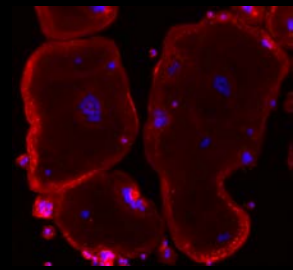
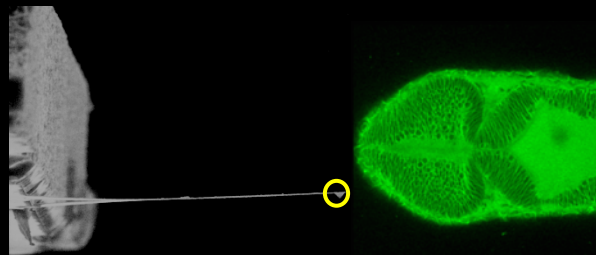
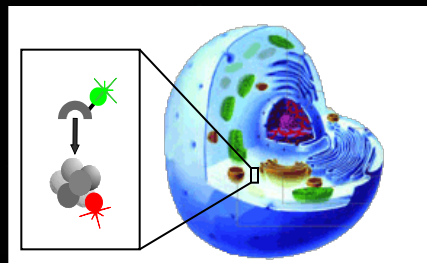
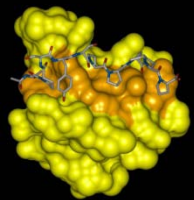


Synthetische Biologie in biophysikalischer Perspektive

Petra Schwille, BIOTEC, TU Dresden



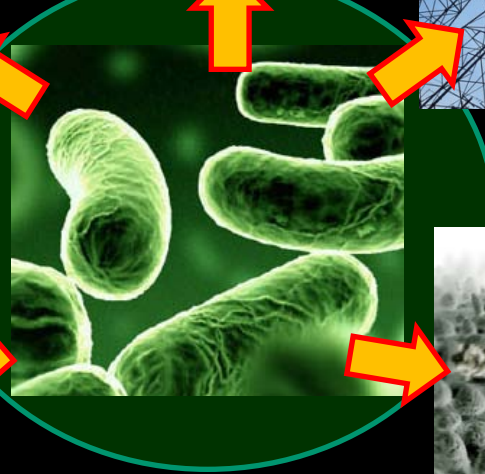
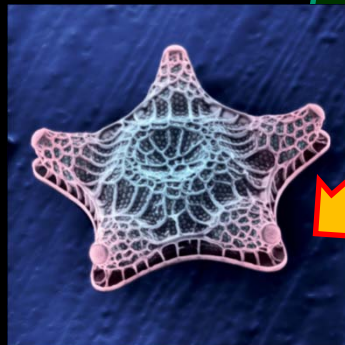
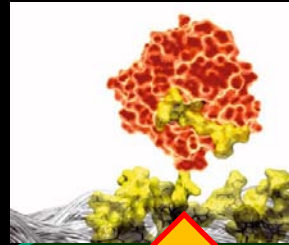
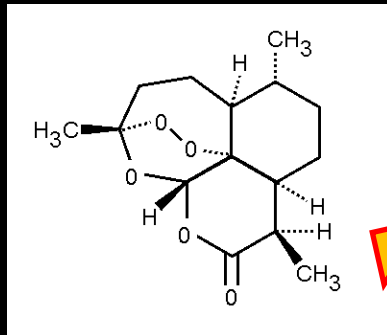
“Synthetische Biologie”: Neuer Wein in alten Schläuchen?

Die zukünftigen Ziele sind im Wesentlichen dieselben wie die der „klassischen“ Biotechnologie:

Verbesserte Enzyme (z.B. Detergenzien)

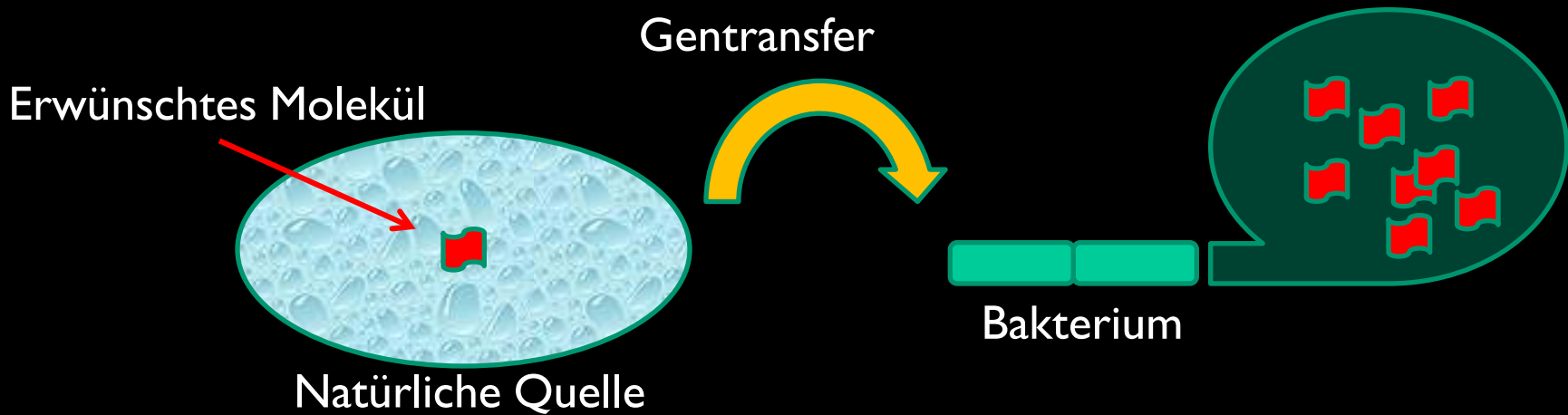
Energie (Wasserstoff, Biosprit)

Naturstoffe (Pharmaka)



Neue funktionale Materialien

Limitationen beim “klassischen” Klonieren



Probleme:

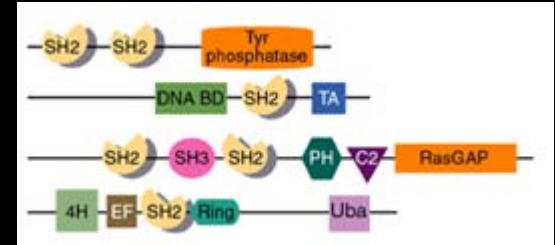
- Bakterien sind evolvierte Systeme, sie haben eingebaute Kontrollsysteme „checks and balances“ → nicht jedes Protein kann funktional gewonnen werden
- Natürliche Systeme nehmen nicht die „direkte Route“, sie haben eine Menge Redundanzen eingebaut
- > Die Produktion in einem Organismus ist immer mit einer „Steuer“ in Form von Effizienzverlust verbunden

Können wir diese Steuer umgehen, indem wir nur die wesentlichen Elemente des Organismus benutzen?

Was ist das neue Konzept der Synthetischen Biologie?

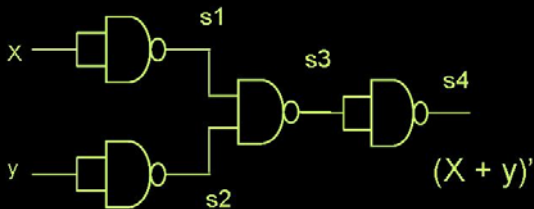
“Synthetic biology is the **engineering** of biological components and systems that do not exist in nature and the **re-engineering** of existing biological elements“

Leben ist **MODULAR** – Versuche, die essentiellen Module zu definieren und sie zu kombinieren



Analogon zwischen IT und Biologie

Programmieren in C++



Maschinensprache
(Bits and Bytes)



6. Standardization

5. Abstraction

4. DNA construction

3. DNA sequencing

2. Polymerase chain reaction

1. Recombinant DNA

Neu

Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson,¹ John I. Glass,¹ Carole Lartigue,¹ Vladimir N. Noskov,¹ Ray-Yuan Chuang,¹ Mikkel A. Algire,¹ Gwynedd A. Benders,² Michael G. Montague,¹ Li Ma,¹ Monzia M. Moodie,¹ Chuck Merryman,¹ Sanjay Vashee,¹ Radha Krishnakumar,¹ Nacyra Assad-Garcia,¹ Cynthia Andrews-Pfannkoch,¹ Evgeniya A. Denisova,¹ Lei Young,¹ Zhi-Qing Qi,¹ Thomas H. Segall-Shapiro,¹ Christopher H. Calvey,¹ Prashanth P. Parmar,¹ Clyde A. Hutchison III,² Hamilton O. Smith,² J. Craig Venter^{1,2*}

We report the design, synthesis, and assembly of the 1.08–mega–base pair *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 genome starting from digitized genome sequence information and its transplantation into a *M. capricolum* recipient cell to create new *M. mycoides* cells that are controlled only by the synthetic chromosome. The only DNA in the cells is the designed synthetic DNA sequence, including “watermark” sequences and other designed gene deletions and polymorphisms, and mutations acquired during the building process. The new cells have expected phenotypic properties and are capable of continuous self-replication.

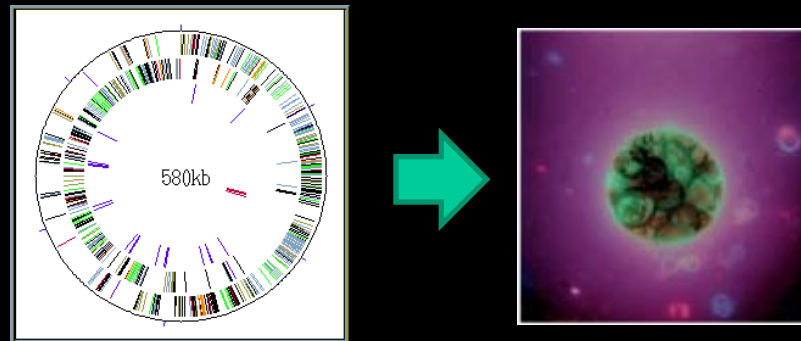
Science, May 2010

Enorme technische Leistung – Synthese und Transfer eines kompletten bakteriellen Genoms

Aber im Hinblick auf synthetisches Leben, **nichts Neues geschaffen**

Doch Venters Vision geht weiter

Der fundamentale Schritte soll erst noch kommen
„*Mycoplasma laboratorium*“, der (vermutlich) minimalste Organismus



Bacterium *M. genitalium*: kleinstes bekanntes Genom

Genome besteht aus ca. 480 Genen (582,970 Basenpaare)

Minimales Genome ca. 380 Gene (durch randomisierten Gen-Knock-out)*
Essentieller Schritt: Synthese und Transfer dieser 380 Gene (“*Mycoplasma laboratorium*”)

Wird das dann leben?....

*Essential genes of a minimal bacterium
PNAS (2006) 103: 425–430

Ein „Kampf der Kulturen“

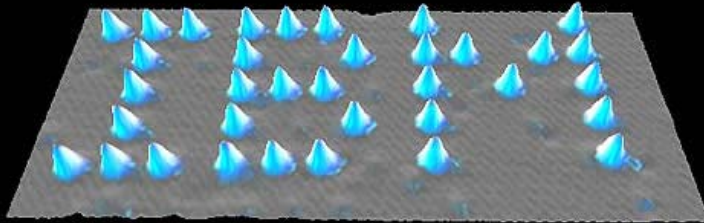
Die Frage der Biologie ist: „**wie funktioniert belebte Natur?**“

Die Frage der Physik ist „wie können wir Natur einfach (bzw. mathematisierbar) modellieren?“

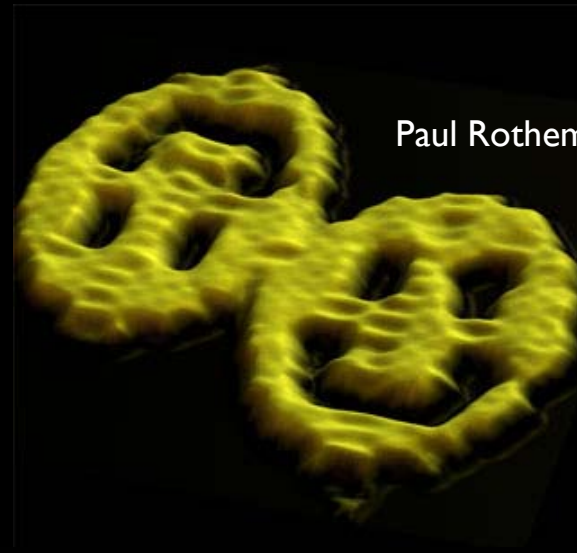
Die Frage der Physik-orientierten Strömung der Synthetischen Biologie ist folglich: „**wie könnte Natur in einfachster Form funktionieren?**“

Oder: „muss das wirklich alles so sein, wie wir es vorfinden?“

Die Vision der Nano-Ära: Bauen mit Atomen

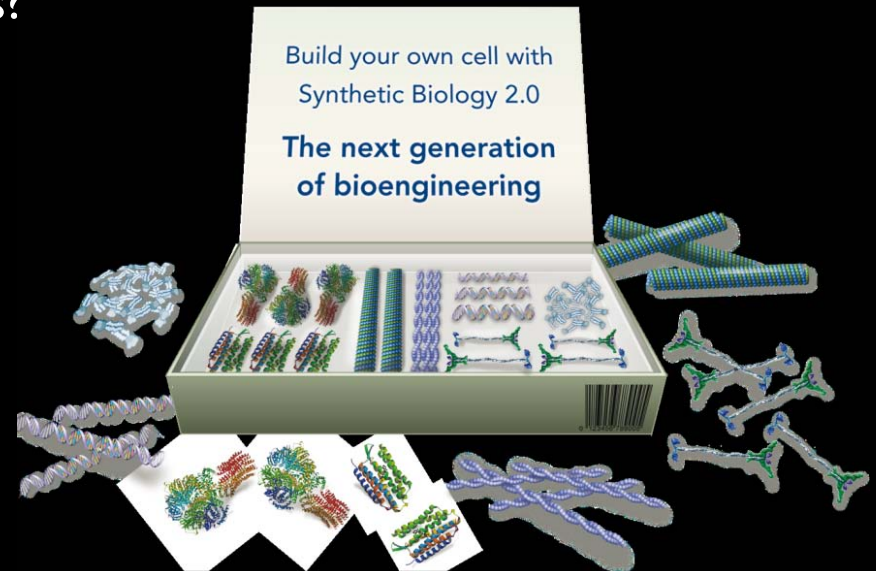
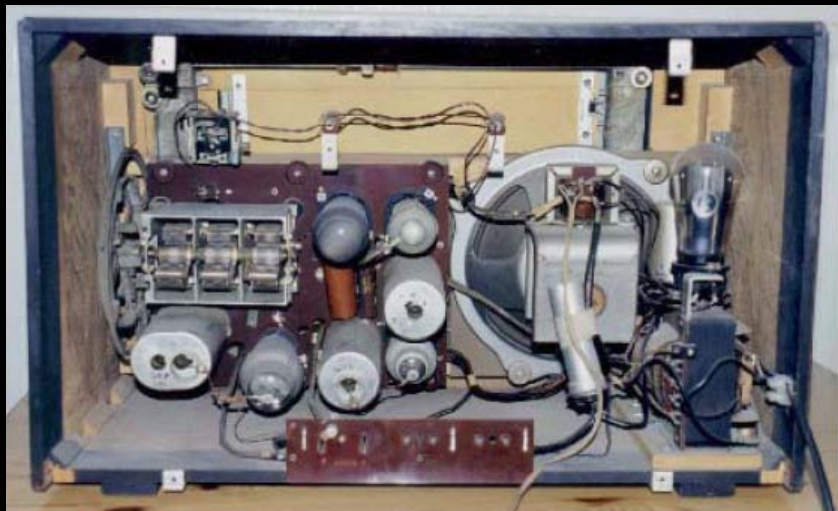


Don Eigler, 1989

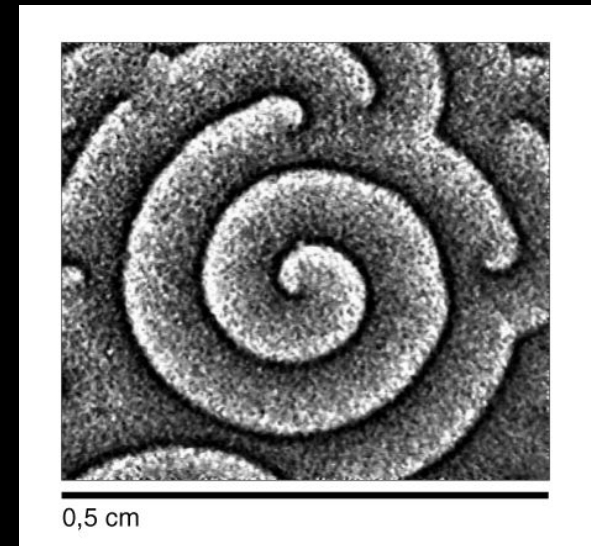


Paul Rothemund, 2005

Können wir Zellen aufbauen wie Radios?



Die Entwicklung und Ausdifferenzierung eines Organismus verläuft nach Regeln der Musterbildung



Muster entstehen durch **Selbstorganisation**

Turing: ein Pionier des minimalistischen Ansatzes

THE CHEMICAL BASIS OF MORPHOGENESIS

By A. M. TURING, F.R.S. *University of Manchester*

(Received 9 November 1951—Revised 15 March 1952)

It is suggested that a system of chemical substances, called morphogens, reacting together and diffusing through a tissue, is adequate to account for the main phenomena of morphogenesis. Such a system, although it may originally be quite homogeneous, may later develop a pattern or structure due to an instability of the homogeneous equilibrium, which is triggered off by random disturbances. Such reaction-diffusion systems are considered in some detail in the case of an isolated ring of cells, a mathematically convenient, though biologically unusual system. The investigation is chiefly concerned with the onset of instability. It is found that there are six essentially different forms which this may take. In the most interesting form stationary waves appear on the ring. It is suggested that this might account, for instance, for the tentacle patterns on *Hydra* and for whorled leaves. A system of reactions and diffusion on a sphere is also considered. Such a system appears to account for gastrulation. Another reaction system in two dimensions gives rise to patterns reminiscent of dappling. It is also suggested that stationary waves in two dimensions could account for the phenomena of phyllotaxis.

The purpose of this paper is to discuss a possible mechanism by which the genes of a zygote may determine the anatomical structure of the resulting organism. The theory does not make any new hypotheses; it merely suggests that certain well-known physical laws are sufficient to account for many of the facts. The full understanding of the paper requires a good knowledge of mathematics, some biology, and some elementary chemistry. Since readers cannot be expected to be experts in all of these subjects, a number of elementary facts are explained, which can be found in text-books, but whose omission would make the paper difficult reading.

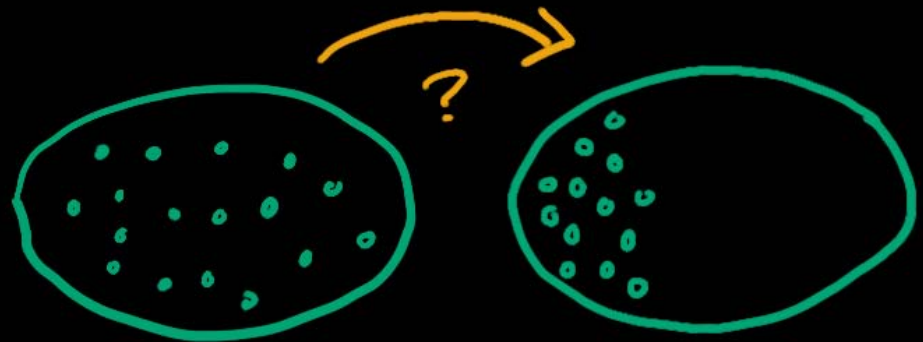
Ausbildung von Mustern durch **Diffusion und Reaktion** von Molekülen

Kann uns dieser Ansatz in den grundlegenden Fragen der Biologie weiterhelfen?

Wie polarisieren sich Zellen?

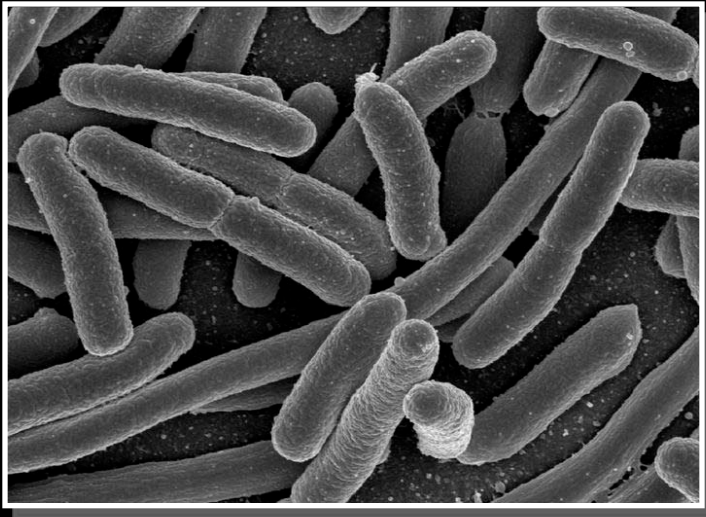
Wie kommt es zur Ausbildung von (Morphogen-) Gradienten?

Wie kommt es zu komplexen Strukturen und Mustern?



Können diese Fragen tatsächlich auf molekularer Ebene beantwortet werden?

Die Zellteilungsmaschinerie in *E.coli*



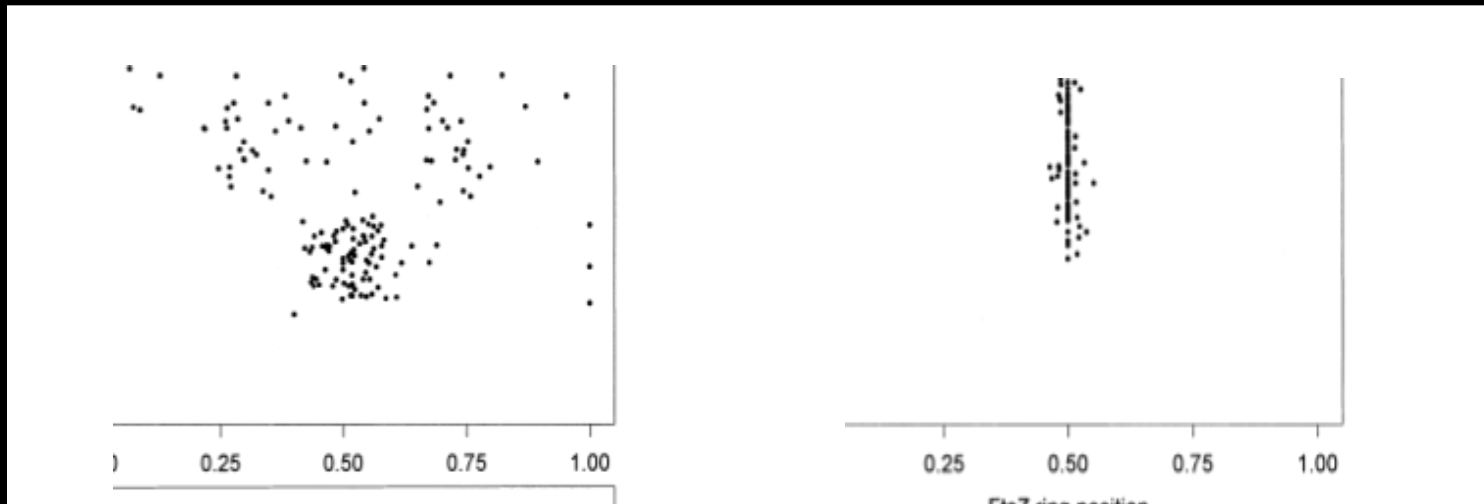
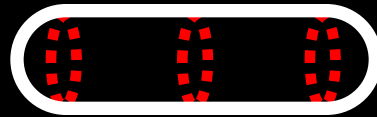
- Stäbchenförmig (\varnothing 0.5 μm , 3 μm long)
- wächst auf eine bestimmte Länge und teilt sich dann
- Zellteilung ist sehr akkurat: $1/2 \pm 1/50$ der Zelle

Initialer Schritt: Assemblierung eines sog. **Z-Ringes**, dann Abschnürung

Woher wissen die Z-Ring Proteine, wo die Mitte ist?

Die Erkennung der Mitte erfolgt durch die

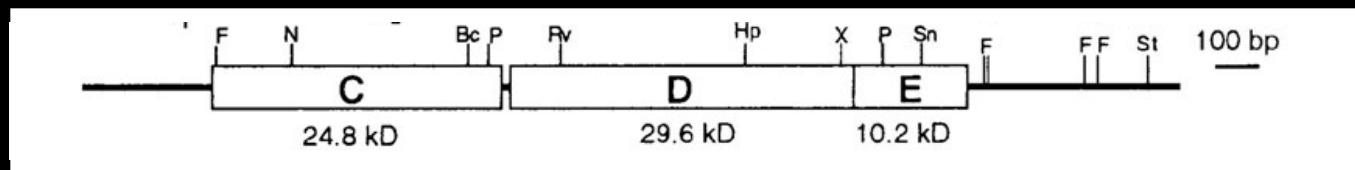
Min Proteine



Bakterien ohne Min-Proteins

Wildtyp

Yu and Margolin (1999)

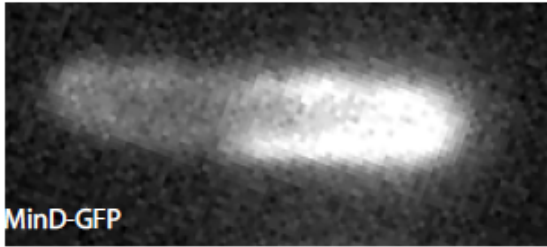


minB
operon

3 verschiedene Min-Proteine beteiligt: MinC, MinD and MinE

Die Rolle der einzelnen Proteine MinD/E/C

MinD and MinC form polar cap



MinD-GFP

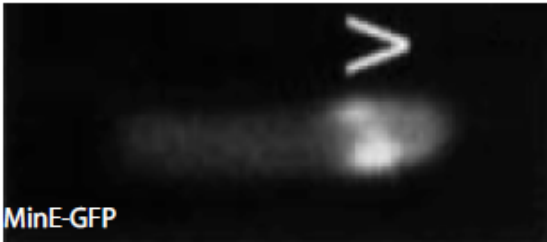
Raskin and de Boer. PNAS (1999)



MinC-GFP

Hu et al. Mol Microbiol (1999)

MinE forms ring at MinD cap



MinE-GFP

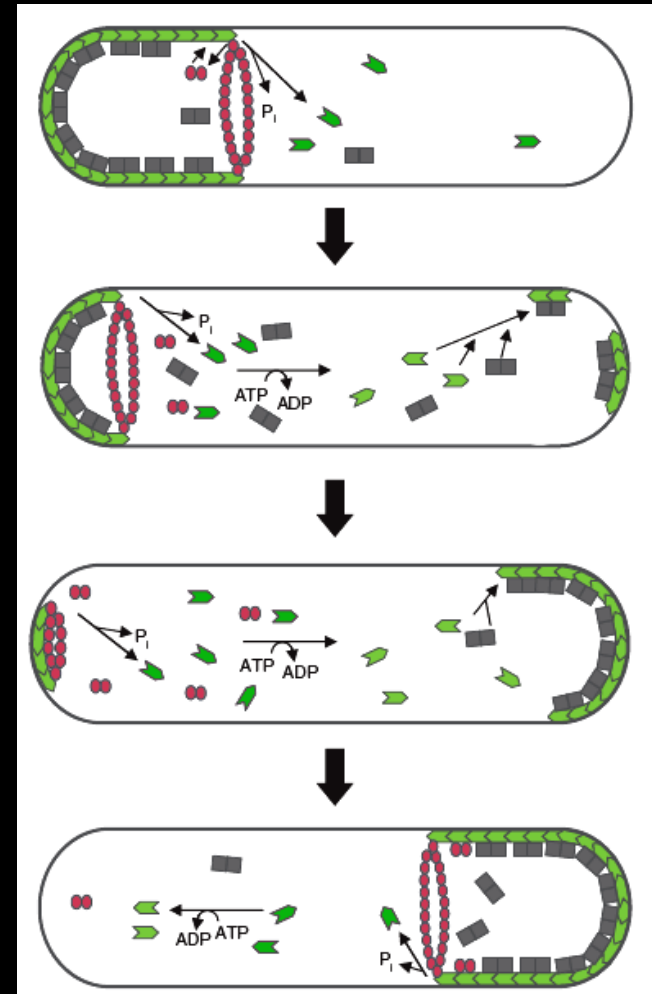
Hale et al. EMBO J. (2001)

MinD bindet von den Polen aus an die Membran

MinC folgt MinD

Inhibitor der FtsZ Assemblierung

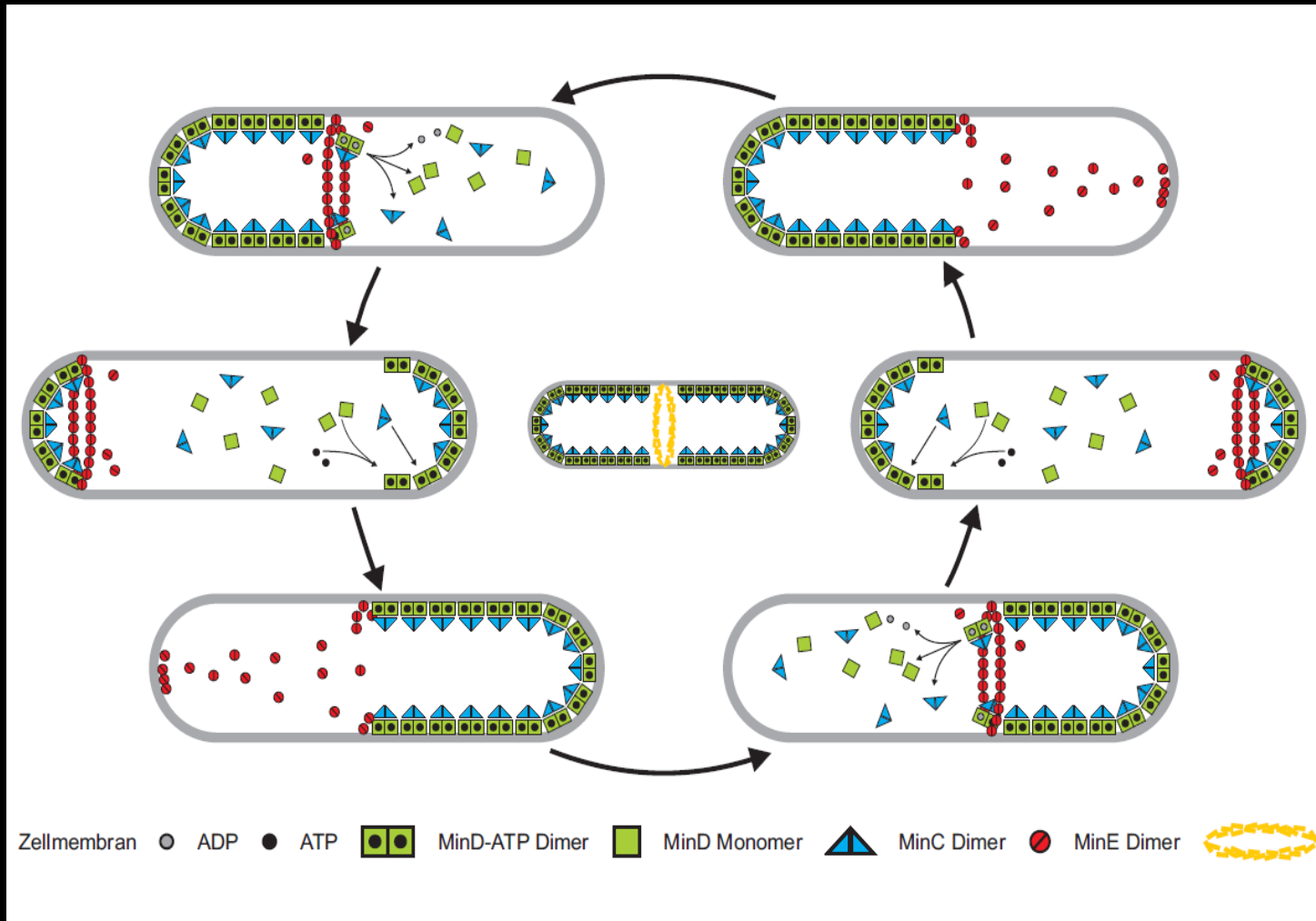
MinE formt einen Ring an der Grenze des MinD Films



Lutkenhaus, J. (2007), Annu Rev Biochem.

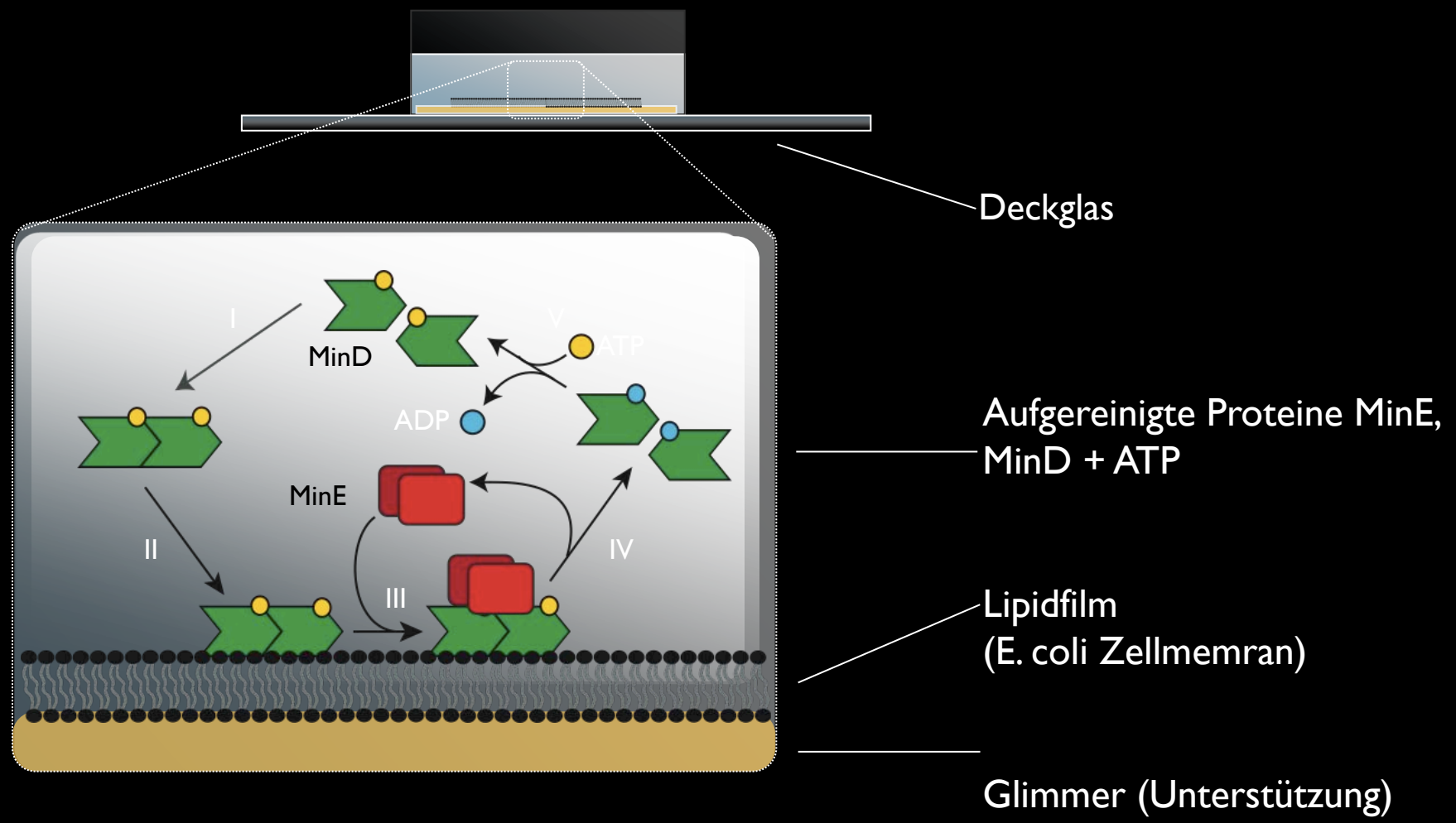
In vivo Oszillationen brauchen MinD und MinE, aber kein MinC

Der Oszillationszyklus im Detail

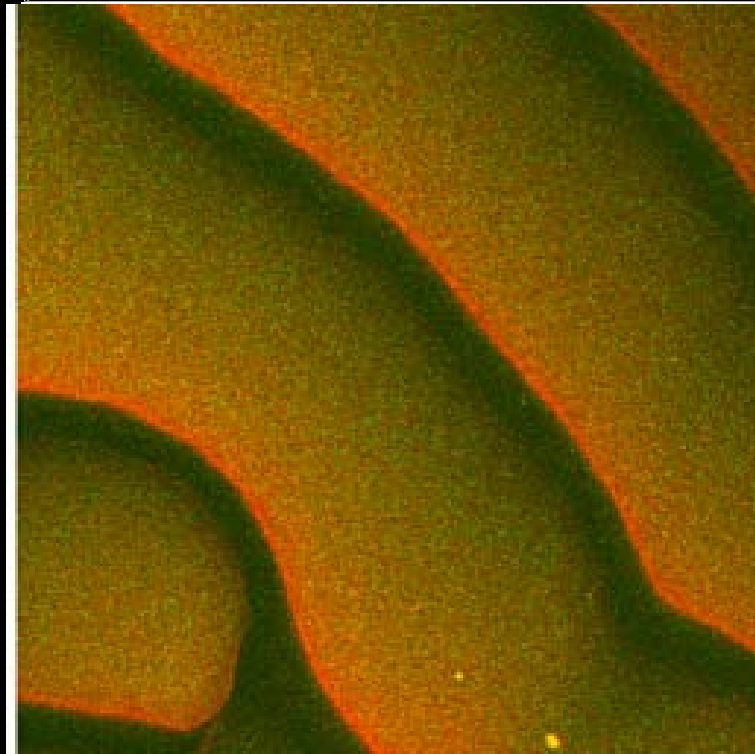
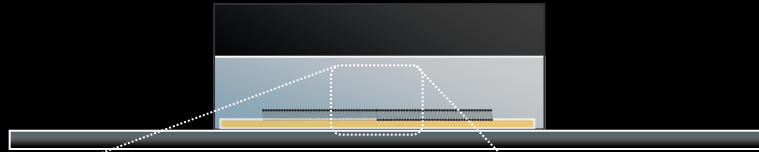


Können wir diese Art der Musterbildung nachbauen?

Erster Schritt: Können wir das Selbstorganisations-Phänomen der Oszillation in einem vereinfachten Bottom-Up Ansatz rekonstruieren?



In der Tat: Oberflächenwellen -Selbstorganisation!



- ohne ATP: nichts passiert

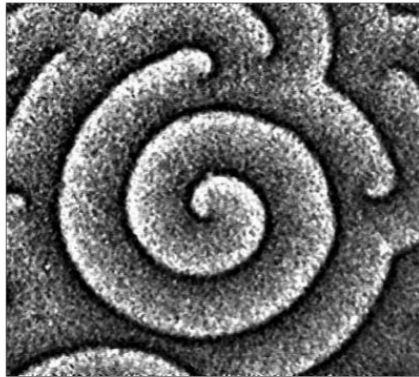
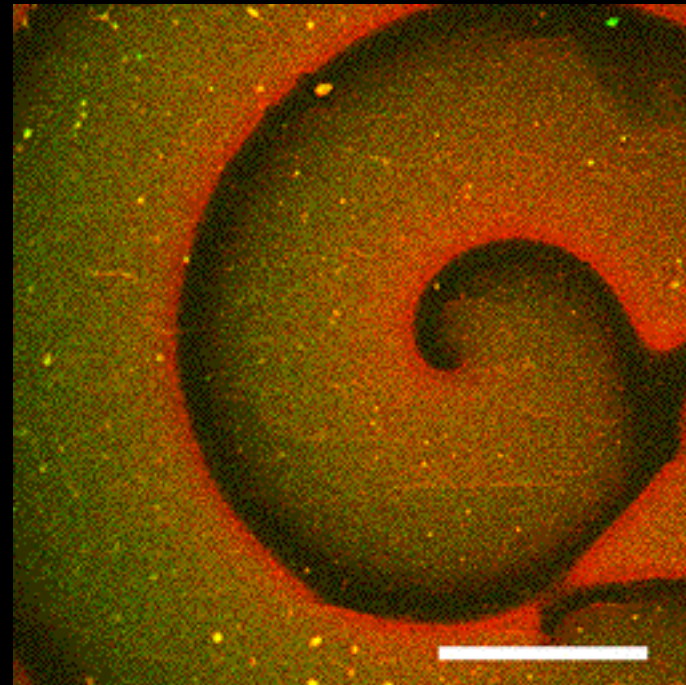
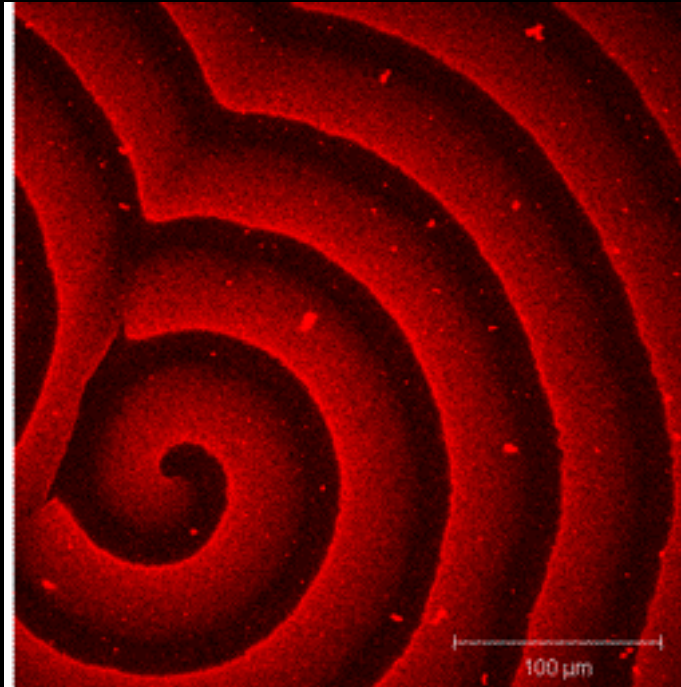
- “falsches” ATP: keine Dynamik

ATP: dynamische Selbstorganisation!

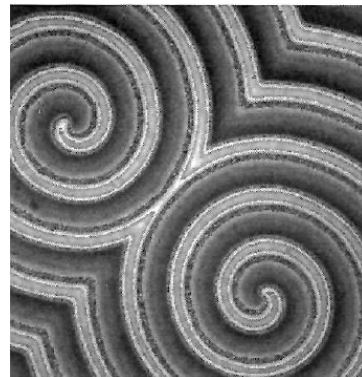
- MinD-BodipyFL/MinD = 1/5
- MinE-Alexa647/MinE = 1/10

Erste Realisierung der Protein-Selbstorganisation zur Musterbildung!

MinD und MinE können sogar Spiralen ausbilden



0,5 cm

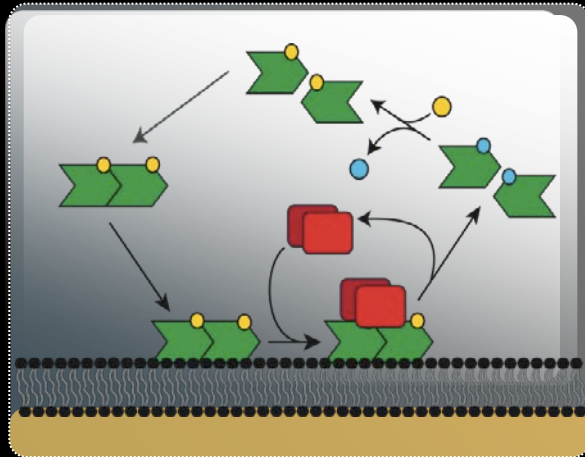


Ähnlich anderen selbstorganisierten Systemen

- Dictyostelium Zellverbände
- Belusow-Zabotinski Reaktion

➔ erster Beweis, das auch Proteine so etwas machen

Von der Min-Oszillation zur minimalen Zellteilung?



- Können wir die Oberflächenwellen in Vesikeln sehen?
- Bilden sie echte Oszillationen aus?
- Wie kontrolliert Größe und Geometrie des Vesikels die Oszillationen?
- Können wir einen Z-Ring nachbauen?
- Können wir das Vesikel dazu bringen, sich zu teilen?



Kooperationen:

Sally Kim, Neal Waxham
(U. Houston)

Karsten Kruse (U.
Saarbrücken)

Harold Erickson (Duke U)

Michael Brand, Rachel Yu,
TUD

Finanzierung:

German Research
Foundation DFG

Max Planck Society (PS
Fellow)

Synthetische Biologie

Martin Loose

Christoph Herold

Bert Siegert

Nicoletta Kahya

Senthil Arumugam

Kirsten Bacia

Dennis Merkle

Salvo Chiantia