

Az.: 46012

Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland



**1. Zwischenbericht der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit
vom 06. November 2012**

Inhalt

1	Einleitung	3
2	Darstellung und sicherheitsrelevante Einordnung der Forschungsfelder	4
	2.1 Design von Genen und Genomen.....	4
	2.2 Design von maßgeschneiderten Stoffwechselwegen.....	5
	2.3 Xenobiologie.....	6
	2.4 Erzeugung von Minimalorganismen und künstlichen Zellen.....	7
	2.5 Konzeption von genetischen Schaltkreisen.....	9
3	Fazit	10
4	Literatur	12

1 Einleitung

Die Synthetische Biologie ist ein Forschungsfeld, an das sehr große Erwartungen, aber auch Befürchtungen in der Öffentlichkeit geknüpft werden. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), die Leopoldina (Nationale Akademie der Wissenschaften) und die acatech (Deutsche Akademie der Technikwissenschaften) haben 2009 eine Stellungnahme herausgegeben, die das Forschungsfeld vorstellte und Empfehlungen aussprach, die u. a. die Forschungsförderung und Maßnahmen zur biologischen Sicherheit betrafen. Dabei wurde vorgeschlagen, dass die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) ein Monitoring durchführen solle, um aktuelle wissenschaftliche Entwicklungen sachverständig und kritisch zu begleiten und hinsichtlich der biologischen Sicherheit zu bewerten. Frau Bundesministerin Ilse Aigner (Bundesministerium für Ernährung, Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz) kündigte in einem Brief an die DFG an, die ZKBS mit diesem Monitoring zu beauftragen und kündigte in einem Erfahrungsaustausch mit der ZKBS an, sicherheitsrelevante Fragen der Synthetischen Biologie als Aufgabengebiet der ZKBS im Gentechnikgesetz (GenTG) im Rahmen einer Novellierung des Gesetzes zu verankern.

Ziel der Synthetischen Biologie ist es, biologische Einheiten wie z. B. Enzyme, genetische Schaltkreise oder Zellen so zu gestalten, wie sie nicht in der Natur vorkommen. Dabei finden in der Synthetischen Biologie Elemente der Ingenieurwissenschaft Anwendung, indem im großen Maßstab biologische Elemente „am Reißbrett“ geplant und modelliert und in biologische Systeme eingesetzt werden (Keasling 2008).

Der Unterschied zur klassischen Gentechnik besteht vor allem in der Weiterentwicklung von molekularbiologischen Methoden, die viel umfangreichere Eingriffe ermöglichen, in der breiten Nutzung der Bioinformatik, die ein modellierbares Vorgehen ermöglicht, und in Bestrebungen, über standardisierte Einzelteile die Vorhersagbarkeit dieser Eingriffe zu steigern. Hierbei arbeiten viele verschiedene Teilbereiche der Naturwissenschaften wie Mathematik, Physik, Informatik, Molekularbiologie und Chemie zusammen.

Die Synthetische Biologie hat sich seit Anfang des Jahrtausends dynamisch entwickelt. Seit diesem Zeitpunkt steigen die Publikationszahlen in diesem Feld jedes Jahr um mehr als 10 % an (Oldham *et al.*, 2012). Voraussetzung für diese Entwicklung sind umfangreiche wissenschaftliche Fortschritte. Von zentraler Bedeutung sind die Fortschritte auf dem Gebiet der DNA-Synthese, die es ermöglichen, immer größere Nukleinsäureabschnitte immer günstiger zu synthetisieren (Carlson, 2009). Die Herstellung von Nukleinsäureabschnitten *in vitro* war bisher mit „klassischen Methoden“ schon möglich, aber aufwendig und teuer. Jetzt wird sie schneller, einfacher, kostengünstiger und für „jedermann“ verfügbar vor allem von Firmen angeboten. Dies hat die genomweite Veränderung der DNA stark vereinfacht und es z. B. erlaubt, das Genom von *Mycoplasma mycoides ssp. capri* herzustellen, indem kleine DNA-Fragmente zu einem ca. 1 Million Basenpaare großen Genom zusammengesetzt wurden. Dabei wurden genomweit Veränderungen wie z. B. genetische „Wasserzeichen“ und Selektionsmarker eingeführt (Gibson *et al.*, 2010).

Sehr wichtig sind auch die Fortschritte auf dem Gebiet der Systembiologie. Die Systembiologie widmet sich der Erforschung der Regulationsprozesse in Zellen in ihrer Gesamtheit und erfasst und analysiert dabei z. B. Transkriptome, Proteome und Metabolome, so dass Model-

le der gesamten Stoffwechselvorgänge in Organismen erstellt werden können. Dies erlaubt es, die Veränderungen von Prozessparametern vorauszusagen, die durch die Implementierung neuer Stoffwechselwege entstehen. So werden etwa Stoffwechselveränderungen in Cyanobakterien modelliert, die für die Produktion von Biokraftstoffen genutzt werden sollen (Steuer *et al.*, 2012), die *metabolic flux balance* während der Bildung des Gersten-Endosperms analysiert (Grafaehrendt-Belau *et al.*, 2009) oder das Proteom von *Staphylococcus aureus* untersucht, um Aussagen über die Zell- und Pathophysiologie des pathogenen Bakteriums treffen zu können (Becher *et al.*, 2009). Im „Profilbereich Pflanzengenomforschung und Systembiologie Potsdam“ wird u. a. der Zusammenhang von Biomassebildung und Photosynthese in der Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* untersucht (Winck *et al.*, 2011).

Im vorliegenden Bericht wird das Forschungsfeld kurz eingeführt und ein Überblick über die Forschungsaktivitäten in Deutschland geboten. Als Grundlage für diesen Bericht wurden Veranstaltungen zur Synthetischen Biologie, Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Zeitschriften und die Datenbank GEPRIIS der von der DFG geförderten Forschungsprojekte ausgewertet. Der Bericht soll einen repräsentativen Überblick über die in Deutschland in der Synthetischen Biologie erfolgende Forschung geben und richtet sich an das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und alle anderen Interessierten.

Darüberhinaus werden die vorgestellten Teilbereiche der Synthetischen Biologie daraufhin untersucht, ob sich in diesen Bereichen Gefährdungen für die biologische Sicherheit ergeben, und ob die Forschungsvorhaben vom Geltungsbereich des GenTG erfasst werden.

2 Darstellung und sicherheitsrelevante Einordnung der Forschungsfelder

Forschungsinstitute in Deutschland beschäftigen sich mit folgenden Teilbereichen der Synthetischen Biologie:

- Design und Synthese von Genen und Genomen
- Design von maßgeschneiderten Stoffwechselwegen
- Xenobiologie
- Erzeugung von Minimalorganismen und Schaffung von künstlichen Zellen
- Konzeption von genetischen Schaltkreisen

Im Folgenden werden die einzelnen Teilbereiche vorgestellt.

2.1 Design von Genen und Genomen

Das rationale, systematische Design von Genen oder ganzen Genomen am Computer ist in vielen Bereichen der Biologie und Medizin unverzichtbar. Diese Prinzipien werden u. a. bei der Entwicklung von Impfstoffen gegen virale Infektionen angewandt. Dabei werden z. B. die *codon usage* und der CpG-Gehalt der Gene optimiert (Kinds Müller und Wagner, 2011).

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die Gensynthese eine Schlüsseltechnologie für die Synthetische Biologie. Um die *in vitro* synthetisierten Gene bestmöglich in den Zielorganismen exprimieren zu können, muss die Nukleotidsequenz verändert werden. Diese Veränderungen beinhalten z. B. die Optimierung der *codon usage*, die Vermeidung von Restriktionsschnittstellen und repetitiven Sequenzen, die Beeinflussung von Sekundärstruktur und Stabilität der mRNA, oder das Einfügen von Wasserzeichen, um die gentechnischen Veränderungen zu kennzeichnen. An der Universität Regensburg werden zur Vereinfachung der Optimierung der Nukleotidsynthese am Computer Algorithmen entwickelt (Raab *et al.*, 2010; Liss *et al.*, 2012).

Bewertung der ZKBS:

Die Fortschritte in der DNA-Synthesetechnologie haben die Erzeugung von gezielten Mutationen stark vereinfacht. Das *de novo* Design von Genomen ist zurzeit noch nicht möglich, *in vitro* hergestellte Genome orientieren sich stark an natürlichen Vorbildern, so dass hier die Bewertung des Gefährdungspotentials durch den Vergleich mit dem „Spenderorganismus“ der Nukleotidsequenz möglich ist (s. a. Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *M. mycoides* JCVIsyn1.0, Az. 6790-05-01-94 vom September 2010).

Diese Erweiterung der Möglichkeiten in der Synthese von Genen und Genomen führt nicht *per se* zu einer Erhöhung des Gefährdungspotentials. Mögliche Konsequenzen genomweiter Modifikationen sollten dennoch im Einzelfall abgewogen werden.

Dabei ist die Einführung von gentechnischen Veränderungen in Genome unabhängig vom Umfang der Veränderungen durch das GenTG abgedeckt. Im Gegensatz dazu wird die *in vitro*-Synthese von Nukleinsäureabschnitten nicht durch das GenTG reguliert, solange diese Nukleinsäureabschnitte nicht in das Genom lebender Organismen eingebracht werden.

2.2 Design von maßgeschneiderten Stoffwechselwegen

Maßgeschneiderte Stoffwechselwege werden schon seit Jahrzehnten in Deutschland in der weißen, roten und grünen Biotechnologie entwickelt, um gewünschte Produkte in biologischen Systemen zu synthetisieren. Die Synthetische Biologie bereichert dieses sog. *metabolic engineering* um zahlreiche bioinformatische Werkzeuge, die es ermöglichen, Stoffwechselwege *in silico* zu entwickeln und zu optimieren, und um die Möglichkeiten der Gensynthese im großen Maßstab. Das *metabolic engineering* wird damit rationaler und erfolgreicher. So wird z. B. am Zentrum für Synthetische Mikrobiologie (SYNMIKRO) in Marburg oder am Forschungszentrum Jülich die Synthese von interessanten Produkten der Biotechnologie wie etwa Aminosäuren oder Wasserstoff optimiert oder der Abbau von alternativen Substraten wie z. B. Methan oder Methanol verfolgt (Becker *et al.*, 2011; Becker und Wittmann 2012; Blombach *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2010; Goldet *et al.*, 2008; Friedrich *et al.*, 2011; Marienhagen und Bott, 2012; Polen *et al.*, 2012).

Bewertung der ZKBS:

Durch die technischen Fortschritte in der modernen Biotechnologie und der Synthetischen Biologie haben sich die Möglichkeiten des Designs von maßgeschneiderten Stoffwechselwegen im letzten Jahrzehnt stark erweitert, so dass Stoffwechselwege gezielt sowohl durch die Beeinflussung der Genregulation als auch durch das Einbringen von heterologen Genen beeinflusst werden können. Hierbei handelt es sich um quantitative, nicht jedoch um qualitative Veränderungen der Möglichkeiten des Designs. Dementsprechend ergeben sich daraus keine grundsätzlichen Herausforderungen für die Risikobewertung der gentechnisch veränderten Organismen bzw. Gefährdungen für die biologische Sicherheit. Die Verbesserung existierender oder die Entwicklung neuartiger Stoffwechselwege durch die Veränderung von Genen oder den Transfer von Genen anderer Organismen wird vollständig vom GenTG erfasst.

2.3 Xenobiologie

Die Xenobiologie verfolgt das Ziel, auch in der Natur nicht verwendete Bausteine in biologische Moleküle einzubauen. Mehrere Gruppen arbeiten in Deutschland daran, nicht-kanonische Aminosäuren in Proteine einzubauen. Hierfür werden verschiedene Ansätze verfolgt: Beim ersten Ansatz werden Organismen genutzt, die eine bestimmte Aminosäure nicht synthetisieren können, also auxotroph für diese Aminosäure sind. Diese Organismen sind für ihr Wachstum auf das Zufüttern der „fehlenden“ Aminosäure angewiesen. Ersetzt man diese Aminosäure durch eine strukturell ähnliche Aminosäure, die die Eigenschaften eines Zielproteins auf die gewünschte Art und Weise verändern soll, wird die nicht-kanonische Aminosäure anstelle der ursprünglichen während der Translation in die Proteine eingebaut. Eine zweite Strategie nutzt sog. Suppressor-tRNAs, die eines der drei Stopcodons erkennen. Die Suppressor-tRNAs sind mit der gewünschten Aminosäure beladen und führen zum Einbau der Aminosäure anstelle eines Kettenabbruchs. Die zweite Strategie erfordert eine das Stopcodon erkennende zusätzliche tRNA und eine Aminoacyl-tRNA-Synthetase, die die Suppressor-tRNA mit der gewünschten Aminosäure belädt.

Der Einbau von nicht-kanonischen Aminosäuren kann genutzt werden, um Proteine mit veränderten Eigenschaften zu erzeugen, die für verschiedenste Zwecke angewendet werden können. So werden z. B. an der Technischen Universität (TU) Berlin, an der Universität Göttingen und an der TU München Peptidantibiotika, sog. Lantibiotika mit veränderten Wirkungsspektren synthetisiert (Oldach *et al.*, 2012), nicht-kanonische Aminosäuren in Proteine eingeführt, um die Protein-Protein-Interaktionen während der Chromatinkondensation zu untersuchen (Neumann *et al.*, 2010), Proteine mit veränderten Fluoreszenzspektren erzeugt (Kuhn *et al.*, 2012), die Stabilität des Peptidhormons Erythropoietin erhöht und Virostatika mit nicht-kanonischen Aminosäuren entwickelt .

Bewertung der ZKBS:

Nach Ansicht der ZKBS ergeben sich aus der Veränderung von einzelnen Aminosäuren in

Proteinen keine zusätzlichen Gefahren für die biologische Sicherheit. Auch mit den klassischen Methoden der Gentechnik können gezielt Aminosäuren in Proteinen verändert werden.

Die Expression der Proteine ist darüber hinaus nur unter definierten Bedingungen im Labor zu erreichen. Dadurch, dass die nicht-kanonischen Aminosäuren in der Umwelt in viel geringerem Maße zur Verfügung stehen, ist die Wahrscheinlichkeit äußerst niedrig, dass es bei einem eventuellen Entweichen dieser Organismen zur Expression der Proteine kommt.

Proteine mit nicht-kanonischen Aminosäuren, die durch Suppressor-tRNAs eingebaut werden, werden nur exprimiert, wenn Organismen über das passende tRNA-/Aminoacyl-tRNA-Synthetasesystem verfügen. Dies führt ebenfalls dazu, dass die Expression der Proteine auf diese Organismen beschränkt bleibt.

Bei diesen Ansätzen der Xenobiologie ist also eher eine Erhöhung der Biosicherheit durch die Beschränkung der Expression der Proteine auf das Labor bzw. auf bestimmte dafür ausgerüstete Organismen erkennbar.

Auch wenn die geschilderten Arbeiten zur Expression von Proteinen mit nicht-kanonischen Aminosäuren führen, die in der Natur nicht vorkommen würden, so werden diese Arbeiten dennoch vom GenTG erfasst. Um etwa neuartige tRNAs bzw. Aminoacyl-tRNA-Synthetasen zu exprimieren, wird das Genom mithilfe von Nukleinsäure-Rekombinationstechniken verändert. Die auf diese Weise erzeugten Organismen unterliegen damit dem Geltungsbereich des GenTG.

2.4 Erzeugung von Minimalorganismen und künstlichen Zellen

Eines der Ziele der Synthetischen Biologie ist die Schaffung von sog. Minimalzellen, die möglichst einfach aufgebaut sein sollen und als Basis für vielfältige Nutzungen dienen sollen. Es existieren zwei verschiedene Vorgehensweisen: der *top down* und der *bottom up approach*. Beim *top down approach* wird das Genom eines Ausgangsorganismus so stark reduziert, dass nur noch die essentiellen Gene übrig bleiben, die für das Überleben des Organismus erforderlich sind. Beim *bottom up approach* dagegen werden biologische Systeme aus biologischen Bausteinen zusammengesetzt und können daher von existierenden biologischen Systemen stark abweichen. Auf dem Feld des *top down approach* wurde eine Methode entwickelt, die es ermöglicht, das Genom des Bakteriums *Pseudomonas putida* wiederholt zufällig zu reduzieren, bis ein auf die minimale Genausstattung reduziertes Genom erhalten wird (Leprince *et al.*, 2012).

Die Herstellung synthetischer Zellen ist komplex. Um ein eigenständiges biologisches System darzustellen, müssen synthetische Zellen verschiedene Fähigkeiten haben:

- Die biologischen Einheiten müssen ihre Größe verändern können, um Wachstum zu erlauben,
- um Stoffwechsel betreiben zu können, müssen gerichtete Transportvorgänge über die Zellmembran möglich sein,

- für bestimmte Stoffwechselforgänge müssen sie in der Lage sein, sich in Kompartimenten zu organisieren,
- es muss ein Ionengradient aufrecht erhalten werden können,
- Stoffwechsel muss betrieben werden können,
- Stoffwechsel und Wachstum müssen durch eine chemische Information (wie z. B. die DNA) koordiniert werden, um replikationsfähig zu sein,
- die Zellteilung muss koordiniert ablaufen, um die genetische Information auf die Tochterzellen zu verteilen,
- und diese biologischen Systeme sollten sich ggf. an sich verändernde Umweltbedingungen anpassen können.

Ziel derzeitiger Forschung ist die Entwicklung biologischer Module, die einzelne der oben erwähnten Fähigkeiten vermitteln mit dem Fernziel durch den Zusammenbau aller notwendigen Module eine Minimalzelle zu schaffen. In Deutschland werden zurzeit nur einzelne, begrenzte Fragestellungen behandelt, wie u. a. an der Ludwigs-Maximilians-Universität und am Max-Planck-Institut (MPI) für Biochemie München die Untersuchung von bakteriellen Zellteilungssystemen und Zytoskelettproteinen (Halatek und Frey, 2012; Vogel und Schwille, 2012; Schwille, 2011), die Untersuchung der bakteriellen Zellpolarität (Lenz und Søgard-Andersen, 2012) und ATP-Synthasen, die zur Energieversorgung von künstlichen Zellen genutzt werden können (Matthies *et al.*, 2011).

Bewertung der ZKBS:

Bei Minimalorganismen, die durch die gezielte Verkleinerung ihres Genoms erzeugt wurden, ergibt sich eine Reduktion ihrer Anpassungsfähigkeit an die Umwelt und damit eine generelle Abschwächung ihrer *fitness* und ggf. Pathogenität. Diese Organismen können meist nur unter definierten Bedingungen überleben. Daher ist hier eine erhöhte Gefährdung der biologischen Sicherheit nicht zu erkennen. Das Gefährdungspotential kann durch den Vergleich der Organismen mit den Ausgangsorganismen gut abgeschätzt werden, wie es auch im GenTG bei der Risikobewertung von gentechnisch veränderten Organismen vorgesehen ist.

Die Risikobewertung von Organismen, die „am Reißbrett“ ohne Vorbild in der Natur geschaffen werden, erweist sich als schwieriger, da hier das Gefährdungspotential nicht vom bekannten Gefährdungspotential des Ausgangsorganismus abgeleitet werden kann. Für diese Organismen ist es erforderlich, eigene Bewertungsmaßstäbe und ggf. Sicherheitsmaßnahmen zu entwickeln. Wie die Analyse der Forschungsansätze in Deutschland zeigt, werden zurzeit jedoch nur einzelne Elemente für künstliche Organismen untersucht. Die Schwelle zur Schaffung von replizierenden künstlichen Organismen, die man nicht mit einem Vorbild aus der Natur vergleichen könnte, ist (noch) nicht überschritten, so dass sich beim bisherigen Stand der Forschung keine Risiken für die biologische Sicherheit aus diesem Forschungsfeld ergeben.

Während bei der Verfolgung des *top down approach* die erzeugten Minimalorganismen vom Geltungsbereich des GenTG erfasst werden, soweit die Veränderungen im Genom auf gen-

technische Arbeiten zurückzuführen sind, ist dies nicht der Fall bei den „am Reißbrett“ entwickelten Organismen des *bottom up approach*. Vom Geltungsbereich des GenTG werden Organismen erfasst, deren „genetisches Material in einer Weise verändert wurde, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzung oder natürliche Rekombination nicht vorkommt“ (§ 3 GenTG).

Das GenTG gilt für bekannte Organismen, deren Genome verändert werden, und schließt damit nicht Organismen ein, deren Genom ohne natürliches Vorbild konstruiert wurde. Die zurzeit verfolgten Forschungsansätze führen jedoch wie bereits erwähnt noch nicht zu vermehrungsfähigen Organismen, sondern befassen sich mit einzelnen Fragestellungen wie der Bereitstellung eines funktionierenden Zytoskeletts oder der Entwicklung von Zellteilungssystemen.

2.5 Konzeption von genetischen Schaltkreisen

Die Terminologie in dieser Forschungsrichtung orientiert sich an der Computer-Sprache: Man spricht von „programmierbaren Bauteilen“, „genetischen Kippschaltern“, „Logikgattern“ oder „Boolescher Logik“. Ähnlich wie in der Informatik sollen auch in lebenden Systemen Schaltkreise geschaffen werden, deren Bauteile auf vorhersagbare Weise miteinander interagieren und auf definierte *inputs* spezifische *outputs* liefern. Dabei werden Komponenten wie Regulatoren, Aktivatoren oder Repressoren aus verschiedenen Organismen frei miteinander kombiniert. Anwendungsbereiche sind z. B. die Erzeugung von Organismen, die als biologische Sensoren auf Umweltreize wie UV-Licht oder Chemikalien reagieren oder die immobilisiert im Körper die Konzentration von Stoffwechselprodukten oder Hormonen messen und daraufhin gewünschte Enzyme produzieren.

An der Universität Freiburg werden synthetische Signalwege in Säugetierzellen entwickelt, die auf Licht oder auf chemische Signalmoleküle reagieren und daraufhin z. B. Insulin produzieren (Hörner und Weber, 2012; Karlsson und Weber, 2012). Darüber hinaus werden an der Universität Potsdam licht-regulierbare Peptide erforscht, die in genetischen Signalnetzwerken eingesetzt werden können (Mason *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2012). Genetische Schaltkreise werden auch außerhalb lebender Systeme getestet, um die Interaktionen mit den anderen Bestandteilen der Zelle zu reduzieren und die Systeme so besser charakterisieren zu können (Franco *et al.*, 2011), oder *in silico* modelliert (Fritz *et al.*, 2009).

Interessant sind auch regulatorische RNA-Strukturen, die in genetischen Schaltkreisen als Sensoren und Schalter eingesetzt werden können. Dabei macht man sich die Eigenschaft der RNA zunutze, komplexe Sekundärstrukturen auszubilden und als sog. Aptamer an chemische Strukturen oder Proteine zu binden. Durch die Bindung von Signalmolekülen kann sich die Konformation der RNA-Strukturen verändern. Daher können Sekundärstruktur ausbildende RNA-Moleküle z. B. genutzt werden, um abhängig von der Bindung von Botenstoffen im 5'-Bereich von Genen die Ribosomenbindestelle zu maskieren, so dass die Proteinexpression abhängig von den Botenstoffen erfolgt (sog. *riboswitches*), oder um die Enzymaktivität interessanter Enzyme für diagnostische Zwecke zu bestimmen (Rühl *et al.*, 2012). Daneben werden u. a. an der Universität Frankfurt, der Universität Konstanz und der Universität Heidelberg die über Aptamere Tetrazyklin-steuerbare Expression von Genen in *Saccharo-*

myces cerevisiae (Süß *et al.*, 2012), die katalytische Aktivität von sog. Ribozymen und die Affinität von Aptameren zu ihren Liganden untersucht und *riboswitches* entwickelt (Hartig, 2010; Klauser *et al.*, 2012), die auch über Licht reguliert werden können (Singer und Jäschke, 2010).

Ein Ziel der Arbeiten in diesem Forschungsfeld ist es, die einzelnen Bestandteile von verschiedenen Signalwegen frei miteinander kombinieren zu können. Diese Bestandteile können nach ihrer Funktion kategorisiert werden und als sog. *biobricks* in eine öffentlich zugänglichen Datenbank (www.biobricks.org) aufgenommen werden, so dass auch andere Forscher diese Module für neue genetische Schaltkreise nutzen können. Aus diesem Grund bemüht man sich, die einzelnen Module möglichst genau *in silico* und *in vivo* zu charakterisieren, um sie untereinander gut kombinieren zu können.

Bewertung der ZKBS:

Bei der Schaffung von genetischen Schaltkreisen werden genau definierte, meist gut charakterisierte genetische Elemente miteinander kombiniert. Diese genetischen Schaltkreise werden häufig unter Verwendung von sog. biologischen Sicherheitsmaßnahmen in seit langem in der Forschung bekannte Modellorganismen eingebracht.

Daher ist im Bereich der genetischen Schaltkreise keine zusätzliche Gefährdung für die biologische Sicherheit erkennbar. Bei diesen Arbeiten werden genetische Elemente in neuen Kombinationen in das Genom von Organismen eingeführt. So werden gentechnisch veränderte Organismen erzeugt, die vollkommen vom Geltungsbereich des GenTG erfasst werden.

3 Fazit

Wie in der Einleitung und in der Übersicht aufgezeigt, werden Teilbereiche der Synthetischen Biologie in zahlreichen Instituten in Deutschland erforscht. Dabei werden vielfältige innovative Ansätze verfolgt. Parallel erfolgt die Auseinandersetzung mit den Folgen der Synthetischen Biologie, bei der verschiedene Aspekte der Ethik und Technikfolgenabschätzung untersucht werden, wie z. B. beim Büro für Technikfolgenabschätzung des Bundestages, im Projekt Innovationsanalyse und Technikfolgenabschätzung der Synthetischen Biologie der Universität Bremen oder im vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Projekt „Engineering Life“, das ethische, philosophische sowie theologische Aspekte der Synthetischen Biologie und mit diesem Entwicklungsfeld verbundenen Chancen, Risiken und rechtlichen Fragen untersucht. Die ZKBS veranstaltete im September 2011 den Workshop „Status Quo Synthetische Biologie“ mit Vertretern der unterschiedlichen Forschungsrichtungen. Dabei kristallisierte sich heraus, dass die vorgestellten Ansätze, die in der Synthetischen Biologie in Deutschland verfolgt werden, mit Ausnahme der DNA-Synthese vom GenTG erfasst werden.

Dies würde jedoch nicht für neuartige lebende Systeme wie künstliche Zellen ohne Vorbild in der Natur zutreffen, für deren Bewertung verbindliche Maßstäbe fehlen, bzw. für die die im GenTG verankerten Bewertungsmaßstäbe nicht anwendbar sind.

Die Analyse der aktuellen Forschungsansätze in Deutschland lässt erkennen, dass sie vom GenTG erfasst werden. Darüberhinaus zeichnen sich die Forschungsansätze häufig durch die Verwendung von Maßnahmen aus, die die biologische Sicherheit der Organismen erhöhen. Dazu gehören die Verwendung von biologischen Sicherheitsmaßnahmen als Spender- und Empfängersysteme und von gut charakterisierten genetischen Modulen sowie die Möglichkeiten der Begrenzung des Austausches von genetischen Informationen durch die Xenobiologie.

Einzelne Teilbereiche der Erforschung von künstlichen Zellen, wie die Untersuchung von bakteriellen Zellteilungssystemen, finden *in vitro*, also außerhalb lebender Systeme, statt und werden daher nicht vom GenTG erfasst. Diese Versuche bergen kein spezifisches Gefährdungspotential, da es sich nicht um lebensfähige Organismen handelt. Zurzeit ist es nicht möglich, sich eigenständig replizierende biologische Systeme herzustellen.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die derzeit in Deutschland in der Synthetischen Biologie verfolgten Forschungsansätze kein Biosicherheits-spezifisches Gefährdungspotential bergen, das über das von „klassischen“ gentechnischen Versuchen hinausgeht und dem nicht durch die konsequente Anwendung des GenTG begegnet werden kann. Beim aktuellen Stand der Forschung werden alle Forschungsansätze mit Ausnahme der Synthese von Nukleinsäuren vom GenTG erfasst.

Ein Abgleich des internationalen Forschungsstandes der verschiedenen Forschungsfelder der Synthetischen Biologie und ihrer Bedeutung für die biologische Sicherheit wird derzeit durchgeführt.

4 Literatur

- [1] DFG, acatech und Leopoldina (2009). Synthetische Biologie – Stellungnahme. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [2] Keasling JD (2008). Synthetic biology for synthetic chemistry. *ACS Chem Biol.* 3(1):64-76.
- [3] Oldham P, Hall S, Burton G (2012). Synthetic biology: mapping the scientific landscape. *PLoS One.* 7(4):e34368.
- [4] Carlson R (2009). The changing economics of DNA synthesis. *Nat Biotechnol.* 27(12):1091-4.
- [5] Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov VN, Chuang RY, Algire MA, Benders GA, Montague MG, Ma L, Moodie MM, Merryman C, Vashee S, Krishnakumar R, Assad-Garcia N, Andrews-Pfannkoch C, Denisova EA, Young L, Qi ZQ, Segall-Shapiro TH, Calvey CH, Parmar PP, Hutchison CA 3rd, Smith HO, Venter JC (2010). Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science.* 329(5987):52-6.
- [6] Steuer R, Knoop H, Machné R (2012). Modelling cyanobacteria: from metabolism to integrative models of phototrophic growth. *J Exp Bot.* 63(6):2259-74.
- [7] Grafahrend-Belau E, Schreiber F, Koschützki D, Junker BH (2009). Flux balance analysis of barley seeds: a computational approach to study systemic properties of central metabolism. *Plant Physiol.* 49(1):585-98.
- [8] Becher D, Hempel K, Sievers S, Zühlke D, Pané-Farré J, Otto A, Fuchs S, Albrecht D, Bernhardt J, Engelmann S, Völker U, van Dijl JM, Hecker M (2009). A proteomic view of an important human pathogen - towards the quantification of the entire *Staphylococcus aureus* proteome. *PLoS One.* 4(12):e8176.
- [9] Winck FV, Riaño-Pachón DM, Sommer F, Rupprecht J, Müller-Röber B (2012). The nuclear proteome of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proteomics.* 12(1):95-100.
- [10] Kindsmüller K, Wagner R (2011). Synthetic biology: impact on the design of innovative vaccines. *Hum Vaccin.* 7(6):658-62.
- [11] Raab D, Graf M, Notka F, Schödl T, Wagner R (2010). The GeneOptimizer Algorithm: using a sliding window approach to cope with the vast sequence space in multiparameter DNA sequence optimization. *Syst Synth Biol.* 4(3):215-25.
- [12] Liss M, Daubert D, Brunner K, Kliche K, Hammes U, Leiberer A, Wagner R (2012). Embedding permanent watermarks in synthetic genes. *PLoS One.* 7(8):e42465.
- [13] Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*, *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* und *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten nach § 5 Absatz 1 GenTSV. http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/02_Bakterien/Mycoplasmen.pdf?__blob=publicationFile&v=2.
- [14] Becker J, Wittmann C (2012). Systems and synthetic metabolic engineering for amino acid production - the heartbeat of industrial strain development. *Curr Opin Biotechnol.* 23(5):718-26.
- [15] Becker J, Zelder O, Häfner S, Schröder H, Wittmann C (2011). From zero to hero - design-based systems metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-lysine production. *Metab Eng.* 13(2):159-68.
- [16] Blombach B, Riestler T, Wieschalka S, Ziert C, Youn JW, Wendisch VF, Eikmanns BJ (2011). *Corynebacterium glutamicum* tailored for efficient isobutanol production. *Appl Environ Microbiol.* 77(10):3300-10.
- [17] Chen Z, Wilmanns M, Zeng AP (2010). Structural synthetic biotechnology: from molecular structure to predictable design for industrial strain development. *Trends Biotechnol.* 28(10):534-42.
- [18] Goldet G, Wait AF, Cracknell JA, Vincent KA, Ludwig M, Lenz O, Friedrich B, Armstrong FA (2008). Hydrogen production under aerobic conditions by membrane-bound hydrogenases from *Ralstonia* species. *J Am Chem Soc.* 130(33):11106-13.
- [19] Friedrich B, Fritsch J, Lenz O (2011). Oxygen-tolerant hydrogenases in hydrogen-based technologies. *Curr Opin Biotechnol.* 22(3):358-64.

- [20] Marienhagen J, Bott M. Metabolic engineering of microorganisms for the synthesis of plant natural products. *J Biotechnol.* (2012) Jun 9. [Epub ahead of print]
- [21] Polen T, Spelberg M, Bott M (2012). Toward biotechnological production of adipic acid and precursors from biorenewables. *J Biotechnol.* Jul 21. [Epub ahead of print]
- [22] Oldach F, Al Toma R, Kuthning A, Caetano T, Mendo S, Budisa N, Süßmuth RD (2012). Congeneric lantibiotics from ribosomal *in vivo* peptide synthesis with noncanonical amino acids. *Angew Chem Int Ed Engl.* 51(2):415-8.
- [23] Neumann H, Wang K, Davis L, Garcia-Alai M, Chin JW (2010). Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome. *Nature.* 464(7287):441-4.
- [24] Kuhn SM, Rubini M, Müller MA, Skerra A (2011). Biosynthesis of a fluorescent protein with extreme pseudo-Stokes shift by introducing a genetically encoded non-natural amino acid outside the fluorophore. *J Am Chem Soc.* 133(11):3708-11.
- [25] Leprince A, de Lorenzo V, Völler P, van Passel MW, Martins dos Santos VA (2012). Random and cyclical deletion of large DNA segments in the genome of *Pseudomonas putida*. *Environ Microbiol.* 14(6):1444-53.
- [26] Halatek J, Frey E (2012). Highly Canalized MinD Transfer and MinE Sequestration Explain the Origin of Robust MinCDE-Protein Dynamics. *Cell Rep.* 1(6):741-52.
- [27] Vogel SK, Schwille P (2012). Minimal systems to study membrane-cytoskeleton interactions. *Curr Opin Biotechnol.* 23(5):758-65.
- [28] Schwille P (2011). Bottom-up synthetic biology: engineering in a tinkerer's world. *Science.* 333(6047):1252-4.
- [29] Lenz P, Søgaard-Andersen L (2011). Temporal and spatial oscillations in bacteria. *Nat Rev Microbiol.* 9(8):565-77.
- [30] Matthies D, Haberstock S, Joos F, Dötsch V, Vonck J, Bernhard F, Meier T (2011). Cell-free expression and assembly of ATP synthase. *J Mol Biol.* 413:593-603.
- [31] Hörner M, Weber W (2012): Molecular switches in animal cells. *FEBS Lett.* 586(15):2084-96.
- [32] Karlsson M, Weber W (2012): Therapeutic synthetic gene networks. *Curr Opin Biotechnol.* 23(5):703-11.
- [33] Mason JM, Müller KM, Arndt KM (2008). iPEP: peptides designed and selected for interfering with protein interaction and function. *Biochem Soc Trans.* 36(Pt 6):1442-7.
- [34] Zhang F, Müller KM, Woolley GA, Arndt KM (2012). Light-controlled gene switches in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* 813:195-210.
- [35] Franco E, Friedrichs E, Kim J, Jungmann R, Murray R, Winfree E, Simmel FC (2011). Timing molecular motion and production with a synthetic transcriptional clock. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108(40):E784-93.
- [36] Fritz G, Koller C, Burdack K, Tetsch L, Haneburger I, Jung K, Gerland U (2009). Induction kinetics of a conditional pH stress response system in *Escherichia coli*. *J Mol Biol.* 393(2):272-86.
- [37] Rühl H, Müller J, Harbrecht U, Fimmers R, Oldenburg J, Mayer G, Pötzsch B (2012). Thrombin inhibition profiles in healthy individuals and thrombophilic patients. *Thromb Haemost.* 107(5):848-53.
- [38] Süß B, Entian KD, Kötter P, Weigand JE (2012). Aptamer-regulated expression of essential genes in yeast. *Methods Mol Biol.* 824:381-91.
- [39] Hartig JS (2010). A group I intron riboswitch. *Chem Biol.* 17(9):920-1.
- [40] Klauser B, Saragliadis A, Ausländer S, Wieland M, Berthold MR, Hartig JS (2012). Post-transcriptional Boolean computation by combining aptazymes controlling mRNA translation initiation and tRNA activation. *Mol Biosyst.* 8(9):2242-8.
- [41] Singer M, Jäschke A (2010). Reversibly photoswitchable nucleosides: synthesis and photochromic properties of diarylethene-functionalized 7-deazaadenosine derivatives. *J Am Chem Soc.* 132(24):8372-7.