Thomas Reiß
Piret Kukk

Synthetische Biologie in Baden-Württemberg: Status-quo und zukünftige Entwicklungspotenziale

Endbericht

Studie im Auftrag des Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg

Karlsruhe, 6. Juni 2011

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung ..... A

1 Einleitung und Zielsetzung 1

2 Leistungsumfang und Methodik 3

2.1 Bestandsaufnahme der SB Akteure in Baden-Württemberg 3

2.2 Nationales und internationales Benchmark 4

2.3 Bewertung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg 4

2.4 Entwicklung von Empfehlungen für die Stärkung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg 5

2.5 Ergebnisdokumentation 5

3 Literaturüberblick zur synthetischen Biologie 7

3.1 Hintergrund 7

3.2 Forschungsansätze der synthetischen Biologie 7

3.2.1 Genomdesign und -konstruktion 7

3.2.2 Angewandtes Proteindesign 8

3.2.3 Herstellung standardisierter biologischer Bauteile und Regelkreise 9

3.2.4 Herstellung orthogonaler Biosysteme 9

3.3 Anwendungsperspektiven der synthetischen Biologie 10

3.4 Ausblick 12

4 Aktuelle Situation und Potenziale der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg 15

4.1 Baden-Württemberg und Deutschland im Vergleich zu anderen Länder 17

4.2 Forschungsfinanzierung 19

4.3 Ausbildung und Qualifikation 20
4.4 Infrastruktur und Rahmenbedingungen 21
4.5 Zusammenfassung: Stärken und Schwächen, Chancen und Risiken (SWOT) 22

5 Ergänzung zu Kapitel 3 Literaturüberblick 27
5.1 Background 27
5.2 Basic approaches and tasks in Synthetic Biology 27
5.2.1 Genome design and construction 27
5.2.1.1 “Top-down” approach 28
5.2.1.2 “Bottom-up” approach 28
5.2.2 Applied protein design 29
5.2.3 Creation of standardized biological parts and circuits 31
5.2.4 Creation of Orthogonal Biosystems 32
5.3 Practical applications of the technology 34
5.3.1 Biosensors 35
5.3.1.1 Transcriptional biosensing 35
5.3.1.2 Translational biosensing 36
5.3.1.3 Post-translational biosensing 36
5.3.1.4 Hybrid approaches 37
5.3.2 Therapeutics 38
5.3.2.1 Disease mechanism 39
5.3.2.2 Drug-target identification 39
5.3.2.3 Drug discovery 39
5.3.2.4 Therapeutic treatment and delivery 39
5.3.3 Biofuels and biomaterials 40
5.3.3.1 Constructing biosynthetic pathways 41
5.3.4 Pharmaceuticals 42
5.3.4.1 Optimizing pathway flux 43
5.4 Way forward 43

6 Glossar 45

7 Literatur 49

8 Anhang 55

8.1 Anhang 1: Liste der befragten Experten aus Baden-Württemberg 55

8.2 Anhang 2: Liste der weiteren befragten nationalen und internationalen Experten 56

8.3 Anhang 3: Teilnehmerliste Expertenworkshop 57

Zusammenfassung

Die synthetische Biologie ist ein neues Forschungsgebiet, das aus der interdisziplinären Kombination von Molekularbiologie, organischer Chemie, Ingenieurwissenschaften, Physik, Materialwissenschaften, Nanotechnologie und Informationstechnologie entsteht. Sie gilt als Weiterentwicklung der klassischen Bio- und Gentechnik und eröffnet große Potenziale sowohl in Bezug auf das rationale Design von neuen Produktionssystemen als auch bei der Aufklärung grundlegender biologischer Fragen zur Entstehung des Lebens. Die synthetische Biologie zielt darauf ab, standardisierte biologische Bauteile zu entwickeln, mit denen biologische Systeme geschaffen werden können, die in der Natur nicht vorkommen (Khalil & Collins 2010).

Für den Erfolg der synthetischen Biologie ist es entscheidend, dass die benötigten unterschiedlichen wissenschaftlichen Disziplinen effizient zusammenarbeiten und dass alle relevanten Stakeholder zur Entwicklung und Implementierung geeigneter Rahmenbedingungen beitragen.

Die vorliegende Untersuchung, wurde vom Fraunhofer-Institut für System- und Innovationsforschung, Karlsruhe, im Auftrag des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst in Baden-Württemberg (MWK) durchgeführt, um die Perspektiven der synthetischen Biologie für künftige Forschungs- und Kommerzialisierungsaktivitäten zu analysieren.

Generell werden die wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Potenziale der synthetischen Biologie als hoch eingeschätzt und Baden-Württemberg auch von internationalen Experten als hervorragender Standort bewertet. Diese Bewertung beruht v. a. auf folgenden Faktoren:

- Die naturwissenschaftliche und ingenieurwissenschaftliche Forschung an den Universitäten und Forschungseinrichtungen in Baden-Württemberg hat ein hohes Niveau. Insbesondere Heidelberg und Freiburg im Bereich der Naturwissenschaften generell und der Systembiologie speziell sowie Karlsruhe und Stuttgart im Bereich der Ingenieurwissenschaften sind hier hervorzuheben. Auf dieser Basis kann die synthetische Biologie aufbauen und auf Spitzenniveau entwickelt werden, da viele der Methoden und auch die technische Ausstattung, die schon für die Systembiologie etabliert wurden, auch in der synthetischen Biologie genutzt werden können.
- In Baden-Württemberg existiert schon eine Tradition interdisziplinärer Forschungsarbeiten in Verknüpfung mit kreativen und offenen Wissenschaftlern. Es ergibt sich somit ein sehr attraktives Forschungsumfeld, das die besten Wissenschaftler aus Deutschland und dem Ausland nach Baden-Württemberg bringen könnte.

- Zahlreiche Hightech-KMU, die potenziell zur Entwicklung der synthetischen Biologie beitragen bzw. Erkenntnisse der synthetischen Biologie nutzen können, sind im Land vorhanden.
- Die Nähe zu Frankreich und der Schweiz und der dort vorhandenen Forschungs- und Industriestruktur bietet zusätzliche Vorteile.
- In den derzeit international wichtigsten Teilbereichen der synthetischen Biologie sind auch die meisten Forschungsgruppen in Baden-Württemberg aktiv. Es handelt sich dabei um folgende Felder:
  - die Entwicklung neuer Produktionssysteme und „metabolic pathway engineering“,
  - Modellierung und In-silico-Analysen,
  - die Entwicklung von Plattformtechnologien wie z. B. der DNA-Synthese und auch DNA-Sequenzierung.

Zusätzlich zu diesen Bereichen konnten im Rahmen der vorliegenden Analyse die folgenden Forschungsgebiete mit Potenzial für Baden-Württemberg identifiziert werden:

- Automatisierung von Prozessen in der synthetischen Biologie. Hierzu zählen Miniaturisierung, Hochdurchsatz, Parallelisierung sowie Analyse und Prozesstechnik.
- Die Erforschung und Entwicklung von Biomaterialien. Dazu gehören beispielsweise biokompatible Materialien für medizinische Anwendungen aus dem Bereich des Tissue Engineering. Die in Baden-Württemberg traditionell starke Medizintechnikbranche sowie Aktivitäten einschlägiger Forschungseinrichtungen (z. B. das Naturwissenschaftliche und Medizinische Institut in Reutlingen) können hier Impulse setzen. Ebenso ist die materialwissenschaftliche Forschung in Baden-Württemberg gut etabliert und kann durch Verknüpfungen mit biologischen Denkweisen und Ansätzen, wie sie die synthetische Biologie verfolgt, neue Impulse gewinnen.
- Übertragung von Ansätzen der synthetischen Biologie auf eukaryotische Systeme. Insbesondere für medizinische Anwendungen sind höhere Organismen bzw. Zellsysteme aus höheren Organismen wichtig. Arbeitsgruppen in Baden-Württemberg sind in einigen relevanten Teilbereichen führend.
- Eng verknüpft mit der Materialforschung sind verschiedene funktionelle und biologische Grenzflächen, die sowohl für die Entwicklung von Produktionssytemen auf Basis der synthetischen Biologie eine Rolle spielen können als auch selbst von Übertragung synthetische Biologiekonzepte profitieren können.

Baden-Württemberg hat insgesamt eine sehr gute Ausgangssituation, um sich in der synthetischen Biologie an vorderster Front zu positionieren. Der Zeitpunkt, diesen Prozess durch flankierende Maßnahmen zu unterstützen, ist derzeit günstig, da sowohl auf nationaler als auch auf internationaler Ebene bisher nur wenige Regionen erkennbar sind, die kritische Massen für synthetische Biologie entwickeln. Aufgrund des frühen Stadiums der synthetischen Biologie im Innovationszyklus ist jede förderpolitische Initi-

ative zur Unterstützung des Feldes mit einem gewissen Risiko verbunden. Eine Garantie, dass die erwarteten Potenziale realisiert werden, kann nicht gegeben werden. Förderpolitik kann jedoch die Wahrscheinlichkeit, dass die gewünschten Effekte eintreten, wesentlich erhöhen. Die wichtigsten Bedingungen für eine erfolgreiche Weiterentwicklung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg können in drei Hauptbereiche unterteilt werden, die wiederum koordiniert implementiert werden sollten, um so eine mittel- und langfristige Entwicklung des Themenfeldes zu unterstützen. Diese Bereiche sind:

- Forschungsfinanzierung aus öffentlichen und privaten Quellen,
- Ausbildung und Qualifikation,
- Infrastruktur und Rahmenbedingungen.

Für diese Berichte wurden Handlungsempfehlungen entwickelt.

1 Einleitung und Zielsetzung

Die synthetische Biologie ist ein neues Forschungsgebiet, das aus der interdisziplinären Kombination von Molekularbiologie, organischer Chemie, Ingenieurwissenschaften, Physik, Materialwissenschaften, Nanotechnologie und Informationstechnologie entsteht. Sie gilt als Weiterentwicklung der klassischen Bio- und Gentechnik und eröffnet große Potenziale sowohl in Bezug auf das rationale Design von neuen Produktionssystemen als auch bei der Aufklärung grundlegender biologischer Fragen zur Entstehung des Lebens. Die synthetische Biologie zielt darauf ab, standardisierte biologische Bauteile zu entwickeln, mit denen biologische Systeme geschaffen werden können, die in der Natur nicht vorkommen (Khalil & Collins 2010).

Für den Erfolg der synthetischen Biologie ist es entscheidend, dass die benötigten unterschiedlichen wissenschaftlichen Disziplinen effizient zusammenarbeiten und dass alle relevanten Stakeholder aus Forschung, Industrie, Politik und Öffentlichkeit zur Entwicklung und Implementierung geeigneter Rahmenbedingungen beitragen.

Die vorliegende Untersuchung, die u. a. auf zahlreichen Interviews mit nationalen und internationalen Experten basiert, wurde vom Fraunhofer-Institut für System- und Innovationsforschung, Karlsruhe, im Auftrag des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst in Baden-Württemberg durchgeführt, um die Perspektiven der synthetischen Biologie für künftige Forschungs- und Kommerzialisierungsaktivitäten zu analysieren. Der Schwerpunkt der Untersuchung liegt auf folgenden Fragen:

- Wie stellt sich die aktuelle Situation der für die synthetische Biologie relevanten Forschungslandschaft in Baden-Württemberg dar? Welche Rolle spielen dabei Akteure aus der öffentlichen Forschung, welche Rolle nimmt die Forschung in der Industrie ein?
- Wie lassen sich die Aktivitäten der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg im Vergleich zu anderen Regionen in Deutschland und insbesondere im internationalen Vergleich positionieren? Welche Stärken und Schwächen hat die synthetische Biologie in Baden-Württemberg, welchen Risiken ist sie ausgesetzt und welche Chancen ergeben sich?
- Welche Empfehlungen lassen sich für die weitere Stärkung und internationale Positionierung der baden-württembergischen Forschung im Bereich der synthetischen Biologie ableiten?

Der vorliegende Endbericht fasst die wichtigsten Ergebnisse der Studie zusammen. In Kapitel 2 wird der methodische Ansatz beschrieben. Kapitel 3 fasst in einem Literaturüberblick die aktuellen internationalen Entwicklungslinien in der synthetischen Biologie zusammen. Eine ausführliche Version des Literatur-Reviews ist in Kapitel 6 als Ergänzung des Berichts in Englisch dargestellt. Kapitel 4 beschreibt die aktuelle Situation der

synthetischen Biologie in Baden-Württemberg insbesondere für die Bereiche Forschungsfinanzierung, Ausbildung und Qualifikation sowie Infrastruktur und Rahmenbedingungen. In jedem dieser Bereiche konnten Innovationshemmnisse identifiziert werden. Die aktuelle Situation wird in einer Stärken-Schwächen-Analyse (SWOT) zusammengefasst (Kapitel 4.5). Auf dieser Basis werden die Empfehlungen (Kapitel 5) für die Weiterentwicklung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg vorgeschlagen.

2 Leistungsumfang und Methodik

2.1 Bestandsaufnahme der SB Akteure in Baden-Württemberg

Basierend auf den Erhebungen, die Fraunhofer ISI im Jahr 2007 im Rahmen des Europäischen Roadmapping-Projekts „Towards a European Strategy for Synthetic Biology“ (TESSY)[1] durchgeführt hatte, wurden die in Baden-Württemberg im Bereich der synthetischen Biologie arbeitenden Forschungsgruppen aus öffentlichen Forschungseinrichtungen und Industrie identifiziert und anhand ihrer Größe, Struktur und Art ihrer Aktivitäten in der synthetischen Biologie beschrieben.

Dazu wurden alle in Baden-Württemberg bislang ermittelten Akteure mithilfe eines standardisierten Fragebogens (E-Mail-Ansprache und anschließendes Telefonkurzinterview) kontaktiert. Es wurden u. a. Details zu den aktuellen Forschungsarbeiten und Strategien in der synthetischen Biologie, zur Beteiligung an internationalen Forschungsprojekten, zur Struktur der baden-württembergischen Forschungslandschaft mit Bezug zur synthetischen Biologie (thematisch, regional), zu neuen baden-württembergischen Akteuren und zu zukünftigen Handlungsempfehlungen erhoben. Besonderes Augenmerk wurde dabei auch auf die bereits bestehenden Zentren für Systembiologie in Freiburg und Heidelberg gelegt, da zwischen Forschungsarbeiten der Systembiologie und der synthetischen Biologie enge Zusammenhänge bestehen.[2] Ebenso wurden die industriellen Akteure (insbesondere KMU) besonders berücksichtigt. Auf Basis dieser Charakterisierung wurde eine Klassifizierung der bestehenden Aktivitäten hinsichtlich ihrer strategischen Ausrichtung in folgende Kategorien vorgenommen:

1. Entwicklung und Forschung an standardisierten biologischen Bauteilen
2. Entwicklung neuer Produktionssysteme, Weiterentwicklung des „Metabolic Pathway Engineering“
3. Grundlagenuntersuchungen zur Entstehung des Lebens

---

1 Weitere Informationen zu diesem Projekt können im Internet unter www.tessy-europe.eu eingesehen werden.

2 Systembiologie ist ein interdisziplinärer Forschungsansatz, der Biologie, Informatik und Systemwissenschaften kombiniert. Sie zielt darauf ab, biologische Prozesse auf der Systemebene zu untersuchen, indem die komplexen Netzwerke, die die komplexe Funktionalität biologischer Systeme hervorbringen, analysiert werden. Die Systembiologie ist somit ein analytischer Ansatz, der Wissen zu Struktur und Funktion biologischer Systeme generiert. Die synthetische Biologie nutzt dieses Wissen in einem konstruktiven Ansatz, um hieraus biologische Systeme zu entwickeln, die so in der Natur nicht vorkommen.

4. Forschungen zur biomimetischen Chemie und Orthogonalität
5. Modellierung und In-silico-Untersuchungen
6. Entwicklung von Schlüsseltechnologien (z. B. DNA-Sequenzierung und Synthese)
7. Untersuchungen zu rechtlichen, ethischen, sozialen Aspekten der synthetischen Biologie
8. Anderes

Die Ergebnisse der Erhebung wurden in einer Excel-Datenbank zusammengefasst, die einen raschen Überblick über die baden-württembergischen Aktivitäten liefert und damit hilfreich für die Entwicklung zukünftiger Maßnahmen ist.

2.2 Nationales und internationales Benchmark

Das nationale und internationale Benchmark dient der Erhebung der innerhalb der synthetischen Biologie am weitest entwickelten und vielversprechendsten Forschungsthemen, der Ermittlung von Forschungskapazitäten und Förderbudgets sowie der Beschreibung der internationalen Vernetzung der wissenschaftlichen Community.

Auf Basis der im TESSY-Projekt entwickelten Roadmap zu den wichtigsten wissenschaftlichen Meilensteinen wurden Literaturrecherchen zum Stand der synthetischen Biologie durchgeführt. Diese dienten als Input für 12 Tiefeninterviews mit international anerkannten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus den führenden Ländern in der synthetischen Biologie in Europa und den USA.

2.3 Bewertung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg

Anhand einer SWOT-Analyse wurde eine zusammenfassende Bewertung der Situation der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg vorgenommen. Dabei wurden die erhobenen Fakten aus den empirischen Analysen systematisch hinsichtlich ihres Beitrags zur Stärkung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg bewertet.

Zunächst entwickelte das Projektteam einen ersten Entwurf der SWOT-Analyse. Im zweiten Arbeitsschritt wurde dieser Entwurf mit ausgewählten Experten aus Forschung und der Industrie in Baden-Württemberg im Rahmen von persönlichen Interviews diskutiert. Im dritten Schritt wurden die durch die Expertengespräche validierten Ergebnisse der SWOT-Analyse zusammengefasst.

2.4 Entwicklung von Empfehlungen für die Stärkung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg

Basierend auf den Ergebnissen der SWOT-Analyse wurden Handlungsempfehlungen zur weiteren Stärkung und internationalen Positionierung der baden-württembergischen Forschung im Bereich der synthetischen Biologie entwickelt. Dazu erstellte das Projektteam in einem ersten Arbeitsschritt einen Entwurf für Handlungsempfehlungen. Dieser Entwurf wurde in einem zweiten Arbeitsschritt mit Experten besprochen. Hierzu wurde ein eintägiger Expertenworkshop in den Räumen des Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg in Stuttgart organisiert. Insgesamt zwölf Fachleute aus den wichtigsten Forschungseinrichtungen Baden-Württembergs und der Industrie sowie Vertreter des Auftraggebers nahmen an diesem Workshop teil. Eine direkte Beteiligung des Auftraggebers erwies sich als sehr zielführend, da dadurch offene Fragen direkt diskutiert wurden und ein Abgleich zwischen Wünschbarem und Machbarem noch während des Workshops erfolgen konnte. Die Ergebnisse des Experten-Workshops wurden dokumentiert und den Teilnehmern zur Verfügung gestellt.

2.5 Ergebnisdokumentation

Die Ergebnisse der Analyse wurden im vorliegenden Bericht zusammengefasst. Die Datenbank der baden-württembergischen Akteure in der synthetischen Biologie steht als Excel-Datei zur Verfügung.

3 Literaturüberblick zur synthetischen Biologie

3.1 Hintergrund

Der Begriff synthetische Biologie erschien zum ersten Mal schon im Jahr 1912 in einer Publikation von Stefan Leduc „La biologie synthétique“ (Leduc 1912) und im selben Jahr spekulierte Jacque Loeb, dass es möglich sein sollte, künstliche lebende Systeme zu konstruieren (Loeb 1912). Im Jahr 1980 wurde der Begriff von der deutschen Wissenschaftlerin Barbara Hobom dazu benutzt, Bakterien zu beschreiben, die gentechnisch verändert wurden (Hobom 1980). „Synthetische Biologie“ war damit weitgehend synonym mit dem Begriff „bioengineering“ (Benner 2005). Heute wird der Begriff anders verwendet. Man versteht unter synthetischer Biologie Forschungstätigkeiten, die Biologie mit Prinzipien der Ingenieurwissenschaften kombinieren, um so standardisierte austauschbare biologische DNA-Bausteine zu entwerfen und zu synthetisieren. Diese sind durch spezifische Funktionen charakterisiert und können nach Ingenieursprinzipien zu biologischen Bauteilen und Systemen zusammengefügt werden.

3.2 Forschungsansätze der synthetischen Biologie

Synthetische Biologie umfasst heutzutage mehrere unterschiedliche Forschungsstrategien: Genomdesign und -konstruktion, angewandtes Proteindesign, Entwicklung standardisierter biologische Bauteile und Schaltkreise, Entwicklung so genannter orthogonaler Biosysteme.

3.2.1 Genomdesign und -konstruktion

Um Mikroorganismen für Forschungsarbeiten der synthetischen Biologie optimal nutzen zu können, wäre es wünschenswert, vollständig charakterisierte Stämme mit minimaler Komplexität zur Verfügung zu haben. Diese Stämme zeichnen sich durch ein Genom aus, das nur die lebensnotwendigen Eigenschaften enthält, so genannte Minimalgenome. Diese können sowohl top-down konstruiert werden, also ausgehend von existierenden Genomen, als auch bottom-up, d. h. unter Nutzung einzelner DNA-Fragmente.

Top-down-Ansatz

Die meisten der bekannten aktuellen Arbeiten in der synthetischen Biologie folgen dem Top-down-Ansatz. Natürlich vorkommende lebende Systeme dienen als Ausgangspunkt und werden für bestimmte Zwecke „re-enginieered“. Dabei können beispielsweise ganze Genome synthetisiert oder transplantiert werden. So haben Craig Venter und

seiner Kollegen mithilfe dieses Ansatzes zunächst Gene aus einem natürlichen Organismus nach und nach entfernt, um so die minimale Genausstattung zu ermitteln. Im Mai 2010 publizierten Venter und seine Kollegen schließlich eine international viel beachtete Arbeit, in der das 1,08 Mega-Basenpaar große Genom des Bakteriums *Mycoplasma mycoides* vollständig aus digitalisierten Genomsequenzinformationen resynthetisiert und in ein anderes Bakterium eingepflanzt wurde. Als Ergebnis entstand ein Organismus, der völlig durch das synthetische Genom gesteuert wurde (Gibson et al. 2010). Diese Arbeiten stellen einen wichtigen Meilenstein der synthetischen Biologie dar. Dennoch dürften noch erhebliche Forschungsanstrengungen notwendig sein, um mithilfe dieses Prinzips auch Organismen zu konstruieren, die spezifische Aufgaben wie z. B. die Produktion von Energieträgern bewerkstelligen können.

Bottom-up-Ansatz

Bei diesem Ansatz werden neue biologische Systeme aus künstlichen Komponenten hergestellt. Die so entstehenden so genannten Protozellen können als chemische Systeme charakterisiert werden, die durch eine räumliche Anordnung von Komponenten, die Nutzung von Energie und Rohstoffen aus der Umgebung sowie die Steuerung der in ihnen ablaufenden Prozesse durch chemische Informationen charakterisiert sind. Diese Systeme können sich selbst reproduzieren und eine Population aus derartigen Systemen kann sich an Umgebungsbedingungen anpassen und evolutiv entwickeln (Rasmussen et al. 2009).

3.2.2 Angewandtes Proteindesign

Schon seit über 20 Jahren werden Protein-Engineering-Technologien dazu eingesetzt, Enzyme mit verbesserten katalytischen Eigenschaften herzustellen. Dabei werden nicht nur die 20 natürlichen Aminosäuren eingesetzt, sondern auch unnatürliche Aminosäuren, die beispielsweise die Abbaubarkeit von Proteinen in natürlichen Umgebungen verändern (Tucker et al. 2006). Aktuelle Arbeiten zum Protein-Engineering zielen z. B. darauf ab, Proteinkonstrukte herzustellen, die aus verschiedenen Funktionseinheiten aufgebaut sind und ihre Einzelfunktionen in Abhängigkeit von Außenbedingungen optimieren lassen (Foit et al. 2009). So konnte beispielsweise für eine Sammlung von Testproteinen gezeigt werden, dass die Antibiotikaresistenz bestimmter Proteine eng mit ihrer Stabilität korreliert.

3.2.3 Herstellung standardisierter biologischer Bauteile und Regelkreise

Die Entwicklung eines Baukastens standardisierter genetischer Bausteine mit bekannten Funktionseigenschaften, aus denen funktionale Systeme hergestellt werden können, zählt zu den zentralen Forschungsaufgaben der synthetischen Biologie. Schon im Jahr 2004 wurde am Massachusetts Institute of Technology (MIT) ein „Registry of Standard Biological Parts“ etabliert. In dieser Datenbank werden so genannte „BioBricks“ archiviert, also kurze DNA-Stücke, die funktionale genetische Elemente repräsentieren. Beispiele hierfür sind Promotorsequenzen, die die Transkription von DNA steuern. Es wird angestrebt, dass diese BioBricks mithilfe üblicher gentechnischer Methoden hergestellt und zusammengefügt werden können. Dadurch können aus einzelnen BioBricks komplexere lineare Sequenzen hergestellt werden.

Inzwischen ist es auch gelungen, aus BioBricks Systeme herzustellen, die logische Operationen wie „und“, „oder“, „nicht“ ausüben können. Ziel derartiger Arbeiten ist es letztlich, winzige programmierbare Computereinheiten herzustellen, deren Funktion mithilfe chemischer Signale gesteuert werden kann. Obwohl schon eine große Anzahl von BioBricks hergestellt wurde, kann ihre Funktionsweise bisher nur begrenzt vorhergesagt werden und muss somit häufig empirisch überprüft werden. Damit BioBricks letztlich die gewünschten standardisierten Bausteine für komplexere biobasierte Systeme darstellen können, sind weitere Forschungsarbeiten zur Funktionscharakterisierung und insbesondere auch zur Standardisierung erforderlich. Ein „Bioingenieur“ muss dabei davon ausgehen können, dass die genutzten Bausteine exakt in ihrer Funktionsweise beschreibbar sind und die beschriebenen Funktionen auch zuverlässig und reproduzierbar ausüben können (Stricker et al. 2008, Tiggers et al. 2009).

3.2.4 Herstellung orthogonaler Biosysteme

Komplexität spielt eine Schlüsselrolle bei der Konstruktion neuer Biosysteme. Neu hergestellt Moleküle oder Regelkreise stehen naturgemäß in Wechselwirkung mit den schon bestehenden Systemen. Diese Wechselwirkungen können für bestimmte Zwecke durchaus unerwünscht sein. Vor diesem Hintergrund wurde das Konzept orthogonaler Biosysteme entwickelt, das darauf abzielt, Bauteile zu entwickeln, die möglichst unabhängig von anderen Systemen funktionieren. Orthogonalität bedeutet in diesem Zusammenhang die freie Kombination voneinander unabhängiger Komponenten. Es handelt sich dabei um ein Konstruktionsprinzip aus den Ingenieurwissenschaften, das beispielsweise in der Informationstechnologie eine zentrale Rolle spielt.

Die Einführung der Orthogonalität in biologische Systeme wird als eine wichtige Voraussetzung für die synthetische Biologie betrachtet, da sie es erlaubt, gezielte Veränderungen in Systemen einzuführen, die über rein empirische Ansätze hinausgehen und die nicht vom Einfluss der zellulären Komplexität abhängen. Ein Beispiel für die Entwicklung orthogonaler Systeme ist die Modifikation des genetischen Codes. Normalerweise werden bei der Übersetzung des genetischen Codes in Aminosäuren jeweils drei Basen für die Codierung einer Aminosäure genutzt. Vor Kurzem ist es gelungen, Ribosomen so zu modifizieren, dass sie nicht mehr drei, sondern vier Basen als Code für Aminosäuren erkennen. Auf diese Weise kann zusätzlich zum natürlich vorkommenden Proteinproduktionssystem ein paralleles System entwickelt werden, das nicht mit dem natürlichen System in Wechselwirkung steht (Wang et al. 2007). Dieses orthogonale System könnte dann z. B. Polymere aus Aminosäuren herstellen, die in der Natur nicht existieren.

3.3 Anwendungsperspektiven der synthetischen Biologie

Die synthetische Biologie verspricht zahlreiche unterschiedliche Anwendungsmöglichkeiten. Derzeit werden insbesondere die Folgenden verfolgt:

- Entwicklung neuer biologischer Produktionssysteme für existierende oder neue biologische Materialien und Chemikalien; hierzu zählen auch Lebensmittelzusatzstoffe und Biofuels;
- neue und verbesserte Diagnostika, Therapeutika und Impfstoffe;
- Biosensoren;
- Anwendungen zur Beseitigung von Umwelt- und Prozesskontaminationen.

Speziell für Deutschland erwartet man große Anwendungspotenziale der synthetischen Biologie in den Bereichen industrielle weiße Biotechnologie, Bioenergie und Medizin (DFG 2009). In der chemischen Industrie, einer traditionell starken Branche in Deutschland, werden heute schon Prozesse der weißen Biotechnologie zunehmend genutzt. Die Optimierung dieser Prozesse durch Ansätze der synthetischen Biologie könnte erhebliche Fortschritte nach sich ziehen. Beispielsweise wird die Aminosäure Lysin heutzutage mithilfe klassischer biotechnologischer Methoden mit einem Volumen von 700.000 Tonnen pro Jahr produziert, was einem Marktwert von 1,4 Mrd € entspricht. Bei diesen hohen Umsatzzahlen wirken sich schon geringfügige Prozessoptimierung erheblich aus.

Biosensoren

Lebende Zellen haben eine Unmenge an Regelkreisen entwickelt, die verschiedenste Umweltsignale messen und darauf reagieren können. Diese Regelkreise bestehen aus spezifisch konstruierten sensitiven Elementen, die bestimmte Analyte binden und entsprechende Signale generieren, und Transducer-Modulen, die die Signale filtern und eine zelluläre Reaktion initiieren. Mithilfe der synthetischen Biologie lassen sich diese Grundelemente von Biosensoren in geeigneter Weise zusammenfügen, um so bestimmte biologische oder nichtbiologische Reize messen zu können. So wurden beispielsweise synthetische Biosensoren entwickelt, die in der Lage sind, Antibiotika, Gase, Metabolite oder Temperaturänderungen zu messen und Signale zur Modifizierung der Genexpression zu erzeugen. Durch Kombination verschiedener Sensorprinzipien (transkriptional, translational und post-translational) in so genannte Hybridlösungen können robuste zellbasierte Biosensoren entwickelt werden, die in ihrer Stabilität natürlichen Organismen ähneln. Ein Beispiel hierfür ist ein E-Coli-basierter optischer Sensor, der die Zellen in die Lage versetzt, bestimmte Lichtfrequenzen zu erkennen und durch optische Signale anzuzeigen (Levskaya et al. 2009). Somit konnte ein biologisches Äquivalent für einen fotografischen Film entwickelt werden.

Therapeutika und Vakzine

Synthetische Biologie kann im gesamten Spektrum der Entwicklung neuer Therapeutika eingesetzt werden. Dies reicht von der Aufklärung von Krankheitsmechanismen über die Identifizierung von Angriffsorten für Wirkstoffe, die Entdeckung von Wirkstoffen bis zur Verabreichung von Wirkstoffen und therapeutischen Behandlung.

Mithilfe der synthetischen Biologie können natürliche biologische Systeme zur Analyse pathologischer Funktionen entwickelt werden. Dadurch konnten neue Einblicke in die Funktionsweise einer primären Immundefizienz gewonnen werden. Für die Identifikation von Wirkorten für Therapeutika können spezifische synthetische Systeme entwickelt werden, die systematisch die Funktion von Einzelkomponenten natürlicher Stoffwechselwege messen und so Hinweise für Ansatzpunkte von Wirkstoffen liefern. Ebenso können mithilfe der synthetischen Biologie Screening-Systeme für neue Wirkstoffe entwickelt werden. Beispielsweise wurde auf diese Weise eine synthetische Plattform für das Screening kleiner Moleküle zur Verstärkung der Wirkung bestimmter Antibiotika etabliert (Weber et al. 2008). Schließlich können synthetische Biologiesysteme selbst als therapeutische Agenzien genutzt werden. Beispielsweise können Viren so programmiert werden, dass sie spezifisch bestimmte Pathogene angreifen. Nach diesem Prinzip wurden Bakteriophagen konstruiert, die antibiotikaresistente Bakterien bekämp-

fen, indem sie mit genetischen Mechanismen ausgestattet sind, die die bakteriellen Abwehrmechanismen für Antibiotika eliminieren (Lu et al. 2007).

In jüngsten Anwendungen wird die Technologie der synthetischen Genome dahingehend genutzt, dass die Produktion von Ausgangsstämmen für die Impfstoffentwicklung beschleunigt wird. Damit erhofft man sich eine Beschleunigung der Entwicklung von Impfstoffen z.B. für die saisonale Grippe um ca. 2 Monate (Gibson et al 2010).

Bioenergieträger und Biomaterialien

Der weltweit wichtigste Bioenergieträger ist derzeit Ethanol aus Maisstärke oder Zuckerrohr. Diese Bioproduktion bringt jedoch eine Reihe von Nachteilen wie z. B. die Nutzung von Lebensmitteln als Rohmaterial für die Energieerzeugung, Belastung durch Intensivlandwirtschaft oder auch suboptimale Eigenschaften von Ethanol als Energieträger mit sich. Daher werden schon seit einiger Zeit Mikroorganismen bearbeitet mit dem Ziel, biosynthetische Stoffwechselwege so zu optimieren, dass (Nichtnahrungs)Biomasse in hochwertige Bioenergieträger umgewandelt wird. Dabei geht man z. B. von natürlich vorkommenden Mikroorganismen aus, die in der Lage sind, Lignozellulose zu Ethanol oder Butanol umzuwandeln. Üblicherweise sind die natürlich vorkommenden Stoffwechselwege in diesen Organismen hoch reguliert und auf die Bedarfssituation des jeweiligen Organismus ausgerichtet und nicht auf die Produktionsoptimierung.

Ein Beispiel hierfür ist die Butanolproduktion in *Clostridium acetobutoelicum*. Butanol wird von diesem Organismus in geringer Ausbeute und als Mischung mit Aceton und Ethanol hergestellt. Zur Optimierung dieses natürlich vorkommenden Stoffwechselweges auf maximale Butanolproduktion sind erhebliche biologische Probleme zu lösen. Daher wird versucht, mithilfe der Prinzipien der synthetischen Biologie „de novo“ biologische Stoffwechselwege herzustellen, die auf gewünschte Weise gesteuert werden können. Das Paradebeispiel für diesen Ansatz ist die Konstruktion der mikrobiellen Produktion des Antimalariamedikamentes Artemisinin im industriellen Maßstab (Martin et al. 2003).

3.4 Ausblick

Eine wesentliche Herausforderung für die Entwicklung praktischer Anwendung der synthetischen Biologie ist die Verbesserung und Optimierung der Designzyklen auf der Basis standardisierter Bausteine. Als Zukunftsperspektive eröffnet sich für die synthetische Biologie die Integration von computerähnlichen Steuerelementen in synthetische

Produktionsnetzwerke. Dadurch könnten robustere und dynamischere biologische Systeme entwickelt werden, die vielfältige Aufgaben auf parallele Weise ausüben könnten. Denkbar wäre es auch, synthetische lernende Netzwerke aus genetischen und biologischen Bauteilen zu entwickeln, die Produktionsorganismen z. B. automatische sensorische und aktorische Fähigkeiten vermitteln könnten. Schließlich wird synthetische Biologie derzeit hauptsächlich mit und in Mikroorganismen praktiziert. Insbesondere im Bereich medizinischer Anwendungen spielen Säugetiersysteme jedoch eine wichtigere Rolle. Somit ergibt sich die Herausforderung, die nächste Generation der synthetischen Biologie auch auf höhere und komplexere Zellsysteme anwenden zu können.

4 Aktuelle Situation und Potenziale der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg

Synthetische Biologie als ein relativ neues Forschungsfeld ist derzeit v. a. im Bereich der Grundlagenforschung angesiedelt. Es wird erwartet, dass die synthetische Biologie wichtige wissenschaftliche Erkenntnisse bereitstellen wird, die langfristig für die Entwicklung neuer Pharmazeutika und Therapien sowie für das Design von katalytischen Prozessen und die Produktion von Chemikalien und Biotreibstoffen genutzt werden können. Die aktuellen Bedingungen für die synthetische Biologie in Deutschland im Bereich der Wissenschaft können als günstig eingeschätzt werden, Baden-Württemberg wird von den befragten Experten als eine der führenden Regionen in Deutschland mit einem der größten Potenziale für Forschungsaktivitäten in der synthetischen Biologie eingeschätzt. Diese Bewertung beruht v. a. auf folgenden Faktoren:

- Die naturwissenschaftliche und ingenieurwissenschaftliche Forschung an den Universitäten und Forschungseinrichtungen in Baden-Württemberg hat ein hohes Niveau. Insbesondere Heidelberg und Freiburg im Bereich der Naturwissenschaften generell und der Systembiologie speziell sowie Karlsruhe und Stuttgart im Bereich der Ingenieurwissenschaften sind hier hervorzuheben. Auf dieser Basis kann die synthetische Biologie aufbauen und auf Spitzenniveau entwickelt werden, da viele der Methoden und auch die technische Ausstattung, die schon für die Systembiologie etabliert wurden, auch in der synthetischen Biologie genutzt werden können.
- In Baden-Württemberg existiert schon eine Tradition interdisziplinärer Forschungsarbeiten in Verknüpfung mit kreativen und offenen Wissenschaftlern. Es ergibt sich somit ein sehr attraktives Forschungsumfeld, das die besten Wissenschaftler aus Deutschland und dem Ausland nach Baden-Württemberg bringen könnte.
- Zahlreiche Hightech-KMU, die potenziell zur Entwicklung der synthetischen Biologie beitragen bzw. Erkenntnisse der synthetischen Biologie nutzen können, sind im Land vorhanden.
- Die Nähe zu Frankreich und der Schweiz und der dort vorhandenen Forschungs- und Industriestruktur bietet zusätzliche Vorteile.
- In den derzeit international wichtigsten Teilbereichen der synthetischen Biologie sind auch die meisten Forschungsgruppen in Baden-Württemberg aktiv. Es handelt sich dabei um folgende Felder:
  - die Entwicklung neuer Produktionssysteme und „metabolic pathway engineering“,
  - Modellierung und In-silico-Analysen,
  - die Entwicklung von Plattformtechnologien wie z. B. der DNA-Synthese und auch DNA-Sequenzierung.

Zusätzlich zu diesen Bereichen konnten im Rahmen der vorliegenden Analyse die folgenden Forschungsgebiete mit Potenzial für Baden-Württemberg identifiziert werden:

- Automatisierung von Prozessen in der synthetischen Biologie. Hierzu zählen Miniaturisierung, Hochdurchsatz, Parallelisierung sowie Analyse und Prozesstechnik.
- Die Erforschung und Entwicklung von Biomaterialien. Dazu gehören beispielsweise biokompatible Materialien für medizinische Anwendungen aus dem Bereich des Tissue Engineering. Die in Baden-Württemberg traditionell starke Medizintechnikbranche sowie Aktivitäten einschlägiger Forschungseinrichtungen (z. B. das Naturwissenschaftliche und Medizinische Institut in Reutlingen) können hier Impulse setzen. Ebenso ist die materialwissenschaftliche Forschung in Baden-Württemberg gut etabliert und kann durch Verknüpfungen mit biologischen Denkweisen und Ansätzen, wie sie die synthetische Biologie verfolgt, neue Impulse gewinnen.
- Übertragung von Ansätzen der synthetischen Biologie auf eukaryotische Systeme. Insbesondere für medizinische Anwendungen sind höhere Organismen bzw. Zellsysteme aus höheren Organismen wichtig. Arbeitsgruppen in Baden-Württemberg sind in einigen relevanten Teilbereichen führend.
- Eng verknüpft mit der Materialforschung sind verschiedene funktionelle und biologische Grenzflächen, die sowohl für die Entwicklung von Produktionssytemen auf Basis der synthetischen Biologie eine Rolle spielen als auch selbst von der Übertragung von Konzepten der synthetischen Biologie profitieren können.

Die wichtigsten Bedingungen für eine erfolgreiche Weiterentwicklung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg können in drei Hauptbereiche unterteilt werden, die wiederum koordiniert implementiert werden sollten, um so eine mittel- und langfristige Entwicklung des Themenfeldes zu unterstützen. Diese Bereiche sind:

- Forschungsfinanzierung aus öffentlichen und privaten Quellen,
- Ausbildung und Qualifikation,
- Infrastruktur und Rahmenbedingungen.

In den folgenden Abschnitten wird die aktuelle Situation Baden-Württembergs in diesen drei Bereichen diskutiert. Ebenso werden die wesentlichen Problemfelder in jedem Bereich dargestellt. Zur besseren Einordnung und Bewertung der aktuellen Lage in Baden-Württemberg wird als Einstieg in Abschnitt 4.1 eine Positionierung Baden-Württembergs und Deutschlands im internationalen Kontext vorgenommen. Eine wesentliche Quelle für diese Einschätzungen sind die Interviews mit internationalen Experten, die im Rahmen dieses Vorhabens durchgeführt wurden.

4.1 Baden-Württemberg und Deutschland im Vergleich zu anderen Länder

Bei der Durchführung des internationalen Benchmarks wurden Fachgespräche mit insgesamt zwölf international anerkannten Wissenschaftlern aus Großbritannien, der Schweiz, den Niederlanden, Deutschland sowie den USA durchgeführt (s. Anhang 9.2). Im internationalen Vergleich gelten die USA mit Abstand als führend in der synthetischen Biologie. Nach Analysen des Woodrow Wilson International Centre of Scholars (2009) hat die US-Regierung im Zeitraum 2005 bis 2008 schätzungsweise 430 Mio US$ für Forschungsarbeiten im Bereich der synthetischen Biologie investiert. Im Vergleich hierzu beliefen sich die Ausgaben der Europäischen Union sowie dreier europäischer Mitgliedsländer mit wesentlichen Aktivitäten in der synthetischen Biologie (Niederlande, Großbritannien, Deutschland) auf rund 160 Mio US$. Rund 2 Prozent dieses Budgets flossen in Begleitforschungsvorhaben. In den USA wurden mehr als 180 ausgewiesene Arbeitsgruppen in der synthetischen Biologie identifiziert (Woodrow Wilson International Centre of Scholars 2009), im Vergleich dazu in ganz Europa nur 50 (wobei diese Angabe eher zu niedrig erscheint. Im Rahmen des TESSY-Projektes konnte eine deutlich größere Anzahl europäischer Gruppen identifiziert werden). Deutschland wird zusammen mit Großbritannien, der Schweiz und den Niederlanden generell als einer der stärksten Akteure in der synthetischen Biologie in Europa eingeschätzt. Andere wichtige europäische Länder in der synthetischen Biologie sind Spanien und Dänemark, im asiatischen Bereich werden derzeit v. a. Japan und China gesehen, in Indien scheinen derzeit eher geringe Aktivitäten in der synthetischen Biologie abzulaufen.

Nach Einschätzung der befragten Experten gelten derzeit das Niveau und die Intensität der Grundlagenforschung im Bereich der synthetischen Biologie in Großbritannien als stärker im Vergleich zu Deutschland. Da jedoch in Deutschland eine wesentlich schnellere Erholung von der Wirtschaftskrise zu beobachten ist, werden die Chancen als groß eingeschätzt, dass Deutschland künftig eines der führenden Länder für Forschung in der synthetischen Biologie in Europa werden kann. Dies bedeutet auch, dass Deutschland einer der attraktivsten Standorte für Kooperationen mit Forschungseinrichtungen und Unternehmen aus den USA werden kann. Als Voraussetzung hierfür wird die Initiierung geeigneter forschungspolitischer Unterstützungsmaßnahmen gesehen. Ein zweiter sehr wichtiger Wettbewerbsvorteil für Deutschland insgesamt und für Baden-Württemberg speziell wird im weit entwickelten Sektor der industriellen weißen Biotechnologie gesehen. In Europa ist Deutschland in diesem Bereich führend und bietet viele attraktive Möglichkeiten für praktische Anwendungen der synthetischen Biologie, ohne dabei auf Know-how externer Partner angewiesen zu sein.

Entscheidend für die künftige Entwicklung der synthetischen Biologie ist die Fähigkeit, ingenieurwissenschaftliches Know-how auf biologische Fragestellungen anwenden zu können. Nur so können die erhofften praktischen Lösungsansätze tatsächlich zur Marktreife entwickelt werden. Nach Einschätzung der internationalen Experten bieten die traditionell sehr starken Ingenieurwissenschaften und entsprechenden Studiengänge eine hervorragende Voraussetzung, das geforderte ingenieurwissenschaftliche Know-how zur Verfügung zu stellen. Somit besitzt Baden-Württemberg diesbezüglich nicht nur einen nationalen oder europäischen Kontext, sondern weltweit einen signifikanten Wettbewerbsvorteil.

Als das größte Risiko für die Weiterentwicklung der synthetischen Biologie sehen die internationalen Experten eine unzureichende Einbindung der Industrie in die künftigen Aktivitäten. Falls es nicht gelingt, industrielle Interessen zu wecken und industrielles Engagement für die synthetische Biologie zu erreichen, besteht die Gefahr, dass das Feld zu akademisch bleibt und letztlich nicht die erwünschten wirtschaftlichen Effekte hervorbringen kann. Als ein Beispiel für gute Praxis werden die Erfahrungen in der „Bay Area“ in San Francisco angeführt, wo die einschlägigen wissenschaftlichen Arbeitsgruppen sehr offen und aktiv kontinuierliche Kontakte mit der regionalen Industrie suchen und finden.

Ein anderes Handlungsfeld, in dem Baden-Württemberg von internationalen Good-Practice-Erfahrungen profitieren könnte, betrifft das Thema „Code of Conduct“. Für die synthetische Biologie als neues Forschungsfeld stellt sich die grundsätzliche Frage nach notwendigen Rahmenbedingungen und Regularien, um Fehlentwicklungen zu vermeiden und die gewünschten Effekte zu unterstützen. In anderen vergleichbaren Themenfeldern wurden in der Vergangenheit durchaus positive Erfahrungen mit freiwilligen Selbstverpflichtungen der Industrie und der Forschung zum verantwortlichen Umgang mit der Wissenschaft und Technologie gemacht. Dies war beispielsweise in Cambridge, Massachusetts der Fall, wo ein freiwilliger „Code of Conduct“ im Bereich der Medizintechnik und Nanotechnologie etabliert wurde. Hierdurch wurde für die Akteure aus Forschung und Industrie ein verlässlicher Rahmen für ihre Arbeiten geschaffen, was letztlich dazu geführt hat, dass zahlreiche Geschäftstätigkeiten aufgenommen wurden und zusätzliches Venture Capital angezogen wurde. Nach Einschätzung der internationalen Experten wäre es für eine Region wie Baden-Württemberg durchaus überlegenswert, in analoger Weise an eine freiwillige Selbstverpflichtung zum Umgang mit der synthetischen Biologie zu denken.

4.2 Forschungsfinanzierung

Schon seit ungefähr 2003 wird synthetische Biologie öffentlich gefördert. Eine Reihe nationaler Forschungsinitiativen wurde mit Relevanz für die synthetische Biologie seither implementiert. In Baden-Württemberg ist hierzu beispielsweise die Etablierung des Exzellenz-Clusters BIOSS (Biological Signalling Studies) an der Universität Freiburg als Teil der von der DFG finanzierten Exzellenzinitiative zu nennen. BIOSS kombiniert Methoden der synthetischen Biologie mit Analysen biologischer Signaltransduktionswege (http://www.bioss.uni-freiburg.de/cms/index.php).

Die europäische Forschungsförderung hat die synthetische Biologie im 6. Forschungsrahmenprogramm (FRP) innerhalb der „NEST (New and Emerging Science and Technology)-Pathfinder"-Initiative unterstützt. Insgesamt 18 Projekte mit einem Gesamtbudget von 24,7 Mio. € wurden in den Jahren 2007-2008 gefördert. Die European Science Foundation (ESF) hat ebenso verschiedene Förderprogramme für die synthetische Biologie initiiert. Hierzu zählt beispielsweise das EuroCores-Projekt EuroSynBio (Synthetic Biology: Engineering Complex Biological Systems) (http://www.esf.org/activities/eurocores/running-programmes/eurosynbio.html).

Forschungsgruppen aus Baden-Württemberg konnten sich bisher erfolgreich an diesen internationalen Initiativen beteiligen. Rund ein Drittel der befragten Forschungsgruppen werden aus europäischen Programmen unterstützt. Hierzu zählen Programme des FRP6 und FRP7, COST, Metapro, ERA-IB und ebenso individuelle Forschungsgrants des European Research Council.

Der größte Anteil der öffentlichen Forschungsförderung der synthetischen Biologie in Baden-Württemberg kommt jedoch aus nationalen Quellen auf der Bundesebene. Rund 50 Prozent der Forschungsgruppen werden über verschiedene BMBF-Programme (z. B. GenoMik-Plus, Nationales Genomforschungsnetz (NGFN), Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand (ZIM)) gefördert und ungefähr 40 Prozent von der DFG im Rahmen von Sonderforschungsbereichen, Exzellenz-Clustern und Programmen in den Lebenswissenschaften.

Förderung aus regionalen Quellen spielt eine geringere Rolle. Rund 20 Prozent der befragten Forschungsgruppen erhalten entsprechende Mittel, am häufigsten von der Baden-Württemberg Stiftung und über das MINT-Programm. Private Forschungsfinanzierung spielt bisher nur eine marginale Rolle. Einige wenige Beispiele beziehen sich auf die Roche Research Foundation oder die Gebert-Ruf-Foundation aus der Schweiz.

Investitionen zur Unterstützung der Kommerzialisierung werden derzeit als nicht prioritär eingeschätzt, da v. a. noch grundlegende Forschungsfragen beantwortet werden müssen, bevor Kommerzialisierung in größerem Maßstab realistisch erscheint.

Problemfelder im Bereich der Forschungsfinanzierung

- Obwohl grundsätzlich zahlreiche öffentliche Finanzierungsquellen verfügbar sind, gibt es immer noch einen Mangel an Förderinstrumenten, die spezifisch interdisziplinäre Forschungsarbeiten im Bereich der synthetischen Biologie unterstützen und so dazu beitragen könnten, verschiedene Disziplinen zu gemeinsamen Forschungsaktivitäten zusammenzubringen.
- Die zentralen Quellen der Forschungsfinanzierung sind über Jahre konstant geblieben. Die Programme selbst jedoch ändern sich beträchtlich in ihrer Ausrichtung. Daher sind die wissenschaftlichen Arbeitsgruppen praktisch für jede Ausschreibung gefordert, deutliche Ressourcen in die Anpassung ihrer Forschung an die jeweiligen Anforderungen zu investieren.
- Ein grundsätzliches Problem, das sich auch in der Erforschung der synthetischen Biologie negativ bemerkbar macht, ist die Synchronisierung der Förderung spezifischer Projekte mit der Verfügbarkeit des jeweils erforderlichen wissenschaftlichen Personals. Die Zeitabläufe zwischen Abgabe eines Forschungsantrags und der Bereitstellung der Finanzierung bewegen sich in der Größenordnung von zwei Jahren (natürlich in Abhängigkeit vom jeweiligen Programm). Die durchschnittliche „Verweilzeit“ des wissenschaftlichen Personals in den jeweiligen Arbeitsgruppen bewegt sich aufgrund der (auch politisch gewünschten) hohen Mobilität in der Größenordnung von drei bis vier Jahren. Dies führt dazu, dass zum Zeitpunkt der Verfügbarkeit der beantragten Mittel die eigentlich eingeplanten Wissenschaftler nur noch kurze Zeit oder überhaupt nicht mehr zur Verfügung stehen.

4.3 Ausbildung und Qualifikation

Der Erfolg der synthetischen Biologie hängt letztlich von der Qualifikation, Kreativität und Motivation der nächsten Generation der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler ab. Die Universitäten in Baden-Württemberg bilden hoch qualifizierte Spezialisten sowohl im Bereich der Naturwissenschaften als auch im Bereich der Ingenieurwissenschaften aus. Derzeit haben die meisten Forscher im Bereich der synthetischen Biologie einen wissenschaftlichen Hintergrund in den Fächern Biologie, Chemie oder Physik. Fast alle der befragten Experten erwarten in den kommenden Jahren einen zunehmenden Bedarf an Wissenschaftlern für die synthetische Biologie. Dabei wird es essenziell sein, ausreichend qualifizierte Wissenschaftler mit interdisziplinären Fähigkeiten zur Verfügung zu haben, da der Erfolg der synthetischen Biologie davon abhängt, wie gut die unterschiedlichen Disziplinen für die jeweiligen Forschungsfragestellungen kombiniert werden können.

Problemfelder im Bereich von Ausbildung und Qualifikation

- Es gibt derzeit einen Mangel an Chemikern, Physikern, Materialwissenschaftlern und Ingenieuren mit interdisziplinärem Hintergrund.

- Während der Ausbildungsphase oder des Studiums kommt häufig das Vermitteln von „betriebswirtschaftlichen“ Kenntnissen zu kurz, die in späteren marktnäheren Forschungsvorhaben und damit verbundenen Aufgaben, wie z. B. dem Erstellen von Businessplänen für mögliche Produkte auf Basis der synthetischen Biologie, dringend vonnöten wären.
- In der Forschung zur synthetischen Biologie sind in hohem Maße Wissenschaftler tätig, die ihre wissenschaftliche Karriere aktiv vorantreiben und ihre Reputation ausbauen. Dabei werden sie häufig an Qualitätskriterien und -maßstäben ihrer jeweiligen Mutterdisziplinen gemessen, die der besonderen interdisziplinären Ausrichtung der synthetischen Biologie nicht ausreichend Rechnung tragen. Anreize und Mechanismen zum Erwerb wissenschaftlicher Reputation in ausgesprochen interdisziplinären Forschungsfeldern wie der synthetischen Biologie sind noch unzureichend etabliert.
- Das Verfahren der Begutachtung von Forschungsanträgen im interdisziplinären und zugleich noch kleinen Feld der synthetischen Biologie ist problematisch. Es ist sehr schwer, für die Projekte geeignete, kompetente und unvoreingenommenen Gutachter zu finden. Die Gutachter sollten die verschiedenen Mutterdisziplinen der synthetischen Biologie abdecken, aber auch in der synthetischen Biologie selbst verankert sein. Oft gibt es Kommunikationsschwierigkeiten zwischen den Disziplinen.
- Zudem können die jeweils anzulegenden Standards der unterschiedlichen Disziplinen so unterschiedlich sein, dass ein gemeinsames Verständnis und eine gemeinsame adäquate Bewertung erschwert werden. Somit herrscht auch im Bereich der Forschungsbewertung Qualifikationsbedarf.

4.4 Infrastruktur und Rahmenbedingungen

Grundsätzlich werden das Forschungsumfeld und die Forschungsinfrastruktur in Baden-Württemberg sehr positiv eingeschätzt. Traditionell liegen Stärken im Bereich der Ingenieurwissenschaften und der Biowissenschaften mit entsprechend umfassend verfügbaren Ressourcen. Die wissenschaftliche Motivation für die synthetische Biologie ist derzeit hoch, da das Feld neu und viel versprechend erscheint. Ebenso ist das Interesse möglicher privater Sponsoren relativ hoch. Das Karlsruhe Institute of Technology (KIT) und die Universität Stuttgart stellen eine gute Ingenieursbasis bereit. Freiburg, Heidelberg und Tübingen steuern sehr gute naturwissenschaftliche Forschung bei.

Zusätzlich existiert eine Reihe innovativer Biotechnologieunternehmen mit Bezug zur synthetischen Biologie insbesondere im Raum Heidelberg, im Umfeld des European Molecular Biology Laboratory (EMBL) und des Center for Quantitative Analysis of Molecular and Cellular Biosystems (Bioquant) an der Universität Heidelberg. In Freiburg stellt das Exzellenz-Cluster Biological Signalling Studies (BIOSS) eine wichtige Infrastruktur bereit, die auch für die synthetische Biologie genutzt werden kann. Die öffentliche Diskussion der synthetischen Biologie ist derzeit nicht sehr intensiv und we-

nig kontrovers. Die als positiv eingeschätzten Diskursprozesse zur Nanotechnologie scheinen sich auch positiv auf das Gebiet der synthetischen Biologie auszuwirken. Insbesondere Unternehmen scheinen gelernt zu haben, offener mit kritischen Aspekten umzugehen und durchaus auch zuzugestehen, dass es Wissenslücken und Unsicherheiten gibt.

Problemfelder im Bereich Infrastruktur und Rahmenbedingungen

- Aktivitäten der synthetischen Biologie sind verstreut in der gesamten Region, ein Zentrum für synthetische Biologie und damit eine lokalisierbare kritische Masse existiert derzeit nicht.
- Nur sehr wenige Forschungsgruppen sind explizit im Bereich synthetische Biologie tätig. Dies erschwert das Auffinden geeigneter Forschungspartner.
- Gelegenheiten zur Implementierung interdisziplinärer Arbeiten sind in zu geringem Maße vorhanden.
- Es besteht die Möglichkeit, dass aufgrund von fehlenden Informationen und der daraus resultierenden Unsicherheit eine tendenziell skeptische Einschätzung in der Öffentlichkeit gegenüber der synthetischen Biologie entsteht.
- Obwohl im Bereich der synthetischen Biologie ethische Gesichtspunkte nicht außer Acht gelassen werden, so mangelt es doch an einer wissenschaftlich fundierten Auseinandersetzung mit diesen Aspekten. Ebenso fehlt eine derartige Diskussion derzeit im Bereich der Öffentlichkeit.
- Für den Austausch von biologischen Materialien für die synthetische Biologie gibt es derzeit kein durchgängig anerkanntes Regelwerk. Deswegen wären Regularien auf internationaler Ebene erforderlich, um beispielsweise den Austausch und die Lagerung von Plasmiden und Konstrukten so zu regeln, dass ein zuverlässiger Zugang sichergestellt werden würde und alle erforderlichen Angaben zur eindeutigen Charakterisierung und späteren Nutzung erhoben werden könnten.

4.5 Zusammenfassung: Stärken und Schwächen, Chancen und Risiken (SWOT)

Insgesamt zeigt unsere Analyse, dass die synthetische Biologie ein sehr attraktives Forschungsfeld für Baden-Württemberg darstellt, das die Potenziale der exzellenten Universitäten und Forschungseinrichtungen im Lande nutzen kann. In den vergangenen Jahren hat sich Baden-Württemberg eine starke Position in der Biotechnologie im Allgemeinen und in der Systembiologie im Besonderen aufgebaut. Auf dieser Basis kann die synthetische Biologie aufbauen und auf Spitzenniveau entwickelt werden, da viele der Methoden und auch technische Ausstattungen, die schon für die Systembiologie etabliert wurden, auch in der synthetischen Biologie genutzt werden können. Zu den Stärken Baden-Württembergs zählt auch das Vorhandensein zahlreicher Hightech-KMU, die potentiell in der synthetischen Biologie tätig sein können. Hoch qualifiziertes

und motiviertes wissenschaftliches Personal in den Naturwissenschaften und den Ingenieurwissenschaften ist im Lande verfügbar. Nicht zuletzt stellt die geografische Nähe zu führenden Forschungseinrichtungen und internationalen Unternehmen in der Schweiz und in Frankreich eine Stärke des Landes dar.

Somit ergibt sich für Baden-Württemberg die Chance, sich als Vorreiter in der synthetischen Biologie sowohl bundesweit, als auch auf europäischer Ebene zu etablieren. Dabei kann die derzeitige Umbruchsituation in der Forschungslandschaft (Stichwort KIT) dazu genutzt werden, die interdisziplinäre Integration zwischen Naturwissenschaften und Ingenieurwissenschaften weiter voranzutreiben. Mittelfristig werden sich somit neue Geschäftsmöglichkeiten für innovative mittelständische Unternehmen aus verschiedenen Anwendungsbranchen durch Nutzung der synthetischen Biologie ergeben. Wenn sich so erst einmal eine kritische Masse entwickelt haben wird, wird dies auch dazu beitragen, das Image Baden-Württembergs als Hightech-Standort weiter zu verbessern und ausländische Investoren und Venture Capital anzuziehen. Dies kann damit auch einen wesentlichen Beitrag zur Schaffung eines positiven öffentlichen Klimas für Innovationen aus der synthetischen Biologie leisten.

Obwohl sich somit für Baden-Württemberg große Potenziale durch die Nutzung der synthetischen Biologie eröffnen, müssen bei den weiteren Überlegungen auch existierende Schwächen und Risiken berücksichtigt werden. Zu den Schwächen zählt derzeit das Fehlen einer kritischen Masse an wissenschaftlichen Aktivitäten zur synthetischen Biologie, da die bisher vorhandenen Aktivitäten weitgehend zerstreut im Lande praktiziert werden. Ebenso ist trotz positiver Ansätze die interdisziplinäre Ausrichtung von Forschungsarbeiten für die synthetische Biologie noch nicht genügend etabliert.

Derzeit sind auch in einigen anderen Bundesländern, so z. B. in Bayern, Hessen und Sachsen, intensive Anstrengungen für die Entwicklung von Zentren für die synthetische Biologie zu beobachten. Es besteht somit ein gewisses Risiko, dass diese Entwicklungen mit größerer Dynamik voranschreiten als entsprechende Ansätze in Baden-Württemberg. Damit würden letztlich Perspektiven für hoch qualifizierte Wissenschaftler in Baden-Württemberg nicht in ausreichendem Maße gegeben sein, was zu Abwanderung in andere Länder oder Bundesländer führen könnte. Ein aktuelles Beispiel hierfür ist die Schweiz. Nicht zu unterschätzen ist auch die Frage, wie sich die öffentliche Wahrnehmung für die synthetische Biologie entwickelt. Stimuliert durch plakative Ankündigungen bzw. Aussagen einiger prominenter internationaler Forscher aus der synthetischen Biologie („Playing God“) kann sich in der Öffentlichkeit eine polarisierende Diskussion über Risiken und ethische Fragwürdigkeit der synthetischen Biologie entwickeln.

Die aktuelle Situation der synthetischen Biologie kann in Form einer SWOT-Analyse zusammengefasst werden. Dabei beziehen sich Stärken und Schwächen (Strengths and Weaknesses) auf die interne Situation und interne Ursachen, während Chancen und Gefahren (Opportunities and Threats) externe Entwicklungen wiedergeben.

5 Ergänzung zu Kapitel 3 Literaturüberblick

5.1 Background

The term “synthetic biology” appeared first time already in 1912 in a paper published by Stéphane Leduc entitled “La Biologie Synthétique” (Leduc 1912) and in the same year, Jacques Loeb speculated that it should be possible to create artificial living systems (Loeb 1912). In 1980 it was used by German scientists Barbara Hobom to describe bacteria that had been genetically engineered using recombinant DNA technology (Hobom 1980). In this respect, synthetic biology was largely synonymous with “bioengineering” (Benner 2005). Two decades later, in 2000, the term synthetic biology was re introduced by Eric Kool and other speakers at the annual meeting of the American Chemical Society in U.S. However, this time the term was used to describe the synthesis of unnatural organic molecules that function in living systems (Rawls 2000).

Today, there is still some confusion about the exact definition of synthetic biology amongst the research community, reflecting its position as a complex, new and rapidly developing field. The term “synthetic biology” describes mostly the research that combines biology with the principles of engineering to design and build standardized, interchangeable biological DNA building-blocks. These have specific functions and can be joined to create engineered biological parts, systems and, potentially, organisms. It may also involve modifying naturally occurring genomes (an organism’s entire hereditary information usually encoded in DNA) to make new systems or by using them in new contexts (Andrianantoandr 2006).

5.2 Basic approaches and tasks in Synthetic Biology

Today, synthetic biology encompasses several different engineering strategies, including genome design and construction, applied protein design, natural product synthesis and the construction of functional genetic circuits in cells and microorganisms.

5.2.1 Genome design and construction

In order to be able to carry out rational strain-engineering experiments, it would be desirable to have a strain of minimal complexity that is completely characterized, s.o. minimal genomes. In addition, it is desirable to have a strain in hand that is still able to grow on cheap media, but whose metabolic capabilities have been reduced to a minimum so that any activity like engineering novel pathways can proceed with a minimum of intermediates diverting the flow of materials into wrong pathways. Minimal genomes can be developed using a top-down or a bottom-up approach. The first one uses reduc-

tion of the existing genome, whereas the later one builds the minimal genome from individual DNA fragments.

5.2.1.1 "Top-down" approach

Most of the best-known work in synthetic biology is "top down" in the sense that it starts with some pre-existing natural living system and then re-engineers it for some desired purpose (e.g., Martin et al 2003; Ro et al 2006; Levskaya et al 2005), perhaps by synthesizing (Smith et al 2003; Gibson et al 2008) or transplanting (Lartigue et al 2007) entire genomes. This is an approach towards synthetic biology that is being mostly pioneered by Graig Venter and his colleagues. These authors have stripped genes from a living bacterium to determine the minimal set of genes that is required to support a cellular life form. In May 2010 Venter and his colleagues reported the design, synthesis, and assembly of the 1.08–mega–base pair *Mycoplasma mycoides* 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 those cells was the designed synthetic DNA sequence. The new cells have expected phenotypic properties and are capable of continuous self-replication (Gibson et al 2010). It represents an important technical milestone in the new field of synthetic genomics. However, despite this success, creating heavily customized genomes, such as ones that make fuels or pharmaceuticals, and getting them to "boot" up the same way in a cell is not yet a reality. There are great challenges ahead before genetic engineers can fully design an organism's genome from scratch.

5.2.1.2 "Bottom-up" approach

Another approach to engineering novel biological systems works strictly from the "bottom up" in the sense that it attempts to make new simple kinds of minimal chemical cellular life ("protocells"), using as raw ingredients only materials that were never alive. In the protocell research community there is a near-consensus to characterize protocells as chemical systems with three interlocking chemical capacities or functions. Protocells are defined as self-assembling and self-reproducing chemical systems created through human artifice (but not merely by manipulating a natural living organism) that produce the following interlocking chemical properties: (1) spatial localization of components by containment (2) utilization of energy and raw materials from the environment by metabolism and (3) control of the containment and metabolism by chemical information that can be replicated and can mutate (see Box 1). The resulting chemical systems can reproduce themselves, and a population of them could adapt and evolve. This characterization of protocells captures the conception of minimal chemical cellular

life that is generally accepted in the protocell research community (Rasmussen et al 2009).

Box 1 Protocells

Created through human artifice but not merely by manipulating a natural living organism (such as a bacterium), a protocell is a self-assembling and self-reproducing chemical system, with the following three properties:

1. It maintains its identity over time by spatially localizing its components in some form of container.

2. It utilizes free energy from its environment and digests environmental resources in order to maintain itself, grow, and ultimately reproduce. This use of energy and materials is a form of metabolism.

3. The containment and metabolism are under the control of replicable and inheritable chemical information that can be ‘‘mutated’’ when the protocell reproduces. This informational chemistry functions as a programmable genetic system.

The proper chemical integration of these three properties enables protocells to reproduce themselves, and a population of them could adapt and evolve by natural selection.

5.2.2 Applied protein design

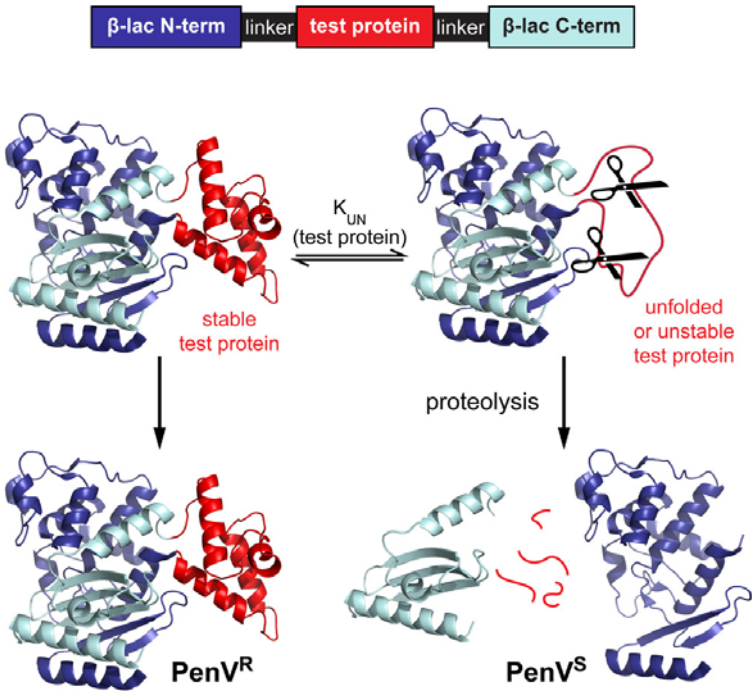
In the early 1980s, Kevin Ulmer of Genex Corporation conceived the idea of systematically altering the genes that code for certain proteins to achieve desired modifications in protein stability and function. Since then, protein-engineering technology has been applied to develop enzymes that have improved catalytic efficiency or altered substrate specificity, or that can tolerate high temperatures and acidity levels. Today, engineered enzymes are utilized in laundry detergents and in various industrial processes. Another approach to protein engineering involves going beyond the repertoire of the 20 amino-acid building blocks found in nature. For example, a team of chemists headed by Peter G. Schultz at Lawrence Berkeley National Laboratory has expanded the genetic code to specify unnatural amino acids, which can be substituted into proteins to modify their stability as well as their catalytic and binding properties. This technique has made it possible to design protein-based drugs that can resist rapid degradation in the body (Tucker et al 2006).

Also, in a forceful demonstration of rational protein design one group has reported the transformation of sperm whale myoglobin into a functional nitric oxide reductase. The authors’ efforts ultimately entailed the introduction of three histidines and one glutamine to create a non-heme binding site for iron, an essential cofactor for reductase activity. This synthetic site is then shown to confer iron binding, and remarkably, the engineered protein acquires the ability to reduce nitric oxide (NO) to nitrous oxide (N2O). When the designed protein is crystallized, the structure of the rationally designed iron binding site closely matches the structure predicted by computational modelling. These findings show how synthetic enzymes can provide insight into the mechanism of action of en-

zymes and illustrate the power of *in silico* modelling for the design of synthetic proteins (Yeung et al 2009).

Recent work by Foit and his colleagues provides a clever means to select for improved stability of proteins through an *in vivo* screen in the bacterium *Escherichia coli*. To do this, they insert a test protein between the N- and C-terminal halves of TEM1-b-lactamase, an antibiotic resistance protein. These tripartite fusion proteins are then expressed in *E. coli* and grown in the presence of the antibiotic. Using this system, the authors show for a collection of test proteins that antibiotic resistance correlates with their stability. Taking this a step further into the realm of protein engineering, the authors then test a library of mutants for the protein Im7 (immunity protein 7) and succeed in identifying mutations that improve Im7's stability. This approach offers a straightforward means to engineer a protein with a desired stability and also reveals evidence of evolutionary tradeoffs between function and stability. The design principle for a system able to monitor the stability of proteins *in vivo* and to obtain stabilized protein variants by selection for antibiotic resistance without consideration of function is shown in Figure 1. (Foit et al 2009).

Figure 1

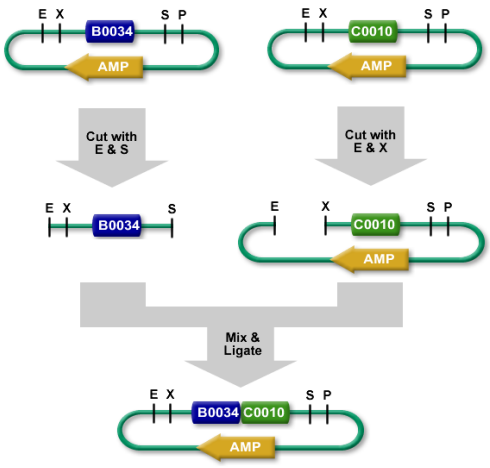


Schematic Diagram of the Tripartite System for the Evolution of Improved Protein Stability
The test protein (red) was inserted into TEM1-b-lactamase as part of a tripartite fusion. Poor folding and/or low stability of the test protein should result in an increased sensitivity of the tripartite fusion to cellular proteases and in turn to low levels of resistance to b-lactam antibiotics such as penicillin V. In the case of proper folding and/or increased stability of the test protein, the fusion protein should remain intact and confer high levels of antibiotic resistance. The level of *in vivo* penicillin resistance may thus be related to the folding/unfolding equilibrium constant of the inserted protein, designated K_{UN}. $PenV_S$ = penicillin V sensitive; $PenV_R$ = penicillin V resistant; linker = glycine-serine rich linkers of the following lengths: 27 residues for G-CSF, 33 residues for Im7 and cyt b_{562}, and 68 residues for MBP (Foit et al 2009)

5.2.3 Creation of standardized biological parts and circuits

Perhaps the most ambitious subfield and the heart of synthetic biology involves efforts to develop a “tool box” of standardized genetic parts with known performance characteristics – analogous to the transistors, capacitors, and resistors used in electronic circuits – from which bioengineers can build functional devices and, someday, synthetic microorganisms. The Synthetic Biology Working Group at Massachusetts Institute of Technology (MIT) is attempting to turn this concept into a reality by developing a comprehensive set of genetic building blocks, along with standards for characterizing their behaviour and the conditions that support their use. In the summer of 2004, the group established a Registry of Standard Biological Parts (http://bbf.openwetware.org/). The registry is made up of components called “BioBricks,” short pieces of DNA that constitute or encode functional genetic elements. Examples of BioBricks are a “promoter” sequence that initiates the transcription of DNA into messenger RNA, a “terminator” sequence that halts RNA transcription, a “repressor” gene that encodes a protein that blocks the transcription of another gene, a ribosome-binding site that initiates protein synthesis, and a “reporter” gene that encodes a fluorescent jellyfish protein, causing cells to glow green when viewed through a fluorescence microscope. Normally the BioBricks have been designed to be assembled using normal cloning techniques. Two BioBrick parts, for example, one blue and one green, can be assembled into a blue-green system by a process called BioBrick Standard Assembly, illustrated in the Figure 2.

Figure 2



The BioBrick is flanked by restriction sites, comprised of the BioBrick Prefix and Suffix, between the EcoRI and XbaI cutting sites on the left and SpeI and PstI on the right. For the assembly shown, the blue part is cut out of its plasmid with the enzymes EcoRI and SpeI. The resulting fragment is called the insert because it will be inserted into the plasmid containing the other part. In a separate reaction, a gap is cut in the plasmidcontaining the green part using EcoRI and XbaI. Using gel electrophoresis, the insert for the blue part and the cut plasmid containing the green part are purified and the unwanted fragments discarded. The purified insert and cut plasmid are mixed under the right conditions to allow the E sticky ends to come together and the S sticky ends to come together with the X sticky ends. Once this happens, the DNA backbone is re-ligated and the resulting blue-green part can be transformed into *E.coli* cells. These cells may be grown to produce as much of blue.green part as desired (www.partsregistry.org).

A BioBrick must have a genetic structure that enables it to send and receive standard biochemical signals and to be cut and pasted into a linear sequence of other BioBricks, in a manner analogous to the pieces in a “Lego” set. To date, BioBricks have been assembled into a few simple genetic circuits. One such circuit renders a film of bacteria sensitive to light, so that it can capture an image like a photographic negative. In other experiments, BioBricks have been combined into devices that function as logic gates and perform simple operations, such as AND, OR, NOT. For example, an AND operator generates an output signal when it gets a biochemical signal from both of its inputs; an OR operator generates a signal if it gets a signal from either input; and a NOT operator (or inverter) converts a weak signal into a strong one, and vice versa. The long-term goal of this work is to convert bioengineered cells into tiny programmable computers, so that it will be possible to direct their operation by means of chemical signals or light (Tucker et al 2006).

There is no clear boundary between classical biotechnology and synthetic biology with respect to the development of artificial circuits. A number of other genetic circuits have been introduced in recent years into cells that regulate not only transcriptional control but also post-transcriptional mechanisms; the tetracycline- regulated system that is currently the most common artificial control system in biotechnology, is still being subjected to comprehensive optimisation procedures (Greber et al 2007). These are based on the adaptation of a bacterial antibiotic-sensing system to control gene expression in cells. Tetracycline responsive promoters have played a key role for many years in the functional analysis of genes and have potential for bioengineering product manufacture or therapeutic applications such as somatic gene therapy (Goosen et al 2002). If several of these artificial circuits are combined, positive and negative feedback processes can be used to create complex cybernetic systems with differing characteristics. A key role is played by the so-called repressilator, which is an oscillating regulatory system based on the combination of three bacterial repressor proteins (Elowitz et al 2000). The construction of even more complex genetic circuits will benefit to an increasing extent from the development of functionally defined modules such as “BioBricks”. But their interplay can only be predicted to a limited extent and must therefore be assessed empirically (Stricker et al 2008; Tiggers et al 2009). In order to increase biological safety, as a basic principle, the regulation of organisms with artificial genetic circuits should depend on exogenically applied pharmaceuticals or other forms of chemical or physically defined induction (ZFG 2009).

5.2.4 Creation of Orthogonal Biosystems

Complexity plays a key role in the construction of novel biosystems: newly incorporated molecules or circuits interact with the existing system. The concept of orthogonal bio-

systems is used to integrate building blocks that should be as independent as possible from one another. One possible benefit is an improvement of biological safety.

Orthogonality refers here to the free combination of independent components. It is a construction principle from engineering sciences and plays a key role in information technology, for example. The strategy associated with orthogonality aims to modify subsystems without causing significant disturbances in the other subsystems at the same time. The implementation of orthogonality in biological systems is regarded as a prerequisite for synthetic biology with respect to specific manipulations that go beyond a purely empirical approach and which are not subjected to the influence of cellular complexity. In order to function independently, orthogonal subsystems should be as "invisible" as possible to the remainder of the cell, that is, they should exert only a minimal effect on the interactions of the natural (sub)systems (Panke 2008).

One example is the engineering of the genetic code: proteins are generally composed of 20 different amino acids that determine their structure and function. There is of course no chemical or biological reason why amino acids other than the 20 "canonical" amino acids should not be used biologically as building blocks for proteins. Artificial amino acids can be inserted into selected positions of a protein for instance by modifying codons and correspondingly adapting the cellular translation machinery so that the genetic information is translated differently at the ribosome. One way of specifically extending the genetic code to include an artificial amino acid is to use the least-used stop codon to insert this amino acid. This involves incorporating correspondingly modified transfer RNA (tRNA) and the loading enzyme into the cell. Ideally, this tRNA recognises only the stop codon and adds the artificial amino acid at this point during ribosomal protein synthesis without affecting the action of the already existing tRNAs (Budisa et al 2009).

Another example of an orthogonal system is a modified ribosome that works with a quadruplet reading frame – that is, it translates four bases per codon instead of the usual three (Wang et al 2007). The aim is to establish two translation systems in a cell that work completely independently of each other: a "natural" translation system to synthesise normal cell proteins and an "orthogonal" system to synthesise polymers from amino acids that do not occur in nature. This method could be used to programme living cells to synthesise novel amino acid polymers. These new materials (including dental implants, replacement cartilage and bone) could then be used as therapeutic substances and for research purposes to elucidate structures and functions. Orthogonal biosystems also offer ways of increasing biological safety. For example, genes that are programmed for the synthesis of a specific gene product using an artificial genetic code

can only be translated in organisms with the respective orthogonal translation system (DFG, 2009).

5.3 Practical applications of the technology

Potential applications of synthetic biology research are diverse. Scientists speculate that the technology will offer societal, environmental and medical benefits and improve knowledge of biological processes. The examples of recent research developments with potential applications of synthetic biology include:

- new biological production techniques for existing or novel biological materials and chemicals, including food ingredients and biofuels;
- new and improved diagnostics, drugs and vaccines;
- biosensors;
- bioremediation tools to process contaminants in situ.

It is suggested that synthetic biology might provide an environmentally effective way to produce raw materials that are currently petroleum-based. However there are concerns about risks associated with synthetic biology and the scope for malicious use. For example it could be used to produce new pathogenic organisms or dangerous chemicals. Some NGOs cite possible negative economic impacts in developing countries where naturally occurring commodities may be devalued if synthetic production occurs elsewhere. The promise of the technology is also tempered by the reality that many of the more complex technologies may be a decade or more away (Garfinkel et al 2007).

For Germany, large potentials can be expected particularly in the fields of white biotechnology, bioenergy and medicine. New production processes are emerging from the development of previously unknown synthetic routes as well as new ways of constructing production strains with improved properties. In addition, the provision of services is being developed in the fields of analysis and production of nucleic acids using technologies that are patent-protected. The chemical industry, a traditional strength in Germany, is already profiting from the various processes of white biotechnology which demonstrate significant potential for creating new processes by means of synthetic biology. These processes may utilise new raw materials that not only conserve natural resources but also help to reduce waste. For example, the amino acid lysine, a nutritive additive, is currently produced with classical biotechnological methods at a rate of 700,000 tons per year, which corresponds to a market value of 1.4 billion €. In view of this high turnover, even the smallest optimisations in the bioengineering processes have high economic relevance (DFG, 2009).

Further support for interdisciplinary operating principles and early participation by scientific engineering capabilities is needed in order to develop new market potential into profitable applications and to accelerate the translation of basic knowledge into practice.

5.3.1 Biosensors

Cells have evolved a myriad of regulatory circuits – from transcriptional to post-translational – for sensing and responding to diverse and transient environmental signals. These circuits consist of exquisitely tailored sensitive elements that bind analytes and set signal detection thresholds, and transducer modules that filter the signals and mobilize a cellular response. The two basic sensing modules: transcriptional and translational, must be delicately balanced: this is achieved by programming modularity and specificity into biosensing circuits at the transcriptional, translational and post-translational levels (Khalil 2010).

5.3.1.1 Transcriptional biosensing

As the first dedicated phase of gene expression, transcription serves as one method by which cells mobilize a cellular response to an environmental perturbation. As such, the genes to be expressed, their promoters, RNA polymerase, transcription factors and other parts of the transcription machinery all serve as potential engineering components for transcriptional biosensors. Both the sensory (recognizing the signal) and transducer (transmitting it to the receptor) behaviours of a biosensor can be placed under synthetic control by directly engineering environment-responsive promoter sequences. By introducing, removing or modifying activator and repressor sites, a promoter's sensitivity to a molecule can be tuned. Synthetic mammalian transactivation systems are generic versions of this strategy in which an environmentally sensitive transcription factor is fused to a mammalian transactivation domain to cause inducer dependent changes in gene expression. Synthetic mammalian biosensors based on this scheme have been created for sensing signals such as antibiotics (Fussenegger 2000), quorum-sensing molecules (Neddermann et al 2003; Weber et al 2003), gases and metabolites (Weber et al 2006) and temperature changes (Weber 2003). Fussenegger and colleagues have even incorporated this transgene design into mammalian circuits, creating synthetic networks that are responsive to electrical signals (Weber, 2009).

Sometimes a single signal may be too general to characterize or define an environment. For such situations, Anderson and colleagues devised a transcriptional "AND" gate that could be used to integrate multiple environmental signals into a single genetic

circuit therefore programming the desired level of biosensing specificity (Anderson et al 2007). Genetic biosensors of this sort could be useful for communicating the state of a specific microenvironment (for example, in an industrial bioreactor) within variety or different environmental conditions, such as temperature, metabolite levels or cell density (Khalil et al 2010).

5.3.1.2 Translational biosensing

The regulatory subset of non-coding RNAs is well-suited for rational design and in particular, for biosensing applications (Isaacs et al 2006). Many regulatory RNA molecules are natural environmental sensors, and because of their ability to take on complex structures defined by their sequence, these molecules can mediate diverse modular functions across distinct sequence domains. Building an entire RNA-based biosensor typically requires coupling an aptamer[3] domain (the sensitive element) with a post-transcriptional regulatory domain (the transducer module) on a modular RNA molecule scaffold. Antisense RNAs are one such class of natural regulatory RNAs that can control gene expression through post-transcriptional mechanisms (Good 2003). In the future, this platform could be combined with rapid, *in vitro* aptameric selection techniques (Cox 2002) for generating a suite of RNA biosensors that report on the levels of various mRNA species and metabolites in a cell. Another method for transducing the sensory information captured by aptamer domains is to regulate translation through RNA self-cleavage, RNA cleavage is catalysed by ribozymes, some of which naturally possess aptameric domains and are responsive to metabolites Yen et al (2004) took advantage of this natural framework and encoded ligand-sensitive ribozymes in the mRNA sequences of reporter genes. In the absence of its cognate ligand, constitutive autocleavage of the reporter mRNA resulted in little or no signal. The RNA biosensor is flipped when the cognate ligand is present to inhibit the ribozyme's activity. These engineered RNAs could also potentially be used as endogenous sensors for reporting on a variety of intracellular species and metabolites (Winkler et al 2004).

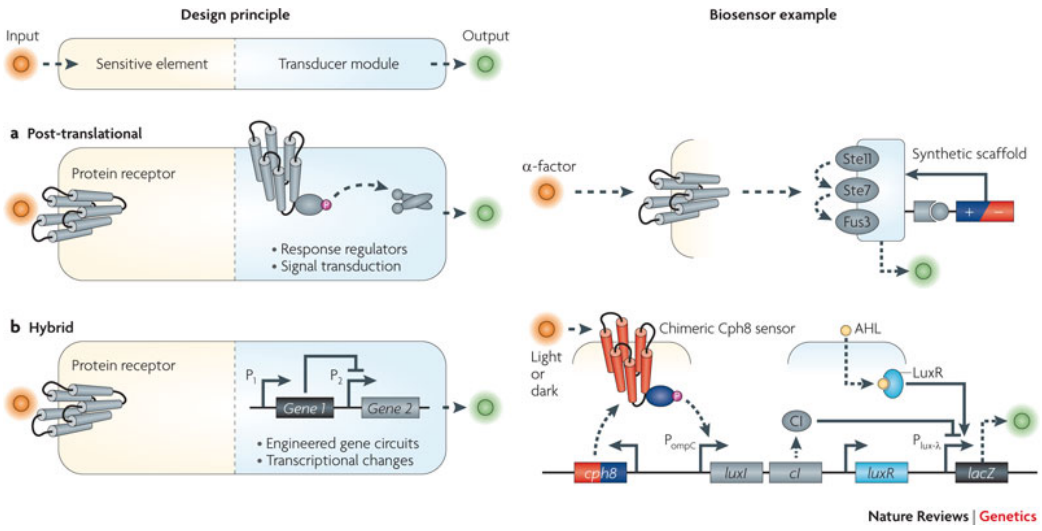
5.3.1.3 Post-translational biosensing

Signal transduction pathways show vast diversity and complexity. Factors such as the nature of the molecular interactions, the number of interconnected proteins in a cascade and the use of spatial mechanisms dictate which signals are transmitted, whether a signal is amplified or attenuated and the dynamics of the response. Despite the multi-

3 Oligonucleic acids that bind to a specific target molecule, such as a small molecule, protein or nucleic acid. Nucleic acid aptamers are typically developed through *in vitro* selection schemes but are also found naturally (for example, RNA aptamers in riboswitches).

tude of factors and interacting components, signal transduction pathways are essentially hierarchical schemes based on sensitive elements and downstream transducer modules, and as such can be rationalized for engineering protein-based biosensors. The primary sensitive element for most signal transduction pathways is the protein receptor. Protein receptors are typically membrane-bound; they trigger protein signalling cascades that ultimately result in a cellular response. However, several synthetic methods can be used to transmit captured sensory information in a tuneable and desirable manner. Skerker rationally rewired the transmission of information through two-component systems by identifying rules governing the specificity of a histidine kinase to its cognate response regulator (Skerker et al 2008). Alternatively, engineered protein scaffolds can be designed to physically recruit pathway modulators and synthetically reshape the dynamical response behaviour of a system (Figure 3) (Bashoer et al 2009). This constitutes a modular method for programming protein-based biosensors to have any desired response, including accelerated, delayed or ultrasensitive responses, to upstream signals (Khalil 2010).

Figure 3: Synthetic biosensors: post translational and hybrid architecture and examples



5.3.1.4 Hybrid approaches

Combining synthetic transcriptional, translational and post-translational circuits into hybrid solutions and harnessing desired characteristics from each could lead to the creation of cell-based biosensors that are as robust as those of natural organisms.

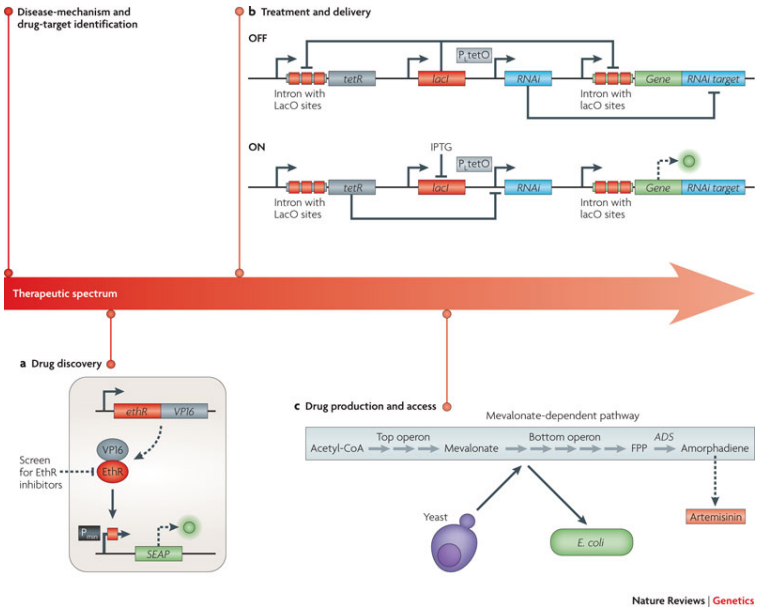
By using a synthetic hybrid approach, Voigt and colleagues developed *E. coli*-based optical sensors. A synthetic sensor kinase was engineered to allow cells to identify and report the presence of red light. As a result, a bacterial lawn of the engineered cells could faithfully ‘print’ a projected image in the biological equivalent of photographic film

(Levskaya 2009). This work demonstrates that complex behaviour can emerge from properly wiring together smaller genetic programs, and that these programs can lead to unique real-world applications (Khalil 2010).

5.3.2 Therapeutics

Human health is afflicted by new and old foes, including emergent drug-resistant microbes, cancer and obesity. Meanwhile, progress in medicine is faced with challenges at each stage of the therapeutic spectrum, ranging from the drying up of pharmaceutical pipelines to limited global access to viable medicines. In a relatively short amount of time, synthetic biology has made promising strides in reshaping and streamlining this spectrum (figure 4). The rational and model-guided construction of biological parts is enabling new therapeutic platforms, from the identification of disease mechanisms and drug targets to the production and delivery of small molecules (Khalil 2010).

Figure 4: The impact of Synthetic Biology on Therapeutic Spectrum



Drug discovery Part **a** of the figure shows a synthetic mammalian gene circuit that enabled drug discovery for antituberculosis compounds[90]. The antibiotic ethionamide is rendered cytotoxic to *Mycobacterium tuberculosis* by the enzyme EthA in infected cells. Because EthA is natively repressed by EthR, resistance to ethionamide treatment is common. In the gene circuit, a fusion of EthR and the mammalian transactivator VP16 binds a minimal promoter (P_{min}) with a synthetic EthR operator site and activates expression of the reporter gene *SEAP* (human placental secreted alkaline phosphatase). This platform allows for the rapid screening of EthR inhibitors in mammalian cells.

Treatment and delivery Part **b** shows a synthetic mammalian genetic switch for tight, tunable and reversible control of a desired gene for therapeutic or gene-delivery applications. In the OFF configuration (upper panel), expression of the gene of interest (green) is repressed at the levels of both transcription and translation. Constitutively expressed LacI repressor (red) binds to the *lac* operator sites in the transgene module of the gene of interest, therefore repressing its transcription. Any transcriptional leakage is repressed at the level of translation by an interfering RNA (blue), which targets the gene's 3′ UTR. The system is switched ON (lower panel) by the addition of isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG), which binds LacI repressor proteins and consequently relieves both forms of repression. (Khalil et al 2010)

5.3.2.1 Disease mechanism

Synthetic biology provides a framework for synthetically reconstructing natural biological systems to explore how pathological behaviours may emerge. This strategy was used to give mechanistic insights into a primary immunodeficiency, agammaglobulinaemia, in which patients cannot generate mature B cells and as a result are unable to properly fight infections (Ferrari et al 2007). Pathogenic viral genomes can also be reconstructed for studying the molecular underpinnings of infectious disease pandemics. For instance, synthetic reconstruction of the severe acquired respiratory syndrome (SArS) coronavirus and the 1918 Spanish influenza virus helped to identify genetic mutations that may have conferred human tropism and increased virulence (Tumpey et al 2005).

5.3.2.2 Drug-target identification

Building up synthetic pathways and systems from individual parts is one way of identifying disease mechanisms and therapeutic targets. Another is to deploy synthetic biology devices to systematically probe the function of individual components of a natural pathway. These synthetic biology studies, in conjunction with systems biology studies of quinolones (antibiotics that inhibit gyrase), led to the discovery that all major classes of bactericidal antibiotics induce a common cellular death pathway by stimulating oxidative damage (Kohanski 2008). This work provided new insights into how bacteria respond to lethal stimuli and paved the way for the development of more effective antibacterial therapies (Khalil 2010).

5.3.2.3 Drug discovery

After a faulty pathway component or target is identified, whole-cell screening assays can be designed using synthetic biology strategies for drug discovery. As a demonstration of this approach, Fussenegger and colleagues developed a synthetic platform for screening small molecules that could potentiate a *Mycobacterium tuberculosis* antibiotic (Weber et al 2008). This framework, in which drug discovery is applied to whole cells that have been engineered with circuits that highlight a pathogenic mechanism, could be extended to other diseases and phenotypes.

5.3.2.4 Therapeutic treatment and delivery

Synthetic biology devices have additionally been developed to serve as therapies themselves. Entire engineered viruses and organisms can be programmed to target specific pathogenic agents and pathological mechanisms. For instance, in two separate studies researchers used engineered bacteriophages to combat antibiotic-resistant

bacteria by endowing them with genetic mechanisms that target and thwart bacterial mechanisms for evading antibiotic action. The first study was prompted by the observation that biofilms, in which bacteria are encapsulated in an extracellular matrix, have inherent resistance to antimicrobial therapies and are sources of persistent infections. In the second study, it was suggested that inhibition of certain bacterial genetic programs could improve the effectiveness of current antibiotic therapies. In this case, bacteriophages were deliberately designed to be nonlethal so as not to elicit resistance mechanisms; instead, a non-lytic M13 phage was used to suppress the bacterial SoS DNA-damage response by overexpression of its repressor (Lu et al 2007; Lu et al 2009). In addition to engineered therapeutic organisms, synthetic circuits and pathways can be used for the controlled delivery of drugs as well as for gene and metabolic therapy. Gene therapy is beginning to make some promising advances in clinical areas in which traditional drug therapy is ineffective, such as in the treatment of many hereditary and metabolic diseases. Synthetic circuits offer a more controlled approach to gene therapy, such as the ability to dynamically silence, activate and tune the expression of desired genes. In one such example a genetic switch was developed in mammalian cells that couples transcriptional repressor proteins and an RNAi module for tight, tuneable and reversible control over the expression of desired genes. This system would be particularly useful in gene-silencing applications, as it was shown to yield >99% repression of a target gene (Deans et al 2007). Finally, the discovery of drugs and effective treatments may not quickly – or ever – translate to the people who need them the most because drug production processes can be difficult and costly. As discussed below, synthetic biology is allowing rare and costly drugs to be manufactured more cost-effectively (Khalil, 2010).

5.3.3 Biofuels and biomaterials

Recent excitement surrounding the production of biofuels, pharmaceuticals and biomaterials from engineered microorganisms is matched by the challenges that loom in bringing these technologies to production scale and quality. The most widely used biofuel is ethanol produced from corn or sugar cane; however, the heavy agricultural burden (the consumption of food as raw material) combined with the suboptimal fuel properties of ethanol make this approach to biofuels problematic and limited. Microorganisms engineered with optimized biosynthetic pathways to efficiently convert biomass into biofuels are an alternative and promising source of renewable energy. These strategies will succeed only if their production costs can be made to compete with, or even outcompete, current fuel production costs. New synthetic biology tools would also greatly advance the microbial production of biomaterials and the development of novel materials (Khalil 2010).

There is likely to be sequential change in the transition of a market economy and energy industry from that based on fossil fuels to renewable resources. From the economic point of view, the production of currently used starting materials based on renewable resources is initially expedient because this would allow continued use of existing production facilities. The medium-term goal should be to replace petrochemical resources by substances easily obtained by biological methods, which would entail a gradual change of the production processes and facilities. First generation biofuels are based on plants that also serve as food. In view of the limited capacities of agricultural areas, this results in an undesirable competition with the cultivation of food crops. Processes to produce second-generation biofuels use the entire plant, particularly parts that are not used for food. These processes, such as the production of ethanol from agricultural wastes and plant residues, could be boosted by synthetic biology. The production of biohydrogen from water and solar energy using appropriately engineered microorganisms or biomimetic catalysts could also become a technically viable process in future. Research in these fields is being followed with great interest, and funded in some cases, by the large oil companies and the energy industry (DFG, 2009)

5.3.3.1 Constructing biosynthetic pathways

When engineering for biofuels, drugs or biomaterials, two of the first design decisions are choosing which biosynthetic pathway or pathways to focus on and which host organism to use. Typically, these decisions begin with the search for organisms that are innately capable of achieving some desired biosynthetic activity or phenotype (Alper et al 2009). For biofuel production, for instance, certain microorganisms have evolved to be proficient in converting lignocellulosic material to ethanol, biobutanol and other biofuels. These native isolates possess unique catabolic activity, heightened tolerances for toxic materials and a host of enzymes designed to break down the lignocellulosic components. Unfortunately, these highly desired properties exist in pathways that are tightly regulated according to the host's evolved needs and therefore may not be suitable in their native state for production scale. A longstanding challenge in metabolic and genetic engineering is determining whether to improve the isolate host's production capacity or whether to transplant the desired genes or pathways into an industrial model host, such as *E. coli* or *S. cerevisiae*. The example of the microbial production of biobutanol, a higher energy density alternative to ethanol, provides a useful glimpse into these design trade-offs. Butanol is converted naturally from acetyl-CoA by *Clostridium acetobutylicum*. However, it is produced in low yields and as a mixture with acetone and ethanol, so substantial cellular engineering of a microorganism for which standard molecular biology techniques do not apply is needed to produce usable amounts of butanol. Furthermore, importing the biosynthetic genes into an industrial

microbial host can lead to metabolic imbalances. In an altogether different approach, Liao and colleagues bypassed standard fermentation pathways and recognized that a broad set of the 2-keto acid intermediates of *E. coli* amino acid biosynthesis could be synthetically shunted to achieve high-yield production of butanol and other higher alcohols in two enzymatic steps. Indeed, complementary to efforts in traditional metabolic and genetic engineering is the use of engineering principles for constructing functional, predictable and non-native biological pathways *de novo* to control and improve microbial production. In an exemplary illustration of this, Keasling and colleagues engineered the microbial production of precursors to the antimalarial drug artemisinin to industrial level (Martin et al 2003). There are now many such examples of the successful application of synthetic approaches to biosynthetic pathway construction – such approaches have been used in the microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals (such as fatty esters, fatty alcohols and waxes), methyl halide-derived fuels and chemicals polyketide synthases that make cholesterol-lowering drugs, and polyketides made from megaenzymes that are encoded by very large synthetic gene clusters (Khalil 2010).

5.3.4 Pharmaceuticals

Synthetic biology is the attempt to apply the concepts of engineering to biological systems with the aim to create organisms with new emergent properties; these organisms might have desirable novel biosynthetic capabilities, act as biosensors or help us to understand the intricacies of living systems. This approach has also the potential to assist the discovery and production of pharmaceutical compounds at various stages. New sources of bioactive compounds can be created in the form of genetically encoded small molecule libraries. The recombination of individual parts has been employed to design proteins that act as biosensors, which could be used to identify and quantify molecules of interest. New biosynthetic pathways may be designed by stitching together enzymes with desired activities, and genetic code expansion can be used to introduce new functionalities into peptides and proteins to increase their chemical scope and biological stability (Neumann et al 2010).

Recombinant DNA technology has been used for more than three decades to engineer bacteria with the ability to produce pharmacologically important molecules like insulin (Goeddel et al 1979). Progress has been made in recent years towards the heterologous production of important natural products, like terpenoids, polyketides, nonribosomal peptides and alkaloids. Synthetic biology approaches are being employed to fine-tune the levels and activities of individual steps and components. A lot of work need to be invested before synthetic biology based approach will become the mainstream of drug development. An important next step towards this aim would be to form

well-characterized modular parts from individual components that can be freely and quickly combined in the true sense of a synthetic biology approach to pharmaceutical biotechnology. The automation of such an approach combined with the development of computational design tools for synthetic biology (Marchisio 2009) will be an important technological advance that will help in its realization (Neumann 2010).

5.3.4.1 Optimizing pathway flux

After biosynthetic pathways have been constructed, the expression levels of all of the components need to be orchestrated to optimize metabolic flux and achieve high product titres. A standard approach is to drive the expression of pathway components with strong and exogenously tuneable promoters. To this end, there are ongoing synthetic biology efforts to create and characterize more reusable, biological control elements based on promoters for predictably tuning expression levels. Further to this, synthetic biologists have devised a number of alternative methods for obtaining biological pathway balance, ranging from reconfiguring network connectivity to fine-tuning individual components. There are several synthetic biology strategies that specifically pertain to the optimization of metabolic pathway flux. These strategies range from those driven by evolutionary techniques, to those driven by rational design and *in silico* models, to those that combine both approaches (Ellis et al 2009).

5.4 Way forward

Beyond the challenge of improving the design cycle, applied synthetic biology would benefit from once again summoning the original inspiration of biocomputing. The ability to program higher-level decision-making into synthetic networks would yield more robust and dynamic organisms, including ones that can accomplish many tasks simultaneously. Furthermore, as adaptive and predictive behaviours are naturally present in all organisms (including microbes) (Mitchell 2009), synthetic learning networks built from genetic and biological parts (Fermando et al 2009) would infuse engineered organisms with more sophisticated automation for biosensing and related applications. Finally, the majority of synthetic biology is currently practiced in microbes. However, many of the most pressing problems, and in particular those of human health, are inherently problems with mammalian systems. Therefore, a more concerted effort towards advancing mammalian synthetic biology will be crucial for next-generation therapeutic solutions, including the engineering of synthetic gene networks for stem-cell generation and differentiation (Khalil 2010).

6 Glossar

BAC: Bacterial Artificial Chromosome; Vektor zur → Klonierung von großen Genomabschnitten in Bakterien, zum Beispiel *Escherichia coli.*

BioBrick: Charakterisierter genetischer Baustein oder genetisches Schaltelement.

BMBF: Bundesministerium für Bildung und Forschung

bp: Basenpaar

cDNA: (engl. *complementary DNA*). Es handelt sich um eine → DNA, die i.d.R. mittels des Enzyms reverse Transkriptase meist aus → mRNA synthetisiert wird.

Codon: → Kodon

de novo: (lat.) von Neuem, von Grund auf

DNA: Desoxyribonukleinsäure (engl. *Desoxyribonucleic acid*, DNA); chemischer Grundbaustein der Erbsubstanz. Die DNA enthält die Informationen für die Herstellung aller für die Körperfunktionen nötigen Eiweiße.

Expression: (→) Genexpression ist das Umsetzen der Information, die in der DNA eines Gens gespeichert ist, zu Zellstrukturen und Signalen. Diese liegen oft in Form von Proteinen vor. Die Expression von Genen ist ein komplexer Prozess, der aus vielen verschiedenen Einzelschritten besteht. Generell kann die Regulation der Genexpression auf verschiedenen Stufen des Realisierungsprozesses vom Gen zum Merkmal führen.

Gen: DNA-Abschnitt, der für eine Funktion, beispielsweise ein Protein, kodiert. Neben den kodierenden Bereichen (Exons) umfassen Gene weitere Regionen wie Introns (nicht kodierende Abschnitte) und → Promotoren (Regulationselemente).

Genexpression: Umsetzung der genetischen Information, meist in Form von Proteinen, zur Bildung von Zellstrukturen und Signalen.

Genom: Nicht einheitlich gebrauchter Begriff für die Gesamtheit der → DNA eines Individuums oder der genetischen Information einer Zelle (→ Gen).

Gentechnik: Biotechnologische Methoden und Verfahren der Biotechnologie, die gezielte Eingriffe in das Erbgut (→ Genom) und damit in die biochemischen Steuerungsvorgänge von Lebewesen bzw. viralen Genomen ermöglichen.

GenTG: Gentechnikgesetz

Gentherapie: → Somatische Gentherapie

Gentransfer: Der methodische Vorgang des Einbringens von Genen in Zellen.

GenTSV: Gentechnik-Sicherheitsverordnung

GVO: Gentechnisch veränderter Organismus. Organismus, dessen Erbanlagen mittels gentechnischer Methoden gezielt verändert wurde.

HADEX-Liste: Eine Ausschlussliste, die Kunden (Firmen, Einrichtungen) aufführt, die keine *dualuse*- Güter erhalten dürfen.

in silico: (angelehnt an lat. *in silicio,* in Silicium); Vorgänge, die im Computer ablaufen.

in vitro: (lat.) im Glas (Reagenzglas, in Zellkultur etc.); gemeint ist die Erzeugung außerhalb des Organismus, im Unterschied zu → *in vivo,* im lebenden Organismus.

in vivo: (lat.) im Lebendigen; Prozesse, die im lebenden Organismus ablaufen.

Insertion: Einschub, Einbau; hier: Einbau von DNA-Sequenzen in ein Genom.

kb: Kilobasen = 1000 Basen

Klonen: → Klonierung

Klonierung: Man versteht darunter das Kopieren und identische Vermehren. Der Begriff wird im Zusammenhang mit Molekülen, Zellen, Geweben, Pflanzen (Ableger), Tieren und Menschen verwendet. Klone werden als genidentische Kopien bezeichnet.

Kodon: Bezeichnung für eine Sequenz von drei → Nukleobasen (Basentriplett) der → mRNA, die im genetischen Code für eine Aminosäure kodiert.

Mb: Megabasen = 1 000 000 Basen

Metabolom: Gesamtheit aller Metabolite

mRNA: (engl. *messenger RNA*) Boten-RNA; Bezeichnung für das → Transkript eines zu einem → Gen gehörenden Teilabschnitts der DNA.

NGO: (engl. *non governmental organisation*); Nicht- Regierungs-Organisation

Nukleinsäure: Aus einzelnen Bausteinen, den → Nukleotiden, aufgebaute Makromoleküle. Siehe auch → DNA.

Nukleobase: → Nukleotid

Nukleotid: Grundbaustein von → Nukleinsäuren (→ DNA und → RNA).

Oligonukleotid: (griech. *oligo,* wenige); aus wenigen → Nukleotiden (→ DNA oder → RNA) aufgebaute Oligomere.

Plasmid: Kleine, in der Regel zirkuläre, autonom replizierende DNA-Moleküle, die in Bakterien extrachromosomal vorkommen, sie können mehrere → Gene enthalten.

Promoter: (ursprünglich franz. *promoteur*, Anstifter, Initiator); Bezeichnung für eine DNA-Sequenz, welche die regulierte → Expression eines → Gens ermöglicht. Die Promotorsequenz ist ein essenzieller Bestandteil eines Gens.

Proteom: Gesamtheit aller → Proteine

Ribosom: (griech. Αραβινός, *arabinos,* Traube, und σωμα, *soma,* Körper); hoch spezialisierter Komplex, bestehend aus Proteinen und RNA, der einen zentralen Teil der Proteinbiosynthese vermittelt: die in der Sequenzabfolge der → mRNA gespeicherte Information wird abgelesen und in die Herstellung von Proteinen umgesetzt.

RNA: (engl. *ribonucleic acid,* RNA); Ribonukleinsäure; Informationsspeicher auf Nukleinsäurebasis mit wesentlicher Funktion bei der Umsetzung von Erbinformation in Proteine (→ Transkription).

rRNA: ribosomale RNA

RNAi: a system within living cells that helps to control which genes are active and how active they are. Two types of small RNA molecules – microRNA (miRNA) and small interfering RNA (siRNA) – are central to RNA interference.

Somatische Gentherapie: Anwendung des Gentransfers auf somatische Zellen (→ Somatische Zellen) mit dem Ziel der Prävention oder Behandlung von Erkrankungen. Genetische Veränderungen werden hierbei nicht an die Nachkommen weitergegeben.

Somatische Zellen: Körperzellen, deren genetische Information nicht an nachfolgende Generationen weitervererbt werden kann. Sie bilden den Großteil der menschlichen Zellen, lediglich Keimzellen (Ei- und Samenzellen) können Erbinformationen auf die nächste Generation übertragen und bilden die sogenannte Keimbahn (→ Somatische Gentherapie)

Systembiologie: Zweig der Biowissenschaften, der versucht, biologische Systeme und Prozesse quantitativ in ihrer Gesamtheit zu verstehen.

transgen: Es handelt sich dabei i.d.R. um einen gentechnisch veränderten Organismus (→ GVO), der in seinem → Genom zusätzliche → Gene anderer Arten enthält.

Transkript: → Transkription

Transkription: (lat. *trans,* jenseits, hinüber; *scribere*, schreiben); Transkription ist in der Biologie der erste Schritt der Proteinbiosynthese, der zur Bildung der → mRNA führt; hierzu zählt auch die Synthese der → tRNA und der → rRNA. Bei der Transkription wird ein → Gen abgelesen und als mRNA-Molekül vervielfältigt, das heißt, ein spezifischer DNA-Abschnitt dient als Vorlage zur Synthese eines neuen RNA-Strangs. Bei diesem Vorgang werden die Nukleinbasen der DNA (T, A, G, C) in die Nukleinbasen der RNA (U, A, G, C) umgeschrieben.

Transkriptom: Gesamtheit aller → Transkripte

Transposon: Genabschnitt, der die Möglichkeit hat, seinen Ort innerhalb des → Genoms zu verändern (= Transposition).

tRNA: transfer-RNA

YAC: Yeast Artificial Chromosome; Vektor zur → Klonierung von großen Genomabschnitten in Hefezellen.

7 Literatur

Alper, H.; Stephanopoulos, G. (2009): Engineering for biofuels: exploiting innate microbial capacity or importing biosynthetic potential? In: Nature Rev. Microbiol. 7, S. 715-723

Anderson, J. C.; Voigt, C. A.; Arkin, A. P. (2007): Environmental signal integration by a modular AND gate. In: Mol. Syst. Biol. 3, S. 133

Andrianantoandr, E.; Kang, K. D.; Weiss, R. (2006): Synthetic biology: new engineering rules for an emerging discipline. In: Molecular Systems Biology

Bashor, C. J.; Helman, N. C.; Yan, S.; Lim, W. A. (2008): Using engineered scaffold interactions to reshape MAP kinase pathway signaling dynamics. In: Science 319, S. 1539-1543

Bedau, M. A.; Parke, E. C.; Tangen, U.; Hantsche-Tangen, B. (2009): Social and ethical checkpoints for bottom-up synthetic biology, or protocells. In: Systems and Synthetic Biology 3 (1-4), S. 65-75

Benner, S. A.; Sismour, M. A. (2005): Synthetic Biology. In: Nature reviews. Genetics. 6, S. 533-543

Budisa, N.; Weitze, M. D. (2009): Den Kode des Lebens erweitern. In: Spektrum der Wissenschaft, January 2009, S. 42-50

Bunn, S. (2008): Synthetic Biology. U.K Parliamentray Office of Science and Technology (POST)

Cox, J. C. et al. (2002): Automated selection of aptamers against protein targets translated in vitro: from gene to aptamer. In: Nucleic Acids Res. 30, e108

Deans, T. L.; Cantor, C. R.; Collins, J. J. (2007): A tunable genetic switch based on RNAi and repressor proteins for regulating gene expression in mammalian cells. In: Cell 130, S. 363-372

DFG (2009): Synthetische Biologie – Chancen und Risiken. Pressemeldung vom 27. Juli 2009

Deans, T. L.; Cantor, C. R.; Collins, J. J. (2007): A tunable genetic switch based on RNAi and repressor proteins for regulating gene expression in mammalian cells. In: Cell 130, S. 363-372

Ellis, T.; Wang, X.; Collins, J. J. (2009): Diversity-based, model-guided construction of synthetic gene networks with predicted functions. In: Nature Biotech. 27, S. 465-471

Elowitz, M.; Leibler, S. (2000): A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. In: Nature 403, S. 335-338

Feernando, C. T. et al. (2009): Molecular circuits for associative learning in single-celled organisms. In: J. R. Soc. Interface 6, 463-469

Ferrari, S. et al. (2007): Mutations of the Igβ gene cause agammaglobulinemia in man. In: J. Exp. Med. 204, S. 2047-2053

Foit, L. et al. (2009): Optimizing Protein Stability In Vivo. In: Molecular Cell. 36, S. 861-871

Fussenegger, M. et al. (2000): Streptogramin-based gene regulation systems for mammalian cells. In: Nature Biotech. 18, S. 1203-1208

Garfinkel, M. et al. (2007): Synthetic Genomics – Options for GoveRNAnce, The J. Craig Venter Institute, Massachusetts Institute of Technology & Center for Strategic and InteRNAtional Studies

Gibson, D. G.; Benders, G. A.; Andrews-Pfankoch, C.; Denisova, E. A.; Baden-Tillson, H.; Zaveri, J.; Stockwell, T. B.; Brownley, A.; Thomas, D. W.; Algire, M. A.; Merryman, C.; Young, L.; Noskov, V. N.; Glass, J. I.; Venter, J. C.; Hutchison, C. A.; Smith, H. O. (2008): Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a Mycoplasma genitalium genome. Science 319, S. 1215-1220

Gibson et al. (2010): Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. In: Science 2, 329 (5987), S. 52-56

Greber, D.; Fussenegger, M. (2007): Mammalian synthetic biology: engineering of sophisticated gene networks. In: J. Biotechnol. 130, S. 329-345

Goeddel, D. V.; Kleid, D. G.; Bolivar, F. et al. (1979): Expression in *Escherichia coli* of chemically synthesized genes for human insulin. In: Proc. Natl. Acad. Sci. 76, S. 106-110

Good, L. (2003): Translation repression by antisense sequences. In: Cell. Mol. Life Sci. 60, S. 854-861

Goosen, M.; Bujard, H. (2002): Studying gene function in eukaryotes by conditional gene inactivation. In: Annu. Rev. Genet. 36, S. 153-173

Hobom, B. (1980): Surgery of Genes. At the doorstep of synthetic biology. In: Medizin. Klinik 75, S. 4-27

Khalil, A. S.; Collins, J. (2010): Synthetic Biology: applications come to age. In: Nature Reviews (genetics) 11, S. 367-379

Kohanski, M. A.; Dwyer, D. J.; Wierzbowski, J.; Cottarel, G.; Collins, J. J. (2008): Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. In: Cell 135, S. 679-690

Kwok, R. (2010): Five hard truths for Synthetic Biology. In: Nature 463, 21 January 2010

Lartigue, C.; Glass, J. I.; Alperovich, N.; Pieper, R.; Parmar, P. P.; Hutchison, C. A.; Smith, H. O.; Venter, J. C. (2007): Genome transplantation in bacteria: changing one species into another. In: Science 317, S. 632-638

Levskaya, A.; Chevalier, A. A.; Tabor, J. J. et al. (2005): Engineering Escherichia coli to see light. In: Nature 438, S. 441-442

Leduc, S. (1912) : La biologie synthétique. In Poinat, A. (Hrsg.): Études de biophysique. Paris

Levskaya, A.; Weiner, O. D.; Lim, W. A.; Voigt, C. A. (2009): Spatiotemporal control of cell signalling using a light-switchable protein interaction. In: Nature 461, 997-1001

Loeb, J. (1912): The mechanistic conception of life. In: Biological Essays. University of Chicago Press, Chicago

Lu, T. K.; Collins, J. J. (2007): Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. In: Proc. Natl. Acad. Sci. 104, S. 11197-11202

Lu, T. K.: Collins, J. J. (2009): Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. In: Proc. Natl. Acad. Sci. 106, S. 4629-4634

Martin, V. J.; Pitera, D. J.; Withers, S. T.; Newman, J. D.; Keasling, J. D. (2003): Engineering a mevalonate pathway in Escherichia coli for production of terpenoids. In: Nature Biotech. 21, S. 796-802

Marchisio, M. A.; Stelling, J. (2009): Computational design tools for synthetic biology. In: Curr Opin Biotechnol 20, S. 479-485

Mitchell, A. et al. (2009): Adaptive prediction of environmental changes by microorganisms. In: Nature 460, S. 220-224

Neddermann, P. et al. (2003): A novel, inducible, eukaryotic gene expression system based on the quorum-sensing transcription factor TraR. In: EMBO Rep. 4, 159-165

Neumann, P. et al. (2010): Synthetic biology approaches in drung discovery and pharmaceutical biotechnology. In: Appl. Microbiol. Biotechnology 87, S. 75-86

Panke, S. (2008): Synthetic Biology – Engineering in Biotechnology. Swiss Academy of Technical Sciences

Rasmussen, S.; Bedau, M. A.; McCaskill, J. S.; Packard, N. H. (2009): A roadmap to protocells. In: Rasmussen, S.; Bedau, M. A.; Chen, L.; et al. (Hrsg.): Protocells: bridging nonliving

Rawls, R. (2000): Synthetic Biology makes its debut. In: Chemical Engineering News (24 April 2000), S. 49-53

Ro, D.-K.; Paradise, E. M.; Ouellet, M. et al. (2006): Production of the antimalarial drug percursor artemisinic acid in engineered yeast. In: Nature 440, S. 940-943

Skerker, J. M. et al. (2008): Rewiring the specificity of two component signal transduction systems. In: Cell 133, S. 1043-1054

Smith, H. O.; Hutchison, C. A.; Pfannkoch, C.; Venter, J. C. (2003): Generating a synthetic genome by whole genome assembly: /X174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. In: Proc Nat Acad Sci 100, S. 15440-15445

Stricker, J.; Cookson, S.; Bennett, M. R.; Mather, W. H.; Tsimring, L. S.; Hasty, J. (2008): A fast, robust and tunable synthetic gene oscillator. In: Nature 456, S. 516-519

Tigges, M.; Marquez-Lago, T. T; Stelling, J.; Fussenegger, M. (2009): A tunable synthetic mammalian oscillator. In: Nature. 457:309–312.

Tucker, B. J. (2006): The Promise and Pearls of Synthetic Biology. In: A Journal of Technology and Society, S. 25-45

Tumpey, T. M. et al. (2005): Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. In: Science 310, S. 77-80

Weber, W. et al. (2003): Streptomyces-derived quorumsensing systems engineered for adjustable transgene expression in mammalian cells and mice. In: Nucleic Acids Res. 31, S. e71

Weber, W.; Link, N.; Fussenegger, M. (2006): A genetic redox sensor for mammalian cells. In: Metab. Eng. 8, S. 273-280

Weber, W. et al. (2008): A synthetic mammalian gene circuit reveals antituberculosis compounds. In: Proc. Natl Acad. Sci. 105, S. 9994–9998

Weber, W. et al. (2009): A synthetic mammalian electrogenetic transcription circuit. In: Nucleic Acids Res. 37, S. e33

Winkler, W. C.; Nahvi, A.; Roth, A.; Collins, J. A.; Breaker, R. R. (2004): Control of gene expression by a natural metabolite-responsive ribozyme. In: Nature 428, S. 281-286

Yen, L. et al. (2004): Exogenous control of mammalian gene expression through modulation of RNA self-cleavage. In: Nature 431, S. 471-476

Yeung, N. et al. (2009): Rational design of a structural and functional nitric oxide reductase. In: Nature 462, S. 1079-1082

Wang, K.; Neumann, H.; Peak-Chew, S. Y.; Chin, J. W. (2007): Evolved orthogonal ribosomes enhance the efficiency of synthetic genetic code expansion. In: Nat. Biotechnol. 25, S. 770-777

Woodrow Wilson International Centre of Scholars (2010): Trends in synthetic biology research funding in the United States and Europe. Report of the Synthetic Biology Project

8 Anhang

8.1 Anhang 1: Liste der befragten Experten aus Baden-Württemberg

Bernauer, Hubert, ATG Biosynthetics, Merzhausen

Beyer, Peter, Universität Freiburg

Boldt, Joachim, University Freiburg

Driever, Wolfgang, BIOSS, Freiburg

Eikmanns, Bernhard, Universität Ulm

Eils, Roland, DKFZ, Heidelberg

Gavin, Anne-Claude, EMBL, Heidelberg

Grunwald, Armin, KIT, Karlsruhe

Horn, Karine, Roche, Mannheim

Jäger, Willy, Universität Heidelberg

Jäschke, Andres, Universität Heidelberg

Kummer, Ursula, Universität Heidelberg

Mauch, Klaus, In Silico Biotechnology, Stuttgart

Nebel, Christoph, Fraunhofer IAF, Freiburg

Reth, Michael, Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg

Richert, Clemens, Universität Stuttgart

Rupp, Steffen, Fraunhofer IGB, Stuttgart

Stähler, Peer, FeBit Holding GmbH, Heidelberg

Stallkamp, Jan, Fraunhofer IPA, Stuttgart

Timmer, Jens, Universität Freiburg

Weber, Wilfried, BIOSS, Freiburg

Wiedemann, Philipp, Hochschule Mannheim

Wittbrodt, Jochen, KIT, Karlsruhe; Universität Heidelberg

8.2 Anhang 2: Liste der weiteren befragten nationalen und internationalen Experten

Prof. Mark Bedau – Portland State Universität (USA)

Prof. Peter Dabrock – Universität Marburg (DE)

Prof. Richard Kitney – London Imperial College (UK)

Prof. Rolf Müller – Universität Saarbrücken (DE)

Prof. Sven Panke - Swiss Federal Institute of Technology (CH)

Dr. Eleonore Pauwels - The Woodrow Wilson International Center for Scholars (USA)

Prof. David Rejeski - The Woodrow Wilson International Center for Scholars (USA)

Prof. Randy Rettberg – Director of iGEM, Massachusetts Institute of Technology (USA)

Prof. Vitor dos Santos –Universität Wageningen (NL)

Prof. Petra Schwille –Universität Dresden (DE)

Prof. Christina Smolke - Universität Stanford (USA)

Prof. Jörg Stelling - Swiss Federal Institute of Technology (CH)

8.3 Anhang 3: Teilnehmerliste Expertenworkshop

Synthetische Biologie in Baden-Württemberg, 15. September 2010 im Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg, Königstr. 46, 70173 Stuttgart

Boldt, Dr. Joachim, Universität Freiburg, Freiburg

Dietz, Sabine, Ministerum für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg

Dürre, Prof. Peter, Universität Ulm, Ulm

Eils, Prof. Roland, DKFZ, Heidelberg

Fischer, Dr. Renate, Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg

Gaisser, Prof. Sibylle, Hochschule Ansbach, Ansbach

Hauer, Prof. Bernhard, Universität Stuttgart, Stuttgart

Jäschke, Prof. Andres, Universität Heidelberg, Heidelberg

Kindervater, Dr. Ralf, BIOPRO Baden-Württemberg GmbH, Stuttgart

Kukk, Piret, Fraunhofer ISI, Karlsruhe

Liepert, Dr. Caroline, Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg

Mauch, Klaus, In Silico Biotechnology, Stuttgart

Posten, Prof. Clemens, KIT, Karlsruhe

Reiß, Dr. Thomas, Fraunhofer ISI, Karlsruhe

Stallkamp, Dr. Jan, Fraunhofer IPA, Stuttgart

Weber, Prof. Wilfried, BIOSS, Freiburg

Wittbrodt, Prof. Jochen, KIT, Karlsruhe, Universität Heidelberg

Zengerle, Prof. Roland, Universität Freiburg, Freiburg