, um ihre hoch gesteckten Ziele zu erreichen.

**Tabelle 2.1:** Kosten des einfachen Lebens von Bakterien am Beispiel wachsender Zellen von *Staphylococcus aureus* (siehe Zühlke et al. 2016). Chemisch definiertes Medium unter Zusatz von Aminosäuren.

<b>Proteinmoleküle pro Bakterienzelle bzw. „Funktionseinheit“</b>	<b>Proteinmoleküle pro Zelle</b>	<b>Prozentualer Anteil an der Gesamtinvestition</b>
pro Zelle	1.200 000	100 %
Ribosomale Proteine (53 verschiedene Proteine)	190 000	16 %
Aminosäurestoffwechsel	114 000	9,5 %
Glykolyse (7 Enzyme)	83 000	7 %
Proteinqualitätskontrolle	52 000	4 %
Tricarbonsäurecyclus bei Glucoseüberschuss	15 000	1 %

**Literatur:**

Becher, D. et al., PLoS One 4, e8176 (2009)

Buescher J.M. et al., Science DOI: 10.1126/science.1206871 (2012)

Commichau, F.M. et al., Mol.Cell. Proteomics 8.6, 1350 (2009)

Conrado, R.J. et al., Curr.Opinion Biotechnology 19, 492 (2008)

Gerth, U. et al, J. Bacteriol. 199, e00148-17 (2017)

Gibson, D.G. et al., Science DOI:10.1126/science.1190719 (2010)

Hecker, M, Naturwiss. Rdschau 70, 524 (2017)

Hecker, M. et al., Int.J.Med.Microbiol. S1438-4221 (2018)

Hutchison, C.A. et al., Science DOI 10.1126/science.aad6253 (2010)

Junker, S. et al., Mol. Cell. Proteomics 17, 335 (2018)

Kobayashi, K. et al., Proc.Nat.Acad. US 100, 4678 (2003)

Otto, A. et al., Nat. Commun. 1, 137 (2010)

Reuß, D.R. et al., Genome Res. 27, 289 (2017)

Schwille, P., in: Was ist Leben. Herausgegeben von J. Hacker und M. Hecker, Nova Acta Leopoldina 116, 119 (2012)

Zühlke, D, et al., Sci.Rep. 6, 28172 (2016)

### 3. Von der Entschlüsselung der Designprinzipien des Lebens zum Design von synthetischen biomolekularen Systemen

**Kirsten Jung, Florian Fabiani, Elisabeth Hoyer, Jürgen Lassak**

Munich Center for Integrated Protein Science (CiPSM), Department für Biology I, Mikrobiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Martinsried.

#### **Programmierte Bakterien als Biosensoren**

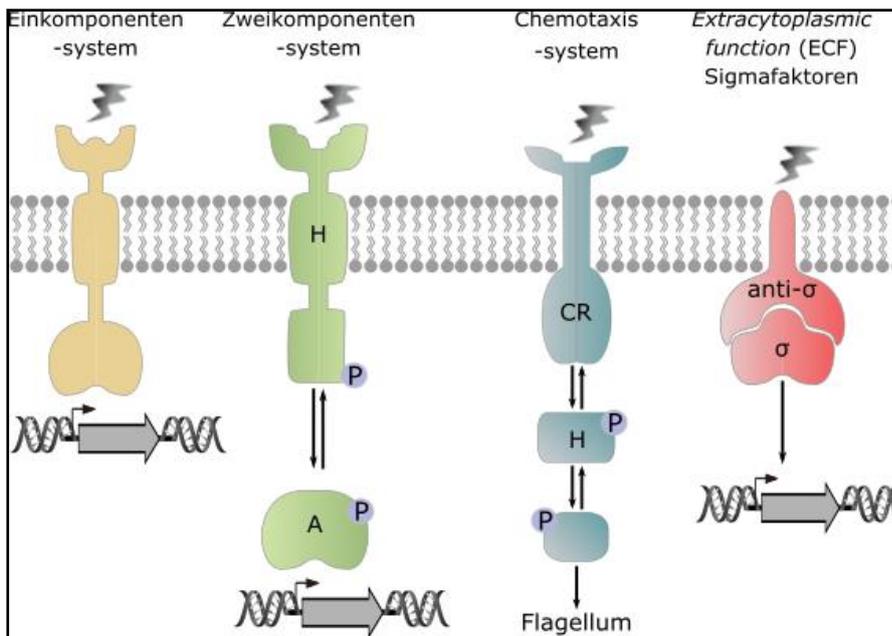
Jede einzelne Zelle, vom Bakterium bis zur Nervenzelle, ist in der Lage, äußere Reize zu wahrzunehmen, diese Information zu verarbeiten und in eine Reizantwort (*readout*) bzw. Reaktion umzuwandeln. Diese Eigenschaft nutzend, sollen Bakterienzellen zu umweltfreundlichen und „intelligenten“ Biosensoren umprogrammiert werden - ein wirtschaftlich vielversprechendes Gebiet der synthetischen Biologie. Diese bakteriellen Biosensoren könnten die Konzentration an Toxinen oder bestimmten Prozessparametern bzw. Produkten und Nebenprodukten während der Herstellung und Lagerung von Lebensmitteln wahrnehmen und in ein sichtbares Signal umwandeln. Beispielweise wurden bereits Biosensoren entwickelt, die das Umweltgift Arsen aufspüren können. Diese Bakterien senden in regelmäßigen Abständen Lichtsignale aus. Wird Arsen detektiert, werden die Abstände kürzer (Prindle *et al.*, 2012).

Erfolgsversprechende neue Wege gibt es mit programmierten Bakterien, die eine *Pseudomonas aeruginosa* Infektion aufspüren und bekämpfen können. Diese Biosensoren identifizieren nicht nur den Erreger der Lungenentzündung, sondern produzieren nach Kontakt mit dem Pathogen ein Gift, das *P. aeruginosa* abtötet (Saeidi *et al.*, 2011).

In Zukunft könnte es Bakterien geben, die Medikamente, Hormone oder tumorzerstörende Wirkstoffe produzieren (Claesen & Fischbach, 2015), und die zusätzlich mit einem sensorischen System ausgestattet werden, so dass sie als Mini-Kuriere direkt an den Zielort im Körper gelangen.

Die Einsatzmöglichkeiten für bakterielle Biosensoren sind äußerst vielseitig und reichen von Anwendungen in der Biotechnologie, Lebensmittelindustrie bis zur Medizin. Bakterielle Biosensoren sind nicht nur kostengünstig herzustellen, sondern auch äußerst umweltfreundlich. Darüber hinaus sind bakterielle Biosensoren klein, robust und transportabel. Sie könnten damit auch in Regionen zum Einsatz kommen, die weit entfernt von modernen Analyselaboren sind.

Natürlicherweise sind Bakterien mit ausgeklügelten sensorischen Systemen ausgestattet, um ständig wechselnden Umweltbedingungen standzuhalten. Damit sind die Komponenten, die für einen Biosensor benötigt werden, natürlicherweise vorhanden. Diese bestehen aus einem Rezeptor, der einen Umweltreiz wahrnimmt, einem informationsverarbeitenden Komplex und einer zellulären Reizantwort (Abbildung 3.1).



**Abbildung 3.1:** Schematische Darstellung der wichtigsten membranintegrierten Rezeptoren in Bakterien: Einkomponentensysteme bestehend aus Sensor- und DNA-bindender Domäne (gelb), Zweikomponentensysteme mit einer membranintegrierten Histidinkinase (H) und einem Antwortregulator (A) (grün), Chemotaxis-Systeme (blau), die sich von den klassischen Zweikomponentensystemen ableiten und aus einem Chemorezeptor (CR) und einer cytoplasmatischen Histidinkinase (H) bestehen, und *extracytoplasmic function* (ECF-) Sigmafaktoren ( $\sigma$ ) (rot), die bei Reizwahrnehmung von einem membranintegrierten Anti-Sigmafaktor (anti- $\sigma$ ) freigesetzt werden. (siehe Text für Details).

Auf Grund der Fülle an verfügbarer genomischer bzw. proteomischer Information ist die Anzahl theoretisch vorhandener Komponenten für sensorische Systeme riesengroß. Tatsächlich gibt es aber bisher nur eine relativ kleine Zahl an funktionell detailliert charakterisierten Rezeptoren, welches die Schlüsselkomponente eines sensorischen Systems ist, da die Arbeit mit membranintegrierten Rezeptoren nach wie vor kompliziert ist. Eine erste Lösung dieses Problems wurde in Form von sogenannten Hybridrezeptoren (Chimären) gefunden, die auf der Basis von bekannten Domänen zusammengesetzt werden können (Salis *et al.*, 2009). Der nächste knifflige Teil besteht darin, ein geeignetes bakterielles Chassis für die Rezeptoren zu finden, welches robust genug für biotechnologische und medizinische Anwendungen ist. Darüber hinaus müssen weitere Voraussetzungen bei der Konstruktion eines Biosensors beachtet werden: (1) der Biosensor sollte natürlicherweise nicht auf den betreffenden

Umweltreiz reagieren, (2) die Reizantwort sollte in jeder einzelnen Zelle innerhalb der Population linear sein, (3) die Reizantwort sollte einfach auslesbar sein.

In diesem Artikel wollen wir anhand von Beispielen erläutern, warum es nach wie vor Engpässe beim Auffinden geeigneter Rezeptoren gibt, die in Biosensoren verwendet werden können. Des Weiteren diskutieren wir das Design von Hybridrezeptoren und Variationsmöglichkeiten für die Reizantwort eines Biosensors. Die zahlreichen intrazellulären informationsverarbeitenden Verschaltungen sind nicht Gegenstand dieser Arbeit - dazu werden interessierte Leser auf einen Übersichtsartikel verwiesen (Singh, 2014).

### **Grundprinzipien der Reizwahrnehmung bei Bakterien**

Bakterien interagieren ständig mit ihrer Umwelt und spüren dabei Nährstoffquellen auf, messen und reagieren auf Umweltstress und stehen im ständigen Informationsaustausch mit Individuen der eigenen Art, anderer Arten oder einem eukaryotischen Wirtsorganismus. Die cytoplasmatische (innere) Membran von Bakterienzellen trennt das Cytoplasma von der Außenwelt. Der lebensnotwendige Informationsfluss von außen über diese Barriere hinweg erfolgt mithilfe verschiedener Rezeptoren, die diese Funktion ausüben.

Grundsätzlich findet man in Bakterien drei Haupttypen von membranintegrierten Rezeptoren, die für die Reizwahrnehmung und Signalweiterleitung zuständig sind: membranintegrierte Einkomponentensysteme (ToxR-ähnliche Rezeptoren), Zweikomponentensysteme bestehend aus einem Rezeptor (Histidinkinase) und einem Antwortregulator, und *extracytoplasmic function* (ECF) Sigmafaktoren (Galperin, 2005) (Abbildung 3.1).

ToxR-ähnliche Rezeptoren sind bitopische Membranproteine, die aus einer nach außen gerichteten sensorischen Domäne und einer intrazellulären DNA-bindenden Domäne aufgebaut sind (Abbildung 3.1). Extrazelluläre Informationen werden innerhalb eines Proteins direkt zur DNA übertragen, und damit stellen ToxR-ähnliche Rezeptoren die einfachste Form von bakteriellen membranintegrierten Signalsystemen dar. Die Familie ist nach dem Hauptregulator der Virulenz in *Vibrio cholerae* ToxR benannt (Miller *et al.*, 1987).

In Zweikomponentensystemen fungiert die membranintegrierte Histidinkinase als Sensor für Umweltreize und als Koppler für die Reizweiterleitung in Form einer Phosphorylierungskaskade. Nach Reizerkennung erfolgt die Autophosphorylierung der Histidinkinase, anschließend die Übertragung der Phosphorylgruppe auf den cytoplasmatischen Antwortregulator, der meist als Transkriptionsfaktor agiert und die Genexpression reguliert (Stock *et al.*, 2000) (Abbildung 3.1). Die Zahl von Histidinkinase/Antwortregulator-Systemen in Bakterien reicht von 30 bzw. 36 in *Escherichia*

*coli* und *Bacillus subtilis* bis 132 in *Myxococcus xanthus* (Schramke *et al.*, 2016b). Chemotaktische Reize werden von membranintegrierten Chemorezeptoren wahrgenommen, an eine cytoplasmatische Histidinkinase weitergeleitet und schließlich über Phosphorylierung und Protein-Protein-Wechselwirkungen an den Flagellenmotor übermittelt (Wuichet & Zhulin, 2010).

Die *extracytoplasmic function* (ECF) Sigmafaktoren sind Untereinheiten der RNA-Polymerase und erkennen und binden an bestimmte DNA-Sequenzen im Promotorbereich. Die ECF-Sigmafaktoren werden meist nur unter Stressbedingungen aktiviert. In Abwesenheit eines Reizes werden ECF-Sigmafaktoren von Anti-Sigmafaktoren gebunden und inaktiv gehalten (Hermann, 2002) (Abbildung 3.1).

### Die Designprinzipien der Natur entschlüsseln

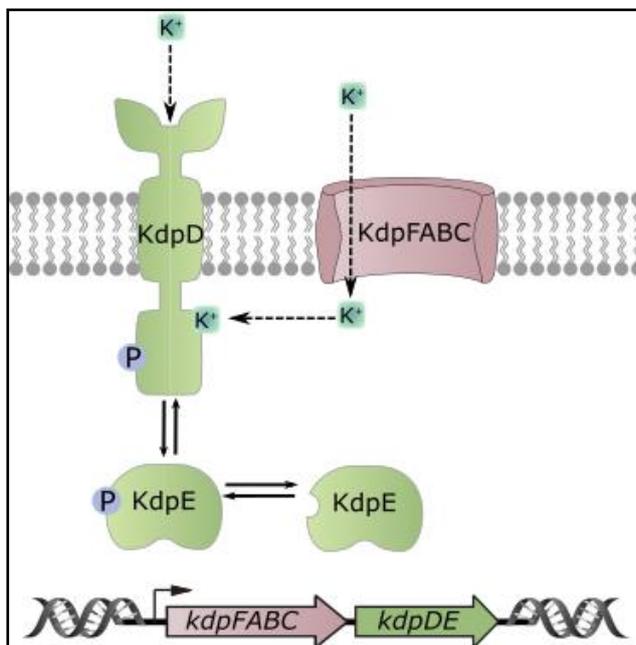
Histidinkinasen können chemische Reize, so wie z. B. organische Verbindungen (z.B., C4-Dicarboxylate, Citrat, Autoinduktoren), anorganische (z. B., Mg<sup>2+</sup>, H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) und gasförmige Liganden (z.B., O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>) – aber auch physikalische Stimuli, wie u. a. Osmolarität, Licht und Temperatur, wahrnehmen (Schramke *et al.*, 2016b). Diese Reize werden über sensorische Domänen verarbeitet, die spezifische Proteinfaltungen aufweisen. Am weitesten verbreitet sind Domänen, die zur Familie der PAS- (Per-ARNT-Sim), CHASE- (*cyclase/histidine kinase-associated sensing extracellular*), Vier-Helix-Bündel- (4HB) oder NIT- (*Nitrate* und *Nitrite-sensing*) Domänen gehören (Galperin, 2004).

Die Identifikation des primär wahrgenommenen Reizes eines Rezeptors erweist sich oftmals als komplex, so auch im Beispiel der Histidinkinase KdpD, die zusammen mit dem Antwortregulator KdpE die Expression eines hochaffinen K<sup>+</sup>-Aufnahmesystems in vielen Bakterien reguliert. K<sup>+</sup> ist das am häufigsten vorkommende Kation in allen lebenden Zellen, und es ist für die Regulation des Zellurgors, des intrazellulären pH-Wertes und die Aktivierung verschiedener Enzyme wichtig (Suelter, 1970, Booth, 1985, Epstein, 2003). Um eine ausreichende Versorgung mit K<sup>+</sup> sicherzustellen, besitzen die meisten Bakterien mehr als ein K<sup>+</sup>-Aufnahmesystem. *E. coli* verfügt über drei Transporter: die beiden konstitutiv exprimierten und niedrigaffinen K<sup>+</sup>-Aufnahmesysteme Trk und Kup sowie das induzierbare hochaffine KdpFABC-System (Laimins *et al.*, 1981). Die Gene *kdpF*, *kdpA*, *kdpB* und *kdpC* bilden ein Operon, das für vier Membranproteine kodiert. Die Induktion des *kdp*-Operons von *E. coli* erfolgt unter K<sup>+</sup>-limitierenden Bedingungen, beim Fehlen des Haupt-Kaliumtransporters Trk oder bei erhöhtem Kaliumbedarf unter hyperosmotischem Stress (Laimins *et al.*, 1981). Unter all diesen Bedingungen wird die membranintegrierte Histidinkinase KdpD autophosphoryliert und transferiert die Phosphorylgruppe zu dem cytoplasmatischen Transkriptionsregulator KdpE, was zur Induktion des *kdp*-

Operons führt (Abbildung 3.2). Darüber hinaus ist KdpD das einzige Protein, das phosphoryliertes KdpE dephosphoryliert, so dass die Signaltransduktionskaskade abgeschaltet werden kann (Jung *et al.*, 1997). Unter  $K^+$ -Limitation korreliert die KdpD/KdpE-Aktivierung umgekehrt proportional mit der externen  $K^+$ -Konzentration, wobei unter extrem  $K^+$ -limitierenden Bedingungen eine zusätzliche Verstärkung des Expressionsniveaus beobachtet wurde (Heermann *et al.*, 2014).

Dieses Induktionsprofil legt nahe, dass KdpD den Bedarf von *E. coli* nach  $K^+$  misst. Da  $K^+$  eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des Turgors spielt (der Unterschied im osmotischen Druck über die innere Membran), wurde zunächst vorgeschlagen, dass KdpD ein Turgorsensor ist (Jung *et al.*, 1997, Epstein, 1992), eine Hypothese, die nach Messungen der cytoplasmatischen Volumina verworfen werden musste (Hamann *et al.*, 2008). Alternativ wurden Änderungen der  $K^+$ -Aufnahmeraten oder Veränderungen in der Membran als Primärreize für KdpD diskutiert (Heermann and Jung, 2010).

Unlängst gelang es uns, das Rätsel zu entschlüsseln, und KdpD als einen dualen Sensor der äußeren und innen  $K^+$ -Konzentrationen zu identifizieren (Schramke *et al.*, 2016a). Wir konnten nachweisen, dass die beiden enzymatischen Aktivitäten von KdpD, Kinase und Phosphatase, direkt von  $K^+$  beeinflusst werden (Abbildung 3.2).



**Abbildung 3.2:** Schematische Darstellung des Kdp-Systems. Die Histidinkinase KdpD besitzt sowohl Kinase- als auch Phosphataseaktivität. Phosphoryliertes KdpE aktiviert die Expression der Gene, die für den hochaffinen  $K^+$ -Transporter KdpFABC kodieren. Der duale Sensor KdpD nimmt sowohl Veränderungen der extrazellulären als auch der intrazellulären  $K^+$ -Konzentration wahr. Bei ausreichender  $K^+$ -Verfügbarkeit ( $> 5$  mM) bindet extrazelluläres  $K^+$  an KdpD und hemmt die Kinaseaktivität. Intrazelluläres  $K^+$  bindet an die cytoplasmatische Domäne von KdpD und stimuliert dabei die Phosphataseaktivität.

Wenn die extrazelluläre  $K^+$ -Konzentration hoch ist ( $> 5$  mM), bindet  $K^+$  an eine äußere Bindestelle von KdpD, was zur Hemmung der Kinaseaktivität führt. Intrazelluläres  $K^+$  bindet an eine cytoplasmatische Domäne von KdpD und stimuliert die Phospha-

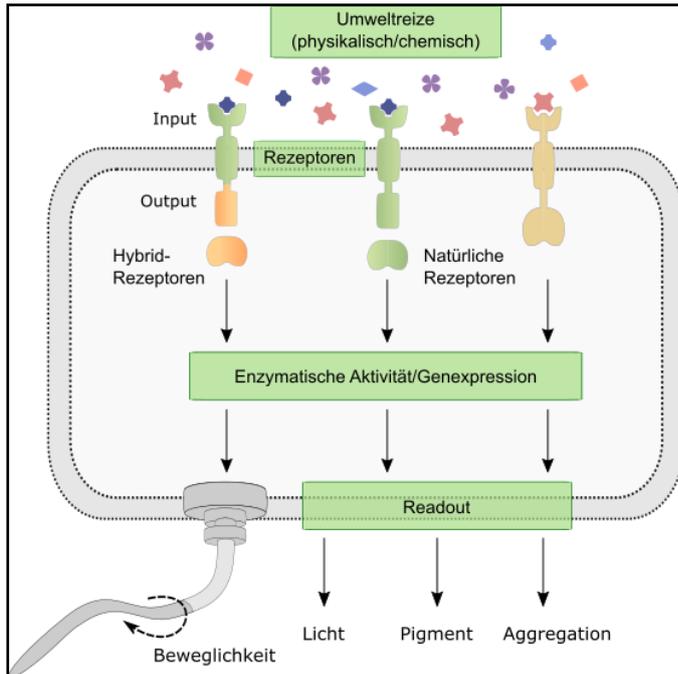
taseaktivität. Wenn die Verfügbarkeit von  $K^+$  im umgebenden Milieu unter den Schwellenwert der Inaktivierung der Kinase fällt, wird die *kdpFABC*-Expression initiiert. Solange jedoch eine intrazelluläre hohe  $K^+$ -Konzentration (250 mM) besteht, bleibt die KdpD-Phosphataseaktivität stimuliert. Fehlt *E. coli* das  $K^+$ -Aufnahmesystem Trk oder unter Bedingungen einer extremen  $K^+$ -Limitation beginnt eine Verarmung der Zelle an  $K^+$ . Unter diesen Bedingungen wird die Phosphataseaktivität nicht mehr stimuliert und KdpE bleibt phosphoryliert, was zu einer maximalen Produktion von KdpFABC führt.

Dieser duale Regulationsmechanismus ermöglicht es *E. coli* und anderen Bakterien, nicht nur auf Limitationen der Verfügbarkeit zu reagieren, indem die extrazelluläre  $K^+$ -Konzentration gemessen wird, sondern ebenso das Aktivierungsniveau auf eine sich verändernde intrazelluläre Nachfrage nach  $K^+$  zu regulieren. Unsere experimentellen Studien wurden durch mathematische Modellierungen komplettiert (Schramke *et al.*, 2016a). In Simulationsexperimenten wurde die *Dual-Sensing*-Strategie mit den beiden *Single-Sensing*-Strategien (Messung der intrazellulären oder extrazellulären  $K^+$ -Konzentration) unter Bedingungen der Variation von  $K^+$ -Verfügbarkeit und Wachstumsrate verglichen. Die *Dual-Sensing*-Strategie gewährte eindeutig die beste  $K^+$ -Homöostase unter allen getesteten Bedingungen.

Ein dualer Sensor stellt ein hochoptimiertes Regulationsprinzip dar, das den Zellen die Möglichkeit gibt, Änderungen in Angebot und Nachfrage einer limitierten Ressource direkt zu erkennen. Interessanterweise gibt es Parallelen zu zentralen Elementen der Steuerungstechnik, z. B. modernen Heizungssystemen, die mit Außen- und Innenthermometern arbeiten, um eine konstante Raumtemperatur zu gewährleisten (Killian, 2005). Natürliche duale Rezeptoren erweitern das Spektrum der zur Verfügung stehenden Bauelemente für Biosensoren.

### **Design von synthetischen Rezeptoren**

Der modulare Aufbau membrangebundener Rezeptoren ermöglicht neuartige Input-Output-Kombinationen in Form von sogenannten Chimären oder Hybridproteinen (Abbildung 3.3).



**Abbildung 3.3:** Schematische Darstellung einer Bakterienzelle, die natürliche oder synthetische (Hybrid-) Rezeptoren besitzt, um physikalische oder chemische Reize wahrzunehmen. Diese Informationen werden in unterschiedliche Reaktionen, wie z. B. Veränderungen von enzymatischen Aktivitäten oder der Genexpression umgewandelt, die wiederum messbare Reaktionen, wie z. B. Veränderungen der Beweglichkeit, das Aussenden von Licht, die Bildung von Pigmenten, oder eine Aggregation auslösen. Input- und Output-Module können neu kombiniert werden (siehe Text für Details).

So kann beispielsweise eine normalerweise transkriptionale Antwort in eine gerichtete Bewegung der Bakterien umgewandelt werden. Chemorezeptoren (MCPs, *methyl-accepting chemotaxis proteins*) bestehen im Allgemeinen aus einer variablen Reiz- (Ligand)-wahrnehmenden (Input) Domäne und einer konservierten Output-Domäne. Im Modellbakterium *E. coli* löst die Bindung eines Liganden an die Reiz-wahrnehmende Domäne eine Konformationsänderung aus, die sich in die Transmembranhelix fortsetzt (Chervitz & Falke, 1996, Ottemann *et al.*, 1999, Yu *et al.*, 2015, Ames *et al.*, 2016, Ortega *et al.*, 2017). Bemerkenswerterweise wurden ähnliche strukturelle Änderungen auch für Histidinkinasen gefunden (Gushchin *et al.*, 2017), was auf einen konservierten Mechanismus der Signalweiterleitung über die Membran hinweist. In der Tat gelang es bereits, funktionelle chimäre Rezeptoren erfolgreich zu konstruieren. So entwickelte ein Team um Mike Manson eine Repellent-Reaktion von *E. coli* auf Nitrat und Nitrit, indem die Forscher die Ligandbinde-, Transmembran- und Linker-Domänen der Histidinkinase NarX mit der Output-Domäne des Chemorezeptors Tar aus *E. coli* fusionierte (Ward *et al.*, 2002). In einer aktuellen Studie beschreiben Bi *et al.* (Bi *et al.*, 2016) weitere aktive Tar-Hybride, wobei beispielsweise der Einbau einer Vier-Helix-Bündel-Domäne gelang. Ein weiteres Tar-Hybrid wurde durch die Fusion der helikalen bimodularen (HBM) Domäne mit der Ligandbinde-Domäne des MCPs McpS aus *Pseudomonas putida* erzeugt (Ortega & Krell, 2014), so dass dieser Rezeptor das Vorhandensein von Intermediaten des Tricarbonsäure-Zyklus sowie von Acetat wahrnehmen kann (Lacal *et al.*, 2010, Pineda-Molina *et al.*, 2012). Diese Beispiele zeigen eine allgemeine Strategie auf, wie funktionelle Chimären unter Beibehaltung der konservierten Output-Domäne

eines Chemorezeptors erzeugt werden können. Diese Erkenntnisse sind nicht nur für Anwendungen in der synthetischen Biologie nützlich, sondern ermöglichen auch Studien zur Identifikation von bisher unbekanntem Liganden (Bi *et al.*, 2016).

Umgekehrt können Chemorezeptor-Inputdomänen auch mit verschiedenen Nicht-Chemorezeptor-Outputdomänen fusioniert werden. Ein Beispiel hierfür ist Taz - ein Hybrid, das aus der Aspartat-wahrnehmenden Domäne des Chemorezeptors Tar und der Kinasedomäne der Histidinkinase EnvZ besteht (Yoshida *et al.*, 2007). Natürlichlicherweise registriert EnvZ Änderungen der externen Osmolarität und reguliert zusammen mit OmpR die Transkription der Porin-kodierenden Gene *ompF* und *ompC* (Forst *et al.*, 1987, Igo *et al.*, 1989). Auf diese Weise gelang es, ein Signaltransduktionssystem zu entwickeln, das Aspartat als einen präzisen und gleichzeitig justierbaren Liganden verwendet, um eine Transkriptionsreaktion auszulösen. Diese Strategie ermöglichte nicht nur neue Einblicke in die Funktionsweise von Zweikomponentensystemen, sondern auch in die Sensorik von Tar für Aspartat (Yoshida *et al.*, 2007).

Bei der Erzeugung funktioneller chimärer Proteine wie Taz ist die richtige Wahl des Fusionspunktes entscheidend, da die Signaltransduktion intakt bleiben muss. Dementsprechend ist das verbindende strukturelle Element, ein so genannter Linker, von großer Bedeutung. Der wohl am besten untersuchte und am häufigsten vorkommende Linker in bakteriellen Signaltransduktionssystemen ist die HAMP-Domäne (Parkinson, 2010). Die HAMP-Domäne ist nach ihrem Vorhandensein in Histidinkinasen, Adenylatzyklasen, MCPs und einigen Phosphatasen benannt (Aravind & Ponting, 1999, Williams & Stewart, 1999). Strukturell sind zwei amphiphile Helices mit jeweils 16 Aminosäuren durch ein Segment verbunden, das 14 oder 15 Aminosäuren umfasst. HAMP-Domänen können eine von zwei Konformationen einnehmen, in denen das Vier-Helix-Bündel entweder lose (Airolo *et al.*, 2010) oder dicht gepackt vorliegt (Hulko *et al.*, 2006). Die steigende Zahl funktioneller Hybridrezeptoren (Diensthuber *et al.*, 2013, Reyes-Darias *et al.*, 2015, Bi *et al.*, 2016) zeigt, dass der HAMP-Linker einen zuverlässigen Signaltransduktionsmechanismus für synthetische Rezeptoren gewährleistet.

Ein weiteres signaltransduzierendes Element, das häufig Input- und Outputdomäne verknüpft, ist die "Signaling"- oder (S)-Helix, die bis zu 50 Aminosäuren umfassen kann (Anantharaman *et al.*, 2006). Bei diesem Helixtyp handelt es sich um ein paralleles *coiled-coil*-Element. Die S-Helix kann verschiedenste N-terminale Inputdomänen mit C-terminalen Outputdomänen verbinden. Eine konservierte Anordnung von polaren Aminosäuren befindet sich an der Dimer-Grenzfläche innerhalb des zentralen Heptads der *coiled-coil*-Struktur, von der angenommen wird, dass diese als ein Schaltelement wirkt. Ebenso wie HAMP kann die S-Helix zur Erzeugung funktioneller Chimären verwendet werden (Winkler *et al.*, 2012). Beispielsweise fusionierten

Winkler *et al.* die Output-Domäne der Adenylatzyklase CyaG von *Arthrospira maxima* mit der Serin-bindenden Domäne des *E. coli* Tsr-Chemorezeptors und erhielten auf diesem Wege einen mit Serin kontrollierbaren Hybridrezeptor. Diese Beispiele verdeutlichen die zentrale Bedeutung von Verbindungselementen bei der Konstruktion chimärer Transmembranrezeptoren.

Zweikomponentensysteme bieten eine weitere Möglichkeit, die Reizantwort umzulenken, da die Spezifität von Histidinkinase und Antwortregulator durch einen begrenzten Satz von Aminosäuren in jedem der beiden Protein bestimmt wird (Skerker *et al.*, 2008, Capra *et al.*, 2010). Ein Forscherteam um Michael Laub konnte auf der Basis dieses Wissens zeigen, dass der Austausch von drei Aminosäuren in einer Histidinkinase genügt, um die spezifische Wechselwirkung mit einem anderen Antwortregulator zu ermöglichen (Skerker *et al.*, 2008).

### **Variationen der bakteriellen Reizantwort**

Die Konstruktion eines chimären Rezeptors ist noch nicht ausreichend für einen neuen Biosensor, sondern es kommt auch auf die bakterielle Reizantwort an (Abbildung 3.3). Die beschriebene Chemotaxis, die in einer gerichteten Änderung der Bewegung von Bakterien resultiert, bietet eine attraktive Möglichkeit. Alternativ kann der wahrgenommene Reiz auch in eine Änderung einer enzymatischen Aktivität umgewandelt werden (Winkler *et al.*, 2012). Natürlicherweise gibt es bakterielle sensorische Systeme, in denen die Reizantwort an die Synthese oder den Abbau von zyklischem di-GMP gekoppelt sind (Hug *et al.*, 2017, Thongsomboon *et al.*, 2018). In Gram-negativen Bakterien reguliert der intrazelluläre Spiegel von zyklischem di-GMP beispielsweise den Wechsel zwischen sessiler und beweglicher Lebensweise (Hengge, 2009, Hug *et al.*, 2017). Dementsprechend könnte die Aggregatbildung als Reporterantwort verwendet werden.

Die häufigste bakterielle Reizantwort auf einen externen Reiz ist eine Veränderung der Transkriptionsaktivität bestimmter Gene. Repräsentativ dafür sollen Reporterproteine, wie die  $\beta$ -Galaktosidase LacZ (Fried *et al.*, 2012, Beckwith, 2013) oder das Luciferase-System LuxCDABE, genannt werden, die die Umwandlung des externen Reizes in eine visuelle und quantifizierbare Antwort ermöglichen. Wenn fluoreszierende Proteine wie GFP oder mCherry verwendet werden, ist die transkriptionale Antwort sogar auf Einzelzell-Ebene nachweisbar (Vilhena *et al.*, 2018).

Eine aktuelle Studie illustriert, wie durch die Kombination der dargelegten Prinzipien *E. coli* die RGB-Farb Wahrnehmung „beigebracht“ werden kann (Fernandez-Rodriguez *et al.*, 2017), was das Potenzial bakterieller sensorischer Systeme in der synthetischen Biologie unterstreicht.

## **Zusammenfassung**

Die Natur ist uns Forschern mit 3 Milliarden Jahren Zeit für die Evolution von bakteriellen sensorischen Systemen voraus. In Anbetracht dessen ist es Forscherteams weltweit in einem relativ kurzen Zeitraum gelungen, grundsätzliche Designprinzipien von natürlichen sensorischen Systemen zu entschlüsseln. Dennoch verstehen wir erst einen Bruchteil der Designprinzipien des Lebens. Neue Erkenntnisse sind wiederum die Voraussetzung, um Biosensoren mit Anwendung in Industrie und Medizin zu konstruieren.

## **Danksagung**

Wir danken allen gegenwärtigen und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe für die Beiträge zu dieser Forschung. Diese Arbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Ex114/2 für K.J. und GRK2062 für K.J. und J.L.) unterstützt.

**Literatur:**

- Airola, M.V., K.J. Watts, A.M. Bilwes & B.R. Crane, (2010) Structure of concatenated HAMP domains provides a mechanism for signal transduction. *Structure* **18**: 436-448.
- Ames, P., S. Hunter & J.S. Parkinson, (2016) Evidence for a helix-clutch mechanism of transmembrane signaling in a bacterial chemoreceptor. *J. Mol. Biol.* **428**: 3776-3788.
- Anantharaman, V., S. Balaji & L. Aravind, (2006) The signaling helix: a common functional theme in diverse signaling proteins. *Biol. Direct* **1**: 25.
- Aravind, L. & C.P. Ponting, (1999) The cytoplasmic helical linker domain of receptor histidine kinase and methyl-accepting proteins is common to many prokaryotic signalling proteins. *FEMS Microbiol. Lett.* **176**: 111-116.
- Beckwith, J., (2013) Fifty years fused to *lac*. *Annu. Rev. Microbiol.* **67**: 1-19.
- Bi, S., A.M. Pollard, Y. Yang, F. Jin & V. Sourjik, (2016) Engineering hybrid chemotaxis receptors in bacteria. *ACS Synth. Biol.* **5**: 989-1001.
- Booth, I.R., (1985) Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol. Rev.* **49**: 359-378.
- Capra, E.J., B.S. Perchuk, E.A. Lubin, O. Ashenberg, J.M. Skerker & M.T. Laub, (2010) Systematic dissection and trajectory-scanning mutagenesis of the molecular interface that ensures specificity of two-component signaling pathways. *PLoS Genet.* **6**: e1001220.
- Chervitz, S.A. & J.J. Falke, (1996) Molecular mechanism of transmembrane signaling by the aspartate receptor: a model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 2545-2550.
- Claesen, J. & M.A. Fischbach, (2015) Synthetic microbes as drug delivery systems. *ACS Synth. Biol.* **4**: 358-364.
- Diensthuber, R.P., M. Bommer, T. Gleichmann & A. Möglich, (2013) Full-length structure of a sensor histidine kinase pinpoints coaxial coiled coils as signal transducers and modulators. *Structure* **21**: 1127-1136.
- Epstein, W., (1992) Kdp, a bacterial P-type ATPase whose expression and activity are regulated by turgor pressure. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* **607**: 193-199.
- Epstein, W., (2003) The roles and regulation of potassium in bacteria. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **75**: 293-320.
- Fernandez-Rodriguez, J., F. Moser, M. Song & C.A. Voigt, (2017) Engineering RGB color vision into *Escherichia coli*. *Nat. Chem. Biol.* **13**: 706-708.
- Forst, S., D. Comeau, S. Norioka & M. Inouye, (1987) Localization and membrane topology of EnvZ, a protein involved in osmoregulation of OmpF and OmpC in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **262**: 16433-16438.
- Fried, L., J. Lassak & K. Jung, (2012) A comprehensive toolbox for the rapid construction of *lacZ* fusion reporters. *J. Microbiol. Methods* **91**: 537-543.
- Galperin, M.Y., (2004) Bacterial signal transduction network in a genomic perspective. *Environ. Microbiol.* **6**: 552-567.
- Galperin, M.Y., (2005) A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiol.* **5**: 35.

- Gushchin, I., I. Melnikov, V. Polovinkin, A. Ishchenko, A. Yuzhakova, P. Buslaev, G. Bourenkov, S. Grudin, E. Round, T. Balandin, V. Borshchevskiy, D. Willbold, G. Leonard, G. Buldt, A. Popov & V. Gordeliy, (2017) Mechanism of transmembrane signaling by sensor histidine kinases. *Science* **356**.
- Hamann, K., P. Zimmann & K. Altendorf, (2008) Reduction of turgor is not the stimulus for the sensor kinase KdpD of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **190**: 2360-2367.
- Heermann, R. & K. Jung (2010) The complexity of the „simple“ two-component-system KdpD/KdpE in *Escherichia coli*, *FEMS Microb. Lett.* **304**: 97-106.
- Heermann, R., K. Zigann, S. Gayer, M. Rodriguez-Fernandez, J.R. Banga, A. Kremling & K. Jung, (2014) Dynamics of an interactive network composed of a bacterial two-component system, a transporter and K<sup>+</sup> as mediator. *Plos One* **9**: e89671.
- Helmann, J.D., (2002) The extracytoplasmic function (ECF) sigma factors. *Adv. Microb. Physiol.* **46**: 47-110.
- Hengge, R., (2009) Principles of c-di-GMP signalling in bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**: 263-273.
- Hug, I., S. Deshpande, K.S. Sprecher, T. Pfohl & U. Jenal, (2017) Second messenger-mediated tactile response by a bacterial rotary motor. *Science* **358**: 531-534.
- Hulko, M., F. Berndt, M. Gruber, J.U. Linder, V. Truffault, A. Schultz, J. Martin, J.E. Schultz, A.N. Lupas & M. Coles, (2006) The HAMP domain structure implies helix rotation in transmembrane signaling. *Cell* **126**: 929-940.
- Igo, M.M., A.J. Ninfa, J.B. Stock & T.J. Silhavy, (1989) Phosphorylation and dephosphorylation of a bacterial transcriptional activator by a transmembrane receptor. *Genes Dev.* **3**: 1725-1734.
- Jung, K., B. Tjaden & K. Altendorf, (1997) Purification, reconstitution, and characterization of KdpD, the turgor sensor of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **272**: 10847-10852.
- Killian, C., (2005) *Modern Control Technology*. Thomson Delmar Learning.
- Lacal, J., C. Alfonso, X. Liu, R.E. Parales, B. Morel, F. Conejero-Lara, G. Rivas, E. Duque, J.L. Ramos & T. Krell, (2010) Identification of a chemoreceptor for tricarboxylic acid cycle intermediates: differential chemotactic response towards receptor ligands. *J. Biol. Chem.* **285**: 23126-23136.
- Laimins, L.A., D.B. Rhoads & W. Epstein, (1981) Osmotic control of kdp operon expression in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**: 464-468.
- Miller, V.L., R.K. Taylor & J.J. Mekalanos, (1987) Cholera toxin transcriptional activator ToxR is a transmembrane DNA binding protein. *Cell* **48**: 271-279.
- Ortega, A. & T. Krell, (2014) The HBM domain: introducing bimodularity to bacterial sensing. *Protein Sci.* **23**: 332-336.
- Ortega, A., I.B. Zhulin & T. Krell, (2017) Sensory repertoire of bacterial chemoreceptors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **81**: e00033-17.
- Ottemann, K.M., W. Xiao, Y.K. Shin & D.E. Koshland, Jr., (1999) A piston model for transmembrane signaling of the aspartate receptor. *Science* **285**: 1751-1754.
- Parkinson, J.S., (2010) Signaling mechanisms of HAMP domains in chemoreceptors and sensor kinases. *Annu. Rev. Microbiol.* **64**: 101-122.

- Pineda-Molina, E., J.A. Reyes-Darias, J. Lacal, J.L. Ramos, J.M. Garcia-Ruiz, J.A. Gavira & T. Krell, (2012) Evidence for chemoreceptors with bimodular ligand-binding regions harboring two signal-binding sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**: 18926-18931.
- Prindle, A., P. Samayoa, I. Razinkov, T. Danino, L.S. Tsimring & J. Hasty, (2012) A sensing array of radically coupled genetic 'biopixels'. *Nature* **481**: 39-44.
- Reyes-Darias, J.A., V. Garcia, M. Rico-Jimenez, A. Corral-Lugo, O. Lesouhaitier, D. Juarez-Hernandez, Y. Yang, S. Bi, M. Feuilleley, J. Munoz-Rojas, V. Sourjik & T. Krell, (2015) Specific gamma-aminobutyrate chemotaxis in pseudomonads with different lifestyle. *Mol. Microbiol.* **97**: 488-501.
- Saeidi, N., C.K. Wong, T.M. Lo, H.X. Nguyen, H. Ling, S.S. Leong, C.L. Poh & M.W. Chang, (2011) Engineering microbes to sense and eradicate *Pseudomonas aeruginosa*, a human pathogen. *Mol. Syst. Biol.* **7**: 521.
- Salis, H., A. Tamsir & C. Voigt, (2009) Engineering bacterial signals and sensors. *Contrib. Microbiol.* **16**: 194-225.
- Schramke, H., F. Tostevin, R. Heermann, U. Gerland & K. Jung, (2016a) A dual-sensing receptor confers robust cellular homeostasis. *Cell Rep.* **16**: 213-221.
- Schramke, H., Y. Wang, R. Heermann & K. Jung, (2016b) Stimulus perception by histidine kinases. In: Stress and environmental regulation of gene expression and adaptation in bacteria. Edited by Frans J. de Bruijn. John Wiley & Sons, Inc., pp. 282-300.
- Singh, V., (2014) Recent advances and opportunities in synthetic logic gates engineering in living cells. *Syst. Synth. Biol.* **8**: 271-282.
- Skerker, J.M., B.S. Perchuk, A. Siryaporn, E.A. Lubin, O. Ashenberg, M. Goulian & M.T. Laub, (2008) Rewiring the specificity of two-component signal transduction systems. *Cell* **133**: 1043-1054.
- Stock, A.M., V.L. Robinson & P.N. Goudreau, (2000) Two-component signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* **69**: 183-215.
- Suelter, C.H., (1970) Enzymes activated by monovalent cations. *Science* **168**: 789-795.
- Thongsomboon, W., D.O. Serra, A. Possling, C. Hadjineophytou, R. Hengge & L. Cegelski, (2018) Phosphoethanolamine cellulose: A naturally produced chemically modified cellulose. *Science* **359**: 334-338.
- Vilhena, C., E. Kaganovitch, J.Y. Shin, A. Grünberger, S. Behr, I. Kristoficova, S. Brameyer, D. Kohlheyer & K. Jung, (2018) A single-cell view of the BtsSR/YpdAB pyruvate sensing network in *Escherichia coli* and its biological relevance. *J. Bacteriol.* **200**: e00536-00517.
- Ward, S.M., A. Delgado, R.P. Gunsalus & M.D. Manson, (2002) A NarX-Tar chimera mediates repellent chemotaxis to nitrate and nitrite. *Mol. Microbiol.* **44**: 709-719.
- Williams, S.B. & V. Stewart, (1999) Functional similarities among two-component sensors and methyl-accepting chemotaxis proteins suggest a role for linker region amphipathic helices in transmembrane signal transduction. *Mol. Microbiol.* **33**: 1093-1102.
- Winkler, K., A. Schultz & J.E. Schultz, (2012) The S-Helix Determines the signal in a Tsr receptor/adenylyl cyclase reporter. *J. Biol. Chem.* **287**: 15479-15488.
- Wuichet, K. & I.B. Zhulin, (2010) Origins and diversification of a complex signal transduction system in prokaryotes. *Sci. Signal.* **3**.

Yoshida, T., S. Phadtare & M. Inouye, (2007) The design and development of Tar-EnvZ chimeric receptors. *Methods Enzymol.* **423**: 166-183.

Yu, D.Q., X.M. Ma, Y.H. Tu & L.H. Lai, (2015) Both piston-like and rotational motions are present in bacterial chemoreceptor signaling. *Sci. Rep.* **5**.

## **4. Perspektiven der Synthetischen Biologie für die Gewinnung neuartiger biomolekularer Werkzeuge und Wirkstoffe**

**Arne Skerra**

Lehrstuhl für Biologische Chemie, Technische Universität München

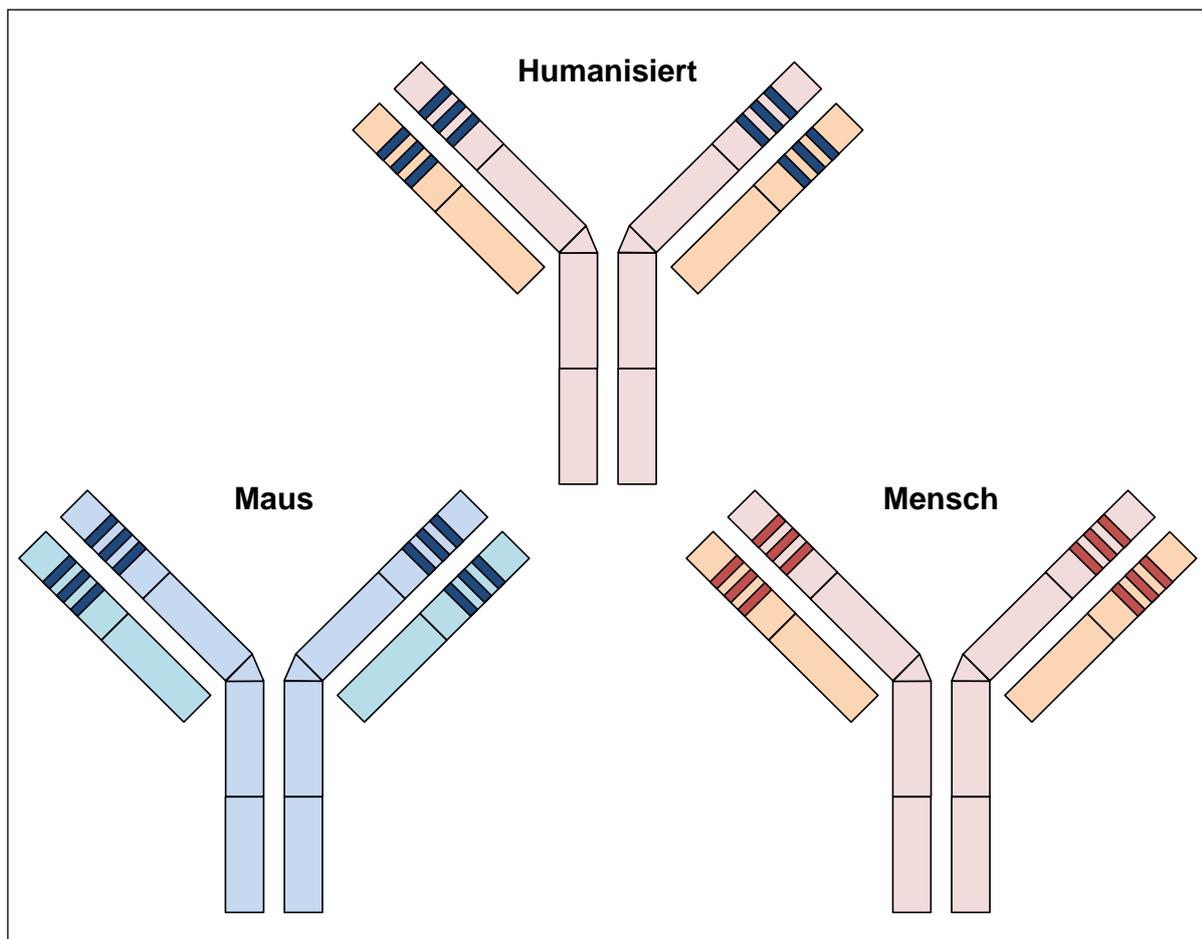
### **4.1 Protein-Engineering der nächsten Generation**

Seit Beginn der 80er Jahre können Proteine mit den Methoden der Gentechnik in Zellen bzw. Organismen nahezu auf Wunsch produziert werden. Die sogenannten Polypeptide werden dabei am Ribosom durch Aneinanderhängen aktivierter Aminosäurebausteine unter Ablesen bzw. Übersetzen der Boten-RNS (mRNA) synthetisiert (Translation), welche ihrerseits durch Ablesen (Transkription) der genetischen Information in der Erbsubstanz (DNS/DNA) gebildet wird. In den ersten Jahrzehnten stand die „Überproduktion“ von naturidentischen Proteinen für Anwendungen in der Roten oder Weißen Biotechnologie im Vordergrund, wobei das methodische Instrumentarium ausgehend von dem Laborbakterium *Escherichia coli* über andere Mikroorganismen (insbesondere Hefe) sowie Säugerzellkulturen bis zu tierischen und pflanzlichen Organismen weiterentwickelt wurde. Gerade in der Roten Biotechnologie war dies ein voller Erfolg; so sind heute mehrere hundert Proteine als biologische Wirkstoffe für die medizinische Therapie zugelassen, vom Insulin über Interferone bis zu Blutgerinnungsfaktoren [1].

Darüber hinaus ist es vor allem aufgrund der leichten Manipulierbarkeit der durch automatisierte chemische Synthese verfügbaren DNA möglich geworden, die Aminosäuresequenz eines Proteins nach Belieben zu verändern. So können nicht nur Aminosäuren ausgetauscht werden, möglich sind auch Einfügungen (Insertionen), die Entfernung von Sequenzabschnitten (Deletionen) und sogar die Anordnung kodierender Abschnitte für unterschiedliche Polypeptide in einem einzelnen zusammenhängenden Leserahmen, was zu sogenannten Fusionsproteinen führt. Voraussetzung für eine nutzbringende Anwendung ist dabei jedoch, dass die so hergestellten veränderten Polypeptide nach wie vor die Befähigung zur Faltung besitzen; denn erst die spezifische dreidimensionale Gestalt verleiht einem Protein seine biologische oder pharmakologische Funktion. Auf dieser Grundlage ist das Forschungsgebiet Protein-Engineering entstanden [2], welches neben grundlagenwissenschaftlichem Erkenntnisgewinn zur Struktur und Funktion der Proteine konkrete Ziele für deren praktischen Einsatz verfolgt: So sollen verbesserte Proteine mit erhöhter Stabilität

unter Einsatzbedingungen und vor allem mit größerer oder gar neuer Wirksamkeit gewonnen werden.

Für die medizinische Anwendung werden so Biopharmazeutika mit weniger Nebenwirkungen und gezielterer pharmakologischer Aktivität zugänglich [1]. Prominente Beispiele hierfür sind Insulinvarianten mit optimiertem Wirkprofil oder, vor allem in der Krebstherapie, die sogenannten humanisierten Antikörper. Dabei ist die Bindungsstelle eines aus der Maus gewonnenen monoklonalen Antikörpers auf die Gerüststruktur eines menschlichen Immunglobulins transplantiert, so dass das resultierende hybride Protein keine Abstoßungsreaktion im Körper des Patienten hervorruft [3]. Daneben werden in der industriellen Biotechnologie zunehmend maßgeschneiderte Enzyme als innovative Biokatalysatoren eingesetzt, um Industriechemikalien oder Vorprodukte für Kunststoffe, welche traditionell aus petrochemischen Quellen zugänglich sind, auf der Grundlage nachwachsender Rohstoffe herzustellen [4].



**Abbildung 4.1:** Humanisierung eines Antikörpers durch Transplantation der insgesamt sechs hypervariablen Schleifen, welche die Antigen-Bindungsstelle bilden, aus einem monoklonalen Antikörper der Maus.

Bei diesen innovativen Ansätzen besteht eine fließende Grenze zum Protein-Design, bei dem die Realisierung gänzlich neuer Proteinfunktionen (oder -strukturen) angestrebt wird. Ein Beispiel hierfür ist die in unserem Labor entwickelte Anticalin-Technologie [5]. Hierzu werden Proteine der Lipocalin-Familie, die im menschlichen Körper natürlicherweise vorkommen, sozusagen als Gerüststrukturen (Scaffolds) verwendet, um hochspezifische Bindestellen für medizinisch relevante Zielmoleküle (Targets) zu generieren. Zahlreiche Anticaline mit diversen Bindespezifitäten wurden in den vergangenen Jahren in unserem Labor generiert, unter anderem gegen das Alzheimer-Amyloidpeptid, gegen die Extradomäne B des Onkofötalen Fibronektins, welches bei der Gefäßneubildung in Tumoren eine Rolle spielt, oder gegen Giftstoffe wie Colchicin. Die Anticaline sind mit einer einzigen Polypeptidkette wesentlich einfacher aufgebaut als Antikörper, und sie besitzen nur etwa ein Zehntel ihrer Größe. Dies gestattet nicht nur einfachere Herstellungsverfahren – nämlich in Laborbakterien gegenüber teuren Zellkulturen – sondern eröffnet auch neue Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin. Auf Betreiben unserer Ausgründung Pieris Pharmaceuticals, Inc. haben bereits mehrere Anticalin-Wirkstoffe das Stadium klinischer Prüfung an Patienten erreicht.

#### **4.2 Erweiterung des genetischen Codes**

Eine Beschränkung für das Protein-Engineering und -Design stellt die Verfügbarkeit von bloß 20 unterschiedlichen proteinogenen Aminosäurebausteinen dar. Diese werden auf genetischer Ebene von insgesamt 61 Triplets aus den vier DNA Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin kodiert, wobei drei weitere Stop-Codons (insgesamt also 64) dem Ribosom das Ende der Polypeptidkette signalisieren. Der genetische Code ist degeneriert, das heißt, einzelne Aminosäuren werden von insgesamt bis zu sechs verschiedenen Triplets kodiert. Im Prinzip könnte der genetische Code daher durchaus auch die Information für weitere Aminosäuren speichern. Diese theoretische Möglichkeit wird von der Natur jedoch kaum genutzt [6]; so gilt das Selenocystein als die „21.“ Aminosäure, welche in vereinzelt Genen unterschiedlicher Organismen durch ein zweckentfremdetes Stop-Codon für die Proteinbiosynthese rekrutiert wird. Nur aus den exotischen Archaeobakterien ist noch eine „22.“ Aminosäure bekannt, das sogenannte Pyrrolysin.

Um Funktionen zu realisieren, die über das Spektrum dieser natürlichen Aminosäuren hinausgehen, nutzt die Natur die sogenannte posttranslationale Modifikation. Hierbei werden nach Abschluss der Proteinbiosynthese am Ribosom durch zelluläre Enzyme biochemische Gruppen an bestimmte Aminosäureseitenketten angehängt oder diese in ihrer Struktur modifiziert. Wohlbekannte Beispiele sind die Verknüpfung mit Zuckerresten (Glycosylierung), die Ausbildung von Disulfidbrücken oder das An-

hängen von Lipidschwänzen als biologische Membrananker. Problematisch für die biotechnologische Anwendung ist, dass die Einführung solcher posttranslationaler Modifikationen nicht so präzise geregelt ist wie die Aminosäureabfolge in einem kodierenden Gen; vielmehr hängen der exakte Ort und das Ausmaß der Modifikation von der verwendeten Wirtszelle, dem Wachstumsmedium, der Geschwindigkeit der Proteinbiosynthese sowie dem Enzym/Substrat-Verhältnis des jeweils zuständigen modifizierenden Enzyms ab.

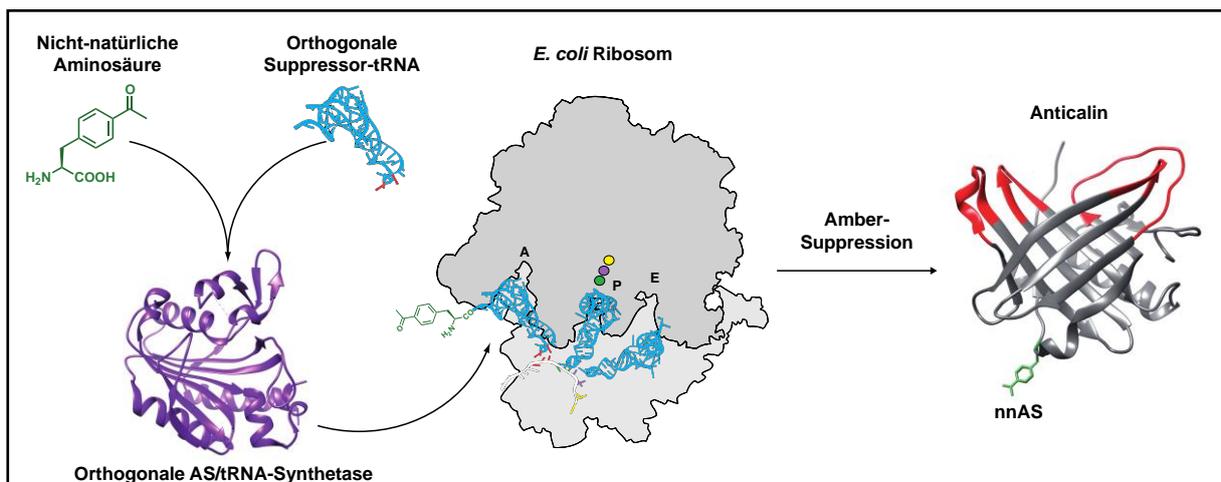
		Zweite Base				
		U	C	A	G	
Erste Base	U	UUU } Phe UUC } Leu UUA } UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } End UAG } End	UGU } Cys UGC } UGA } End UGG } Trp	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } Gln CAA } CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } Lys AAA } AAG }	AGU } Ser AGC } Arg AGA } AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } Glu GAA } GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

Triplets, z.B. des Stop-Codons UAG (Amber).

Um daher den gezielteren Einbau modifizierter Aminosäureseitenketten zu bewerkstelligen oder gar gänzlich neue Aminosäureseitenketten, die in der Natur gar nicht vorkommen, in Proteine zielgerichtet einzuführen, wurden Bestrebungen zur Erweiterung des genetischen Codes begonnen [7,8]. Dies erfordert drei Maßnahmen: Erstens muß ein freies Triplet gefunden werden, das nicht anderweitig für die Proteinbiosynthese verwendet wird; hierfür bietet sich ein seltenes Stop-Codon an (insbesondere das sogenannte Amber-Stop-Codon). Zweitens benötigt man eine Transfer-RNS (tRNA), welche mit ihrem Anticodon dieses Triplet erkennt, andererseits aber nicht als Substrat für zelluläre Enzyme dient. Dritte und wesentliche Komponente ist eine Aminoacyl-tRNA-Synthetase, welche gezielt nur diese (Suppressor)-tRNA erkennt und sie mit der künstlichen Aminosäure belädt. Das Ribosom erledigt dann alles Weitere; das heißt, trifft es bei der Proteinbiosynthese an der mRNA auf das seltene Codon, so baut es mit Hilfe der beladenen Suppressor-tRNA die Fremdamino-

säure direkt in die wachsende Polypeptidkette ein. Die künstliche Aminosäure ihrerseits kann meist dem Kulturmedium einfach zugegeben werden, was zur Aufnahme in die Zelle führt.

Aufwendiger ist die Gewinnung einer geeigneten Aminoacyl-tRNA-Synthetase; hierfür ist fortgeschrittenes Enzym-Engineering gefragt. Idealen Ausgangspunkt für solch ein Projekt bieten Aminoacyl-tRNA-Synthetasen (oft aus einem exotischen Mikroorganismus), die zwar mit der gewählten Suppressor-tRNA kompatibel sind, nicht jedoch tRNAs des gentechnischen Wirtsorganismus, beispielsweise *E. coli*, beladen können. Man spricht in diesem Fall von einem orthogonalen System. In diesem Enzym wird dann das aktive Zentrum durch Austausch dortiger Aminosäureseitenketten dahingehend abgewandelt, dass Spezifität für die neue nicht-natürliche Aminosäure als Substrat entsteht. Dies ist ein Protein-Engineering-Projekt für sich, welches sich üblicherweise sowohl rationaler als auch kombinatorischer Methoden bedient. Wurde eine Aminoacyl-tRNA-Synthetase mit der gewünschten Aminosäurespezifität einmal konstruiert, so lässt sie sich quasi als Modul für unterschiedliche Anwendungen zur Biosynthese von diversen funktionalisierten Proteinen einsetzen [9].

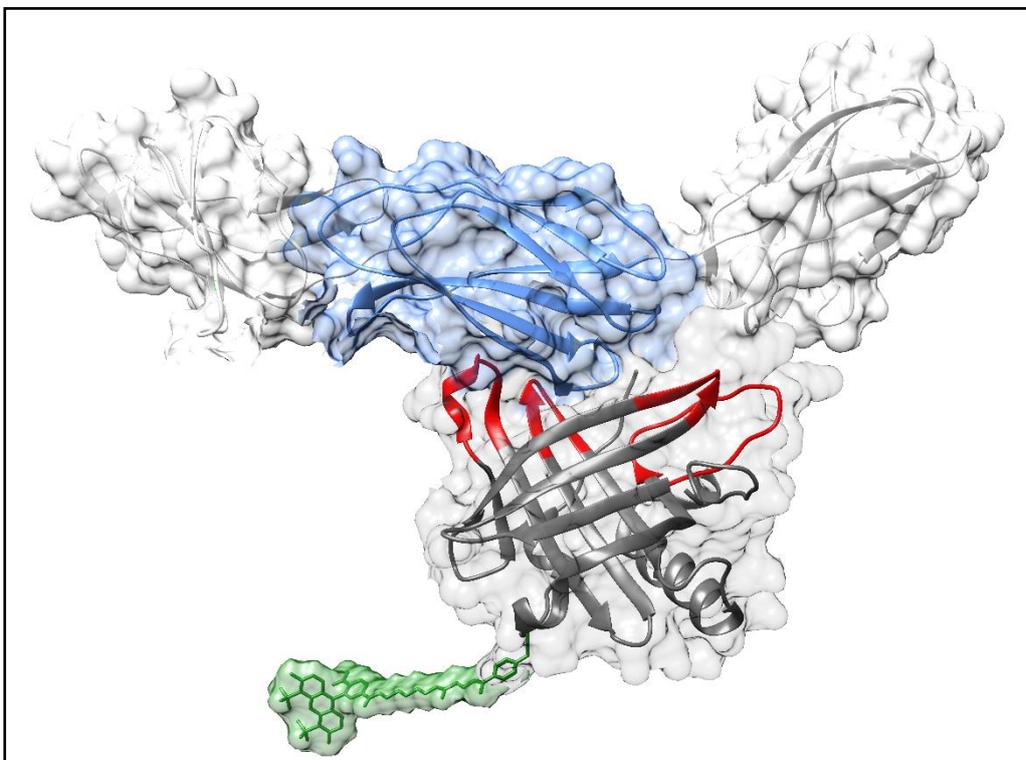


**Abbildung 4.3:** Kotranslationaler Einbau nicht-natürlicher Aminosäuren (nnAS) am Ribosom, hier in ein Anticalin.

#### 4.3 Proteine mit neuartigen funktionellen Aminosäureseitenketten

Inspiriert durch wegweisende Arbeiten in den USA [8] wurden in unserem Labor Expressionssysteme für eine Reihe von nicht-natürlichen Aminosäuren etabliert bzw. entsprechende Aminoacyl-tRNA-Synthetasen generiert [9]. Auf diese Weise können wir nun verschiedene neue Aminosäurefunktionen in vorhandene Proteine von Interesse einbauen. Unser Schwerpunkt liegt dabei einerseits auf spektroskopischen Funktionen und andererseits auf selektiven chemischen Bindungseigenschaften.

So ist es uns beispielsweise gelungen, neue fluoreszierende Proteine zu kreieren. In einem Fall haben wir die natürliche Tyrosinseitenkette im Chromophor des grün fluoreszierenden Proteins (GFP) durch Methyltyrosin ersetzt, wobei sich das Anregungs- und Emissionsspektrum des GFP in charakteristischer Weise verschiebt [9]. In einem weiteren Anwendungsbeispiel haben wir in dem cyan fluoreszierenden Protein (CFP) eine zusätzliche fluoreszierende Gruppe als Aminosäureseitenkette eingebaut, das Hydroxymethylcumarin, welches mit dem eigentlichen Fluorophor des CFP ein sogenanntes Förster-Paar bildet [10]. Auf diese Weise wurde ein völlig neues fluoreszierendes Protein erhalten, welches sich sogar mit ultraviolettem Licht anregen lässt, aber im sichtbaren Bereich leuchtet.

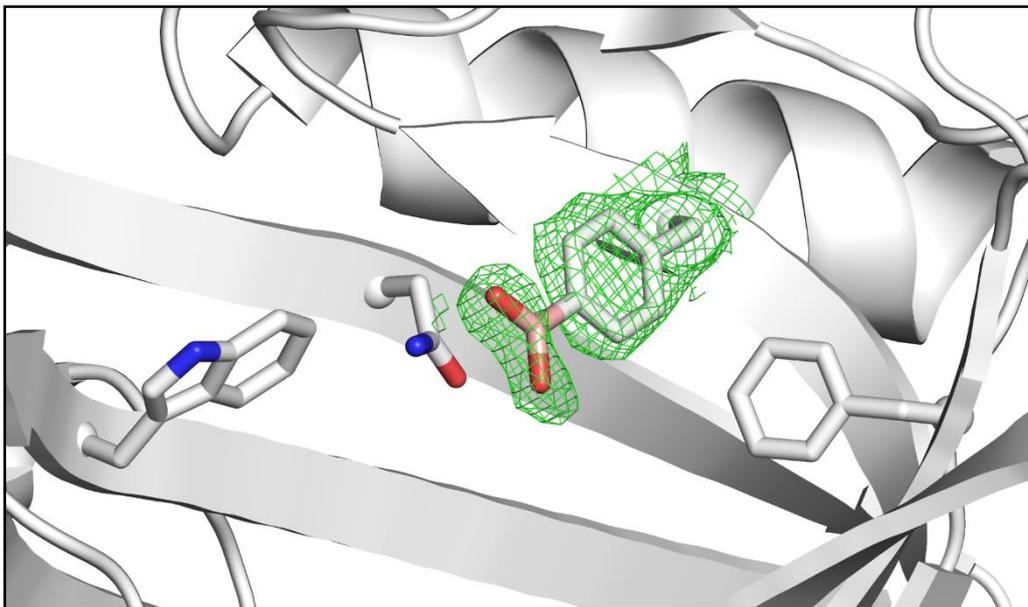


**Abbildung 4.4:** Modell eines Anticalins – im Komplex mit einem Fragment des Onkofötalen Fibronektins – mit einer künstlichen Keto-Seitenkette, an die ein fluoreszierender Farbstoff selektiv angekoppelt wurde.

Im Fall der chemischen Funktionalisierung ist es uns gelungen, eine Acetophenyl-Seitenkette in ein Anticalin mit tumorrelevanter Bindungsspezifität einzubauen [11]. Die Ketogruppe dieser Seitenkette erlaubt die gezielte chemische Kopplung mit Hydroxylamin- oder Hydrazingruppen unter milden biochemischen Bedingungen. Entsprechende Derivate von fluoreszierenden Farbstoffen, Chelatbildnern (für Radionuklide) oder Toxinen sind kommerziell verfügbar oder synthetisch leicht zugänglich. Durch die selektive chemische Reaktivität der Ketogruppe, die sonst in Biomolekülen

nicht vorkommt, ist eine sogenannte bioorthogonale Konjugation des entsprechenden Proteins mit derlei funktionellen Komponenten unter schonenden Bedingungen möglich, was zu neuartigen Wirkstoffen mit multiplen Eigenschaften führt.

In einem weiteren Beispiel konnten wir eine Boronophenyl-Seitenkette direkt in die Bindungstasche eines Anticalins einführen [12]. Es ist lange bekannt, dass solche Boronsäuregruppen zyklische Diester mit Dialkoholen bilden können, wie sie insbesondere in Zuckerstrukturen vorkommen. Auf diese Weise konnten wir also eine einfache Zuckerbindenfunktion in dem Anticalin implementieren. Im nächsten Schritt wollen wir nun dessen umgebende Bindetasche durch konventionelles Protein-Engineering so abwandeln, dass hohe Spezifität für tumorrelevante Zuckerstrukturen entsteht, was interessante Perspektiven in der biomedizinischen Forschung eröffnet.



**Abbildung 4.5:** Kristallstruktur eines Anticalins mit einer Phenylboronsäure-Seitenkette (Bpa), die Zuckerbindungsaktivität verleiht (das Gitter zeigt die in der Röntgen-Strukturanalyse sichtbare Elektronendichte für die synthetische Molekülgruppe an).

Wie diese Beispiele zeigen, hat die Synthetische Biologie auch in das Gebiet der modernen Proteinforschung Einzug gehalten. Im Mittelpunkt dieser Entwicklung stehen weniger genetische oder metabolische Netzwerke sondern das Bestreben, hybride Proteinwirkstoffe mit völlig neuartigen Funktionen hervorzubringen, wie es nur eine Kombination von biologischen Systemen mit chemisch-synthetischen Ansätzen vermag.

**Literatur:**

1. Schürle, K. and Skerra, A. (2015) Rekombinante therapeutische Proteine — eine Erfolgsgeschichte. *BIOspektrum* **21**, 36-38.
2. Ulmer, K.M. (1983) Protein engineering. *Science* **219**, 666-671.
3. Strohl, W.R. and Strohl, L.M., *Therapeutic Antibody Engineering: Current and Future Advances Driving the Strongest Growth Area in the Pharmaceutical Industry*. Woodhead Publishing Series in Biomedicine. 2012, Cambridge, UK: Woodhead.
4. Grunwald, P., *Biocatalysis – Biochemical Fundamentals and Applications*. 2nd ed. 2017, Singapore: World Scientific Publ.
5. Richter, A., Eggenstein, E. and Skerra, A. (2014) Anticalins: exploiting a non-Ig scaffold with hypervariable loops for the engineering of binding proteins. *FEBS Lett* **588**, 213-218.
6. Ambrogelly, A., Palioura, S. and Söll, D. (2007) Natural expansion of the genetic code. *Nat Chem Biol* **3**, 29-35.
7. Wals, K. and Ovaas, H. (2014) Unnatural amino acid incorporation in *E. coli*: current and future applications in the design of therapeutic proteins. *Front Chem* **2**, 15.
8. Young, T.S. and Schultz, P.G. (2010) Beyond the canonical 20 amino acids: expanding the genetic lexicon. *J Biol Chem* **285**, 11039-11044.
9. Kuhn, S.M., Rubini, M., Fuhrmann, M., Theobald, I. and Skerra, A. (2010) Engineering of an orthogonal aminoacyl-tRNA synthetase for efficient incorporation of the non-natural amino acid O-methyl-L-tyrosine using fluorescence-based bacterial cell sorting. *J Mol Biol* **404**, 70-87.
10. Kuhn, S.M., Rubini, M., Müller, M.A. and Skerra, A. (2011) Biosynthesis of a fluorescent protein with extreme pseudo-Stokes shift by introducing a genetically encoded non-natural amino acid outside the fluorophore. *J Am Chem Soc* **133**, 3708-3711.
11. Reichert, A.J., Poxleitner, G., Dauner, M. and Skerra, A. (2015) Optimisation of a system for the co-translational incorporation of a keto amino acid and its application to a tumour-specific Anticalin. *Protein Eng Des Sel* **28**, 553-565.
12. Edwardraja, S., Eichinger, A., Theobald, I., Sommer, C.A., Reichert, A.J. and Skerra, A. (2017) Rational design of an Anticalin-type sugar-binding protein using a genetically encoded boronate side chain. *ACS Synth Biol* **6**, 2241-2247.

## 5. Bioethische Aspekte der Synthetischen Biologie

### Thomas Brill

Ludwig-Maximilians-Universität München, Hochschule München und  
Ethris GmbH, Planegg

#### 5.1 Einführung

Um negative Entwicklungen hinsichtlich öffentlicher Akzeptanz, wie bei der grünen Gentechnik oder der friedlichen Nutzung der Kernkraft, zu verhindern - um also ein „SynBio-Desaster“ zu vermeiden, soll verstärkt die Öffentlichkeit in die Entwicklung neuer Wissenschaftsfelder mit einbezogen werden (Dana, 2012). Im Rahmen dieses Bestrebens wird es auch bei anderen sog. „aufkommenden Wissenschaften“ („emerging science“ - z. B. Nanotechnologie, Künstliche Intelligenz, Cloud Computing und Biokraftstoffe) für notwendig erachtet, mittels verschiedener Maßnahmen die Informationen über die spezifischen wissenschaftliche Inhalte einerseits, aber auch über Kosten und Nutzen sowie über politische und ethische Aspekte dieser aufkommenden Wissenschaftsfelder in die Öffentlichkeit zu tragen (Forsberg, 2016).

Ethische Fragen dieser Wissenschaftsfelder werden außer in Fachpublikationen ebenfalls öffentlich diskutiert; so sollen in diesem Artikel ethischen Aspekte der Synthetischen Biologie (SynBio) auf Basis des 2009 erschienenen Berichts „Synthetische Biologie – Ethische Überlegungen“ der Eidgenössischen Ethikkommission für die Biotechnologie im Außerhumanbereich (Abk. EKAH-Bericht) erläutert werden. (Details zur Auswahl dieses Textes siehe Punkt 5.3). Dieses Publikationsjahr deutet natürlich auf eine gewisse zeitliche Ferne zum Wissensstand des Jahres 2018 hin - diese zeitliche Entfernung wird in den Geisteswissenschaften als weniger kritisch angesehen als in den Naturwissenschaften (siehe auch Punkt 5.4: Ausblick).

Neben bioethischen Fragen eher allgemeiner Natur - wie z. B. Fragen der Verteilungsgerechtigkeit, der Patentierbarkeit und der Dual-Use-Problematik, die nahezu mit jedem naturwissenschaftlichen Forschungszweig verbunden sind, gibt es auch einige für das Feld der SynBio spezifische Fragen und Aspekte, die einer ethischen Betrachtung bedürfen:

- Risiko-Nutzen-Abwägungen auch im Hinblick auf Alternativmethoden, deren Verfolgung/Intensivierung zu einem Nicht-Weiter-Verfolgen der SynBio-Arbeiten führen würde (Starkbaum, 2015).
- Selbstverständnis der auf dem Feld der SynBio arbeitenden Wissenschaftler (Boldt, 2009; Dalbrock, 2011; Köchny, 2012; Boldt, 2013).

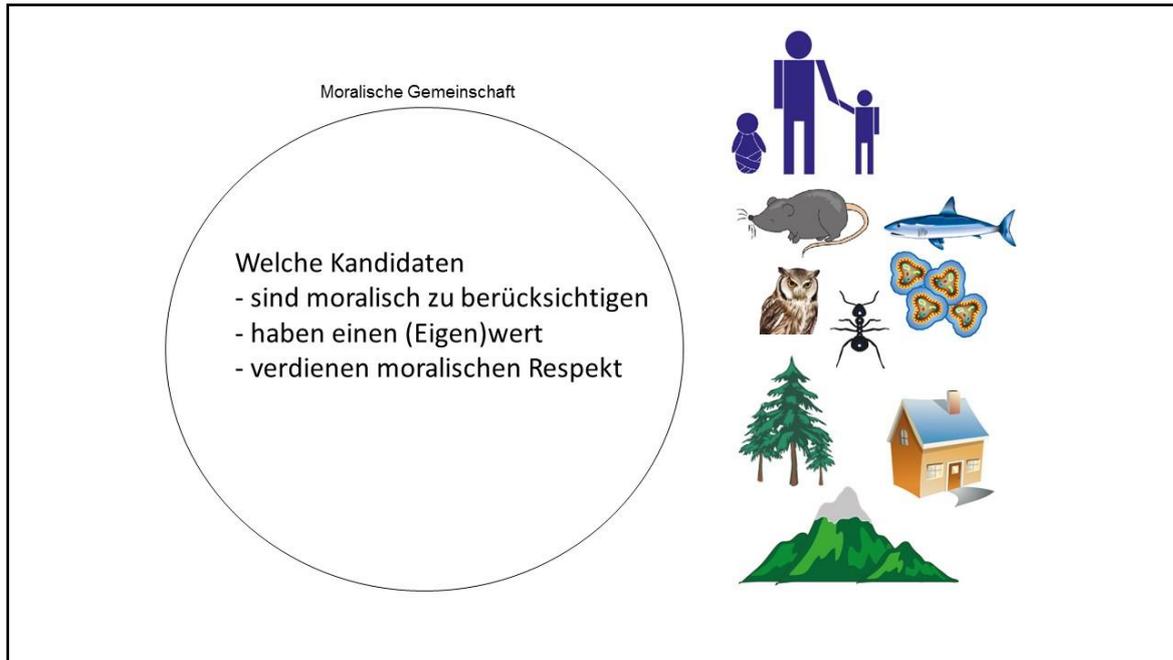
- Moralischer Status der Produkte der SynBio - insbesondere, wenn es sich um lebende Strukturen handelt (Boldt, 2009; Deplazes, 2009) - wobei diese Diskussion auf der Frage, was denn Leben überhaupt ausmache, aufbaut und in diesem Zusammenhang oft weit über das Feld der SynBio hinausreichende Aspekte diskutiert werden (Boldt, 2013; Baertschi, 2015; MPG, 2015).
- Ist es gerechtfertigt, voll funktionale pathogene Mikroorganismen zu synthetisieren, um mit diesen dann wissenschaftlich arbeiten zu können (Padilla-Vaca, 2015)?
- Wer sollte über die weiteren Schritte auf dem Gebiet der SynBio - z. B. Freisetzung von genetisch veränderten Organismen - entscheiden (Anderson, 2012)?

Die Spannweite der Standpunkte geht von Forderung der weitgehenden Regulierung bis zur weitgehenden Freigabe, verbunden mit der Warnung, dass notwendiger Fortschritt verhindert wird, wenn die SynBio in „ethische Ketten gelegt“ wird (Chen, 2015).

In seinem 2017 erschienenen Artikel über SynBio Ethik fordert G. Arnason „When ethicists make normative claims or moral judgments, they must be transparent about their theoretical positions and basic moral standpoints“ (Arnason, 2017). Um die entsprechenden Punkten des EKAH-Berichts besser verstehen zu können, sollen unter 5.2 wesentliche, im Bereich der Bioethik wichtige und auch auf die SynBio angewandte, theoretische Positionen und basale moralische Standpunkte („Weltanschauungen“) dargestellt werden.

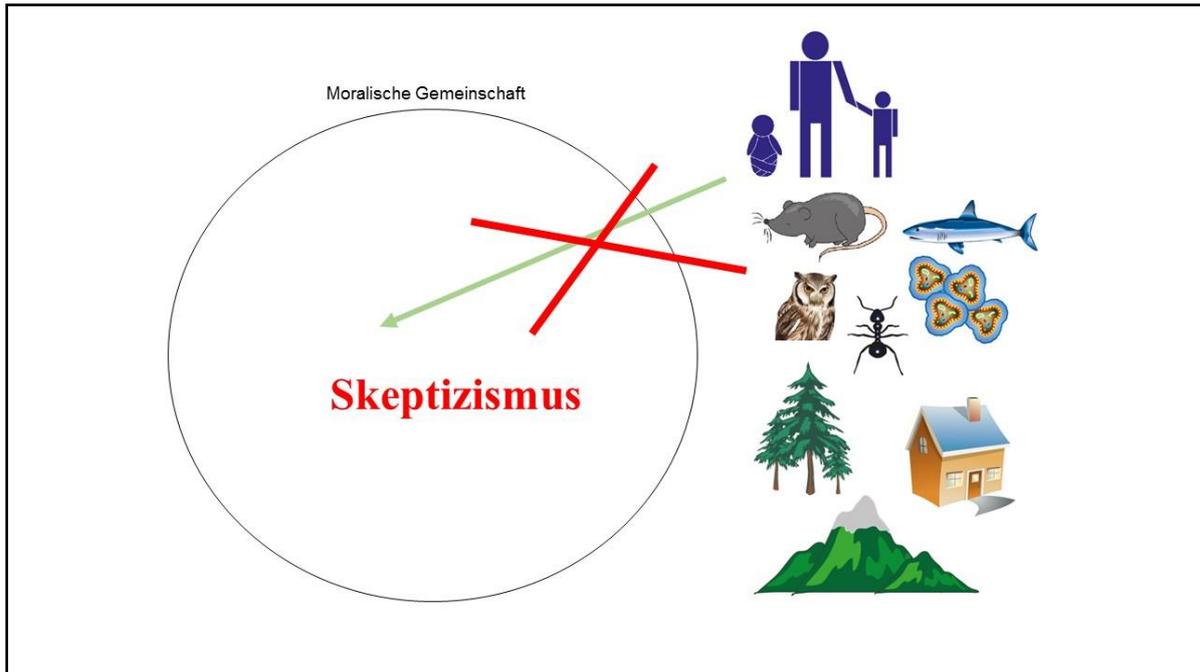
## 5.2 Darstellung bioethischer Standpunkte

Bioethische Standpunkte nicht mittels langer Textpassagen, sondern möglichst anschaulich darzustellen, ist eine Herausforderung. Der Begriff der „Moralischen Gemeinschaft“ bedeutet in der Ethik die Gemeinschaft derjenigen Wesen/Dinge/Phänomene, denen sich ein bestimmter Mensch moralisch verpflichtet fühlt. Es gibt verschiedene Kandidaten (siehe Abbildung 5.1 - linke Seite), die je nach Standpunkt zu berücksichtigen sind.



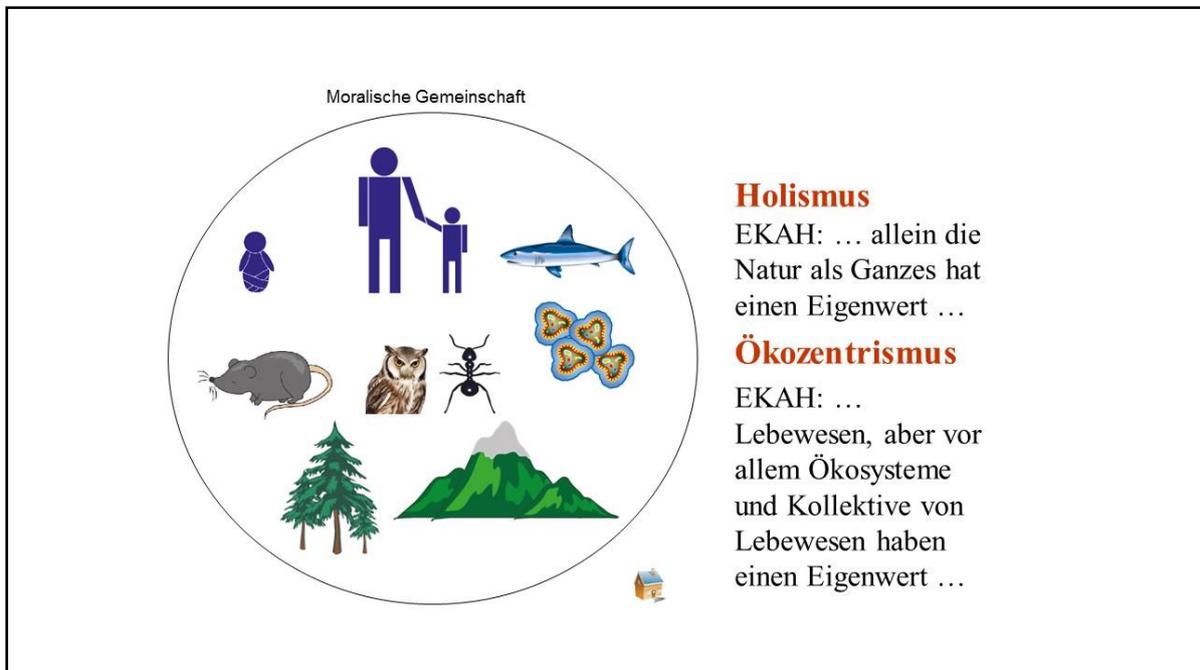
**Abbildung 5.1:** Graphische Darstellung des ethischen Konstrukts der „Moralischen Gemeinschaft“

Die Kandidaten, die je nach bioethischem Standpunkt in die Moralische Gemeinschaft aufgenommen werden könnten, sind: Menschen, höherentwickelte (Wirbel) Tiere, niedere Tiere (z. B. Insekten), Mikroorganismen, Pflanzen, die Natur/Ökosysteme und vom Menschen geschaffene Dinge. Die moralische Gemeinschaft soll in den folgenden Abbildungen (Abbildung 5.2 bis Abbildung 5.5) weiterhin als Kreis dargestellt werden - alle innerhalb des Kreises dargestellten Kandidaten gehören jeweils, gemäß des entsprechenden bioethischem Standpunkts, zur moralischen Gemeinschaft - alles, was sich außerhalb des Kreises befindet, nicht.



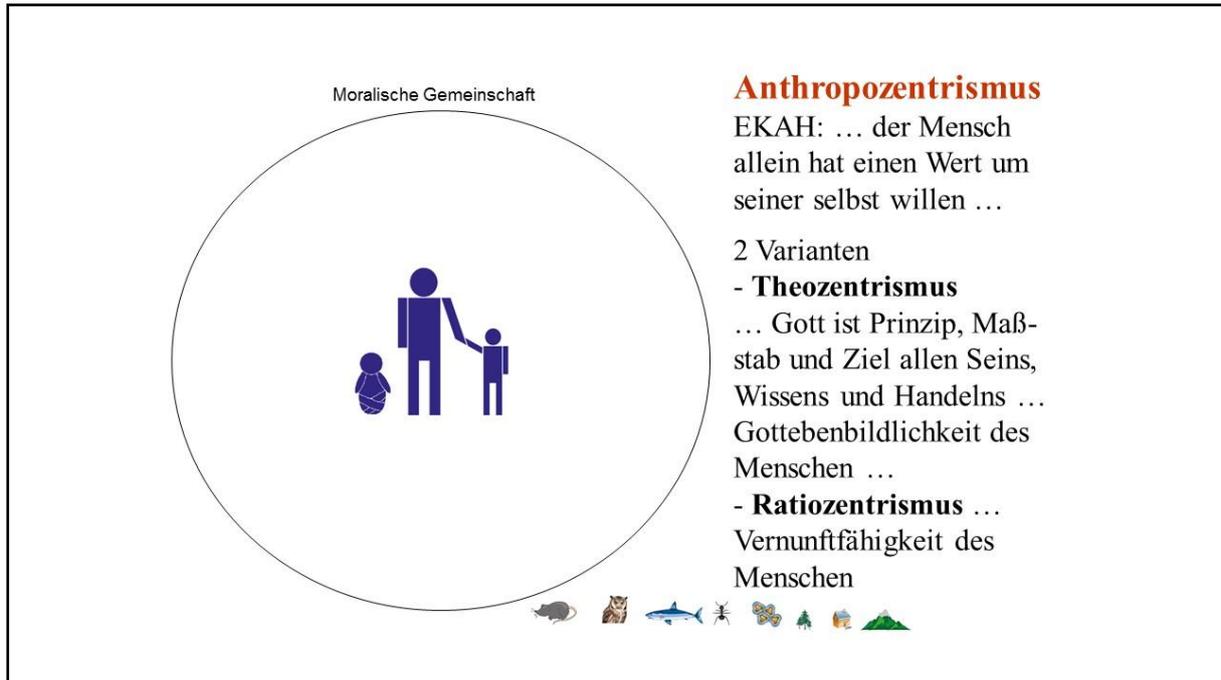
**Abbildung 5.2:** Skeptizismus

Der Skeptizismus sieht sich nicht in der Lage, die Mitglieder der Moralischen Gemeinschaft zu bestimmen. Auch bei anderen ethischen Weltanschauungen bleibt die Moralische Gemeinschaft leer, weil entweder das philosophische Prinzip Moral abgelehnt wird (Amoralismus) oder, weil verneint wird, dass sich moralische Verantwortlichkeiten in dieser Art und Weise bestimmen und festlegen lassen (Nihilismus).



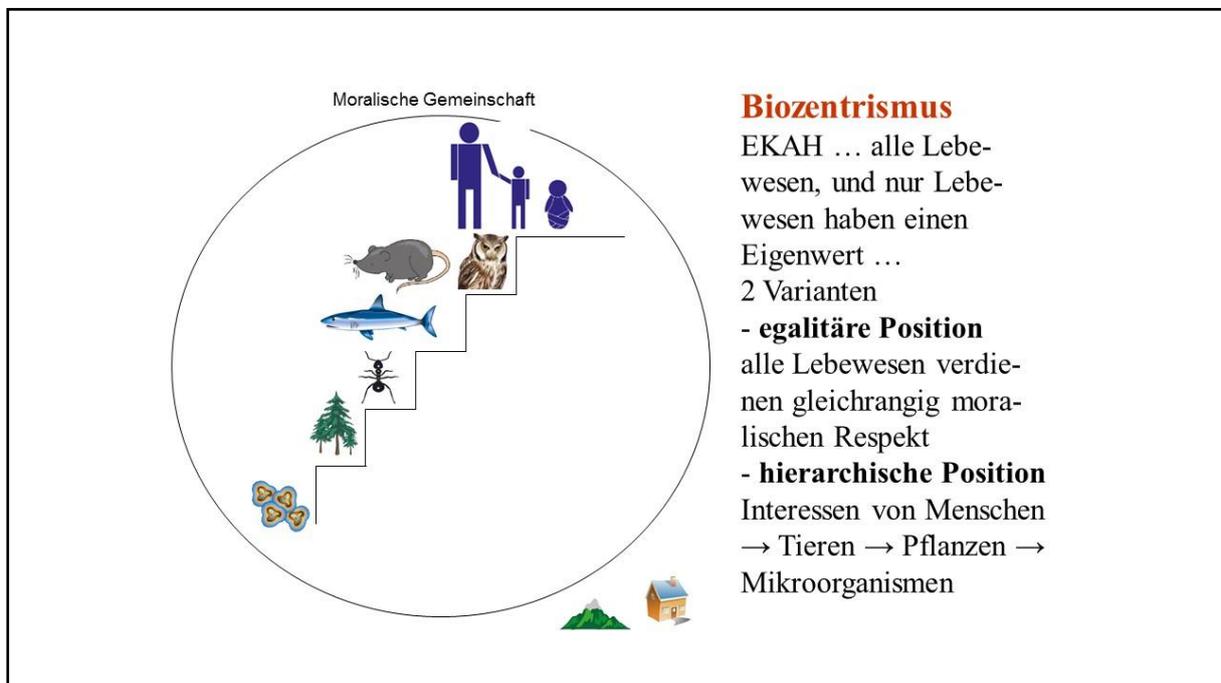
**Abbildung 5.3:** Holismus/Ökozentrismus

Bei diesem bioethischen Standpunkt kommen alle fraglichen Kandidaten (außer die vom Menschen gemachten Dinge) in den Kreis und sind damit Mitglieder der Moralischen Gemeinschaft. Gemäß EKAH gibt es zwei Varianten dieser Position: den Holismus und den Ökozentrismus (mit den in der Abbildung 5.3 angegebenen Inhalten).



**Abbildung 5.4:** Anthropozentrismus

Bei diesem bioethischen Standpunkt ist ausschließlich der Mensch innerhalb des Kreises und damit besteht die Moralische Gemeinschaft nur aus der Menschheit. Gemäß EKAH gibt es zwei Varianten dieser Position: den Theozentrismus und den Ratiozentrismus (mit den in der Abbildung 5.4 angegebenen Inhalten).



**Abbildung 5.5:** Biozentrismus

Bei diesem bioethischen Standpunkt kommen alle Kandidaten, die gemeinhin als Lebewesen bezeichnet werden (nicht jedoch die Natur als Ganzes und nicht die vom Menschen gemachten Dinge) in den Kreis und sind damit Mitglieder der Moralischen Gemeinschaft. Gemäß EKAH gibt es zwei Varianten dieser Position: den egalitären Biozentrismus und den hierarchischen Biozentrismus (mit den

in der Abbildung 5 angegebenen Inhalten). Die hierarchisch-biozentristische Position wird im Allgemeinen als die in der Bevölkerung als am meisten verbreitete Position angesehen und stellt z. B. auch die bioethische Position dar, auf der das Deutsche Tierschutzrecht aufgebaut ist.

Erwähnt sei als weitere wichtige bioethische Position der Pathozentrismus. Gemäß dieser Position sind alle diejenigen Kandidaten hier Mitglieder der Moralischen Gemeinschaft, die leidensfähig sind, die für sich eine Schädigung in irgendeiner Weise als Schaden wahrnehmen können.

### 5.3 Textauswahl

Laut persönlicher Mitteilung von Dr. J. Vetter (2017) hat der Deutsche Ethikrat bislang keine Stellungnahme zum Thema Synthetische Biologie verfasst und beabsichtigt derzeit auch nicht, dies zu tun (Vetter, 2017). Herr Dr. Vetter verweist auf die im November 2011 vom Deutschen Ethikrat durchgeführte Veranstaltung zum Thema Synthetische Biologie und die von dieser Veranstaltung zur Verfügung stehende Publikation - die allerdings keine Stellungnahme des Deutschen Ethikrates darstellt, sondern nur eine Sammlung der während der entsprechenden Veranstaltung gehaltenen Vorträge (DtER, 2013).

Die publizierten Texte/Stellungnahmen/Berichte zu ethischen Aspekten der SynBio sind mannigfaltig und in ihrer Zielsetzung und Ausgestaltung sehr unterschiedlich. Es existieren eine Reihe von nationalen Gremien/Organisationen, deren essenzielle Aufgabe ethische Betrachtungen zu bestimmten Themen sind - wie eben der Deutsche Ethikrat oder die EKAH; aber auch internationale Gremien und NGOs haben sich entsprechend zu Wort gemeldet (Hastings-Center, 2009, 2014; EGE, 2009; OECD, 2014). Manche bioethischen Stellungnahmen wurden durch konkrete Publikation wissenschaftlicher SynBio-Daten „provoziert“ (z. B. Reaktion des Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues (PCSB, 2010) und der Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER, 2015) - auf die Veröffentlichung der Arbeiten von Gibson et al. zur Steuerung einer bakteriellen Zelle durch ein vollständig synthetisiertes Genom (Gibson, 2010; Katsnelson, 2010).

Reviews zum Thema SynBio Ethik gibt es seit der Begriff SynBio sich etabliert hat bis in die neueste Zeit (z. B. Dabrock, 2009, 2011; Gardner, 2012; Holm, 2012; Heavey, 2013b; Vincent, 2013; Baertschi, 2015; Häyry, 2017). Meist sind diese Reviews von Einzelpersonen verfasst und in ihrer Aussage wenig konkret. In einzelnen Publikationen wird aus der Sichtweise konkreter ethischer Grundpositionen zur SynBio Ethik Stellung bezogen - so wird mit der Begründung, dass potenzielle Erfolge der SynBio insbesondere auf medizinischem Gebiet enorm sein könnten, während sich eventuelle Risiken noch nicht genau bestimmen lassen, aus utilitaristischer Sicht eine eher nicht-restriktive Handhabung der SynBio empfohlen (Smith, 2013). Aus konsequenzialistischer und aus personalistischer Sicht

ergibt sich eine eher zurückhaltende Einschätzung (Gómez-Tatay, 2016) (Heavey, 2017). Auch religiöse Gruppen haben als einzelne Personen oder als Gremien Stellungnahmen zu SynBio Ethik abgegeben (Glick, 2012) (Haker, 2012) (Heavey, 2013a) (COMECE, 2016). Bisweilen wird auch nur ein bestimmtes Gebiet der SynBio betrachtet (Cho, 1999) (Schmidt, 2017) oder die ethischen Probleme, die sich durch die Anwendung einer einzelnen Methode der SynBio ergeben könnten - z. B. mit CRISPR (Heidari, 2017). Auch für einzelne synthetisch-biologische Großprojekte werden die bioethischen Überlegungen publiziert (Sliva, 2015).

Als Basistext für diesen Artikel bzw. dem vorangegangenen Vortrag wurde jedoch eine Publikation gesucht, die auf größerer personeller Grundlage basiert und die auch mit einem Anspruch auf ein höheres Maß an Verbindlichkeit erstellt und veröffentlicht wurde; deshalb fiel die Wahl auf den EKAH-Bericht „Synthetische Biologie – Ethische Überlegungen“, der jedoch schon 2009 publiziert wurde. Dieses Publikationsjahr deutet natürlich auf eine gewisse zeitliche Ferne zum Wissensstand des Jahres 2018 hin - ein solcher Zeitraum wird in den Geisteswissenschaften als weniger kritisch angesehen als in den Naturwissenschaften (siehe auch Punkt 6.4: Ausblick).

Die Eidgenössische Ethikkommission für die Biotechnologie im Außerhumanbereich besteht aus 12 Mitgliedern, von denen sieben der Philosophie angehören und fünf als „Nicht-Philosophen“ - zumindest von ihrer jeweiligen primären Ausbildung her - angesehen werden. Dabei sind Wissenschaftler aus fünf Disziplinen: Biologie, Molekularbiologie, Genetik, Medizin und Recht.

Der EKAH-Bericht gliedert sich in sieben Kapitel:

- Kapitel 1 Vorbemerkungen
- Kapitel 2 Begriff der SynBio
- Kapitel 3 Ziele/Methoden SynBio
- Kapitel 4 Anwendungsbereiche
- Kapitel 5 Anspruch der SynBio
- Kapitel 6 Moralischer Status der Lebewesen der SynBio
- Kapitel 7 Verantwortungsethische Überlegungen
- Kapitel 8 Zusammenfassung.

### **5.3.1 Kap. 1 des EKAH-Berichts: Vorbemerkungen**

Bevor sich die EKAH zu ihren Beratungen und der Berichterstellung traf, wurden fünf externe Gutachten in Auftrag gegeben:

- „Leben – Eine philosophische Untersuchung“ (Brenner, 2007)
- „SynBio – Organisation und Ziele“ (Eckhart, 2008)
- „Verfahrenstechnische Einführung in die SynBio“ (Panke, 2007)
- „SynBio – eine ethisch-philosophische Analyse“ (Maio, 2009)

„Moralischer Status künstlicher Lebewesen“ (Baertschi, 2009).

Bei diesen Gutachten handelt es sich zum Teil um recht umfangreiche Schriften, die wissenschaftlich begründet darlegen, welche Thesen und Bestrebungen gem. dem Titel des jeweiligen Gutachtens im internationalen Schrifttum anzutreffen sind.

### **5.3.2 Kap. 2 des EKAH-Berichts:**

#### **Begriff der Synthetischen Biologie, wie er von der Wissenschaftsgemeinde verwendet wird**

Vier unterschiedliche Definitionen des Begriffs SynBio werden ergebnisoffen diskutiert - dabei wird auch auf die Definitionsunsicherheit eingegangen, die immer noch für den Begriff „Leben“ besteht - ohne, dass ein eigener Definitionsversuch durch die EKAH unternommen wird. Es wird die sog. TESSY-Definition (Towards a European Strategy for Synthetic Biology) zitiert: «Die Synthetische Biologie beabsichtigt, 1. biologische Systeme, die als solche natürlicherweise nicht vorkommen, herzustellen und zu untersuchen, und 2. diesen Ansatz zu nutzen, um i) Lebensprozesse besser zu verstehen, ii) funktionale modulare Bestandteile zu generieren und zusammzusetzen oder iii) neuartige Anwendungen oder Prozesse zu entwickeln.», die allgemein gefasst ist und den Begriff „Leben“ vermeidet (TESSY, 2008). In dieser allgemeinen Form werden jedoch wesentliche Aspekte der SynBio, die auch für die genannten ethischen Fragen wichtig sind, nicht adressiert, so dass hier noch eine weitere Definition aufgeführt werden soll: „SynBio zeichnet sich vor allem durch eine neuartige Transdisziplinarität zwischen biowissenschaftlichen und ingenieurwissenschaftlichen Fächern aus. Das Ziel ... liegt darin, Zellkompartimente, Zellen oder Zellverbände mit technisch oder medizinisch nutzbaren Eigenschaften zu konstruieren, die natürlichen Organismen nicht oder nicht in dieser Form eigen sind. Die synthetischen Erzeugnisse sollen sich nicht spontan verhalten, sondern ausschließlich so wie Konstrukteure diese vorgesehen haben. Der SynBio geht es darum, Lebensformen in Ablösung von natürlich entstandenen Organismen zu entwerfen und herzustellen. Damit wird schrittweise singuläre Manipulation durch umfassende synthetische Kreation abgelöst, insbesondere dann, wenn Nukleinsäure-Analoga eingesetzt werden. (Lanzerath, 2015). Neuere Definitionen betonen z. T. den Aspekt, lebende Systeme schaffen zu wollen: “The ultimate goal of synthetic biology is to build a living cell or an organism with designed functions” (Wang, 2018).

### **5.3.3 Kap. 3 und 4 des EKAH-Berichts:**

#### **Ziele, Methoden und Anwendungsbereiche der SynBio**

Bezüglich der Ziele und Methoden werden im EKAH-Bericht genannt a) „Chassis-Modell“ – „Top-down“-Ansatz, b) „Lego-Modell“ – „Bottom-up“-Ansatz und c) „Synthese von DNA-Sequenzen“. Hierzu wären gem. dem Handbuch Bioethik mit

Stand 2015 mindestens zu ergänzen: „Xenobiologie“ und „orthogonale Biosysteme“ (Lanzerath, 2015).

Als Anwendungsbereiche der SynBio werden a) Energiegewinnung/Materialproduktion, b) Medizin, c) Militärische Nutzung, d) Umwelttechnologie und e) sog. „Universaltechnologie“ – IT-Anwendungen im EKAH-Bericht aufgeführt.

### **5.3.4 Kap. 5 des EKAH-Berichts: Anspruch der SynBio**

Das Kapitel 5 des EKAH-Berichts ist umfangreich und befasst sich in den ersten drei Teilen mit den Fragen: Kap. 5.1: Was bedeutet es, von «neuen Lebewesen» zu sprechen? Kap. 5.2: Was heißt «herstellen»? und Kap. 5.3: Was ist unter «Kontrollierbarkeit» zu verstehen?

Die Unterscheidung von „neu“ und „neuartig“ wird adressiert:

„Das im Vergleich zur Gentechnik Neue an SynBio ist nicht, dass sie neuartige Lebewesen herstellt, sondern die Art und Weise, wie sie dies ... tut. Sie verändert nicht bestehende Lebewesen, sondern will diese aus Elementen, die selbst keine Lebewesen sind, zusammenbauen. Würde man nur davon reden, dass es Lebewesen dieser Art noch nicht gab, würde SynBio ... nur wiederholen, was seit Zehntausenden von Jahren in der Züchtung und seit fünfzig Jahren – auch die Artgrenze überschreitend – in der Gentechnik geschieht. Auch Hunde wie z.B. den Dackel gab es nicht, bevor Menschen ihn züchteten.“ (Kap. 5.1: EKAH-2009)

Der xenobiologische Aspekt wird angesprochen und in seiner Bedeutung hinsichtlich der Diskussion, was neue Lebensformen bedeutet, verdeutlicht:

„Solange die Projekte [der SynBio] nach wie vor auf bestehenden Kohlenstoffverbindungen basieren, würden sie also nichts Neues ... schaffen. Neu wären sie erst dann, wenn synthetisierte Lebewesen etwa auf der Basis von Silizium statt Kohlenstoffverbindungen hergestellt würden.“ (Kap. 5.1: EKAH-2009)

Synthetisch biologisches Forschen führt einerseits dazu, jetzt existierende evolutionär entstandene Lebewesen besser zu verstehen - dies betrifft grundlegende Fragen wie z. B.: Wie viele Gene sind essenziell, damit eine Zelle funktionieren kann (Hutchison, 2016; Wang, 2018)? Darüber hinaus können aber die evolutionär festgelegten Strukturen und Organisationsweisen aus 4 Nukleotiden und 20 Aminosäuren überwunden werden und so grundlegend neue Strukturen (z. B. neue mRNA-Moleküle (Groth, 2017)), neue Proteine mit neuartigen Aminosäuren (Zhang, 2017), und neue Organisationsweisen (z. B. neue Codons (Lajoie, 2013)) geschaffen werden. Das Forschen an und Verstehen von solchen und weiteren Neuschöpfungen, die dem Feld „Xenobiologie“ innerhalb der SynBio zugeordnet werden, sollte auch das Verständnis der evolutionär entstandenen Lebensformen (einschließlich des Menschen) verbessern.

Bezüglich des Aspekts des „Herstellens“ von lebenden Strukturen führt der EKAH-Bericht an:

„Dieses Verständnis von Herstellen impliziert jedoch, so die daran anschließende Kritik, dass das Herstellen von Lebewesen ein rein mechanischer, physikalischer Prozess sei. Damit aber werde man dem, was Leben ist, nicht gerecht.“ (Kap. 5.2: EKAH-2009) und geht dabei auf die Kritik mancher Weltanschauungen ein, die in dem Anspruch der SynBio lebende Strukturen neu zu schaffen, einen Angriff auf diese Weltanschauungen sehen. Zum Komplex „Schaffung künstlicher Lebensformen“ gibt es auch in der neueren Literatur (seit dem Erscheinen des EKAH-Berichts) eine intensive bioethische Debatte (Douglas, 2010; Dabrock, 2011; Braun-2013; Chen, 2015; Christiansen, 2016; Gómez-Tatay, 2016). Aus dem Gebrauch von Formulierungen wie „Schaffung von Leben“ oder „Gott spielen“ glauben manche Theologen, eine „Notwendigkeit zu einer vertieften theologischen Reflexion auf die Synthetische Biologie“ ableiten zu können und melden sich dementsprechend zu Wort. Dies geht so weit, dass aufgrund des Vorwurfs - um einen deutlichen Ausdruck zu wählen - religiöser Fundamentalisten „Der Mensch will Gott spielen“ das BMBF ein Projekt mit dem Thema „Creating Life – Playing God? A Theological Analysis of Synthetic Biology“ eingerichtet und mit Fördergeldern bedacht hat. Die diesbezügliche bioethische Position des Leiters dieses BMBF-Projekts ist auch der oben angesprochenen Publikation des Deutschen Ethikrates zu entnehmen (DtER, 2013):

„Diese Beobachtungen [der SynBio] verdeutlichen ... die Notwendigkeit ... einer vertieften theologischen Reflexion auf die SynBio. ... [Es] tritt ... klar hervor, dass das göttliche Schöpfungshandeln ausweislich des biblischen Zeugnisses in Genesis 1 ... schlicht nicht in Analogie zu menschlichem Handeln gebracht werden kann, ... Während die [göttliche] Schöpfung ex nihilo, aus dem Nichts erfolgt, das heißt schlechthin voraussetzungslos ist, kommt ... SynBio nicht ohne Vorlagen aus. ... Der kategoriale Unterschied zwischen göttlicher Schöpfung und ausgefeilter, modifizierender menschlicher Kopie ... wird in jedem Akt synthetisch-biologischen Arbeitens immer schon vorausgesetzt. Dem prognostizierten Wandel im Selbstverständnis des Menschen ... vom technisch-herstellenden Homo faber zum schöpferischen Homo creator ..., ist daher aus der Perspektive der Theologie ein deutliches Korrektiv entgegenzusetzen. Der Mensch tritt ... weniger als Homo creator, sondern eher als Homo plagiator auf, ... der in seiner kopierenden und modulierenden Kreativität ... auf die Vorbilder aus der Schöpfung angewiesen bleibt.“ (Dabrock, 2011).

Diese Darstellung bleibt im neueren Schrifttum nicht unwidersprochen - zumindest dann, wenn xenobiologische Ansätze in einen lebenden Organismus (zumindest einer lebenden Zelle) münden, kann von einer neu kreierten Lebensform gesprochen werden (Boldt, 2013). Es sei angemerkt, dass xenobiologische Ansätze im

Bereich der medizinischen Anwendung xenobiologischer Moleküle zurzeit (2018) schon im Bereich der präklinischen Entwicklung sind (Groth, 2017).

Auch hinsichtlich der Diskussion um den Anspruch der „Kontrollierbarkeit“ geht der EKAH-Bericht wieder auf die durch diesen Anspruch der SynBio provozierte Kritik ein:

„Kritiker werfen der SynBio vor, die Idee, dass Leben in seine Einzelteile zerlegt werden kann, fuße auf einer mechanistischen Denkweise [und] ... führe zu einer verengten Wahrnehmung von Leben. Der Anspruch, Lebewesen, d.h. ihre Existenz und ihre Funktionen im Prinzip vollständig kontrollieren und beherrschen zu können, bezieht sich dann nicht nur auf Mikroorganismen, sondern wird auf Lebendiges insgesamt ausgeweitet. Aus einem solchermaßen reduzierten Lebensverständnis folgt aus Sicht der Kritik weiter, dass es der SynBio nicht in erster Linie darum geht, Lebewesen besser zu verstehen, sondern darum, sie noch mehr kontrollieren und damit instrumentalisieren zu können.“ (Kap. 5.3: EKAH-2009)

Im vierten Teil des fünften Kapitels wird auf die Diskussionen innerhalb der EKAH eingegangen, die es zwischen den dort vertretenen Weltanschauungen wohl im Rahmen der Berichterstellung gegeben hat:

„Kontroverse ontologische Auffassungen darüber, was Leben ist, finden sich auch innerhalb der EKAH. ... Es gelingt nicht, diese unterschiedlichen Herangehensweisen und die damit verknüpften Bedeutungen von Leben zusammenzuführen. Sie können aber auch nicht einfach nebeneinanderstehen gelassen werden, denn beide Ansätze erheben für sich denselben Anspruch, die Frage nach dem, was Leben ist, beantworten zu können.“ (Kap. 5.4: EKAH-2009)

Die drei unterschiedlichen ontologischen Positionen innerhalb der EKAH sind:

- *Naturalismus/Materialismus*: der Leben als rein physikalisch-chemische Eigenschaft ansieht und von sechs EKAH-Mitgliedern vertreten wird. Nach diesem Standpunkt kann SynBio Leben herstellen.
- *Vitalismus/Dualismus*: nach dessen Sichtweise sich Leben niemals nur auf materielle Eigenschaften zurückführen lässt, da es mindestens eine immaterielle Komponente umfasst - dieser Weltanschauung verorten sich vier EKAH-Mitglieder. Nach diesem Standpunkt kann SynBio Leben nicht herstellen.
- *Skeptizismus*: nach dessen Sichtweise ist die Bestimmung dessen was Leben ist, zurzeit nicht möglich - diese Position beziehen zwei EKAH-Mitglieder, d. h. dieser Standpunkt erlaubt keine Aussage zu SynBio und Leben.

### **5.3.5 Kap. 6 des EKAH-Berichts:**

#### **Moralischer Status der Lebewesen, mit denen die Synthetische Biologie, arbeitet oder die als deren Produkte geschaffen werden**

„Die Mehrheit der Kommissionsmitglieder vertritt eine hierarchische biozentrische Position. Mikroorganismen haben gemäß dieser Mehrheit einen Eigenwert, weil

sie Lebewesen sind. Diesem Wert kommt jedoch aufgrund der vertretenen hierarchischen Position in einer Güterabwägung ein zu vernachlässigendes Gewicht zu.“ (Kap. 6: EKAH-2009)

In der EKAH vertretene Minderheitspositionen sind pathozentrische und anthropozentrische Positionen, die den moralischen Status von Mikroorganismen noch geringer ansetzen.

### **5.3.6 Kap. 7 des EKAH-Berichts:**

#### **Verantwortungsethische, gerechtigkeitsethische und risikoethische Überlegungen**

Bei der Darstellung der in der EKAH angestellten verantwortungsethischen Überlegungen stellt die EKAH zunächst die Position der Kritiker der SynBio dar:

Kritiker: „Die SynBio trägt ... dazu bei, dass sich ein mechanistisch geprägtes und deshalb als reduktionistisch erachtetes Konzept von Leben durchsetzt.“ [Die Denkweise der SynBio] „ist Ausdruck einer Grundhaltung, die Lebewesen als herstellbar, kontrollierbar und verfügbar betrachtet.“ „Eine solche Grundhaltung verändere jedoch unsere Wahrnehmung anderer Lebewesen, unsere Werthaltung und Beziehung ihnen gegenüber und generell zum Leben. ... letztlich auch das Selbstbild des Menschen und gefährde den Schutz der Menschenwürde.“ (Kap. 7.1: EKAH-2009)

Kommt jedoch zum Fazit:

„Die EKAH-Mitglieder sind sich einig, ... dass sich [aus der geschilderten Kritik] ... zurzeit kein Veto gegen die Vorhaben der SynBio ableiten lässt.“ (Kap. 7.1: EKAH-2009)

Die von der EKAH angestellten Gerechtigkeitsüberlegungen (Kap. 7.2 des Berichts) sind nicht SynBio spezifisch, sondern entsprechen der Diskussion in den übrigen biotechnologischen Gebieten und seien deshalb hier ungenannt.

Aufgrund der risikoethischen Überlegungen kommt die EKAH zu dem Schluss, dass

„Aus Sicht der EKAH liegen plausible Risikoszenarien, aber zu wenig empirische Daten über die Eigenschaften synthetisch hergestellter Organismen vor, um eine sachgerechte Risikobeurteilung vornehmen zu können. ... Aus risikoethischer Sicht ist bei einer solchen Datenlage im Umgang mit synthetisch hergestellten Organismen besondere Vorsicht geboten. Es kommt das Vorsorgeprinzip zur Anwendung. Bis die für eine sachgerechte Risikobeurteilung benötigten empirischen Daten für Freisetzungsversuche vorliegen, darf mit synthetisch hergestellten Organismen nur im geschlossenen System und gemäß des Stufenprinzipes unter der Berücksichtigung der dem Organismus angemessenen besonderen Vorsichtsmaßnahmen gearbeitet werden.“ (Kap. 7.3: EKAH-2009)

Das Vorsorgeprinzip anzuwenden, ist auch die Empfehlung der großen deutschen Wissenschaftsorganisationen (DFG/acatech/Leopoldina, 2009). Jedoch gibt es in der Literatur Kritik hinsichtlich der Anwendung dieses Prinzips, weil es in strenger Auslegung wissenschaftliche Neuerungen untersagt (Anderson, 2012).

„Ob die bereits existierenden konkreteren rechtlichen Regelungen für den Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen auch für den Umgang mit synthetisch hergestellten Organismen ausreichen, darüber kann derzeit mangels Daten noch keine Aussage gemacht werden.“ (Kap. 7.3: EKAH-2009)

Eine solche Stellungnahme ist wenig geeignet, naturwissenschaftlichen Praktikern eine konkrete Handlungsanweisung zu geben, was dazu führt, dass synthetisch-biologisches Arbeiten innerhalb den meistens vertrauten S2-Regularien durchgeführt werden - dies deckt sich auch mit der diesbezüglichen Empfehlung der großen deutschen Wissenschaftsgesellschaften (DFG/acatech/Leopoldina, 2009). Aber - das muss ebenso klar betont werden - es gibt auch Gruppen, die arbeiten dann ganz ohne Regularien und weit ab von üblichen Laborstandards - hier sei die sog DIY-Biology genannt. Das von dieser „Biohacker-Szene“ ausgehende Gefährdungspotential wird zumindest gegensächlich diskutiert (Palu, 2014; Jefferson, 2014; TAB, 2015; Silva, 2015; Kuiken, 2016). Als Bestandteil des Dialogs zwischen Wissenschaft und Öffentlichkeit wird die Einbeziehung von „nicht-professionellen Gruppen“ in SynBio-Großprojekte (z. B. „partnerships with the LA Biohackers“ in Sc2.0; Sliva, 2015) oder der iGEM-Studenten-Wettbewerb (International Genetically Engineered Machine) als notwendig erachtet. Der äußerst erfolgreiche iGEM-Wettbewerb wird jedoch in seinem Charakter von Kritikern der SynBio auf die gesamte SynBio und deren Wissenschaftler übertragen und der SynBio in der „gegenwärtigen Realität eine[r] eher als spielerisch, denn planvoll zu bezeichnenden Herangehensweise“ unterstellt (Dabrock, 2011).

### **5.3.7 Kap. 8 des EKAH-Berichts: Zusammenfassung**

In ihrer Zusammenfassung geht die EKAH noch einmal auf den moralischen Status von SynBio Produkten ein:

„Die Art und Weise, wie Lebewesen entstehen, ob künstlich oder auf natürliche Weise, hat aus Sicht der EKAH keinen Einfluss auf ihren moralischen Status. Ob Mikroorganismen über etwas verfügen, das man Eigenwert oder «Würde» nennt, und sie deshalb um ihrer selbst willen moralisch zu berücksichtigen sind, hängt vom weltethischen Ansatz ab, der vertreten wird. Die Mehrheit der Kommissionsmitglieder vertritt einen biozentrischen Ansatz: Mikroorganismen verfügen über einen Eigenwert, weil sie leben.“ „In der Praxis stehen einem Projekt mit Mikroorganismen für alle Mitglieder deshalb keine ethischen Einwände entgegen.“ (Kap. 8: EKAH-2009)

Es sei angemerkt, dass in Publikationen bezweifelt wird, dass es sich bei Produkten der SynBio um Leben handelt (z. B. Brenner, 2012; Steizinger, 2016).

#### **5.4 Stand der Entwicklung und Ausblick**

Die EKAH beschränkt sich in ihrem Bericht auf Mikroorganismen, was aber ist mit der Anwendung von SynBio bei Pflanzen und Tieren - insbesondere bei höheren Tieren - z. B. CRISPR-edited Embryonen von Primaten (Vogel, 2015)? Was ist mit der Anwendung von SynBio beim Menschen? Erste Publikationen zum Einsatz von CRISPR bei menschlichen Embryonen liegen inzwischen vor (Liang, 2015). Durch SynBio-Methoden können menschliche Embryonen vor dem Erreichen der in den USA definierten 14-Tage-Grenze einzelne organotypische Fähigkeiten erlangen, die normalerweise erst nach der 14-Tage-Grenze erreicht werden (Aach, 2017). Dies ist ein Beispiel, dass das Regelwerk, welches bisher für die Gentechnik etabliert wurde, wahrscheinlich auf Dauer nicht als für alle SynBio-Anwendungen ausreichend erachtet werden kann, sofern man nicht auf die Selbstregulierungskräfte der Wissenschaft vertrauen will. Die aus den jetzt durchgeführten Laborarbeiten erwachsenden bioethischen Aspekte werden in der Literatur benannt: „The fundamental issue with human-germline engineering is that beyond treating genetic disorders such as Huntington disease to eliminate human suffering, designer or „genetically modified babies“ could be likewise engineered, facilitating the arrival of a new eugenics era (Pollack, 2015; Acevedo-Rocha, 2016). Deshalb sei mit der schon vor 30 Jahren gegebenen Einschätzung von H. Jonas geschlossen: „Das sittliche Dilemma jeder menschlich-biologischen Manipulation, die über das rein Negative der Verhütung von Erbängeln hinausgeht ... Dies ... verpflichtet uns zu äußerster, ängstlicher Behutsamkeit im etwaigen Anwenden der wachsenden Macht biologischer Kunst auf den Menschen. Verhütung von Unglück allein ist hier erlaubt, kein Probieren neuartigen Glücks. Mensch nicht Übermensch sei das Ziel. Obwohl mehr und Metaphysisches auf dem Spiel steht, genügt doch schon die schlichte Anstandsethik der Sache, um Kunstfreiheiten mit menschliches Genotypen schon in den ersten Anfängen zu verbieten – ja ... schon in der Freistatt experimenteller Forschung“ (Jonas, 1987).

**Literatur:**

**Aach** J, Lunshof J, Iyer E, Church GM (2017) Addressing the ethical issues raised by synthetic human entities with embryo-like features. *Elife*. Mar 21; 6. Erratum in: *Elife*. 2017 Apr 13; 6

**Anderson** J, Strelkowa N, Stan G-B, et al. (2012) Engineering and ethical perspectives in synthetic biology. *EMBO reports* 13: 584–590

**Arnason** G (2017) Synthetic Biology between Self-Regulation and Public Discourse: Ethical Issues and the Many Roles of the Ethicist. *Quarterly of Healthcare Ethics* 26(2): 246-256

**Acevedo-Rocha** CG, Budisa N (2016) Xenomicrobiology: a roadmap for genetic code engineering. *Microb Biotechnol*, Sep;9(5): 666-676

**Baertschi** B (2009) *Moralischer Status künstlicher Lebewesen. Beiträge zur Ethik und Biotechnologie, Band 6*, Hrsg. EKAH, Bern, 2009

**Baertschi** B (2015) The metaphysical lessons of synthetic biology and neuroscience. *C R Biol Aug-Sep*; 338(8-9): 617-626.

**Boldt** J, Müller O, Maio G (2009) *Synthetische Biologie - Eine ethisch-philosophische Analyse*, Eidgenössische Ethikkommission für die Biotechnologie im Außerhumanbereich EKAH und Ariane Willemssen (Hrsg.), Bern

**Boldt** J (2013) Herstellen, verändern, erschaffen – die Synthetische Biologie als prometheische Biotechnologie, S. 89-98, in: *Deutscher Ethikrat (Hrsg.): Werkstatt Leben - Bedeutung der Synthetischen Biologie für Wissenschaft und Gesellschaft, Vorträge der Tagung des Deutschen Ethikrates 2011*; ISBN 978-3-941957-41-1

**Braun** M, Ried J, Dabrock P (2013) From homo faber to homo creator? A theological-ethical expedition into the anthropological depth of synthetic biology. *World Views Neth* 17:35–46

**Brenner** A (2007) *Leben – Eine philosophische Untersuchung. Beiträge zur Ethik und Biotechnologie, Band 3*, Hrsg. EKAH, Bern, 2007

**Brenner** A (2012) Leben leben und Leben machen. Die Synthetische Biologie als Herausforderung für die Frage nach dem Lebensbegriff. In *Boldt J, Müller O, Maio G (Hrsg.): Leben schaffen? Philosophische und ethische Reflexionen zur Synthetischen Biologie*, Mentis, Paderborn, S. 99-118

**Chen** Y, Yin Z, Shao Z, Xie Q (2015) The Defence of Artificial Life by Synthetic Biology From Ethical and Social Aspects. *J Coll Physicians Surg Pak* 25(7): 519-524

**Cho** MK, Magnus D, Caplan AL, McGee D (1999) Policy forum: genetics. Ethical considerations in synthesizing a minimal genome. *Science* 286: 2087-2090

**Christiansen A** (2016) Synthetic Biology and the Moral Significance of Artificial Life: A Reply to Douglas, Powell and Savulescu. *Bioethics* Jun; 30(5): 372-379

Commission of the (Catholic) Bishops' Conferences of the European Community (**COMECE**) (2016) Opinion of the Reflection Group on Bioethics on Synthetic Biology. Brussels: COMECE, 2016

**Dana GV, Kuiken T, Rejeski D, Snow AA** (2012) Synthetic biology: four steps to avoid a synthetic-biology disaster. *Nature* 483: 29

Deutscher Ethikrat (**DtER**) (Hrsg.) (2013) Werkstatt Leben - Bedeutung der Synthetischen Biologie für Wissenschaft und Gesellschaft, Vorträge der Tagung des Deutschen Ethikrates 2011; ISBN 978-3-941957-41-1

Deutsche Forschungsgemeinschaft (**DFG**)/Deutsche Akademie der Technikwissenschaften (acatech)/Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina: Synthetische Biologie – Stellungnahme. Weinheim, Wiley, 2009, S. 8-11

**Dabrock P** (2009) Playing God? Synthetic biology as a theological and ethical challenge. *Systems and Synthetic Biology* 3: 47-54

**Dabrock P, Ried J** (2011) Wird in der Synthetischen Biologie „Gott gespielt“? Eine theologisch-ethische Dekonstruktion. In: Pühler A, Müller-Röber B, Weitze M-D (Hrsg.): Synthetische Biologie - Die Geburt einer neuen Technikwissenschaft; acatech Diskussion, Springer Verlag, S. 129-137

**Deplazes A, Huppenbauer M** (2009) Synthetic organisms and living machines: Positioning the products of synthetic biology at the borderline between living and non-living matter. *Syst Synth Biol* 2: 55–63

**Douglas T, Savulescu J** (2010) Synthetic biology and the ethics of knowledge. *J Med Ethics* 36(11): 687–693

**Eckhart A** (2008) SynBio – Organisation und Ziele. Bericht für die EKAH, 2008. [www.ekah.admin.ch/de/dokumentation/externegutachten/index.html](http://www.ekah.admin.ch/de/dokumentation/externegutachten/index.html)

European Group on Ethics in Science and New Technology (**EGE**) (2009) Ethics of synthetic biology. [http://www.coe.int/t/dg3/healthbioethic/COMETH/EGE/20091118%20finalSB%20\\_2\\_%20MP.pdf](http://www.coe.int/t/dg3/healthbioethic/COMETH/EGE/20091118%20finalSB%20_2_%20MP.pdf)

Eidgenössische Ethikkommission für die Biotechnologie im Außerhumanbereich (**EKAH**) (Hrsg.) (2009) Synthetische Biologie – Ethische Überlegungen, Bern

**Forsberg E-M, Ribeiro B, Heyen NB, et al.** (2016) Integrated assessment of emerging science and technologies as creating learning processes among assessment communities *Life Sciences, Society and Policy* 12:9

- Gardner TS** (2012) Synthetic biology: from hype to impact. *Trends in Biotechnology* 31(3): 123–125
- Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, et al.** (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329(5987): 52–56
- Glick S** (2012) Synthetic biology: a Jewish view. *Perspect Biol Med* 55(4): 571-580
- Gómez-Tatay L, Hernández-Andreu JM, Aznar J** (2016) A Personalist Ontological Approach to Synthetic Biology. *Bioethics* 30(6): 397-406
- Groth K, Berezhanskyy T, Aneja MK, et al.** (2017) Tendon healing induced by chemically modified mRNAs. *Eur Cell Mater*, May 24; 33: 294-307
- Häyry M** (2017) Synthetic Biology and Ethics: Past, Present, and Future. *Quarterly of Healthcare Ethics* 26(2): 186-205.
- Haker H** (2012) eine Verhältnisbestimmung von Theologie und Synthetischer Biologie aus ethischer Sicht; in: Kristian Köchy, Anja Hümpel (Hrsg.) *Synthetische Biologie. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Themenband der interdisziplinären Arbeitsgruppe „Gentechnologiebericht“*, 1. Auflage, 2012; Forschungsberichte der interdisziplinären Arbeitsgruppen der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Bd. 30; ISBN 978-3-940647-07-8
- Lanzerath D** (2015) Synthetische Biologie, in: Sturma B, Heinrichs B: *Handbuch Bioethik*, Verlag J. B. Metzler, Stuttgart; S. 406-414
- Hastings Center** (Parens E, Johnston J, Moses J; Eds.) (2009) *Synthetic Biology - An overview of the debates*. Garrison, New York
- Hastings Center** (Carter SR; Ed.) (2014) Context, existing frameworks, and practicality: moving forward with synthetic biology. *Hastings Cent Rep*. Nov-Dec; 44(6 Spec no.): S46-48
- Heavey P** (2013a) The place of God in synthetic biology: how will the Catholic Church respond? *Bioethics*. 27(1): 36-47.
- Heavey P** (2013b) Synthetic biology ethics: a deontological assessment. *Bioethics* 27(8):442–452
- Heavey P** (2017) Consequentialism and the synthetic biology problem. *Quarterly of Healthcare Ethics* 26(2): 206-229
- Heidari R, Shaw DM, Elger BS** (2017) CRISPR and the Rebirth of Synthetic Biology *Sci Eng Ethics* 23: 351
- Holm S** (2012) The scientific aspirations of synthetic biology and the need for analytic ethics. *Ethics, Policy & Environment* 15: 25–28

**Hutchison III CA, Chuang RY, Noskov VN, et al.** (2016) Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science* 351:aad6253

**Jefferson C, Lentzos F, Marris C** (2014) Synthetic biology and biosecurity: challenging the "myths". *Front Public Health*. 2014 Aug 21; 2: 115: pp. 1-15

**Jonas H** (1987) Technik, Medizin und Ethik – Praxis des Prinzips Verantwortung. Suhrkamp Taschenbuch 1514, (1. Aufl. 1987), 8. Aufl.: S. 200 f

**Katsnelson A** (2010) Synthetic genome resets biotech goals. *Nature* 465: 409

**Köchy K** (2012) Philosophische Implikationen der Synthetischen Biologie; in: Kristian Köchy, Anja Hümpel (Hrsg.) Synthetische Biologie. Entwicklung einer neuen Ingenieurbiologie? Themenband der interdisziplinären Arbeitsgruppe „Gentechnologiebericht“, 1. Auflage, 2012; Forschungsberichte der interdisziplinären Arbeitsgruppen der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften; Bd. 30; ISBN 978-3-940647-07-8

**Kuiken T** (2016) Governance: Learn from DIY biologists. *Nature* Mar 10;531(7593): 167-168

**Lajoie MJ, Rovner AJ, Goodman DB, et al.** (2013) Genomically recoded organisms expand biological functions. *Science* 342: 357–360

**Liang P, Xu Y, Zhang X, et al.** (2015) CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. *Protein and Cell* 6(5): 363–372

**Maio G** (Gutachter), Boldt J, Müller O (2009) SynBio – eine ethisch-philosophische Analyse, Beiträge zur Ethik und Biotechnologie, Band 5, Hrsg. EKAH, Bern, 2009

Max-Planck-Gesellschaft (**MPG**) (2015) Pressemitteilung zur Eröffnung des "Forschungsprogramm MaxSynBio zur Synthetischen Biologie", 17.04.2015

**OECD** (2014) Emerging policy issues in synthetic biology. [http://www.oecd-ilibrary.org/science-and-technology/emerging-policyissues-in-synthetic-biology\\_9789264208421-en](http://www.oecd-ilibrary.org/science-and-technology/emerging-policyissues-in-synthetic-biology_9789264208421-en)

**Padilla-Vaca F, Anaya-Velázquez F, Franco B** (2015) Synthetic biology: Novel approaches for microbiology. *International Microbiology* 18: 71-84

**Palu G** (2014) Regulating dual-use research in Europe. *Science*. Jan 24; 343(6169): 368-369

**Panke S** (2007) Verfahrenstechnische Einführung in die SynBio, EKAH - interne Einführung

Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues (**PCSBI**) (2010) New directions. Ethics of synthetic biology and emerging technologies. [http://bioethics.gov/sites/default/files/PCSBI-Synthetic-Biology-Report-12.16.10\\_0.pdf](http://bioethics.gov/sites/default/files/PCSBI-Synthetic-Biology-Report-12.16.10_0.pdf)

**Pollack R** (2015) Eugenics lurk in the shadow of CRISPR. *Science* 348 (6237): 871

**Schmidt M**, Pei L, Budisa N (2017) Xenobiology: State-of-the-Art, Ethics, and Philosophy of New-to-Nature Organisms. In: Zhao H, Zeng AP (eds) *Synthetic Biology – Metabolic Engineering. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol 162. Springer, Cham

**Sliva A**, Yang H, Boeke JD, Mathews DJ (2015) Freedom and responsibility in synthetic genomics: the Synthetic Yeast Project. *Genetics* 200: 1021–1028

Scientific Committee on Health and Environmental Risks (**SCHER**), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) (2015) Opinion on synthetic biology II. Risk assessment methodologies and safety aspects. [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/emerging/docs/scenihr\\_o\\_048.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_048.pdf) (aus Starkbaum-2015)

**Smith K** (2013) Synthetic biology: a utilitarian perspective. *Bioethics* 27(8): 453-463. doi: 10.1111/bioe.12050

**Starkbaum J**, Braun M, Dabrock P (2015) The synthetic biology puzzle: a qualitative study on public reflections towards a governance framework. *Syst Synth Biol* 9: 147–157

**Steizinger J** (2016) Engineers of Life? A Critical Examination of the Concept of Life in the Debate on Synthetic Biology. S. 275-292 in: Hagen K, Engelhard M, Toepfer G (Eds.): *Ambivalences of Creating Life - Societal and Philosophical Dimensions of Synthetic Biology*, Springer, Heidelberg, ISBN: 978-3-319-21087-2

**TAB** - Büro für Technikfolgenabschätzung beim Deutschen Bundestag (Sauter A, Albrecht S, van Doren D et al.) (2015) *Synthetische Biologie – die nächste Stufe der Bio- und Gentechnologie*, Arbeitsbericht 164,

Towards a European Strategy for Synthetic Biology (**TESSY**) (2008)  
[www.tessyeurope.eu/public\\_docs/TESSYFinalReport\\_D53.pdf](http://www.tessyeurope.eu/public_docs/TESSYFinalReport_D53.pdf)

Persönliche Mitteilung Dr. J. **Vetter** (2017) Leiter der Geschäftsstelle des Deutschen Ethikrats auf Anfrage Dr. T. Brill am 09.11.2017

**Vincent BB** (2013) Ethical perspectives on synthetic biology. *Biological Theory* 8: 368-375

Vogel G (2015) Bioethics. Embryo engineering alarm. *Science*. Mar 20; 347 (6228): 1301

**Wang Y**, Shen Y, Gu Y, Zhu S, Yin Y (2018) Genome Writing: Current Progress and Related Applications *Genomics Proteomics Bioinformatics* 16: 10–16

**Zhang Y**, Ptacin JL, Fischer EC, et al. (2017) A semi-synthetic organism that stores and retrieves increased genetic information. *Nature* 551: 644–647

## **6. Synthetische Biologie und Genome Editing – Perspektiven parlamentarischer Technikfolgenabschätzung auf Potenziale und Herausforderungen neuer Gentechnologien**

**Arnold Sauter**

Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB)

Technikfolgenabschätzung (TA) ist nach wie vor gerade im Deutschen ein sperriger Begriff. Häufige Fehlinterpretationen bestehen in der Erwartung einer Engführung auf (natur-)wissenschaftlich-technische Entwicklungen und Datenbestände sowie in der Verdächtigung, ausschließlich oder zumindest ganz überwiegend die negativen Folgen bzw. möglichen Risiken zu untersuchen. Diese Einschätzungen stehen im Widerspruch zu dem tatsächlichen Bemühen von Institutionen und Expertinnen und Experten der TA, möglichst umfassend die "Wechselwirkungen von wissenschaftlich-technischen Entwicklungen, gesellschaftlichen Prozessen aller Art – kulturell, ökonomisch, sozial, politisch – und der natürlichen Umwelt vorausschauend zu erfassen und mit Blick auf zukünftige Potenziale und Herausforderungen zu analysieren. Je nach Adressat bzw. Auftraggeber kann TA eher der neutralen Wissensbereitstellung dienen, die öffentliche Debatte anregen oder aber vorrangig auf die Erarbeitung konkreter Handlungsoptionen für Politik, Verwaltung oder die Wirtschaft abzielen" (Sauter/Revermann 2014, S. 4).

Im folgenden Beitrag werden einige ausgewählte Ergebnisse eines Projekts des Büros für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB) zum Thema Synthetische Biologie vorgestellt, hinsichtlich ihres Beitrags zum Diskurs über dieses gesellschaftliche und politisch kontroversen Themas diskutiert und der Entwicklung beim Genome Editing gegenübergestellt. Die inhaltliche Basis bildet der umfangreiche TAB-Arbeitsbericht Nr. 164 "Synthetische Biologie – die nächste Stufe der Biotechnologie" (Sauter et al. 2015).<sup>26</sup>

---

<sup>26</sup> Hingewiesen sei auch auf die separate Kurzfassung, den sogenannten TAB-Fokus (<http://www.tab-beim-bundestag.de/de/pdf/publikationen/tab-fokus/TAB-Fokus-007.pdf>), sowie den Schwerpunkt "Synthetische Biologie" im TAB-Brief Nr. 46 (<http://www.tab-beim-bundestag.de/de/pdf/publikationen/tab-brief/TAB-Brief-046.pdf>)

## **6.1 Aufgabe und Spezifika des TAB: Wissenschaftlichkeit und organisierte Neutralität**

Die Art und Weise der Befassung des TAB mit wissenschaftlich-technischen Entwicklungen wird maßgeblich durch den speziellen Auftraggeber und die spezifische institutionelle Konstruktion geprägt (vgl. Grunwald et al. 2014; Sauter/Revermann 2014): Die Themenfindung und -setzung erfolgen durch den Bundestag bzw. den Forschungsausschuss; die Projektkonzeption und -durchführung in wissenschaftlicher Unabhängigkeit durch das TAB; resultierende Abschlussberichte werden durch den Forschungsausschuss dahingehend geprüft, ob der Untersuchungsauftrag erfüllt worden ist, daraufhin abgenommen und veröffentlicht. Eine prägende Besonderheit ist: Anders als sonst im Parlament üblich, müssen Beauftragung und Abnahme der TAB-Untersuchungen im Konsens aller Fraktionen erfolgen – so schreiben es die Verfahrensregeln der TA beim Deutschen Bundestag vor. Hierdurch wird effektiv eine (partei-)politische Beeinflussung der Ergebnisse verhindert, nicht jedoch deren (unterschiedliche) Bewertung durch die Fraktionen. Diese erfolgt nämlich im nächsten Schritt, wenn die abgenommenen TAB-Berichte als Bundestagsdrucksache in den parlamentarischen Beratungsgang eingebracht werden.

In besonders umstrittenen Themenfeldern, wozu die Gentechnik – und v.a. die Grüne Gentechnik – zählt, führt diese "institutionalisierte" Überparteilichkeit bzw. notwendige Neutralität dazu, dass das TAB eine der ganz wenigen nicht interessen gebundenen Stimmen repräsentiert. Diese Sonderstellung wird sowohl innerhalb als auch außerhalb des Bundestages weitgehend anerkannt und vielfach auch geschätzt – am ehesten erfolgt eine Kritik an den Analysen des TAB vonseiten der "Gentechnikbefürworter", und zwar nicht an den Risikobetrachtungen, sondern an der meist nüchternen Chanceneinschätzung. Unter den Gentechnikbefürwortern finden sich neben wirtschaftlichen Akteuren auch viele forschende Wissenschaftler, die von der (zukünftigen) Wichtigkeit ihrer Forschung überzeugt sind und sich naturgemäß eine Unterstützung ihrer Arbeiten wünschen.

Allerdings versteht sich das TAB, obwohl es wissenschaftsbasiert und hinsichtlich Informationsaufbereitung und -nachweis explizit wissenschaftlich arbeitet, anders als insbesondere die Akademien gerade nicht als Stimme der Wissenschaft, weil diese in unserem Verständnis auch nur ein – wenn auch besonders wichtiger – Akteur in der Debatte über die Potenziale und die gesellschaftlich erwünschte Förderung und Nutzung neuer Technologien, Methoden und Verfahren ist.

Die Neutralität bzw. Interessenungebundenheit des TAB führt allerdings geradezu zwangsläufig dazu, dass keine einfachen, eindeutigen Handlungsempfehlungen entwickelt und ausgesprochen werden, was die mögliche Wirkung in einem interessegeprägten Umfeld immanent begrenzt. Realistisch und bescheiden wird daher die Zielsetzung mit "Verbesserung der Informationslage des Deutschen Bundestages und ei-

ne wissenschaftliche Unterstützung seiner Meinungsbildung und Entscheidungsfindung"<sup>27</sup> beschrieben. Eine darüber hinausgehende Informierung des Diskurses in der Fach- und allgemeinen Öffentlichkeit durch die Publikation und Präsentation der Ergebnisse des TAB ist dabei vom Auftraggeber explizit gewollt, nachdem die Förderung des öffentlichen Dialogs und der gesellschaftlichen Meinungsbildung mittlerweile als ein wichtiger Teil der TA im Deutschen Bundestag angesehen wird.<sup>28</sup>

## **6.2 Das TAB-Projekt zur Synthetischen Biologie: Auftrag, Zuschnitt und Besonderheiten**

Die Synthetische Biologie (im Folgenden kurz: Synbio) war im Jahr 2011, als das TAB die Beschäftigung mit diesem Thema aufnahm, ein noch recht junges Forschungs- und Technologiefeld mit den damit verbundenen typischen Problemen einer hochgradig unsicheren Wissenslage (vgl. hierzu und zum Folgenden: Sauter et al. 2015, S. 29 f. und 35 ff.). Andere Einrichtungen der Politikberatung wie der Deutsche Ethikrat (DER 2010) und die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS 2012) hatten kurz zuvor keinen akuten Handlungsbedarf diagnostiziert, dennoch wurde das TAB vom Ausschuss für Bildung, Forschung und Technikfolgenabschätzung (ABFTA) mit einem umfassenden TA-Projekt zur Synbio beauftragt – und das parallel zu einer Vielzahl von TA-Untersuchungen national und international. Dadurch fiel es gar nicht leicht, einen spezifischen Zuschnitt für die TAB-Untersuchung zu finden.

Mit Blick auf den primären Auftrag des TAB, den Deutschen Bundestag – und in diesem Fall insbesondere den ABFTA – zu beraten, stellte sich die große Herausforderung, mit der Komplexität, Unschärfe und Offenheit des Themas so umzugehen, dass der Wunsch der Politik nach einer möglichst konkreten, neutralen, umsichtigen und nützlichen Analyse erfüllt werden konnte. Daher wurde entschieden, im Projekt weder auf eher akademische Definitionsfragen noch auf die Darstellung überwiegend spekulativer Visionen zu fokussieren, sondern eine möglichst umfassende, aber konzentrierte Einordnung der Debatten über die Potenziale und Perspektiven der Synbio in größere wissenschafts-, forschungs- und innovationspolitische Kontexte zu leisten und dadurch zukunftsrelevante Themen und Handlungsfelder für den Bundestag und speziell den ABFTA zu identifizieren. Im Vergleich mit anderen interdisziplinären Publikationen zur Synbio zeichnete sich der resultierende Bericht des TAB an den Bundestag durch drei Besonderheiten aus (Sauter et al. 2015):

---

<sup>27</sup> <http://www.tab-beim-bundestag.de/de/ueber-uns/aufgaben-und-ziele.html>

<sup>28</sup> <http://www.tab-beim-bundestag.de/de/ueber-uns/methodik.html>

1. Es wurde eine Unterscheidung von Synbio i.e.S. und Synbio i.w.S. eingeführt, um eine Relevanzdifferenzierung für die Forschungspolitik, aber auch für die weitere gesellschaftliche Debatte zu erreichen.
2. Zu den Fragen der möglichen Risiken wurde ausführlich analysiert, wie eine prospektive Biosicherheitsforschung zur Synbio organisiert werden könnte, als Basis zukünftiger Risikoabschätzung und -regulierung. Dabei wurde insbesondere herausgearbeitet, auf welche Weise gesellschaftliche Akteure an der Organisation vorausschauender Forschung beteiligt werden könnten, um dem Lagerdenken entgegen zu wirken, dass in der Vergangenheit die Debatte über die Risiken gentechnisch veränderter Organismen enorm geprägt hat.
3. Die dritte Besonderheit war die intensive Befassung mit der Frage der Beteiligung der nichtorganisierten Bürgerschaft in Form der DIY-Biologinnen oder Biohacker. Diese bilden eine neuartige Akteursgruppe, die per Definition nicht zum etablierten Forschungs- und Innovationssystem gehört und dieses als unzugänglich, teils verkrustet, v.a. aber mit Blick auf den Umgang mit geistigem Eigentum kritisiert – aber nicht in einer gentechnikablehnenden Perspektive, sondern weil die Akteure die Nutzung gentechnischer Möglichkeiten in gewisser Weise demokratisieren möchten.

### **6.2.1. Zur Einführung der Unterscheidung von Synbio i.e.S. und Synbio i.w.S.**

Bei der näheren Beschäftigung mit der Literatur zur Synbio ist unübersehbar, dass der Begriff sehr unterschiedlich verwendet und eine heterogene Vielfalt von Forschungsvorhaben, Methoden und Verfahren damit etikettiert wurde und wird. Zu Beginn des TAB-Projekts wurde in Anlehnung an die erste größere interdisziplinäre Stellungnahme in Deutschland der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), der Deutschen Akademie der Technikwissenschaften (acatech) und der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina (DFG et al. 2009) Synbio als eine Art Schirm- oder Sammelbegriff (»umbrella term«) verwendet (vgl. hierzu und zum Folgenden: Sauter et al. 2015, S. 38 ff.). Im Lauf der Zeit zeigte sich aber immer deutlicher, dass sowohl für die nähere Charakterisierung der Anwendungs- und Risikopotenziale als auch für eine Einschätzung der weiteren (forschungs)politischen und gesamtgesellschaftlichen Bedeutung diese »Schirmperspektive« der Synbio nicht hinreichend erschien, weil es kaum möglich war, Aussagen zu treffen, die sich auf alle (oder zumindest die meisten) der genannten, recht unterschiedlichen Forschungsansätze beziehen. Eine völlig separierte Betrachtung einzelner Entwicklungslinien (z. B. zu Protokollen, genetischen Schaltkreisen, Genomsynthese) wiederum hätte verhindert, den Begriff Synbio überhaupt noch sinnvoll als Klammer verwenden zu können.

Als Konsequenz aus einer Vielzahl projektinterner Diskussionen und der Beobachtung der anhaltenden internationalen wissenschafts- und forschungspolitischen Debatte über Definitionen, Verständnis und Abgrenzungsfragen entwickelte sich schließlich die Idee, eine Basisunterscheidung von Synthetischer Biologie im engeren und im weiteren Sinn einzuführen und für die Folgenanalyse und -diskussion zu benutzen (Sauter et al. 2015, S. 9):

- Mit *Synbio i. e. S.* wird danach die Herstellung von »am Reißbrett« entworfenen und de novo konstruierten Zellen oder Organismen (oder auch von zellfreien biologischen bzw. biochemischen Systemen) bezeichnet. Diese sollen zur Produktion beliebiger, auch völlig neuartiger Substanzen oder visionärer Anwendungen im Gesundheits-, Energie- oder Umweltbereich dienen. Charakteristische Forschungsansätze und -methoden sind die Herstellung kompletter synthetischer Genome, die Konstruktion sogenannter »Minimalzellen« (entweder »top down« durch Reduktion natürlicher Zellen oder aber »bottom up« bzw. »from the scratch« aus biochemischen Grundbestandteilen) sowie der Einsatz von nichtnatürlichen Molekülen (»Xenobiologie«). Synthetische Biologie im engeren Sinn wird von einer eher kleinen Zahl von Wissenschaftlern vorangetrieben und soll auch zu Erkenntnissen über die Entstehung von Leben (und dessen Chemie) auf der Erde beitragen.
- *Synbio i. w. S.* bezeichnet demgegenüber als Sammelbegriff alle aktuell verfolgten, zunehmend informationsbasierten und meist anwendungsorientierten Ansätze der molekularbiologischen Veränderung bekannter Organismen. Diese zielen auf die Konstruktion neuer Synthesewege zur Herstellung von Chemikalien oder das Design genetischer Schaltkreise für neue sensorische und regulatorische Funktionen in existierenden Organismen. *Synbio i. w. S.* geht über bisherige einfache gentechnische Ansätze zur Stoffwechselbeeinflussung von Organismen (das sogenannte »Metabolic Engineering«) hinaus. Zunehmend werden dabei computergestützte Design- und Modellierungsprozesse eingesetzt.

Synthetische Biologie im engeren Sinn wurde und wird von einer eher kleinen Zahl von Wissenschaftlern vorangetrieben – darunter sehr prominente Protagonisten der Genomforschung wie Craig Venter und George Church, welche die zukünftigen Möglichkeiten und Potenziale zum Teil äußerst medienwirksam bewerben (Sauter et al. 2015, S. 40). Ob die anvisierten Resultate der *Synbio i. e. S.*, also weitgehend »künstliche«, tatsächlich »ingenieurhaft« (de novo) konzipierte und produzierte Organismen bzw. (»bioartige«) Systeme jemals eine große Bedeutung für Wirtschaft und Gesellschaft erlangen, ist auch Anfang des Jahres 2018 nicht verlässlich abseh-

bar. Die Forschungsarbeiten an komplett künstlichen, »bottom up« hergestellten Zellen/Organismen oder an »top down« fundamental genetisch und biochemisch umgebauten natürlichen Zellen befinden sich nach wie vor in so frühen Stadien, dass unklar ist, ob sie wirklich in Zukunft für eine effiziente, zuverlässige und sichere »biobasierte« Produktion genutzt werden können (Sauter et al. 2015, S. 43).

Die vom TAB in den letzten Wochen der Berichtsfertigstellung im Frühjahr 2015 gerade noch erfasste Ausweitung der Debatte über die neuen Möglichkeiten und Konsequenzen der Genome-Editing-Verfahren (unter anderem mittels des CRISPR/Cas-Systems) hingegen haben der Diskussion über die zukünftigen Potenziale der Synbio i. w. S., verstanden als nächste Stufe der Bio- bzw. Gentechnologie, wie erwartet einen massiven Schub verliehen – allerdings mit der interessanten Verschiebung des Fokus hin zu eher subtilen Eingriffen unter Nutzung der innerartlichen genetischen Variation, weshalb der Begriff Synbio mittlerweile eher seltener verwendet wird (vgl. hierzu Abschnitt 6.3).

### **6.2.2 Zur Organisation prospektiver Biosicherheitsforschung als Basis zukünftiger Risikoabschätzung und -regulierung**

Wie im TAB-Arbeitsbericht Nr. 164 ausführlich beschrieben (Sauter et al. 2015, S. 87 ff.), stellt sich für die Synbio, die sehr weitgehend auf der Gentechnologie aufbaut, die Frage, ob die entsprechenden Methoden der Risikoabschätzung und die Verfahren der Risikoregulierung (noch) greifen bzw. ob und wie sie erneuert bzw. erweitert werden können oder müssen. Nach wie vor sind sich die meisten internationalen Experten einig, dass die bestehenden Verfahren der Risikoabschätzung in den nächsten Jahren für den Umgang mit den Produkten der Synbio (i. w. S.) ausreichen, weil die absehbaren Produkte noch sehr ähnlich den bisherigen der Gentechnologie sind (bzw. direkt als solche kategorisiert werden können).

Aber gleichzeitig wird schon seit einigen Jahren darauf hingewiesen, dass das bisherige Verfahren, das eine Einzelfallprüfung vorsieht und zentral auf einem Vergleich mit weitgehend ähnlichen (»substanziell äquivalenten«), seit Langem genutzten (»vertrauten«) Organismen basiert, durch mehrere wissenschaftlich-technologische Entwicklungen der Synbio infrage gestellt wird.

Unabhängig von der Debatte über Synbio haben sich europäische und deutsche Fachbehörden, konkret die European Food Safety Authority (EFSA) und das Bundesamt für Naturschutz (BfN), schon seit Längerem mit der Frage befasst, wie gentechnisch veränderte Pflanzen (GVP) mit substanziell geänderten Eigenschaften sicherheitsbewertet werden können und hierzu Forschungsaufträge vergeben (Greiter o.J.; Halford et al. 2014). Solche substanziellen Änderungen können bei Pflanzen z. B. aus einer Erhöhung der Trockenheits- und Salztoleranz resultieren, weil sich dadurch das ökologische Ausbreitungsverhalten fundamental verändern

kann. Die zentrale Frage lautet, in welchem Umfang und mit welchen Methoden substantiell veränderte oder weitgehend »neu konstruierte«, vermehrungs- und ausbreitungsfähige Organismen charakterisiert werden können und müssen (»Risikobewertung ohne Komparator«), um eine gesellschaftlich akzeptable Entscheidungsfindung über die Nutzung dieser Organismen herbeiführen zu können.

Angesichts der fortschreitenden Möglichkeiten der Synbio i. w. S., vor allem der Genome-Editing-Verfahren, haben wir gefolgert, dass es an der Zeit sei, dass sich das Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) – im Verbund mit den anderen betroffenen Fachministerien für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit (BMUB) und für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) – erneut der Biosicherheitsforschung zuwendet, nachdem diese seit 2012 nur noch im Rahmen europäischer Projekte gefördert worden ist (vgl. hierzu und zum Folgenden Sauter et al. 2015, S. 23 ff. und 267 ff.).

Dabei war schon 2015 absehbar, dass die Brisanz von Fragen der Zulassung von GVO und der Biosicherheitsforschung als Basis zukünftiger Risikoabschätzung und -regulierung dadurch gesteigert werden könnte, dass möglicherweise eine Reihe von Gentechnologieanwendungen von der Risikoregulierung und damit der Sicherheitsbewertung auch in der EU und Deutschland nicht (mehr) erfasst wird, weil die quantitativen Änderungen auf DNA-Ebene sehr gering sind – gleichzeitig aber durch Summierung zu substantiell veränderten GVO führen könnten (auch hierzu mehr in Abschnitt 6.3).

Um eine forschungspolitische Programmatik für eine prospektive Biosicherheitsforschung zur Synbio i. w. S. entwickeln zu können, erscheint es unumgänglich, die bisherigen, ungelösten Kontroversen über die Risikobewertung von »konventionellen« GVO ein weiteres Mal aufzurollen und zu versuchen, die Schwachstellen bzw. Streitpunkte der Risikoforschung einer umfassenden und vor allem diskursiven Bilanzierung zu unterziehen. Dabei ist nicht zu erwarten, dass die Streitpunkte aufgelöst werden, sondern das Ziel sollte eine weiter gehende Verständigung der unterschiedlichen Akteure als bislang über die (nach wie vor) offenen Fragen der Biosicherheitsforschung zu GVO sein. Um die Erfolgchancen eines solchen Prozesses zu erhöhen, sollten Zielvorgaben so realistisch und konkret wie möglich formuliert und vor allem Negativerfahrungen und Einsichten aus früheren Verständigungsversuchen ausgewertet und berücksichtigt werden.

Da bei der Risikobewertung von GVO die (natur)wissenschaftlichen Aspekte nur einen Teil der relevanten Fragen abdecken, müsste ein zukünftiges Biosicherheitsprogramm von vornherein auch sozial-, geistes-, wirtschafts- und rechtswissenschaftlich ausgerichtet sein, langfristig und ressortübergreifend konzipiert, und dabei echte Beteiligungsmöglichkeiten für die Kompetenz und Interessen aller relevanten gesellschaftlichen Akteure bieten. Die Koordination eines entsprechenden Prozesses zur Erarbei-

tung eines Forschungsprogramms müsste durch eine Institution bzw. ein (Lenkungs-)Gremium erfolgen, die/das von so vielen Beteiligten wie möglich als neutral und fair eingeschätzt wird.

Ein wichtiger Punkt wird die Finanzierung sein. Ob die Privatwirtschaft in Form von Industrieverbänden, Versicherungsunternehmen oder Investorennetzwerken in einen entsprechenden Fonds einzahlen würde bzw. sollte, wäre zu eruieren. Ein erster konkreter Schritt könnte die Organisation einer Sondierungskonferenz durch die zuständigen Ministerien bereits unter stärkerer Beteiligung der relevanten gesellschaftlichen Gruppen sein.

Diese Anregungen des TAB zur diskursiven Ausgestaltung der Biosicherheitsforschung sind bis Anfang 2018 noch nicht erkennbar aufgegriffen worden. Das BMBF hat im September 2015 eine Ausschreibung zu Forschungsverbänden und Klausurwochen zu "ethischen, rechtlichen und sozialen Aspekten moderner Verfahren der Genom-Editierung und deren möglicher Anwendungen" innerhalb und außerhalb der Humanmedizin veröffentlicht und fördert seit Herbst 2016 insgesamt sieben interdisziplinäre Forschungsprojekte, die auch partizipative Elemente umfassen, sowie fünf Klausurwochen (<https://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/genom-editierung-5036.php>). Praktische Biosicherheitsforschung ist nicht Gegenstand der Fördermaßnahme.

Daneben hat das BfN im Jahr 2016 zwei Forschungsvorhaben, die inhaltlich mit den Ergebnissen des TAB-Arbeitsberichts Nr. 164 korrespondieren, in Auftrag gegeben: zu "Analyse und weiterer Forschungsbedarf der GVO Risikoforschung" sowie zur "Risikobewertung von Pflanzen, die mit Neuen Techniken hergestellt wurden" (<https://www.bfn.de/themen/agro-gentechnik/liste-aller-f-e-vorhaben.html>). Hierbei handelt es sich um Literaturlauswertungen – ob von den Forschungsnehmern Überlegungen zur Organisation zukünftiger Biosicherheitsforschung angestellt werden, bleibt abzuwarten.

### **6.2.3 Zu den möglichen Beiträgen der DIY-Biologie zur biotechnologischen Forschung im Sinne einer aktiven Form von Citizen Science**

Die Besonderheiten und die mögliche zukünftige Bedeutung der DIY-Biologie (als besondere Form der Citizen Science oder Bürgerwissenschaft; Finke 2014) wurden auch auf Wunsch des Auftraggebers umfassend untersucht und bilden in dieser Ausführlichkeit ein klares Alleinstellungsmerkmal des TAB-Arbeitsberichts Nr. 164 (Sauter et al. 2015, S. 191 ff.).

In den meisten anderen Publikationen zur Synbio tauchten die Aktivitäten der DIY-Biologen oder Biohacker nur im Rahmen der Risikobetrachtung auf, sowohl hinsichtlich möglicher Biosafety- als auch möglicher Biosecuritygefahren (bis hin zum Bioterorbegriff). Das TAB hingegen hat ganz bewusst und explizit auch untersucht, welche

positiven, konstruktiven Potenziale in der DIY-Biologie-Bewegung stecken und ob von ihr relevante Impulse für die in vieler Hinsicht festgefahrene Gentechnikdebatte ausgehen können. Kernpunkte der Einschätzung sind (vgl. hierzu und zum Folgenden Sauter et al. 2015, S. 19 ff.):

Die sehr heterogene DIY-Biologieszene stellt eine Bottom-up-Bewegung dar und rekrutiert sich neben interessierten Laien und Bastlern insbesondere ausbildenden Künstlern sowie wissenschaftlich ausgebildeten Akteuren (mit Schwerpunkt aus den Bio- und Informationswissenschaften). Die Bedeutung der DIY-Bio- oder Biohackerszene für die Synbio resultiert allerdings bislang kaum aus der Entwicklung innovativer Projektideen oder gar konkreter Forschungsvorhaben, da die technischen Kapazitäten und Möglichkeiten meist noch sehr begrenzt sind. Allerdings gibt es mehrere Gründe dafür, das Phänomen nicht zu unterschätzen:

1. Zum Ersten könnte der technologische Rückstand nicht erst dann schrumpfen, wenn ein zentrales Ziel (bzw. die Vision) der Synbio i. e. S. Realität wird, nämlich die digitale Modellierung und automatisierte Produktion synthetischer Organismen – sondern die leichtere Zugänglichkeit und Anwendbarkeit der Genome-Editing-Verfahren, v.a. von CRISPR/Cas-9, eröffnet auch für Akteure mit begrenzterem Wissen und einfacherer Laborausstattung mehr Optionen gentechnischer Eingriffe, als noch vor wenigen Jahren absehbar war.
2. Zum Zweiten liefert die DIY-Biologie Impulse für die Debatte über die Perspektiven der Synbio (i. w. S.), ihre gesellschaftliche Nützlichkeit und Erwünschtheit sowie insbesondere den Anspruch der Öffentlichkeit auf eine echte Teilhabe am Forschungs- und Innovationsprozess.
3. Und zum Dritten dürfen angesichts der Genome-Editing-Möglichkeiten die Sicherheitsbedenken gerade dann nicht verharmlost werden, wenn die positiven Potenziale der DIY-Biologie in den Blick genommen und ggf. sogar gezielt gefördert werden sollen.

Mit Blick auf eine zukünftig deutlich leistungsfähigere DIY-Biologie als Konsequenz weiterer technologischer Entwicklungen, vor allem der Automatisierung, Dezentralisierung, Miniaturisierung und Verbilligung der DNA-Synthese sowie von Lab-on-a-Chip-Technologien, werden in der DIY-Bioszene selbst zunehmend Fragen zu Biosicherheit und zur Freiheit der Forschung sowie zur gemeinwohlorientierten wirtschaftliche Nutzung gestellt. Im TAB-Arbeitsbericht Nr. 164 werden hierzu Überlegungen zu einem sogenannten »Bio-Commons-Konzept« vorgestellt, das in der europäischen Biohackerszene entworfen wurde (Sauter et al. 2015, S. 243 ff.). Dieses um-

fasst Überlegungen zur Notwendigkeit und den Möglichkeiten einer Erfassung und Kontrolle des Umgangs mit genetischen Daten, sowohl zur Vermeidung riskanter Anwendungen als auch zur Förderung einer möglichst offenen Verbreitung des (molekular)biologischen und (bio)technologischen Wissens als Basis einer zukünftigen global gerechten und nachhaltigen Nutzung der Potenziale der Synthetischen Biologie. Vorgeschlagen wird eine grundlegende Reform des Schutzes geistigen Eigentums in den Lebenswissenschaften, sodass Schutzansprüche unbürokratisch und kostengünstig für eine eher kurze Dauer (wenige Jahre) erworben und mit Share-Alike-Klauseln ähnlich zu den auf dem Copyright basierenden Creative-Commons-Lizenzen verbunden werden können. Zur Diskussion gestellt wird im TAB-Bericht auch eine begrenzte Deregulierung von als sicher, d. h. als risikolos bewerteten Gensequenzen bzw. Organismen, in Anknüpfung an auch derzeit schon bestehende gesetzliche Spielräume (u. a. bei der Selbstklonierung) und Praktiken (im schulischen und universitären Bereich) (Sauter et al. 2015, S. 250 ff.).

In einem auf die DIY-Biologie fokussierten öffentlichen Fachgespräch, veranstaltet durch den ABFTA und das TAB, wurden im September 2016 in einer Problemlösungsperspektive intensiv sowohl die möglichen, innovativen Forschungsbeiträge am Beispiel der Antibiotikaforschung als auch der Umgang mit ihren potenziellen Gefahren ohne Ressentiments oder Übertreibungen diskutiert. Dabei gelang es, Akteure und Meinungsträger aus Politik, Wissenschaft, Fachbehörden und (Zivil-)Gesellschaft so zusammenzubringen, dass nicht die Kontroverse im Vordergrund stand, sondern die Suche nach Gemeinsamkeiten (hib 2016). Auch von Seiten der teilnehmenden Bundestagsabgeordneten wurde der herausragende Stellenwert einer größtmöglichen Transparenz bezüglich der Aktivitäten und Motive aller mit gentechnischen Arbeiten befassten Forschenden in öffentlichen und privaten Institutionen wie auch der DIY-Biologen betont.

Im Frühjahr 2018 erscheint die Debatte über die Potenziale und Risiken der DIY-Biologie etwas abgeflaut, aber auch sachlicher geworden zu sein. Risiken werden u.a. im Kontext von Genome-Editing-Selbstversuchen einzelner Biohacker thematisiert, gleichzeitig erscheint das ohnehin vorhandene Problembewusstsein wichtiger Vertreter der Szene durch die intensivere Debatte der letzten Jahre eher gestärkt (Nature 2017), und das TAB nimmt für sich in Anspruch, hierzu konstruktiv beigetragen zu haben.

Ein "persönlicher" Hinweis sei an dieser Stelle erlaubt auf die berufliche Aktivität des TAB-Berichts-Koautors und wohl bekanntesten deutschen Biohackers Rüdiger Trojok: Er hat mittlerweile im Auftrag des Startup-Incubators UnternehmerTUM der TU München unter dem Namen "Bio.kitchen" ein DIY-Biologie-Labor etabliert (<https://www.eventbrite.de/e/biokitchen-lab-opening-tickets-44545541915>) und damit eine sozusagen institutionalisierte Form des Biohackertums geschaffen, das einen Platz im Innovationsgeschehen der Biotechnologie einnehmen soll – mit allen ökonomischen und sonstigen Unwägbarkeiten neuer Technologieentwicklungen. Diese Insti-

tionalisierung stellt nur auf den ersten Blick einen Widerspruch dar, denn schon im TAB-Bericht wurde das Ziel der Professionalisierung als ein Motiv vieler DIY-Biologen beschrieben (Sauter et al. 2015, S. 202 f. und 228 ff.).

### **6.3 Ausblick: Subtiles Genome Editing anstatt Schaffung künstlicher Organismen?**

Als Biologen erschienen mir die weitreichenden, im besseren Fall vom Ingenieursdenken, im schlechteren Fall von einem naiv wirkenden Fortschrittsglauben geprägten Fantasien einer weitreichenden und breit angewendeten Synthetischen Biologie von jeher suspekt und unrealistisch. Daher habe ich meinen Vortrag „Pharmakologische Leistungssteigerung – doch wozu? Human Enhancement zwischen Utopie und Trivialität“ auf der Tagung "Leben 3.0 und die Zukunft der Evolution" der Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften in Kooperation mit dem Medizinhistorischen Museum der Charité am 16./17.9.10 mit folgender Prognose beendet: *"Die Zukunft der Biowissenschaften besteht nicht in ihrer Anwendung zur gezielten Umgestaltung oder gar Neusynthese von Lebensvorgängen, sondern in deren besseren Verständnis und höchstens vorsichtiger Beeinflussung. Ein weiter wachsendes, tieferes Verständnis der Komplexität biologischer Systeme dürfte Visionen einer anthropogenen Steuerung der Evolution eher entgegenwirken als sie befeuern."*

Die intensive Beobachtung der Fortschritte in den angewandten Biowissenschaften, also der Bio- und Gentechnologie, in den vergangenen Jahren hat diese Einschätzung eher gestärkt als geschwächt. Beim Genome Editing springt ins Auge, dass zwar die ubiquitäre, einfache und günstige Nutzbarkeit sowie eine bislang nicht erreichbare Genauigkeit herausgestrichen wird und an frühere Phasen der Gentechnik erinnernde Nutzenversprechungen zur Lösung der großen Menschheitsprobleme wieder aufgewärmt werden (zuletzt durch Bill Gates als Co-Chair der enorm einflussreichen Bill & Melinda Gates Foundation; Gates 2018), aber auch bei genauerem Hinsehen finden sich kaum noch Zielstellungen, die zu einer Synbio i.e.S. passen würden. Und selbst die Übertragung genetischer Merkmale zwischen verschiedenen Arten, die seit jeher als zentraler Vorteil der der ("Trans-") Gentechnik hervorgehoben wurde, weil dadurch Nutzpflanzen und -tiere mit ganz neuen Eigenschaften geschaffen werden könnten, ist in den Hintergrund getreten. Stattdessen wird das kundige Umschreiben – bzw. ein vorsichtiges und zielführendes "Editieren", das in der Analogie zum Verlagswesen sowohl Autor als auch Herausgeber nützen würde – des Genoms unter Nutzung der art-eigenen Variabilität propagiert (auch Cisgenetik genannt).

Ob hierdurch wirklich so viele Innovationen in der Medizin, der Tier- und Pflanzenzucht sowie oder auch der industriellen Biotechnologie ermöglicht werden, bleibt abzuwarten. Falls dies doch nicht eintritt, wäre es keine Überraschung, wenn das Pendel der

gentechnologischen Hoffnungen und Szenarien wieder in Richtung der Synbio-Visionen ausschlägt.

**Literatur:**

- DER (Deutscher Ethikrat) (2010): Unterrichtung durch den Deutschen Ethikrat. Jahresbericht 2009. Deutscher Bundestag, Drucksache 17/1540, Berlin
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), acatech (acatech – Deutsche Akademie der Technikwissenschaften e. V.), Leopoldina (Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina e. V. – Nationale Akademie der Wissenschaften) (2009): Synthetische Biologie. Stellungnahme, Bonn u. a. O.
- Finke, P. (2014): Citizen Science. Das unterschätzte Wissen der Laien. München
- Gates, B. (2018). Gene Editing for Good. How CRISPR Could Transform Global Development. In: Foreign Affairs, 10.04.2018; <https://www.foreignaffairs.com/print/1122158> (13.04.2018)
- Greiter, A., Eckerstorfer, M., Heissenberger, A., Miklau, M., Dolezel, M., Sulzer, C., (o.J.): Challenges of a risk assessment of GMP without comparator and development of a concept (Herausforderungen einer Risikobewertung von GVP ohne Komparator und Entwicklung eines Konzepts). Abschlussbericht im Auftrag des Bundesamtes für Naturschutz, Bonn/Wien (Entwurf)
- Grunwald, A., Hennen, L., Sauter, A. (2014): Parlamentarische Technikfolgenabschätzung in Deutschland und Europa. in: Aus Politik und Zeitgeschichte (APuZ) - Beilage aus Das Parlament 64 (2014) 6-7, S. 17-24
- Halford, N., Hudson, E., Gimson, A., Weightman, R., Shewry, P.R., Tompkins, S. (2014): Safety assessment of genetically modified plants with deliberately altered composition. In: Plant Biotechnology Journal 12(6), S. 651-654
- hib (heute im bundestag) (2016): Biohacking und Synthetische Biologie, in: **hib 564/2016. 30.09.2016;** [www.bundestag.de/presse/hib/201609/-/462200](http://www.bundestag.de/presse/hib/201609/-/462200) (13.04.2018)
- Nature (2017): A boost from biohackers (Editorial). In: Nature 552, S. 29
- Sauter, A., Albrecht, S., Doren, D. van, König, H., Reiß, T., Trojok, R. (2015): Synthetische Biologie – die nächste Stufe der Biotechnologie. Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB), Arbeitsbericht Nr. 164, Berlin; [www.tab-beim-bundestag.de/de/pdf/publikationen/berichte/TAB-Arbeitsbericht-ab164.pdf](http://www.tab-beim-bundestag.de/de/pdf/publikationen/berichte/TAB-Arbeitsbericht-ab164.pdf) (13.04.2018)
- Sauter, A., Revermann, C. (2014): TA beim Deutschen Bundestag: Neujustierung und bevorstehende Aufgaben. In: TAB-Brief 43, S. 4-9, Büro für Technikfolgen-Abschätzung beim Deutschen Bundestag (TAB), Berlin; <http://www.tab-beim-bundestag.de/de/pdf/publikationen/tab-brief/TAB-Brief-043.pdf>
- ZKBS (2012a): Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland. 1. Zwischenbericht der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit vom 06. November 2012. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin, Az.: 46012, o. O., [www.bvl.bund.de](http://www.bvl.bund.de); (13.04.2018)

## 7. Synthetische Biologie – (k)eine neue Wissenschaft?

**Swantje Straßheim**

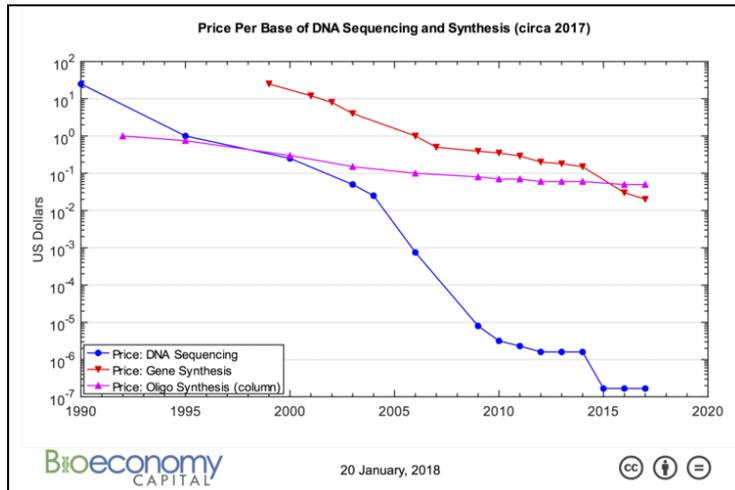
Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin

### **Idee der Synthetischen Biologie**

Der Begriff „Synthetische Biologie“ wurde nicht erst in den letzten Jahren geprägt, sondern bereits 1912 von dem französischen Biophysiker Stéphane Leduc verwendet (Leduc 1912). Während sich Leduc mit dem Begriff Synthetische Biologie auf die Synthese künstlichen Lebens aus unbelebter Materie bezog, wird „Synthetische Biologie“ seit dem Jahr 2000 für eine vielfältige und diverse Forschung zumeist im Bereich der Gentechnik verwendet (Cameron *et al.* 2014). Dabei wird die Synthetische Biologie nicht als eine spezielle Technik, sondern vielmehr als ein Konzept verstanden. Treffend wurde dieses Konzept im Jahr 2015 bei einem Workshop der EU-Kommission durch den Wissenschaftler Paul Freemont formuliert. Er definierte die Synthetische Biologie wie folgt: „Synthetic Biology has a powerful vision for merging engineering design practice into the construction of biology systems and cells at the genetic level“ (Freemont 2015). Anhand dieser Definition lassen sich auch die vielen verschiedenen Entwicklungen, die im Allgemeinen zur Synthetischen Biologie gerechnet werden, zusammenfassen.

### **Entwicklung der Forschung**

Wie bereits durch Cameron *et al.* 2014 beschrieben, fußen die Entwicklungen im Bereich der Synthetischen Biologie auf den Methoden der Molekularbiologie, den „omics“-Techniken und der Systembiologie. Als wichtiger Beschleuniger der Synthetischen Biologie gilt zudem die stetige Verbesserung der DNA-Synthesetechniken. Laut Marktbeobachtungsstudien ist mittlerweile sogar der Preis pro synthetisierter Base bei der Gensynthese günstiger als bei der bereits seit Jahren standardmäßig angewendeten Oligonukleotidsynthese (Abbildung 7.1).



**Abbildung 7.1:** Entwicklung der Preise für die Synthese von Oligonukleotiden (pink), Genen (rot) und der Sequenzierung von DNA (blau) (Rob Carlton, <http://www.synthesis.cc/>).

Zwei der ersten Veröffentlichungen, die der Synthetischen Biologie in ihrer heutigen Form zugerechnet werden, beschreiben mit dem sogenannten *toggle switch* und dem *repressilator* genetische Schaltkreise. Während der Kippschalter (*toggle switch*) aus zwei Repressorgenen besteht, die sich gegenseitig reprimieren, sodass jeweils nur eines der beiden Gene angeschaltet ist (Gardner *et al.* 2000), erzeugen beim *repressilator* drei Repressor-Promotor-Paare eine oszillierende GFP-Expression (Elo-witz & Leibler 2000). Mittlerweile können genetische Schaltkreise beispielsweise zur papiergebundenen Detektion verschiedener Ebolavirus-Stämme genutzt werden (Pardee *et al.* 2014).

Direkt mit den Entwicklungen im Bereich der Synthese von Genen und Genomen assoziiert ist eine weitere frühe Veröffentlichung der Synthetischen Biologie. Bereits im Jahr 2002 synthetisierte die Arbeitsgruppe um Prof. Eckard Wimmer das 7,5 kb lange Genom des Poliovirus (Cello *et al.* 2002). Weitere bahnbrechende Veröffentlichungen auf diesem Gebiet waren die erste vollständige Synthese eines Bakterien-chromosoms (*Mycoplasma mycoides*, Gibson *et al.* 2006) sowie die Synthese von mittlerweile sechs der 32 Chromosomen der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*, die später zu einer durch ein synthetisches Genom kontrollierten Hefe zusammgebaut werden sollen (Richardson *et al.* 2017).

Die immer einfacher werdende Synthese von Genen trägt auch zur Entwicklung von maßgeschneiderten Stoffwechselwegen bei, die seit etwa 2003 entwickelt werden (Cameron *et al.* 2014). Dabei können Gene oder auch subgenische Nukleinsäureabschnitte aus verschiedenen Organismen so miteinander verknüpft werden, dass ein gewünschtes Produkt entsteht. Als Beispiel dafür sind zu nennen: das Anti-Malariamittel Artemisinin, dessen Vorläuferprodukt mithilfe von Genen aus der Pflanze *Artemisia annua* und dem Bakterium *Escherichia coli* in der Hefe *S. cerevisiae* produziert wird (Ro *et al.* 2006); und die Synthese der Opiode Hydrokodon und

Thebain in derselben Hefe, wozu insgesamt jeweils mehr als 20 Gene aus Pflanzen, Säugetieren, Bakterien und der Hefe selbst kombiniert wurden (Galanie *et al.* 2015). Ein weiterer wichtiger Bereich in der Synthetischen Biologie stellt die Xenobiologie dar, deren Ziel es ist, Organismen so zu verändern, dass sie sich zu natürlichen Organismen orthogonal verhalten. Dies kann beispielsweise durch das Einbringen nicht-natürlicher Nukleotide geschehen. Diese sogenannte XNA (für Xeno-Nukleinsäure) besitzt ein anderes chemisches Rückgrat als DNA oder RNA, sodass die Biosynthese der XNA nicht mit der von DNA oder RNA interferiert (Herdewijn & Marliere 2009). Ein erster Schritt hin zu einem Organismus, der nicht-natürliche Nukleotide in seinem Erbgut nutzt, war die Vervielfältigung eines Plasmids mit dem nicht-natürlichen Basenpaar d5SICS-dNaM durch die endogene Replikationsmaschinerie von *E. coli* (Malyshev *et al.* 2014). Allerdings wuchsen Bakterien mit diesem Plasmid nur langsam und verloren die nicht natürlichen Basenpaare schnell wieder. Durch eine Adaptation im Jahr 2017 erhielten die Bakterien eine Art Immunsystem gegen den Verlust der Plasmide mit den nicht-natürlichen Nukleotiden. Ein CRISPR/Cas9-System erkennt und schneidet gezielt Plasmide, die die nicht-natürlichen Nukleotide verloren haben, sodass diese aus den Zellen entfernt werden und es zu einer stabileren Replikation der Plasmide mit nicht-natürlichen Nukleotiden kommt (Zhang *et al.* 2017). 2015 wurde ein *E. coli*-Bakterium hergestellt, bei dem das sogenannte *amber*-Stopp-Kodon TAG rekodiert wurde. Das Bakterium erhielt dazu ein tRNA:Aminoacyl-tRNA-Synthetase-Paar, welches die Erkennung von TAG als ein *sense*-Kodon für synthetische Phenylalanin-basierte Aminosäuren ermöglicht. Durch den Einbau von TAG-Kodons in essentielle Gene konnten auxotrophe Bakterien hergestellt werden, die vom Vorhandensein der synthetischen Aminosäure abhängig waren (Rovner *et al.* 2015).

Ein weiteres Forschungsfeld mit großem Potential ist die Herstellung von künstlichen Protozellen und Minimalorganismen. Protozellen werden im Allgemeinen mithilfe des *bottom up*-Ansatzes erzeugt. Dazu werden chemische Bausteine so zusammengesetzt, dass sie bestimmte Eigenschaften einer Zelle aufweisen: Selbst-Assemblierung und -Reproduktion, Kompartimentierung, Metabolismus sowie Replikation der genetischen Information (Bedau *et al.* 2009). Die Protozelle stellt am Übergang von der unbelebten zur belebten Materie die simpelste Lebensform dar und wird bereits seit Ende der 90er Jahre intensiv erforscht (Rasmussen *et al.* 2003). Fortschritte auf diesem Gebiet sind z. B. die nicht-enzymatische Replikation von RNA in künstlichen Fettsäurevesikeln (Adamala & Szostak 2013) oder die Selbstorganisation aller für die Transkription und Translation benötigten Proteinkomponenten in Liposomen (Stano *et al.* 2013). Des Weiteren werden in diesem Bereich Ansätze zur Kompartimentierung und zur Rekonstitution der Zellteilungsmaschinerie verfolgt, um eine Teilung und Vermehrung der künstlichen Vesikel zu erreichen (zusammengefasst in Jia *et al.* 2017). Im Gegensatz zu Protozellen geht man bei einem Minimalor-

ganismus von einem bereits bestehenden Organismus aus und verkleinert dessen Genom. So wurde das Genom von *Mycoplasma mycoides* um etwa 50 % reduziert, wodurch das Bakterium JCV-syn3.0 entstand (Hutchison *et al.* 2016). Andere Forschungsgruppen konzentrieren sich auf biotechnologisch interessante Bakterien und haben beispielsweise das Genom von *Bacillus subtilis* um 36 % reduziert (Reuß *et al.* 2017). Von *Corynebacterium glutamicum* wurde ein Stamm erzeugt, dessen Genom um 13,4 % reduziert ist und dessen Wachstum mit dem des Wildtyps vergleichbar ist (Baumgart *et al.* 2017).

### **Die Synthetische Biologie-Gemeinschaft**

Die verschiedenen Forschungsansätze der Synthetischen Biologie haben vor allem eines gemeinsam: die Herangehensweise und die zu erreichenden Ziele. Bei einem Großteil der Forschung, insbesondere der Konstruktion maßgeschneiderter Stoffwechselwege, der Synthese von Genen und Genomen sowie von genetischen Schaltkreisen, werden klassische und neuere Techniken der Molekularbiologie genutzt, um bereits bestehende Organismen zu verändern. Bei den Protozellen steht die Molekularbiologie jedoch im Hintergrund und es werden vielmehr chemische Verfahren eingesetzt.

Die gemeinsamen Ideen und Ziele derer, die sich als Forschende im Bereich der Synthetischen Biologie verstehen, führten relativ schnell zur Bildung einer Forschungsgemeinschaft, die sich seit 2004 im Rahmen der Konferenzserie SBX.0 trifft. Ursprünglich am Massachusetts Institute of Technology veranstaltet, hat sich die Konferenz mittlerweile zu einem großen Event mit Teilnehmern aus aller Welt entwickelt.

Die letzte Konferenz dieser Art, SB7.0, fand im Juli 2017 in Singapur statt. Auf der Konferenz wurden aktuelle Forschungstrends wie die geplante Synthese eines eukaryotischen Mehrzellers im Rahmen des „Genome Project Write“ sowie Fortschritte im Bereich genetischer Schaltkreise oder synthetisch hergestellter Biokraftstoffe präsentiert. Auch dem methodischen Fortschritt in der Synthetischen Biologie wurde Rechnung getragen und insbesondere der Laborautomatisierung mehrere Vorträge gewidmet. Der Trend geht hier zum vermehrten Arbeiten mit Pipettier- und anderen Robotern sowie zu sogenannten *Roboter cloud labs*, in denen viele Laborarbeiten dezentralisiert und unter standardisierten Bedingungen für eine Vielzahl von Anwendern durchgeführt werden.

Neben den wissenschaftlichen Fortschritten fand vermehrt auch eine kritische Auseinandersetzung mit der Synthetischen Biologie und ihren Möglichkeiten statt. So wurde beispielsweise in der Session „*Art, Critique, Design and Our World*“ von Alexandra Daisy Ginsberg (Künstlerin) die Frage aufgeworfen, was die Synthetische Biologie tatsächlich verbessert und welcher Personenkreis von diesen Verbesserungen profitieren könne. In der Session „*Biodiversity & Conservation*“ wies Terry Sunderland

(Center for International Forestry Research, Indonesien) darauf hin, dass die Produktion von Öl in Algen die verstärkte Abholzung des Regenwaldes zur Herstellung von Palmöl vermindern könne. In der Session „*Learning by sharing*“ wurde betont, wie wichtig eine frühzeitige Information der interessierten und der Fachöffentlichkeit sei, um Vorurteile gegen die Synthetische Biologie abzubauen. So berichtete Ariel Lindner (CRI Paris) über sogenannte *massive open online courses* (MOOC) zur Synthetischen Biologie (<https://syntheticbiology1.com/>), mithilfe derer auch Laien erste Kenntnisse der Synthetischen Biologie erwerben können. Meagan Lizarado berichtete über den iGEM (*international Genetically Engineered Machine*)-Wettbewerb ([www.igem.org](http://www.igem.org)), bei dem Teams bestehend aus Studenten oder sogar Schülern die Möglichkeit haben, ein Forschungsprojekt im Bereich der Synthetischen Biologie durchzuführen und sich und ihre Ergebnisse anschließend mit anderen Teams zu messen.

In einem Beitrag in der Session „*From Ideas to Impact*“ berichtete Megan Palmer (CISAC, Stanford University) über das Förderprogramm Synbio LEAP (*leadership excellence accelerator programme*, <https://www.synbioleap.org/>), mit dem angehende Experten auf dem Gebiet in ihren Forschungsvorhaben unterstützt werden sollen. Synbio LEAP bringt Nachwuchskräfte mit etablierten Forschern zusammen und hilft ihnen, sich und ihre Projekte an der Schnittstelle von Biotechnologie und öffentlichen Interessen zu positionieren. Das Programm sieht auch eine finanzielle Förderung der aussichtsreichsten Projekte vor.

In einem Vortrag von Maria Mercedes Roca (Consult MRS und Institute for Science on Global Policy) in der Session „*Revolution 2*“ wurden auch die Möglichkeiten einer Regulierung des Umgangs mit der Synthetischen Biologie thematisiert. Die Teilnehmer der Konferenz wurden darauf hingewiesen, dass es zwar keine allgemeingültige und akzeptierte Definition der Synthetischen Biologie gibt, die Politik sich aber dennoch mit einer schon bestehenden bzw. noch notwendigen Regulierung des Forschungsfeldes auseinandersetzt.

### **Definition der Synthetischen Biologie**

Um sich dem Thema Synthetische Biologie politisch zu nähern, wurde bereits eine Vielzahl von Definitionen aufgestellt (vgl. SCENIHR, SCCS, SCHER 2014). Insbesondere die Politik und Behörden nutzen Definitionen, um die bestehenden Gesetze auf ihre Anwendbarkeit zu überprüfen. So hat auch die Europäische Kommission bereits im Jahr 2013 ihre Scientific Committees gebeten, eine Definition der Synthetischen Biologie aufzustellen. Diese lautet wie folgt:

**EC Scientific Committees (2014)**  
**SynBio is the application of science, technology and engineering to facilitate and accelerate the design, manufacture and/or modification of genetic materials in living organisms.**

Auch das Übereinkommen über die biologische Vielfalt (*Convention on Biological Diversity*, CBD), mit mehr als 190 Vertragsparteien das größte internationale Abkommen im Bereich Naturschutz, beschäftigt sich seit dem Jahr 2010 mit der Synthetischen Biologie. Die Vertragsparteien der CBD diskutieren momentan sehr angeregt über mögliche Auswirkungen der Synthetischen Biologie auf die Biodiversität und beziehen dabei auch Anwendungen wie beispielsweise Gene Drive-Systeme mit ein, die von den Forschern selbst selten im Zusammenhang mit der Synthetischen Biologie erwähnt werden. Vielmehr handelt es sich bei einem Gene Drive um eine klassische gentechnische Veränderung, meistens das Einbringen eines Transgens, die durch das zusätzliche Einfügen einer Endonuklease unabhängig von den Mendelschen Vererbungsregeln in einer Population weitervererbt wird.

Für die Synthetische Biologie verwendet die CBD folgende Arbeitsdefinition:

**CBD (2014)**  
**Synthetic biology is a further development and new dimension of modern biotechnology that combines science, technology and engineering to facilitate and accelerate the understanding, design, redesign, manufacture and/or modification of genetic materials, living organisms and biological systems.**

Im Rahmen der CBD wird auch immer wieder über eine mögliche Regulierung der Synthetischen Biologie diskutiert. Dies könnte beispielsweise in Form einer zusätzlichen Richtlinie zur Risikobewertung von mithilfe der Synthetischen Biologie hergestellter Organismen erfolgen, die von den Vertragsparteien auf freiwilliger oder auch verpflichtender Basis umgesetzt werden könnte. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass sowohl auf der Ebene der CBD als auch vielfach auf nationaler Ebene bereits gesetzliche Regelungen zum Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen (GVO) bestehen. In Deutschland ist dies das Gentechnikgesetz (GenTG), auf

europäischer Ebene die Freisetzungs- und Systemrichtlinien (2001/18/EC und 2009/41/EC) sowie bei der CBD das Cartagena-Protokoll über die biologische Sicherheit. Diese gesetzlichen Regelungen können momentan auf alle Organismen, die mithilfe der Synthetischen Biologie hergestellt wurden, angewendet werden. Dies wird bei Betrachten der Definition eines GVO aus der Systemrichtlinie deutlich:

**2009/41/EC (Systemrichtlinie)**

**Genetically modified micro-organism (GMM): a micro-organism in which the genetic material has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/or natural recombination**

Ähnlich wie die Definitionen der Synthetischen Biologie der CBD und der Scientific Committees der Europäischen Union bezieht sich auch die GVO-Definition auf die Modifikation genetischen Materials, wobei es sich um eine Veränderung, die nicht auf natürlichem Weg entstehen könnte, handeln muss. Da bisher alle mithilfe der Synthetischen Biologie erzeugten Organismen eine nicht-natürliche Veränderung des genetischen Materials aufweisen, fallen diese Organismen ebenfalls unter die Definition eines GVO.

Dass die Synthetische Biologie durch bestehende Gesetze derzeit gut reguliert ist, hat auch die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) in ihrem 2012 erschienenen 1. Bericht zum Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland festgestellt. Die Forschung zu genetischen Schaltkreisen, maßgeschneiderten Stoffwechselwegen, Minimalorganismen sowie der Xenobiologie wird durch das GenTG abgedeckt, da bei allen diesen Bereichen eine Veränderung der Erbinformation vorgenommen wird. Anders urteilt die ZKBS über die *in vitro*-Synthese von Genen und Genomen. Solange synthetisierte Nukleinsäureabschnitte nicht in einen lebenden Organismus eingebracht werden, handelt es sich nicht um ein Verfahren gemäß GenTG. Allerdings geht von synthetisierten Nukleinsäuren auch nur dann eine Gefahr aus, wenn sie in einen Organismus eingebracht werden. In diesem Fall wäre der entstehende Organismus jedoch als GVO anzusehen, weswegen hier keine Regelungslücke besteht. Auch die Forschung an künstlichen Zellen, die mithilfe des *bottom up*-Ansatzes entwickelt werden, wird momentan nicht als Gentechnik angesehen. Das GenTG gilt für bereits bestehende Organismen, deren „genetisches Material in einer Weise verändert wurde, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzung oder natürliche Rekombination nicht vorkommt“. Beim *bottom-up*-Ansatz werden künstliche Zellen jedoch *de novo* konstruiert. Da diese Forschung noch keine

vermehrungsfähigen Organismen herstellen kann, ist hier momentan keine Regulierung notwendig.

Die ZKBS führt ein kontinuierliches Monitoring der Synthetischen Biologie durch, um die Entwicklungen in den einzelnen Bereichen der Synthetischen Biologie zu verfolgen. So wird sichergestellt, dass potentiell nicht regulierte Entwicklungen (die zu Organismen führen, die nicht mehr durch das GenTG abgedeckt sind), rechtzeitig erkannt werden und die entsprechenden Schritte für eine sichere Forschung eingeleitet werden können.

### **Fazit**

Die Synthetische Biologie ist ein Forschungsfeld im Rahmen der Molekularbiologie, welches sich von dieser vor allem durch einen neuartigen Forschungsansatz, nämlich die Verknüpfung der Biologie mit der Ingenieurwissenschaft, unterscheidet. Die Forscher nutzen sowohl klassische als auch neue Methoden der Molekularbiologie. Alle momentan erzeugten Organismen fallen unter die bestehenden Gesetzgebungen zu gentechnisch veränderten Organismen.

Um Entwicklungen der Synthetischen Biologie qualifiziert zu verfolgen, führt die ZKBS ein kontinuierliches Monitoring durch.

**Literatur:**

Adamala K, Szostak JW (2013). Nonenzymatic template-directed RNA synthesis inside model protocells. *Science* **342**:1098-100.

Baumgart M, Unthan S, Kloß R, Radek A, Polen T, Tenhaef N, Müller MF, Küberl A, Siebert D, Brühl N, Marin K, Hans S, Krämer R, Bott M, Kalinowski J, Wiechert W, Seibold G, Frunzke J, Rückert C, Wendisch VF, Noack S (2018). *Corynebacterium glutamicum* Chassis C1\*: Building and Testing a Novel Platform Host for Synthetic Biology and Industrial Biotechnology. *ACS Synth Biol* **7**:132-44.

Bedau MA, Parke EC, Tangen U, Hantsche-Tangen B (2009). Social and ethical checkpoints for bottom-up synthetic biology, or protocells. *Syst Synth Biol* **3**:65-75.

Cameron DE, Bashor CJ, Collins JJ (2014). A brief history of synthetic biology. *Nat Rev Microbiol.* **12**: 381-90.

Cello J, Paul AV, Wimmer E (2002). Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science* **297**: 1016-8.

Elowitz MB, Leibler S (2000). A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature* **403**:335-8.

Freemont 2015. EC Workshop on Synthetic Biology Dezember 2015 ([https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/emerging/docs/ev\\_20151210\\_co11\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/emerging/docs/ev_20151210_co11_en.pdf)), aufgerufen am 16.04.2018.

Galanie S, Thodey K, Trenchard IJ, Filsinger Interrante M, Smolke C (2015). Complete biosynthesis of opioids in yeasts. *Science* **349**: 1095-1100.

Gardner TS, Cantor CR, Collins JJ (2000). Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* **403**:339-42.

Herdewijn P, Marliere P (2009). Toward safe genetically modified organisms through the chemical diversification of nucleic acids. *Chem Biodivers* **6**:791-808.

Hutchison CA 3rd, Chuang RY, Noskov VN, Assad-Garcia N, Deerinck TJ, Ellisman MH, Gill J, Kannan K, Karas BJ, Ma L, Pelletier JF, Qi ZQ, Richter RA, Strychalski EA, Sun L, Suzuki Y, Tsvetanova B, Wise KS, Smith HO, Glass JI, Merryman C, Gibson DG, Venter JC (2016). Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science* **351**:aad6253.

Jia H, Heymann M, Bernhard F, Schwille P, Kai L (2017). Cell-free protein synthesis in micro compartments: building a minimal cell from biobricks. *N Biotechnol* **25**:199-205.

Leduc S (1912). *La biologie synthétique. Études de biophysique*, vol. II. Paris: Poinat.

Malyshev DA, Dhimi K, Lavergne T, Chen T, Dai N, Foster JM, Corrêa IR Jr, Romesberg FE (2014). A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. *Nature* **509**:385-8.

Pardee K, Green AA, Ferrante T, Cameron DE, DaleyKeyser A, Yin P, Collins JJ (2014). Paper-based synthetic gene networks. *Cell* **159**:940-54.

Rasmussen S, Chen L, Nilsson M, Abe S (2003). Bridging nonliving and living matter. *Artif Life* **9**:269-316.

Reuß DR, Altenbuchner J, Mäder U, Rath H, Ischebeck T, Sappa PK, Thürmer A, Guérin C, Nicolas P, Steil L, Zhu B, Feussner I, Klumpp S, Daniel R, Commichau FM, Völker U, Stülke J (2017). Large-scale reduction of the *Bacillus subtilis* genome: consequences for the transcriptional network, resource allocation, and metabolism. *Genome Res* **27**:289-99.

Richardson SM, Mitchell LA, Stracquadanio G, Yang K, Dymond JS, DiCarlo JE, Lee D, Huang CL, Chandrasegaran S, Cai Y, Boeke JD, Bader JS (2017). Design of a synthetic yeast genome. *Science* **355**:1040-4.

Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, Fisher KJ, Newman KL, Ndungu JM, Ho KA, Eachus RA, Ham TS, Kirby J, Chang MCY, Withers ST, Shiba Y, Sarpong R, Keasling JD (2006). Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature* **440**: 940-3.

Rovner AJ, Haimovich AD, Katz SR, Li Z, Grome MW, Gassaway BM, Amiram M, Patel JR, Gallagher RR, Rinehart J, Isaacs FJ (2015). Recoded organisms engineered to depend on synthetic amino acids. *Nature* **518**: 89-93.

SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks) (2014). Opinion on Synthetic Biology I, Definition. [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/emerging/docs/scenihr\\_o\\_044.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_044.pdf), aufgerufen am 16.04.2018.

Stano P, D'Aguzzo E, Bolz J+, Fahr A, Luisi PL (2013). A remarkable self-organization process as the origin of primitive functional cells. *Angew Chem* **125**:13639-42.

Zhang Y, Lamb BM, Feldman AW, Zhou AX, Laver, Li L, Romesberg FE (2017). A semisynthetic organism engineered for the stable expansion of the genetic alphabet. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**:1317-22.

## 8. Untersuchung eines Do-it-yourself Gentechnik-Baukastens aus den USA

**Nina Köhler, Thorsten Stellberger, Anna Dinkelmeier, Ute Messelhäüßer, Melanie Pavlovic, Stefan Hörmansdorfer, Ulrich Busch, Armin Baiker**  
Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit

Die Synthetische Biologie ist ein neuer Forschungsbereich, der verschiedene Bereiche der Lebenswissenschaften und der Ingenieurwissenschaften miteinander vereint. Ziel der Synthetischen Biologie ist es, biologische Systeme zu schaffen, die in der Natur so nicht existieren. Eine allgemeingültige Definition der Synthetischen Biologie, die auch eine Abgrenzung zur „klassischen“ Gentechnik ermöglicht, konnte bislang noch nicht gefunden werden (1). Sie wird daher hauptsächlich über die Zuordnung von verschiedenen Forschungsfeldern definiert, darunter: Xenobiologie, Genomeditierung und –synthese, Minimalzellen und Protozellen (zusammengefasst in 1). Auch die sogenannte Citizen Science wird der Synthetischen Biologie zugerechnet (1). Die Do-it-yourself (DIY) Biologie ist ein Teilbereich der Citizen Science und eine globale Bewegung, die sich zum Ziel gesetzt hat, Biologie und Gentechnik außerhalb traditioneller Umgebungen wie Forschungs- und Industrielabors zu etablieren.

Neue Techniken im Bereich der Genomeditierung ermöglichen eine gezielte, einfache und kostengünstige Veränderung der DNA. Das so genannte CRISPR/Cas9-System ist eine besonders einfache molekularbiologische Methode zur gezielten Modifikation der DNA von Bakterien, Pflanzen, Tieren und Menschen. In diesem System schneidet die Nuklease Cas9 die DNA an einer bestimmten Sequenz, zu der sie mittels eines RNA-Moleküls geleitet wird. Ursprünglich gehört dieses System zu einem prokaryotischen Immunsystem (2, 3). Dieses schützt Bakterien vor eindringenden Bakteriophagen, indem es "CRISPR-Arrays" bildet und sich dadurch an eine Infektion „erinnert“ (4). Wenn das Virus dann erneut angreift, produzieren die Bakterien virus-spezifische RNA-Segmente aus den „archivierten“ CRISPR-Arrays, welche in Kombination mit der Nuklease Cas9 das Genom des eindringenden Virus zerschneiden und somit inaktivieren (5).

Im Jahr 2012 wurde das CRISPR/Cas9-System so angepasst, dass es als Werkzeug der Gentechnik eingesetzt werden kann, um die DNA eines beliebigen Organismus gezielt zu editieren und damit ein breites Spektrum an wissenschaftlichen (molekularbiologischen) Lösungen zu eröffnen (6, 7).

Diese molekularbiologische Methode, die eine einfache und billige gentechnische Veränderung von Organismen ermöglicht, unterstützt auch die DIY-Biologiebewegung. DIY Biologen oder „Biohacker“ sind Personen, die biologische Experimente außerhalb etablierter Bereiche durchführen und dabei i. d. R. nur eine geringe oder gar keine fachlich relevante naturwissenschaftliche Ausbildung haben. Diese Gemeinschaft ist in den letzten Jahrzehnten erheblich gewachsen und Netzwerke von DIY-Biologen sind in verschiedenen EU-Mitgliedstaaten aktiv, insbesondere in Österreich, Belgien, Tschechien, Dänemark, Frankreich, Deutschland, Ungarn, Irland, Italien, den Niederlanden, Slowenien, Spanien, Schweden und dem Vereinigten Königreich (DIYbio.org. Lokale Gruppen - DIY BIO[Internet]. [zitiert 2017 Apr 21]. Erhältlich unter: <https://diybio.org/local/>). Diesen Markt bedienen auch die sogenannten „Do-it-yourself Kits“, die derzeit vermehrt im Online-Handel angeboten werden. Dabei handelt es sich um Experimentierkästen, mit denen einfache mikrobiologische und gentechnische Experimente auch von Privatpersonen zu Hause durchgeführt werden können.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes zum Entwicklungsstand der Synthetischen Biologie analysierte das Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) ein von einem US-Unternehmen vertriebenes DIY-Gentechnik-Kit. Der "DIY Bacterial Gene Engineering CRISPR Kit" der US-Firma "The Odin" ermöglicht es dem Anwender, ein CRISPR/Cas9-Experiment durchzuführen und damit eine Streptomycin-Resistenz in das Genom von *E. coli* einzubringen.



**Abbildung 8.1:** Inhalt des *Do-it-yourself Kits* „The CRISPR Cas 9 Bacterial Genomic Editing Kit“ der amerikanischen Firma „The Odin“.

Dieser *Do-it-yourself* Gentechnik-Baukasten enthält laut Hersteller alle Komponenten für die Durchführung des oben beschriebenen Genomeditierungsexperiments (Abbildung 8.1). Durch Transformation von zwei Plasmiden welche für das CRISPR/Cas9-System codieren sowie einer Template-DNA, wird mithilfe der „Genschere“ CRISPR/Cas9 ein Doppelstrangbruch im *rpsL*-Gen (dieses Gen codiert für das ribosomale S12-Protein) eingeführt werden. Dabei leitet eine RNA (die sogenannte guide RNA bzw. crRNA/tracrRNA) die Nuklease Cas9 zu einer spezifischen Gensequenz im Genom. Dort setzt die Nuklease anschließend einen gezielten Schnitt. Mit Hilfe einer spezifischen *template-DNA*, die ebenfalls in die Bakterienzellen eingeschleust wird, soll die 30S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms durch eine Punktmutation anschließend so verändert werden, dass Streptomycin nicht mehr binden kann und somit eine Resistenz gegenüber diesem Antibiotikum entsteht. Dies wird durch das Einbringen einer Punktmutation in das *rpsL*-Gen (kodierend für das prokaryotische Ribosomenprotein S12) von *E. coli* erreicht. Diese Punktmutation hat zur Folge, dass die 43. Aminosäure des S12 Proteins, ein Lysin (K), in ein Threonin (T) umgewandelt wird und dass *E. coli* anschließend resistent gegen das Antibiotikum Streptomycin ist. Die Forschungsarbeit von Jiang et al. beschreibt das zugrunde liegende Experiment dieses Kits (7).

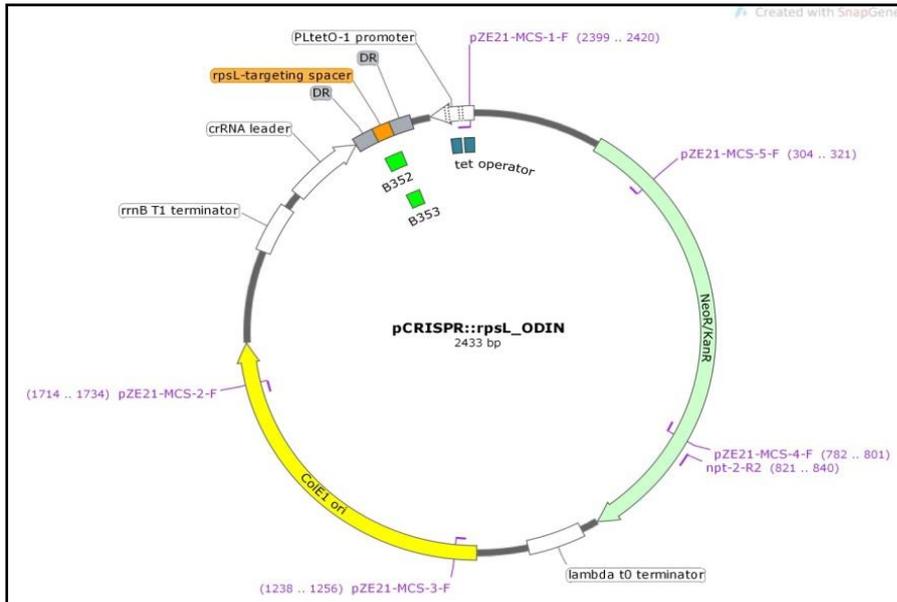
Laut Herstellerangaben ist in dem Gentechnik-Baukasten der *Escherichia coli*-Laborstamm HME63 als Empfängerorganismus für das Experiment enthalten. Bei diesem Laborstamm handelt es sich um ein für Mensch, Tier und die Umwelt ungefährliches Bakterium.

### **Analyse der Kit-DNA-Komponenten**

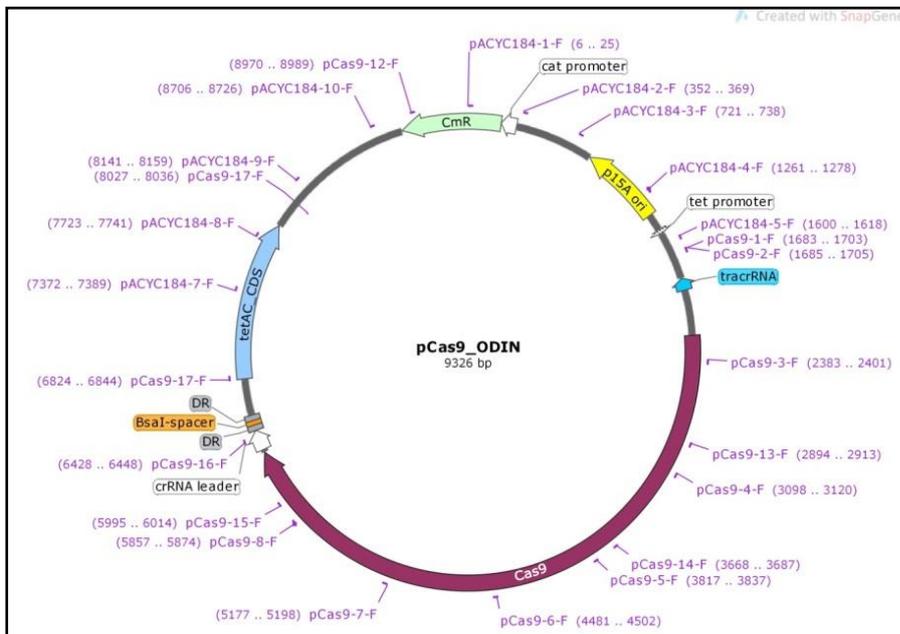
Zunächst wurden am LGL die gentechnischen Komponenten des Kits untersucht. In dem Kit enthalten sind drei Komponenten, die die oben beschriebene Mutation erzeugen können, sobald diese in die *E. coli*-Zelle eingeschleust werden.

Neben der Template-DNA enthält der Kit ein Plasmid, das die Nuklease Cas9 und die Tracr-RNA (pCas) kodiert, sowie ein Plasmid, das die crRNA und die Targeting-Sequenz kodiert (pCRISPR::*rpsL*). Die beiden Plasmide wurden mit insgesamt 33 Primern vollständig sequenziert (Abbildung 8.2 und Abbildung 8.3). Hier wurde festgestellt, dass die wissenschaftliche Grundlage des DIY-Kits auf der Arbeit von Jiang et al. 2013 beruht (8).

Ein Vergleich unserer Sequenzdaten mit den Sequenzen der beiden bei "Addgene" erhältlichen Plasmide ergab eine nahezu 100%ige Übereinstimmung (pCRISPR::*rpsL* 99,92% Similiarität und pCas9 99,97% Similiarität).



**Abbildung 8.2:** Plasmidkarte pCRISPR::rpsL\_ODIN



**Abbildung 8.3:** Plasmidkarte pCAS9\_ODIN

### Analyse der im Kit enthaltenen Bakterien

Während die im Kit enthaltenen Plasmidkomponenten den Beschreibungen des Herstellers entsprachen, lieferte die Untersuchung der mitgelieferten Bakterienkulturen unerwartete Ergebnisse. Laut Angaben des Herstellers handelt es sich bei den mitgelieferten Bakterien um den *E. coli* Sicherheitsstamm HME63, welcher in der mitgelieferten Anleitung als „*non-hazardous and non-pathogenic (cannot cause disease)*“ beschrieben wird. Die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) beschreibt *E. coli* HME63 als ein Derivat des *E. coli*-Stammes K12, somit kann er der Risikogruppe 1 zugeordnet und als Teil einer biologischen Sicherheitsmaßnahme gemäß § 6 Abs. 4 GenTSV anerkannt werden.

*E. coli* HME63 besitzt ein Antibiotika-Resistenz-Gen gegen Ampicillin und zeigt einen Defekt im Lac-Operon. Somit wächst *E. coli* HME63 als weiße Kolonien auf LB-Agar mit den Zusätzen X-Gal und IPTG.

Auffällig wurden die im Kit enthaltenen Bakterien als sie neben einer Resistenz gegen Ampicillin auch Resistenzen gegen die Antibiotika Kanamycin, Chloramphenicol oder Streptomycin zeigten. Zudem trat auf LB-Agar-Platten die mit X-Gal und IPTG versetzt waren, eine für den Stamm *E. coli* HME63 unerwartete Blaufärbung der Kolonien auf.

Die Bakterien wurden daraufhin mit biochemischen Methoden und mit Hilfe der Massenspektrometrie (MALDI-TOF) genauer untersucht. Es zeigte sich, dass es sich nicht wie vom Hersteller angegeben um *Escherichia coli*, sondern um eine Mischkultur aus verschiedenen, fakultativ pathogenen Arten handelt.

Darunter:

- *Klebsiella pneumoniae* (phänotypisch Extended- $\beta$ -Lactamase-Bildner =ESBL),
- Vertreter der *Enterobacter cloacae*-Gruppe (phänotypisch ESBL),
- *Kluyvera intermedia* (Ampicillin-resistent),
- Bakterien der *B. cereus*-Gruppe und
- *Enterococcus faecalis*

Bei allen Isolaten handelt es sich gemäß § 3 Abs. 1 Nr. 2 BioStoffV i. V. m. TRBA 466 um Erreger der Risikogruppe 2 und alle gefundenen Erreger konnten als mindestens fakultativ pathogen eingestuft werden. *E. coli* hingegen konnte in keinem der drei mitgelieferten Bakterien-Aliquots nachgewiesen werden, auch nicht mittels spezifischer Anreicherungsverfahren.

In einem zweiten untersuchten DIY-Kit „The CRISPR Cas 9 Bacterial Genomic Editing Kit“ der Firma „The Odin“ konnte das Untersuchungsergebnis unabhängig bestätigt werden.

Daraufhin veröffentlichte das LGL am 24.03.2017 eine Pressemitteilung in der die Kontamination beschrieben wird und es davor warnt die Baukästen zu öffnen und die Experimente durchzuführen. Zudem soll für das weitere Vorgehen mit dem zuständigen Gesundheitsamt Kontakt aufgenommen werden (9). Das „European Center for Disease Prevention and Control“ (ECDC) veröffentlichte ein „Rapid Risk Assessment“ in dem es unter anderem das vom Kit ausgehende Infektionsrisiko für Benutzer sowie die Risiken für die Umwelt abschätzte (10). Hier wurde festgestellt, dass ein niedriges Risiko für eine Infektion besteht, welches allerdings durch z. B. eine Immunsuppression erhöht werden kann.

Am 24.03.2017 wurde zudem eine Zollverfügung erlassen, die sich auf den § 44 Infektionsschutzgesetz stützt und aufgrund derer die o.g. DIY-Kits an den Zollstationen zurückgehalten werden.

### **Rechtliche Einordnung**

Bereits im Januar 2017 warnte das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) vor der Anwendung von DIY-Kits außerhalb von gentechnischen Anlagen (11). Gentechnische Arbeiten, egal welcher Sicherheitsstufe, dürfen ausschließlich in gentechnischen Anlagen durchgeführt werden. Eine Durchführung von gentechnischen Experimenten außerhalb gentechnischer Anlagen ist laut Gentechnikgesetz strafbar.

Mit Hilfe des „The CRISPR Cas 9 Bacterial Genomic Editing Kits“ der Firma „The Odin“ ist es möglich gentechnische Experimente durchzuführen. Dies konnten wir sowohl für *E. coli* HME63 als auch für die im Kit enthaltenen fakultativ pathogenen Keime zeigen. Somit handelt es sich bei der Durchführung des Experiments mit *E. coli* HME 63 um eine gentechnische Arbeit der Sicherheitsstufe 1, und muss somit in einer gentechnischen Anlage der Sicherheitsstufe 1 (S1) durchgeführt werden. Führt man das Experiment mit den im Kit enthaltenen, fakultativ pathogenen Keimen durch, handelt es sich sogar um eine gentechnische Arbeit der Sicherheitsstufe 2 (S2). Diese muss in einer gentechnischen Anlage der Sicherheitsstufe 2 durchgeführt werden. Dies bedeutet, dass auch Schulen, die im Besitz einer S1-Anlage sind, die Experimente mit den im Kit enthaltenen Bakterien nicht durchführen dürfen.

Hinzu kommt, dass die in dem „The CRISPR Cas 9 Bacterial Genomic Editing Kits“ der Firma „The Odin“ (USA) nachgewiesenen Keime die Definition als Krankheitserreger nach § 2 Infektionsschutzgesetz (IfSG) erfüllen. Damit ist für das Verbringen, Ausführen, Aufbewahren, Abgeben oder Arbeiten mit solchen Erregern eine Erlaubnis der zuständigen Behörde erforderlich (§ 44 IfSG). Die Erteilung einer solchen Erlaubnis ist an Voraussetzungen wie Sachkenntnis und Zuverlässigkeit gebunden (§ 47 IfSG). Privatpersonen ist es daher nicht erlaubt, solche aus dem Internet frei bestellbaren Kits nach Deutschland einzuführen oder damit im privaten Umfeld umzugehen. Erschwerend kommt hinzu, dass es sich bei den gefundenen Erregern um multiresistente Keime handelt, die gegen viele der derzeit im humanmedizinischen Bereich eingesetzten Antibiotika resistent sind.

**Literatur:**

- 1 EU Kommission (2014): SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks), Synthetic Biology I Definition, Opinion, 25. September 2014.
- 2 Amitai G, Sorek R. CRISPR-Cas adaptation: insights into the mechanism of action. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(2):67-76. Epub 2016/01/12.
- 3 Hille F, Charpentier E. CRISPR-Cas: biology, mechanisms and relevance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016;371(1707). Epub 2016/09/28.
- 4 Wu X, Kriz AJ, Sharp PA. Target specificity of the CRISPR-Cas9 system. *Quant Biol.* 2014;2(2):59-70. Epub 2015/02/28.
- 5 Fineran PC, Charpentier E. Memory of viral infections by CRISPR-Cas adaptive immune systems: acquisition of new information. *Virology.* 2012;434(2):202-9. Epub 2012/11/06.
- 6 Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science.* 2012;337(6096):816-21. Epub 2012/06/30.
- 7 Charpentier E, Doudna JA. Biotechnology: Rewriting a genome. *Nature.* 2013;495(7439):50-1. Epub 2013/03/08.
- 8 Jiang W, Bikard D, Cox D, Zhang F, Marraffini LA. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nat Biotechnol.* 2013;31(3):233-9. Epub 2013/01/31.
- 9 Pressemitteilung des LGL vom 24.03.2017, „Potenzielle Krankheitserreger im Do-it-yourself-Gentechnik-Baukasten der Firma The Odin (<https://www.lgl.bayern.de/presse/detailansicht.htm?tid=680089>)
- 10 European Centre for Disease Prevention and Control. Risk related to the use of “Do-It-Yourself” CRISPR-associated gene engineering kit contaminated with pathogenic bacteria – 28 April 2017, Stockholm, 2017.
- 11 Fachmeldung des BVL vom 25.01.2017, Gentechnik mit Biologiebaukästen: Einfach, aber möglicherweise strafbar ([https://www.bvl.bund.de/DE/06\\_Gentechnik/04\\_Fachmeldungen/2017/2017\\_01\\_25\\_DIY-Kits.html](https://www.bvl.bund.de/DE/06_Gentechnik/04_Fachmeldungen/2017/2017_01_25_DIY-Kits.html))



## Schriftenreihe Gentechnik für Umwelt und Verbraucherschutz

### Bisher sind in dieser Schriftenreihe folgende Bände erschienen:

- Band 1: Fachtagung „Gentechnik für Umwelt- und Verbraucherschutz“ in Oberschleißheim am 13. Oktober 2005 (2006)
- Band 2: 2. Fachtagung Gentechnik in Oberschleißheim am 25. Oktober 2007 (2008)
- Band 3: 3. Fachtagung „Gentechnik für Umwelt- und Verbraucherschutz“ Fortbildungsveranstaltung in Oberschleißheim am 02. Dezember 2009 (2010)
- Band 4: Überwachung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln, Futtermitteln und Saatgut in Bayern (2. Auflage, inhaltlich unveränderter Nachdruck im Juli 2011 der 1. Auflage vom April 2011)
- Band 5: Nachweis von nicht zugelassenen gentechnisch-veränderten Organismen (GVO); Weltweite Ermittlung, Importanalyse und Entwicklung von Nachweis-Methoden (2011)
- Band 6: 4. Fachtagung in Oberschleißheim am 30. November 2011 (2012)
- Band 7: Gentechnische Arbeiten in gentechnischen Anlagen (2013)
- Band 8: 5. Fachtagung Gentechnik in Oberschleißheim am 26. November 2013 (2014)
- Band 9: 6. Fachtagung Gentechnik in Oberschleißheim am 17. November 2015 (2016)

### sowie der vorliegende Band:

- Band 10: 7. Fachtagung Gentechnik „Synthetische Biologie“ in Oberschleißheim am 8. November 2017 (2018)



Eine Behörde im Geschäftsbereich  
Bayerisches Staatsministerium für  
Umwelt und Verbraucherschutz



[www.lgl.bayern.de](http://www.lgl.bayern.de)

**Bayerisches Landesamt für  
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL)**

Eggenreuther Weg 43  
91058 Erlangen

Telefon: 09131 6808-0

Telefax: 09131 6808-2102

E-Mail: [poststelle@lgl.bayern.de](mailto:poststelle@lgl.bayern.de)

Internet: [www.lgl.bayern.de](http://www.lgl.bayern.de)