

Erfolgreich in synthetischer Biologie: Heidelberger Studententeam mit »Ecolicence to Kill« beim iGEM-Wettbewerb in Boston erfolgreich

Die Mühen der vergangenen Monate haben sich gelohnt: Bei der Vergabe der Preise beim international renommierten iGEM-Wettbewerb des Massachusetts Institute of Technology (MIT) in Boston konnte das Heidelberger Team, das zum ersten Mal antrat, auf ganzer Linie überzeugen. Das Team bekam gleich drei Spezialpreise sowie eine Goldmedaille für die wissenschaftliche Arbeit verliehen. Unter Leitung von Prof. Dr. Roland Eils und Dr. Victor Sourjik arbeiteten die 16 Studentinnen und Studenten in den letzten vier Monaten am Projekt »Ecolicence to Kill«. Ihr Ziel war, das Erbgut von Bakterien so umzubauen, dass sie gezielt andere Keime oder Tumorzellen aufspüren und abtöten können.

Jan Eufinger und Ulrike Conrad

Ferienarbeit mit dem Gen-Baukasten

Um die in der Regel in den Sommermonaten leerstehenden Universitäts-Laboratorien besser zu nutzen, begannen die Initiatoren des iGEM-Wettbewerbs (international Genetically Engineered Machines competition) vom Massachusetts Institute of Technology (MIT) im Jahre 2004 mit zunächst vier Teams einen Wettbewerb, bei dem sich studentische Teams mit Projekten aus dem Bereich der synthetischen Biologie bewerben konnten. Nachdem der Wettbewerb 2005 auch international ausgeschrieben wurde, stieg die Zahl der Teilnehmer stetig bis auf 84 teilnehmende Teams im Jahre 2008 an. Die Liste der teilnehmenden Teams liest sich dabei wie das *Who's who* der weltweiten Eliteunis. Mit am Start sind unter anderem Harvard, das California Institute of Technology, Cambridge und Tokyo. 2007 nahm die Universität Freiburg als erste deutsche Universität teil, 2008 kamen Heidelberg und München dazu.

Aufgabe des Wettbewerbs ist es, mit Methoden der Gentechnologie neuartige Fragestellungen zu bearbeiten und dabei auf bereits vorhandene Genbausteine zurück zu greifen, beziehungsweise, wenn nötig, neue Bausteine zu schaffen oder bestehende neu zu kombinieren. Zu Beginn des Projekts im Frühsommer erhielten alle Teams dazu eine Art Gen-Baukasten, die sogenannte »Registry«, in der die Bausteine der Teams aus den vergangenen Jahren in Form von getrockneten DNA-Bausteinen konserviert sind. Die Einreichung von neu hergestellten Bausteinen für die kommenden Jahre ist dabei wichtiger Bestandteil des Wettbewerbs. So entsteht über die Jahre eine standardisierte Sammlung von Genbausteinen, die der gesamten Forschungscommunity frei zur Verfügung steht.

Randy Rettberg vom MIT formuliert die Idee des Wettbewerbs so: »Können einfache biologische Systeme aus standardisierten, austauschbaren Teilen gefertigt und in lebenden Zellen betrieben werden? Oder ist die Biologie doch zu kompliziert, um so manipuliert zu werden?«

Welche Fragestellungen die Teams dabei bearbeiten bleibt völlig der Kreativität der Teams aus Studenten und Betreuern überlassen. Alle Beiträge sollen dabei aus dem Gebiet der synthetischen Biologie stammen. Im Gegensatz zur klassischen Gentechnologie wird in dem neuen Wissenschaftszweig, der als synthetische Biologie bezeichnet wird, ein ingenieurwissenschaftli-



Abb. 1: Ecolicence to Kill – unter diesem Motto stand das Projekt des erfolgreichen Heidelberger iGEM-Teams. Dabei wurden Bakterien so modifiziert, dass sie gezielt andere Bakterien aufspüren und vernichten können.

cher Ansatz in die Biologie eingebracht. Ähnlich wie bei der Konstruktion eines Flugzeugs aus verschiedenen vorgefertigten Bauteilen werden einfache Gen-Bausteine verwendet und zu neuen komplexen Systemen mit bestimmten Funktionen kombiniert.

Die in diesem Jahr eingereichten Beiträge reichten von der Erzeugung von Karies-bekämpfenden Bakterien (MIT Boston), über Bakterien, die Müll in Stärke umwandeln sollen (Edinburgh), bis hin zur Entwicklung von verbesserten Impfstrategien gegen Heliobacter-Infektionen, die zu Gastritis und Magenkrebs führen können (Slowenien).

»Killerbakterien« zur Bekämpfung von Krankheitskeimen und Tumorzellen

Das von Universität und Deutschem Krebsforschungszentrum unterstützte Heidelberger Team hatte sich zum Ziel gesetzt eine biologische Maschine zu schaffen, die in der Lage ist Krankheitserreger oder auch Tumorzellen zu erkennen und spezifisch abzutöten. Mit »Ecolicence to Kill« bekam das Projekt einen griffigen Titel.

Unter Leitung von Prof. Dr. Roland Eils, Abteilungsleiter am Deutschen Krebsforschungszentrum und Gründungsdirektor des BioQuant-Zentrums der Universität Heidelberg, und Dr. Victor Sourjik, Gruppenleiter am Zentrum für Molekularbiologie Heidelberg (ZMBH), arbeitete das Team aus 15 Studierenden der

Universität Heidelberg und einer Studentin der TU Darmstadt vier Monate ununterbrochen an dem Projekt und verzichteten dabei freiwillig auf die Semesterferien. Die Laborräume des neu eingerichteten BioQuant-Zentrums sowie die Unterstützung durch die Systembiologie-Initiativen ViroQuant und der Helmholtz-Allianz Systembiologie war hier besonders hilfreich. Außerdem hervorzuheben ist das Engagement von Jens Keienburg, Doktorand in Arbeitsgruppe von Roland Eils, ohne den das das Teams erst gar nicht zustande gekommen wäre.

Als Modell für das Killer-Beutesystem entwickelten die Studenten ein künstliches System aus zwei Stämmen des Darmbakteriums *E. coli*: einen „Beutestamm“, der die Krankheitserreger repräsentiert, und einen „Killerstamm“, der die Beute aufspüren, sich gezielt auf sie zu bewegen und anschließend vernichten soll.

Für den ersten Teil der Aufgabe, „Aufspüren und Annähern“, verwendete das Team den als Chemotaxis-System bezeichneten Wahrnehmungs- und Bewegungsapparat der *E. coli*-Bakterien. In der Natur dient das Chemotaxis-System zum Beispiel zum Aufspüren von Nährstoffen. Ein Nährstoffsignal wird dabei von einem Rezeptor auf der Bakterienoberfläche empfangen, in die Zelle weitergeleitet und aktiviert dort den Fortbewegungsapparat der Bakterien. Mit dieser Methode können sich Bakterien in Richtung der stärksten Quelle des Signales bewegen.

Um dieses System für die Erkennung von anderen Signalen nutzbar zu machen, konstruierte das Team einen chimären Rezeptor, dessen intrazellulärer Teil auf dem natürlichen Chemotaxis-System basiert. Der extrazelluläre, für die Erkennung zuständige Teil wurde dann durch die Erkennungsdomäne eines Rezeptors für den von der Beute ausgesendeten Lockstoff ersetzt (s. Abb. 2A). Nach Bindung des Lockstoffes wird dann das Bewegungssystem aktiviert und die Killerzellen können sich in Richtung der Beute bewegen. Dem Team gelang es, den chimären Rezeptor in den Bakterien zu exprimieren, allerdings steht die vollständige Charakterisierung noch aus.

Im zweiten Teil der Aufgabe, der Vernichtung der Beute, wurden zwei natürliche Tötungsmechanismen von Bakterien verwendet. Von wichtigster Bedeutung war hier, die Killerbakterien

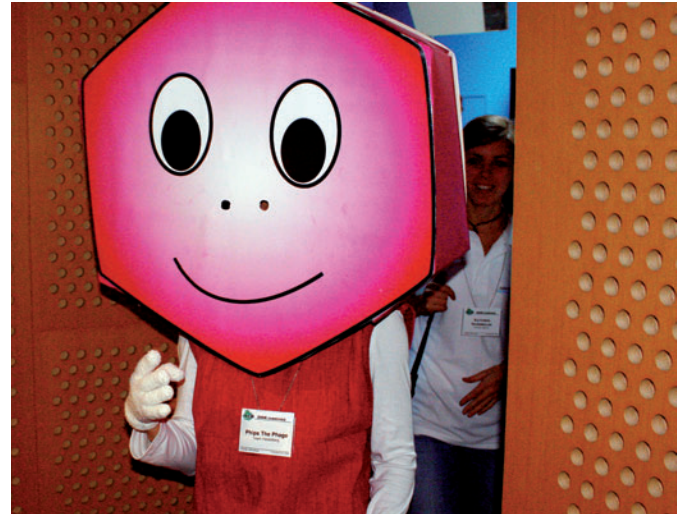


Abb. 5: Phips the Phage – das Maskottchen des Teams Phips half dem Team bei der Vermittlung der Projektergebnisse, vertreten auf Poster und dem iGEM-Wiki, auf dem alle Ergebnisse eingereicht wurden. Neben der virtuellen Version begleitete Phips das Team auch reell nach Boston.

selbst immun gegen diese Mechanismen zu machen. In beiden Fällen wird das Tötungsmodul durch einen von der Beute ausgesendeten Lockstoff aktiviert.

In der ersten Strategie nutzten die jungen Forscher bakterienspezifische Viren, sogenannte Bakteriophagen, die gezielt von den Killerbakterien in die Beute eingeschleust werden. Nach der Infektion stellt die Beute zunächst viele Kopien des Virus her und setzt diese dann bei ihrem Absterben frei. Diese Viren können dann weitere Bakterien infizieren, während der Killerstamm durch Expression eines Repressor-Gens immun ist.

Bei der zweiten Strategie führt das Beutesignal zur Expression eines bakteriellen Giftstoffes namens Colicin, der dann von den Killerbakterien ausgeschüttet wird. Das Colicin verursacht das Entstehen von Löchern in der Zellmembran der Beutebakterien, was schließlich zu deren Zerstörung führt (s. Abb.2B). Die

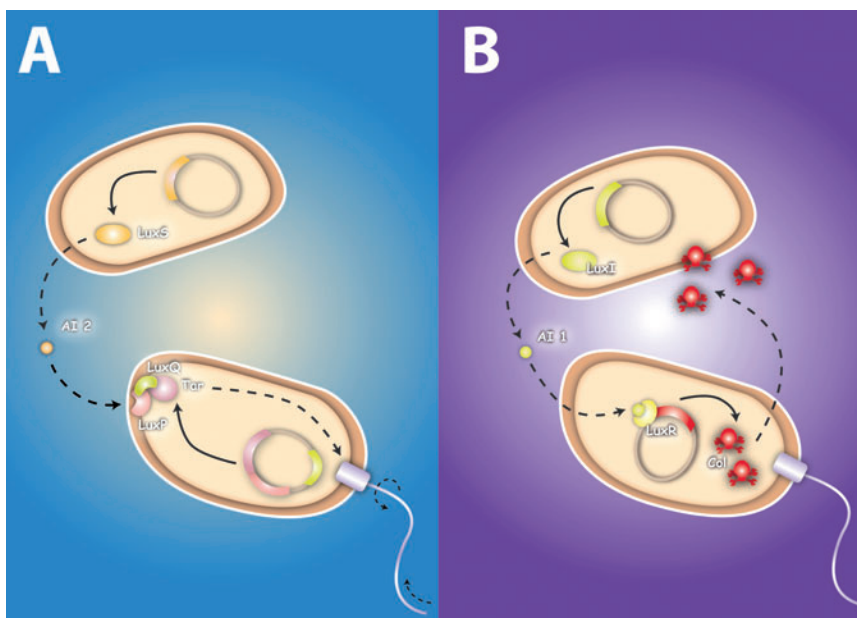


Abb. 2: Schema des Erkennungs- und Colicin-Tötungssystems A: Erkennungssystem: Durch Einbringen des Gens *luxS* produziert die Beutezelle (oben) einen Lockstoff (AI2). Nachdem AI2 zum Killerstamm diffundiert ist, bindet es an den chimären Rezeptor, der aus der Erkennungsdomäne LuxQ und dem intrazellulären Teil Tar des Chemotaxis-Systems besteht. LuxP ist für die korrekte Bindung von AI2 an den Rezeptor notwendig. Nach der Bindung führt das Chemotaxis-System zur Aktivierung des Bewegungsapparates, der die Killerzelle in die Nähe der Beute befördert. B: Colicin-Tötungssystem: Die Beute (oben) enthält das *luxI*-Gen, was zur Produktion des Lockstoffes AI 1 führt. In den Killerzellen (unten) aktiviert AI 1 durch Bindung an LuxR die Produktion der Colicine (Col), die dann das Absterben der Beute verursachen.



Abb. 3: Pro-aktiv die Bevölkerung in Wissenschaft miteinbeziehen Im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit des Heidelberger iGEM-Teams erläuterten die Studenten auch Passanten in der Heidelberg Altstadt was es mit synthetischer Biologie auf sich hat.

Killerbakterien selbst sind dabei durch Expression eines Immunitätsproteins gegen den Giftstoff geschützt. Die Funktion dieses Tötungssystems konnte im Rahmen des Projektes gezeigt werden. Interessanterweise waren die Killerbakterien auch in der Lage menschliche Tumorzellen abzutöten, was große Erwartungen für den geplanten Nutzung des Systems für medizinische Anwendungen weckt.

Neben der praktischen Arbeit im Labor erstellte das Modellierungs-Team Computermodelle, in denen die Funktion des Testsystems vorab geprüft werden konnte und so eine zielgerichtet Planung der Laborversuche ermöglichte. Mithilfe eines Computermodelles der Phageninfektion konnte gezeigt werden, dass durch die Vermehrung der Phagen in den Beutezellen eine Kettenreaktion ausgelöst wird, der dazu führt, dass bereits 10 Killerzellen in der Lage sind, über eine Milliarde Beutezellen zu vernichten.

Presse- und Öffentlichkeitsarbeit als Teil der Wissenschaft

Zunächst getrieben durch die Suche nach Sponsoren, die die Teilnahme des Teams erst ermöglicht haben, und dem Ansinnen, Vorbehalte gegenüber synthetischer Biologie und Gentechnik auszuräumen, legte das Heidelberger Team einen Schwerpunkt auf die Präsentation ihres Projekts für die breite Öffentlichkeit. Dass die Pressearbeit große Früchte trug, zeigte sich in den zahlreichen Zeitungs-, Radio- und Fernsehbeiträgen, in denen das Team portraitiert wurde.

Um eigene Erfahrungen im Bereich der Wissenschaftskommunikation zu sammeln, starteten die Studenten noch weitere Initiativen: sie informierten beispielsweise interessierte Passanten über den iGEM-Wettbewerb und das Ziel der synthetischen Biologie im Rahmen einer Umfrage in der Heidelberg Altstadt (s. Abb. 3) und luden eine Schulklasse in ihr Labor ein, um ihr die Grundlagen der Gentechnologie zu erklären.

Dieses überdurchschnittliche Engagement wurde von den iGEM-Juroren mit dem „Human Practice“-Preis gekürt. In der Lau-



Abb. 4: Das erfolgreiche Team nach der Preisverleihung in Boston: 1. Reihe kniend v.l.n.r.: Roland Eils, Philipp Bayer, Stephen Kraemer, Daniela Richer, Maria Muench, Adjana Eils; 2. Reihe: Yin Cai, Pascal Kraemer, Kathrin Nußbaum, Andreas Kuehne, Marika Ziesack, Anna Stoeckl, Kolja Schleich; 3. & 4. Reihe: Dominik Niopek, Markus Stahlberg, Erik Sommer, Chenchen Zhu, Yara Reis, Maximilian Hoerner, Michaela Reichenzeller, Barbara DiVentura, David Kentner, Christian Moritz, Jens Keienburg. Auf dem Foto fehlen: Victor Sourjik, Hauke Busch, Jan Eufinger, Michael Flossdorf, Phillip Hundeshagen, Nikita Vladimirov

datio wurde die Öffentlichkeitsarbeit des Heidelberger Teams als vorbildlich für alle zukünftigen Projekte herausgehoben.

Absahnen beim Finale: Heidelberger Team erhält drei Preise und eine Goldmedaille

Anfang November 2008 war es dann soweit: beim „iGEM-Jamboree“, dem großen Finale am MIT in Boston, kamen alle teilnehmenden Teams zusammen, um ihre Projekte mittels Präsentation und Poster vorzustellen. Mit über 1000 Teilnehmern aus aller Welt, Studenten und ihren Mentoren, sicher eine einzigartige Veranstaltung.

Während der Preisverleihung stieg die Stimmung des ange-reisten Heidelberg Teams dann in ungeahnte Höhen: neben dem schon erwähnten „Human Practice“-Preis erhielt das Team den Preis für die beste Projektpräsentation sowie für das beste wissenschaftliche Poster. Insbesondere die wissenschaftliche Leistung und deren Darstellung wurden hierbei hervorgehoben.

Zusätzlich bekamen die Heidelberger Studenten, als eines von lediglich 16 Teams, eine Goldmedaille für ihre wissenschaftliche Arbeit verliehen. Für diese Medaillen mussten die Teams bestimmte Aufgaben in verschiedenen Kategorien erfüllen, so wurden zum Beispiel die Generierung von neuen Genbausteinen sowie die Charakterisierung von bestehenden Bausteinen gewertet. Neben dem Heidelberger Team konnten zum Beispiel die Teams aus Harvard, aus dem Imperial College London und aus dem California Institute of Technology (Caltech) und auch das Freiburger Team Goldmedaillen nach Hause tragen.

Sämtliche Ergebnisse des Teams, sowie eine Übersicht über die zahlreichen Sponsoren, ohne deren Unterstützung die Teilnahme nicht möglich gewesen wäre, sind unter <http://2008.igem.org/Team:Heidelberg> dargestellt.