

Sabine Müller

Künstliches Leben – Fluch oder Segen der synthetischen Biologie

Festvortrag auf dem Leibniztag am 30. Juni 2011

Was ist synthetische Biologie? Der Nichteingeweihte befürchtet allzu oft hinter dieser Kombination aus Chemie (Synthese) und Leben (Biologie) Szenarien, die an Frankenstein und die Erschaffung von Leben im Labor erinnern. Besonders im Jahr 2010 nach Bekanntwerden der erfolgreichen „Synthese“ des ersten selbst-vermehrenden Mikroorganismus durch Craig Venter und Team¹ waren Schlagzeilen wie „Frankensteins Zeit ist gekommen“, „Leben aus dem Reagenzglas“, „Forscher erschaffen erstmals künstliches Leben“, „Craig Venter spielt Gott“ und ähnliches mehr in der Tagespresse zu finden. Die Erschaffung von Leben ist ein Menschheitstraum, den schon Johann Wolfgang von Goethe in seinem Faust thematisiert hat: „Dass wenn wir aus viel hundert Stoffen...den Menschenstoff gemächlich komponieren...Was man an der Natur Geheimnisvolles pries, das wagen wir beständig zu probieren, und was sie sonst organisieren ließ, das lassen wir kristallisieren...Das Glas erklingt von lieblicher Gewalt, es trübt, es klärt sich; also muss es werden! Ich seh in zierlicher Gestalt ein artig Männlein sich gebärden. Was wollen wir, was will die Welt nun mehr? Denn das Geheimnis liegt am Tage²...“.

Die künstliche Erzeugung von Lebewesen nach Maß spielt nach wie vor eine Rolle in der Phantasie vieler Menschen. Doch genau das kann die moderne Wissenschaft noch nicht leisten. Der Name „Synthetische Biologie“ impliziert die Erzeugung biologischer, also lebender Organismen, das Wissenschaftsgebiet selbst definiert sich aber wie von der *Synthetic Biology Community* erklärt, zunächst über zwei wesentliche Arbeitsrichtungen: (i) das Design und der Aufbau neuer biologischer Bausteine und Systeme, (ii) der Nachbau existierender natürlicher biologischer Systeme für nützliche Zwecke (Synthetic Biology is (i) the design and construction of new biological parts, devices, and systems, and (ii) the re-design of existing, natural biological systems for useful purposes).³ Im Einzelnen beinhaltet das Arbeiten wie die Konstruktion von DNA(Genen), die Erweiterung des genetischen Co-

des, die Konstruktion von Enzymen, Stoffwechselwegen (Metabolic Engineering) und biochemischen Signalwegen, die Genom-Komplettsynthese, Genomrekonstruktion und *in silico* Design. Synthetische Biologie bedeutet auch die Auseinandersetzung mit Fragen der Biosicherheit und Ethik (siehe dazu auch Artikel von H. Hörz⁴). In diesem Zusammenhang wurde die *International Association Synthetic Biology* (IASB) von einem Konsortium von Biotechfirmen gegründet. Sie versteht sich als eine Vereinigung von Anbietern, Nutzern und Verbrauchern der synthetischen Biologie, die dieses hochaktuelle Forschungsgebiet durch beste Praxis und Standards sowie durch die Förderung von biologischem Schutz und Biosicherheit zur vollen Entfaltung bringen will (Representing providers, users and consumers of synthetic biology, IASB aims at bringing this exciting scientific field to full potential. This will be done through the development of best practices and standards as well as through the promotion of biosecurity and biosafety.)⁵

Eine zentrale Säule der Synthetischen Biologie ist die Gensynthese, für die ebenfalls durch die IASB ein Verhaltenscodex für vorbildliche Praxis in der Gensynthese deklariert wurde.⁶ Gene wurden schon vor ca. 40 Jahren synthetisiert, wenngleich mühsam und mit beträchtlichem personellem Aufwand. Die erste Synthese eines funktionellen Gens, in diesem Fall eines Gens, das eine Transfer-RNA codiert, gelang bereits 1970 im Labor von Gobind Khorana am *Massachusetts Institute of Technology* (MIT)⁷, und so reichen die Anfänge der Synthetischen Biologie bis in dieses Jahr zurück. Khorana selbst sah die Entwicklung des Gebiets, dessen Name erst 1979 durch Barbara Hobom in einem Artikel in der Frankfurter Allgemeinen Zeitung eingeführt wurde⁸, voraus: „In the years ahead, genes are going to be synthesized. The next step would be to learn to manipulate the information content of genes and to learn to insert them into and delete them from the genetic systems. When in the distant future all this comes to pass, the temptation to change our biology will be very strong.“⁹ Das erste 1970 von der Gruppe um Khorana in einem Kraftakt synthetisch hergestellte Gen war 207 Basenpaare lang. Vierzehn Jahre später, 1984, folgte die erste Synthese eines Protein codierenden Gens von 330 Basenpaaren Länge durch Benner und Mitarbeiter.¹⁰ Danach ist die Historie der synthetischen Biologie eng mit dem Namen Craig Venter verbunden. Venter publizierte im Jahr 1995 das vollständige Genom des Bakteriums *Mycoplasma genitalium* mit 517 Genen,¹¹ gefolgt 1999 von der Aussage, dass nur 300 der 480 Eiweiß codierenden Gene essentiell für den Lebenszyklus des Bakteriums sind.¹² Diese Minimalzahl lebensnotwendiger Gene wurde sieben Jahre später auf 382 korrigiert.¹³

Im Jahr 2007 gelang Venter die Transplantation eines Bakteriengenoms in ein anderes Bakterium¹⁴ und nur ein Jahr später die Synthese des gesamten Genoms von *Mycoplasma genitalium* mit 580 000 Basenpaaren.¹⁵ Nachdem dann auch noch die technischen Grundlagen zur Vermehrung und Manipulation eines Bakteriengenoms in Hefe gelegt waren, trat Venter 2010 mit der bahnbrechenden Errungenschaft der Synthese des Genoms von *Mycoplasma mycoides*, dessen Transplantation in einen anderen *Mycoplasma*-Stamm und dem Nachweis, dass das Spendergenom die Steuerung der zellulären Prozesse übernimmt, an die Öffentlichkeit.¹ Diese Veröffentlichung hat großes Aufsehen erregt und, wie oben erwähnt, Debatten und Phantasien um „Synthetisches Leben aus der Retorte“ ausgelöst. Aber stehen wir mit Venters Demonstration wirklich an der Schwelle zur Schaffung künstlichen Lebens?

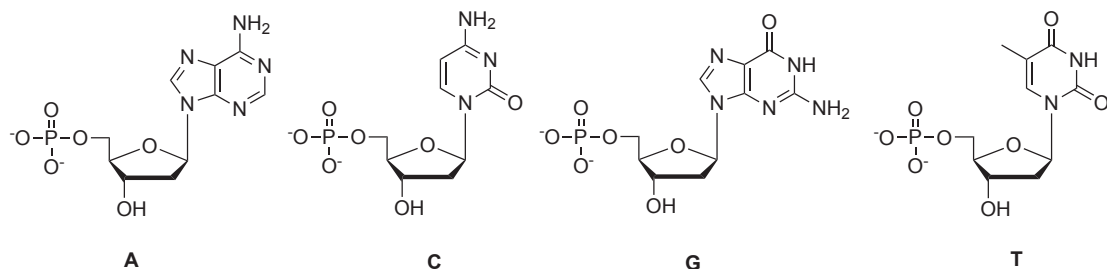


Abbildung 1: Die vier Bausteine der DNA. A = Adenosin, C = Cytidin, G = Guanodin, T = Thyminidin.

Um dieser Frage nachzugehen, soll zunächst ein Blick auf die Grundlage des Lebens geworfen werden. Die Erbinformation ist in der DNA gespeichert. Ein Gen, das beispielsweise ein Protein kodiert, ist eine bestimmte Abfolge (Sequenz) der vier natürlichen Nukleotide Adenosin, Cytidin, Guanodin und Thyminidin (Abbildung 1). Diese Information wird von DNA in RNA umgeschrieben und als solche zum Ort der Proteinbiosynthese, den Ribosomen, transportiert. Dort wird der Code dechiffriert, und in eine Aminosäuresequenz zum Aufbau des Proteins übersetzt (Abbildung 2). Dieser hier vereinfacht beschriebene Prozess unterliegt zahlreichen Regulationsmechanismen, deren Protagonisten ebenfalls ihren Ursprung auf genetischer Ebene haben. Die Synthese biotischer Systeme startet also zwangsläufig mit der Synthese der notwendigen Gene. Während die erste Gensynthese durch Khorana 1970 noch ein Kraftakt war, den man mit einem Zeitaufwand von ca. 20 Person Jahren beschreiben kann, ist die chemische Synthese von DNA mit einer Länge von 100 bis 150 Nucleotiden heute in einem automatisierten Verfahren in kurzer Zeit (1-2 Personentage) mit guten Ausbeuten möglich. Diesem bedeutenden technischen Fortschritt auf chemisch synthetischem Gebiet stehen lei-

stungsfähige Methoden der Gentechnik, etwa die Amplifizierung kleinster Mengen von DNA durch die Polymerasekettenreaktion (PCR) oder die Klonierung von DNA, zur Seite. So gelten die Synthese des Erbguts eines Poliovirus und die Demonstration dessen Infektiösität durch Cello und Wimmer,¹⁶ sowie die Produktion eines Malariamedikaments (Artemisin) in Bierhefe,¹⁷ was nur durch die gezielte Erhöhung, den Austausch und das Einfügen von Genaktivitäten in den Hefeorganismus möglich war, als weitere Meilensteine der Synthetischen Biologie.

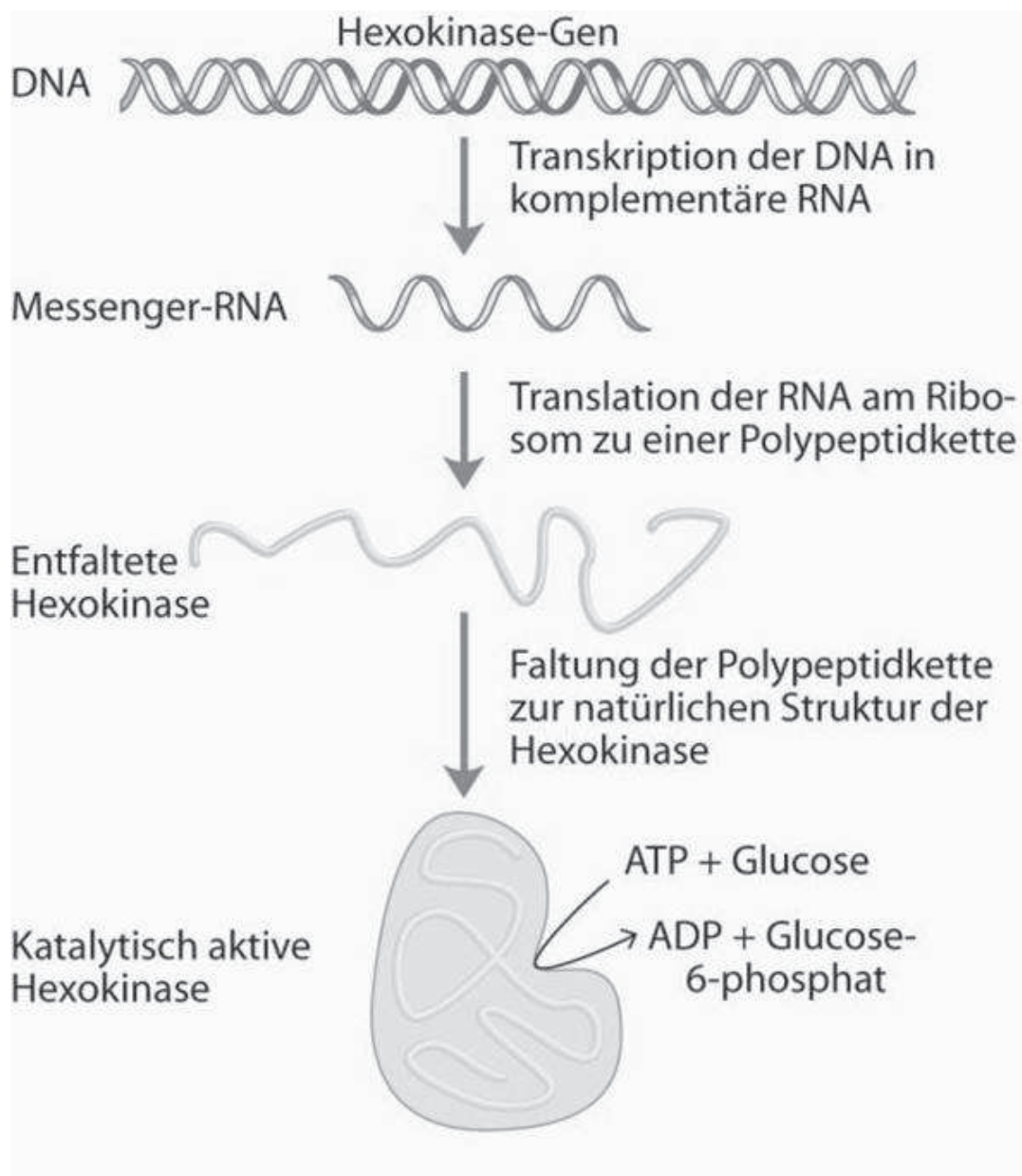


Abbildung 2: Vom Gen zum Protein. Prozessierung des Hexokinasegens. Aus: Nelson & Cox, Lehninger Biochemie, 4. Auflage, 2008

Die Produktion eines Wirkstoffs wie Artemisin in Hefe gehört innerhalb der Synthetischen Biologie zum Gebiet des *Metabolic Engineering*. Artemisin gilt als das beste Malariamittel der Welt und wird klassisch aus Einjährigem Beifuß, einer Pflanze der Art *Artemisia annua*, gewonnen. Dieses Verfahren ist sehr aufwändig und teuer. Demgegenüber erlaubt das Verfahren in Bierhefe die schnelle und kostengünstige Produktion von Artemisin lediglich aus Zucker als Ausgangsstoff. Ein essentielles Problem dabei ist allerdings die gezielte Regulation der Schlüsselenzyme in der Hefe, die für die Synthese des Wirkstoffes verantwortlich sind. Das funktioniert über das Einbringen zusätzlicher genetischer Schalter, die sogenannten „*Biobricks*“. Der Name „*Biobricks*“ steht für Standard-DNA-Module, die für grundlegende biologische Funktionen codieren und kombinier- und austauschbar sind. Ein Katalog solcher Module, der weiterhin relevante Informationen zu deren Nutzung sowie Bauanleitungen und Konstruktionspläne beinhaltet, wurde von der *Biobricks Foundation* erstellt, einer Gesellschaft, die sich dem *Engineering of Biology* in einer offenen und ethisch korrekten Art und Weise zum Nutzen der Menschheit verpflichtet hat.¹⁸

In der Synthetischen Biologie werden Biologen zu Ingenieuren, nutzen Konzepte und Techniken aus dem Ingenieurwesen um neue biotische Systeme zu schaffen. Dabei werden zwei verschiedene Ansätze verfolgt: *Top-down* and *Bottom-up*. Der *Top-down* Ansatz geht von existierenden Organismen und deren Genen als Basis aus. Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden werden die Gene schrittweise reduziert und/oder durch Ersatz oder Ergänzung von Genen modifiziert. Das Ergebnis sind genetisch veränderte Organismen mit verbesserten oder neuen funktionellen Eigenschaften. Der *Bottom-up* Ansatz hingegen setzt nicht lebendige Komponenten zu künstlichen biologischen Systemen zusammen, sondern kombiniert Module mit bekannten Funktionen, also Biobricks, zu Systemen mit neuen Eigenschaften. Auf der Grundlage dieser technischen Verfahrensweisen sollen Zellen/Organismen entwickelt werden, die eine spezifische Funktion, beispielsweise die Produktion von Wirkstoffen, ausführen. Die Perspektiven der Synthetischen Biologie werden vor allem in den folgenden Bereichen gesehen:

- Synthese hochwertiger chemischer Verbindungen (z. B. Therapeutika, Nahrungsmittelzusätze) in gezielt hergestellten modifizierten Bakterien und Hefen
- Synthese von Bulkchemikalien und Biokraftstoffen (z. B. Ethanol aus Pflanzenzellwand-Polysacchariden oder Glycerin, Bioöle mithilfe modifizierter photosynthetischer Algen)

- Selbstorganisation molekularer Einheiten, um bestimmte Funktionen zu realisieren (z. B. Biomineralisation)
- Etablierung neuer Funktionsmodule und mikrobieller Wirte (z.B. durch Metagenomanalyse, Metagenom = Gesamtheit der Genome in einer Umweltprobe)
- Maßgeschneiderte Regulation (z. B. Verwendung von RNA in neu entwickelten Regulationssystemen)
- Nutzung funktioneller Biomoleküle in technischen Systemen (z. B. Biosensoren und bioelektronische Module)

Neben den anwendungsbezogenen Perspektiven besitzt die Synthetische Biologie aber auch Relevanz für die Grundlagenforschung. Die Forschung zur Aufklärung der zellulären Lebensprozesse oder zur Frage nach dem Ursprung des Lebens profitiert von den Werkzeugen der synthetischen Biologie. Was ist die Minimalausstattung einer Zelle um die Lebensprozesse aufrecht zu erhalten? Eine Minimalzelle muss in der Lage sein, (i) Information in Form von DNA und RNA zu speichern und zu prozessieren, (ii) Proteinprozessierung, -faltung und -sekretion zu bewerkstelligen; (iii) es müssen Aufnahmemechanismen für Substratmoleküle sowie Anpassungsmechanismen für Zellstruktur, Zellwand und zelluläre Prozesse existieren, und (iv) Elektronentransfer und Protonentransport zur Erzeugung protonmotorischer Kraft bzw. zur Aufrechterhaltung eines Energiemetabolismus muss gewährleistet sein. In einem *Top-down* Ansatz ist es gelungen, die Genome von zwei verschiedenen Bakterien, *E.coli* (4434 Gene) und *B.subtilis* (4245 Gene) bis auf 70 % des Ursprungswertes unter Aufrechterhaltung des Lebenszyklus zu reduzieren.¹⁹ Allerdings zeigten spätere Arbeiten, dass trotz geringer Genomgröße immer noch ein hoher Grad an Komplexität im Proteom und Metabolom vorhanden ist.²⁰

Das von Craig Venter zur Schaffung einer künstlichen Zelle publizierte Verfahren geht den umgekehrten Weg (Abbildung 3): in einem *Bottom-up* Ansatz wurden chemisch synthetisierte Oligonukleotide zu 1.078 Kassetten von je 1.000 Basenpaaren *in vitro* zusammengefügt. Daraus wurden *in vivo* (Hefe) 109 Teilstücke von je 10.080 Basenpaaren generiert, die dann wiederum in Hefe zunächst zu 11 Fragmenten mit je 100.000 Basenpaaren und schließlich zum Gesamtgenom (1.077.947 Basenpaare) verknüpft wurden. Dieses synthetische Genom wurde dann in restriktionsdefekte Zellen des Mikroorganismus *Mycoplasma capricolum* transplantiert. Ein restriktionsdefizienter Wirt war notwendig, damit die transplantierte Fremd-DNA nicht zerstört wird. Der in der nächsten Generation aus diesen transplantierten Zel-

len hervorgehende Nachwuchs hatte die genetische Ausstattung vom *Mycoplasma mycoides*, dem Organismus, dessen Genom als Vorlage für das synthetische Genom diente. Konsequenterweise wurde die neue künstliche Zelllinie „*M.mcyoides JCVI syn1.0*“ genannt.

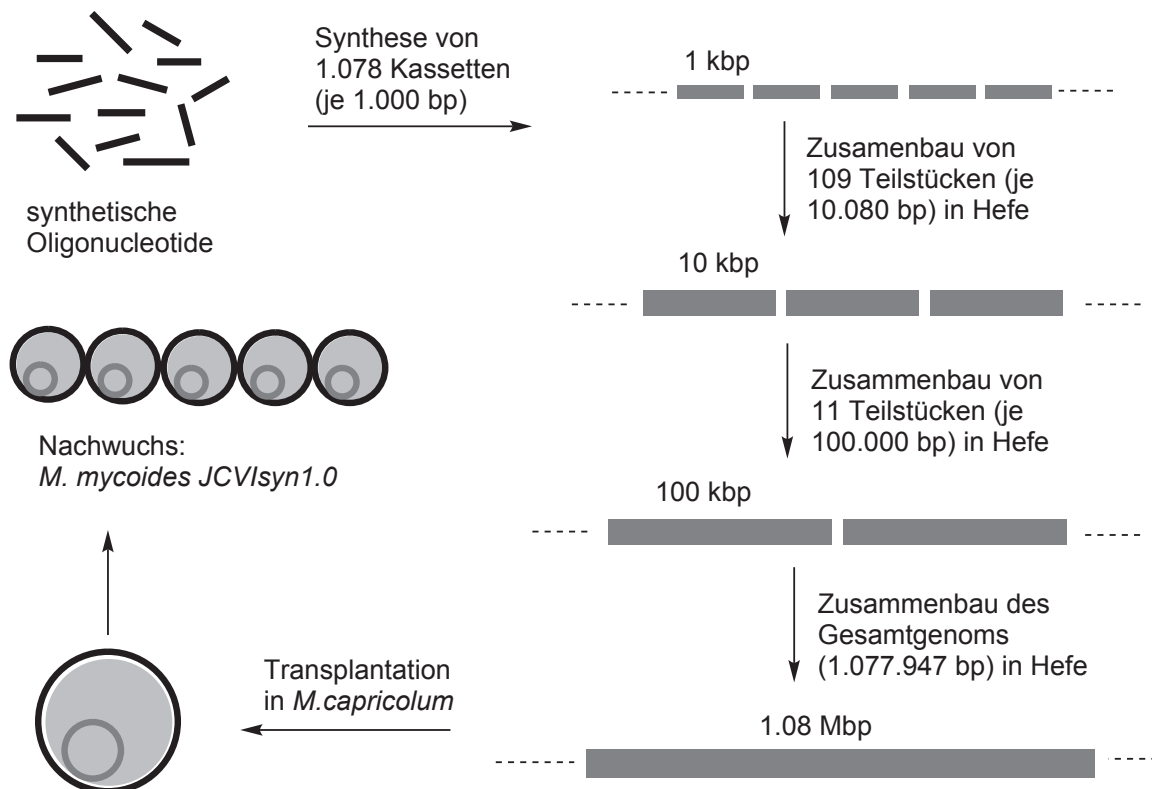


Abbildung 3: Venter-Experiment: Synthese des ersten künstlichen Bakteriums *M. mycoides JCVI syn1.0*, kbp=Kilobasen, Mbp= Megabasenpaare.

Diese erste gelungene Herstellung eines synthetischen selbstvermehrenden Organismus ist ohne Zweifel spektakulär. Dennoch ist festzuhalten, dass es sich hier nicht um künstliches Leben im engeren Sinn handelt. Die synthetisierte Bakterien-DNA ist eine Kopie eines natürlich vorkommenden Genoms und in seiner Prozessierung auf die vorhandene molekulare Maschinerie des Empfängerbakteriums angewiesen. Der eigentliche Verdienst des Venter-Experiments sind vielmehr signifikante technische Errungenschaften. Zunächst ist hier die Synthese von Oligonukleotiden in bisher ungekannter Komplexität zu nennen sowie deren schrittweise Verknüpfung in Hefe. Die Assemblierung und Vervielfältigung insbesondere von großen Genomfragmenten war bis dahin *in vitro* oder in *E. coli*-Zellen nicht möglich. Ein zusätzlicher Aspekt ist die einfachere Modifizierung (Insertionen, Deletionen, Neuordnungen etc.) bakterieller Genome in Hefe. Dadurch werden Mikroorganismen für die

Forschung zugänglich, die bis dato nur schwer kultivierbar waren. Mit der anfänglichen schrittweisen Verknüpfung der Oligonukleotide und kürzeren Genomfragmente *in vitro* wurde eine generelle neue Assemblierungsmethode für *in vitro* Anwendungen entwickelt. Weiterhin wurde die erfolgreiche Isolierung und Handhabung von Genomstücken von 100.000 bzw. 1.000.000 Basenpaaren eindrucksvoll demonstriert, und die inzwischen zum Standardrepertoire der Molekulargenetik gehörende Klonierung von Genen wurde auf die Manipulation und Klonierung ganzer Genome erweitert. Schließlich gelang die Transplantation eines ganzen Genoms in eine Empfängerzelle. In der Summe dieser Ergebnisse ist die von Craig Venter und seinem Team publizierte Arbeit ein wichtiges *Proof of Principle* Experiment, das die zukünftige Forschung um bedeutende technologische Schritte bereichert hat.

Wie ist es nun mit der synthetischen Biologie, kann sie Leben „synthetisieren“? Die Synthese und Modifikation von Genomen ist technisch möglich, sogar scheinbar einfach. Aber damit ist es nicht getan. Auch ein synthetisches Genom muss prozessiert und reguliert werden. Es muss gewährleistet sein, dass Proteine funktionell exprimiert und ebenfalls reguliert werden. Weitere Problemstellungen ergeben sich aus der notwendigen Lokalisierung der Proteine in verschiedenen Kompartimenten der Wirtszelle, der Steuerung des Kohlenstoffflusses in die gewünschte Richtung, der Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten in ausreichender Menge und anderes mehr. All diese Überlegungen laufen zusammen in der Frage: Wie geht man mit der enormen Komplexität lebender Systeme um? Venter selbst sagt dazu: „Wir können mit den digitalisierten genetischen Informationen und vier Flaschen von Chemikalien beginnen, neue Software für das Leben zu schreiben. Um Organismen anzuweisen, dringend benötigte Prozesse durchzuführen, wie die Herstellung erneuerbarer Biotreibstoffe und das Recycling von Kohlenmonoxid. Indem wir aus 3,5 Milliarden Jahren Evolution lernen, werden wir Milliarden von Jahren in Jahrzehnte verwandeln und nicht nur unsere Vorstellung des Lebens verändern, sondern das Leben selbst.“²¹ Dieser Ausblick ist überaus optimistisch, und zeichnet das Bild einer synthetischen Biologie als Werkzeug zum Nutzen der Menschheit. Für „Designer“-Chemikalien“ werden „Designer“-Zellen entwickelt. In Teilen funktioniert das schon heute. „*E. coli* statt Frisör“ könnte eine Schlagzeile lauten, denkt man an die moderne Produktion von Cystein, einer Aminosäure mit vielfältigen Einsatzgebieten, vor allem in der Pharma- und Lebensmittelindustrie. Cystein kommt in Haaren vor und wird traditionell, zum Beispiel in China, aus diesen gewonnen. Eine Tonne Haare sind notwendig, um 100 kg Cystein zu erhalten. Dabei benötigt das Isolie-

rungsverfahren 27 kg Salzsäure pro kg Cystein. Der Bedarf an Cystein beläuft sich auf mehrere tausend Tonnen weltweit! Ein alternatives gentechnisches Verfahren wurde von der Wacker Chemie entwickelt. Ein gentechnisch veränderter *E.coli* Stamm produziert Cystein, wobei 90 % des von den Bakterien produzierten Cysteins in das Endprodukt gehen. Es wird nur 1 kg Salzsäure pro kg Cystein verbraucht. Einige hundert Tonnen Cystein pro Jahr werden in 50 m³-Fermentern produziert, und damit sind bereits ca. 15 % des Weltbedarfs gedeckt.²² Die von Venter und Team entwickelten Technologien ermöglichen prinzipiell noch anspruchsvollere Vorhaben über die Produktion von relativ einfachen Chemikalien wie Aminosäuren in gentechnisch veränderten Bakterienstämmen hinaus. Die Durchführung komplexer Prozesse zur Herstellung von gewünschten Produkten in eigens dafür hergestellten Mikroorganismen, die besser auf die gewünschten Prozessbedingungen eingestellt sind als ein mit den bisherigen Methoden gentechnisch manipulierter Bakterienstamm ist dabei eine grundlegende Neuerung. Die Zukunft wird zeigen, ob sich die von Venter entwickelte Methode zu einer Schlüsseltechnologie für die Versorgung der Menschheit mit Kraft- und Wirkstoffen entwickelt, und ob sie zu den bestehenden Verfahren der Synthetischen Biologie und des *Metabolic Engineering* konkurrenzfähig sein wird. Dabei müssen die Risiken wohl im Auge behalten werden. Die Gefahr der ungewollten Freisetzung synthetischer Organismen (Biosafety) oder der intendierten Nutzung solcher Organismen für neuartige biologische Waffen (Biosecurity) sind berechtigte Vorbehalte, die als Risiken aber nicht neu, sondern jedem gentechnischem Verfahren eigen sind, und als solche schon lange diskutiert und beachtet werden. Auch die Befürchtung, lebende Systeme könnten aufgrund von Selbstorganisation und Vermehrung in ganz anderer Art und Weise außer Kontrolle geraten als klassische technische Systeme gehört zur Risikobewertung der Synthetischen Biologie. Und schließlich ändert sich die Rolle des Menschen: Durch die Schaffung künstlichen Lebens wird er vom Veränderer des Vorhandenen zum Schöpfer von Neuem. Die Herausforderung der Zukunft besteht jedoch nicht darin, mögliche Risiken zu vermeiden, sondern vielmehr darin, einen verantwortungsvollen Umgang mit diesen Risiken im interdisziplinären Konzert zu erreichen. Synthetische Biologie ist die logische Konsequenz aus den Entwicklungen der synthetischen Chemie, Molekularbiologie, Gentechnik und Bioinformatik. Sie birgt großes Potenzial für die weitere Verbesserung der Lebensbedingungen, aber auch ethische und sicherheitsrelevante Risiken. Insofern ist ihr, wie so vielem anderen auch, „Segen“ und „Fluch“ eigen. Künstliches Leben mit der ihm eigenen Komplexität ist in na-

her Zukunft nicht realisierbar. Die Natur hatte mehr als 3,5 Milliarden Jahre Zeit, Komplexität zu entwickeln. Das lässt sich auch mit der leistungsfähigsten Wissenschaft nicht in Jahrzehnten aufholen.

Quellen

- 1 D. G. Gibson et al., *Science*, 2010, *329*, 52.
- 2 J. W. Goethe, *Faust*, Verlag Martin Maschler, Berlin, 1930, p.259.
- 3 <http://syntheticbiology.org>
- 4 H. Hörz, *Leibniz Online*, 2011, *12*, ISSN 1863-3285
- 5 <http://www.ia-sb.eu/go/synthetic-biology/mission/>
- 6 <http://www.ia-sb.eu/go/synthetic-biology/synthetic-biology/code-of-conduct-for-best-practices-in-gene-synthesis/>
- 7 K. L. Agarwal et al., *Nature*, 1970, *227*, 27.
- 8 B. Hobom, *Frankfurter Allgemeine Zeitung*, 3. Oktober 1979, Beilage „Natur und Wissenschaft“.
- 9 H. G. Khorana, *Pure Appl. Chem.* 1968, *17*, 349.
- 10 K. B. Nambiar et al., *Science*, 1984, *223*, 1299.
- 11 C. M. Fraser et al., *Science*, 1995, *270*, 397.
- 12 C. A. Hutchinson et al., *Science*, 1999, *286*, 2165.
- 13 J. L. Glass et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006, *103*, 425.
- 14 C. Lartigue et al., *Science*, 2007, *317*, 632.
- 15 D. G. Gibson et al., *Science*, 2008, *319*, 1215.
- 16 J. Cello et al., *Science*, 2002, *297*, 1016.
- 17 D. K. Ro et al., *Nature*, 2006, *440*, 940.
- 18 <http://biobricks.org/>
- 19 G. Posfai et al., *Science*, 2006, *312*, 1044; E.V. Koonin & Y. I. Wolf, *Nat. Rev. Genet.*, 2010, *11*, 487.
- 20 E. Yus et al., *Science*, 2009, *326*, 1263; S. Kühner et al., *Science*, 2009, *326*, 1235.
- 21 <http://www.spiegel.de/wissenschaft/mensch/0,1518,621584,00.html>
- 22 http://www.wacker.com/cms/de/www_archive/www_2008/www_38/38_innovations/38_cystein.jsp