

iGEM



GLP.exe
TÜBINGEN

Grobe Übersicht

1. iGEM - Was ist das überhaupt?
2. Kleine Einführung in synthetische Biologie
3. CRISPR / Cas
4. Projekt 2019
5. Fragerunde

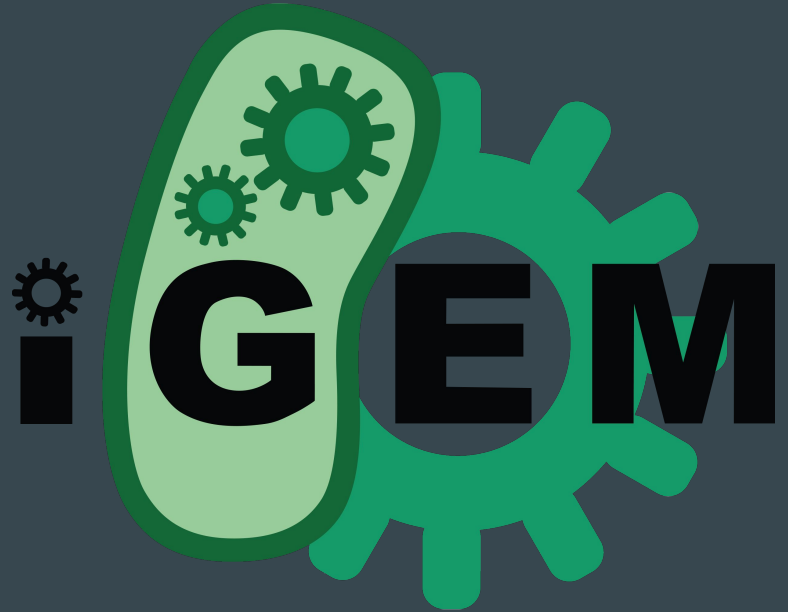
1. iGEM Tübingen



iGEM Wettbewerb, Team 2019

Was ist iGEM?

- Internationaler Wettbewerb
- Inspiration & Förderung innovativer und bedeutender Ideen in der synthetischen Biologie
- Bearbeitung relevanter und aktueller Probleme
- Interdisziplinäre Teams
- Eigenverantwortliche Organisation, Planung und Finanzierung
- Representation der Universität
- Einzigartige Weiterbildungsmöglichkeit



2. Synthetische Biologie



Lego mit DNA?

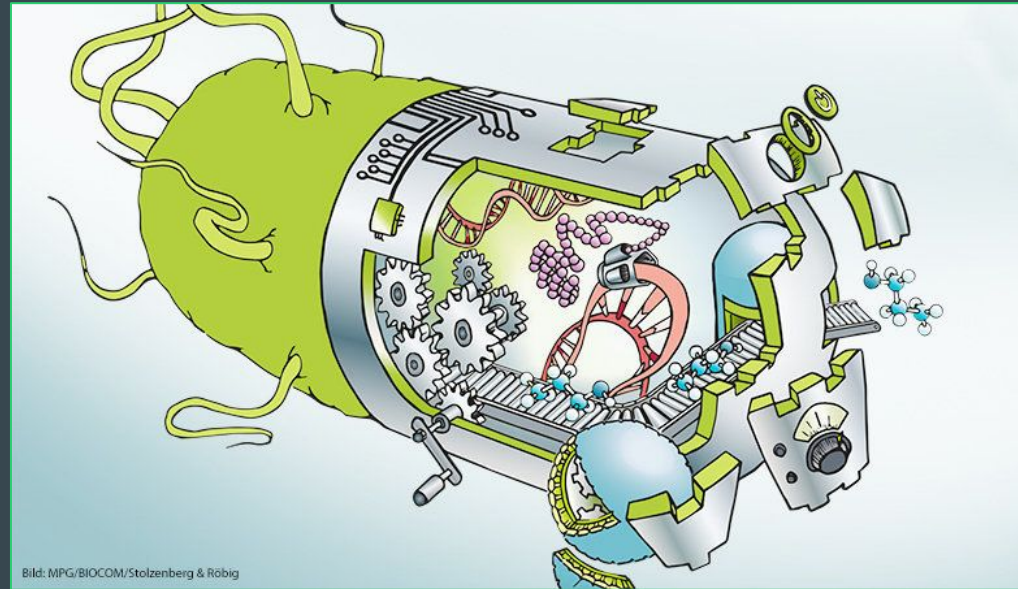
Gentechnik für gezielte Eingriffe ins Genom

- Grüne Gentechnik – Agrogentechnik – Anwendung bei Pflanzen
- Rote Gentechnik – Anwendung in der Medizin und Pharmazeutik
- Weiße Gentechnik – Anwendung in der Industrie
- Graue Gentechnik – Anwendungen speziell in der Abfallwirtschaft
- Blaue Gentechnik – Anwendungen auf Lebewesen des Meeres, insbesondere Tiefseebakterien



Synthetische Biologie als Brücke zwischen natürlichen und künstlichen Zellen

- Konstruktion von kompletten Organismen
- Standard: Biobricks
- neue Eigenschaften, biomimetische Chemie
- Minimalgenom mit biologischen Schaltkreisen



3. CRISPR/Cas

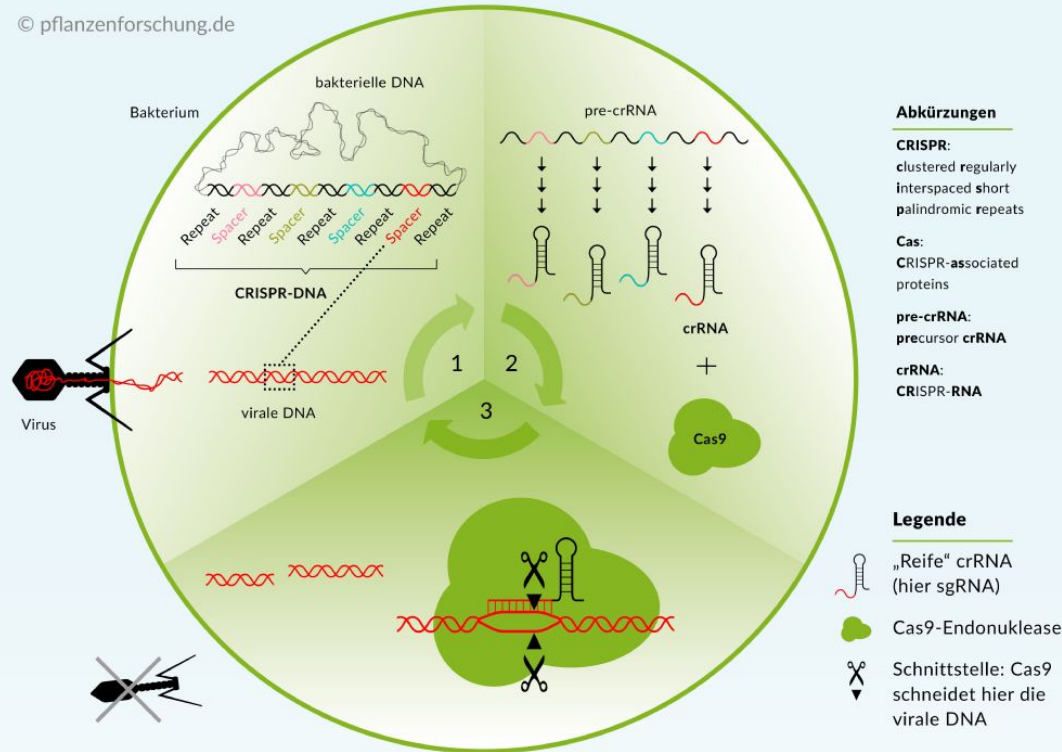


Vom bakteriellen Immunsystem zur Genschere



Die drei Phasen des CRISPR/Cas9-Prozesses

© pflanzenforschung.de



Phase 1: AKQUISITIONSPHASE

Nach der Virusinfektion wird in der CRISPR-DNA ein neuer Spacer eingefügt

Phase 2: BEARBEITUNGSPHASE

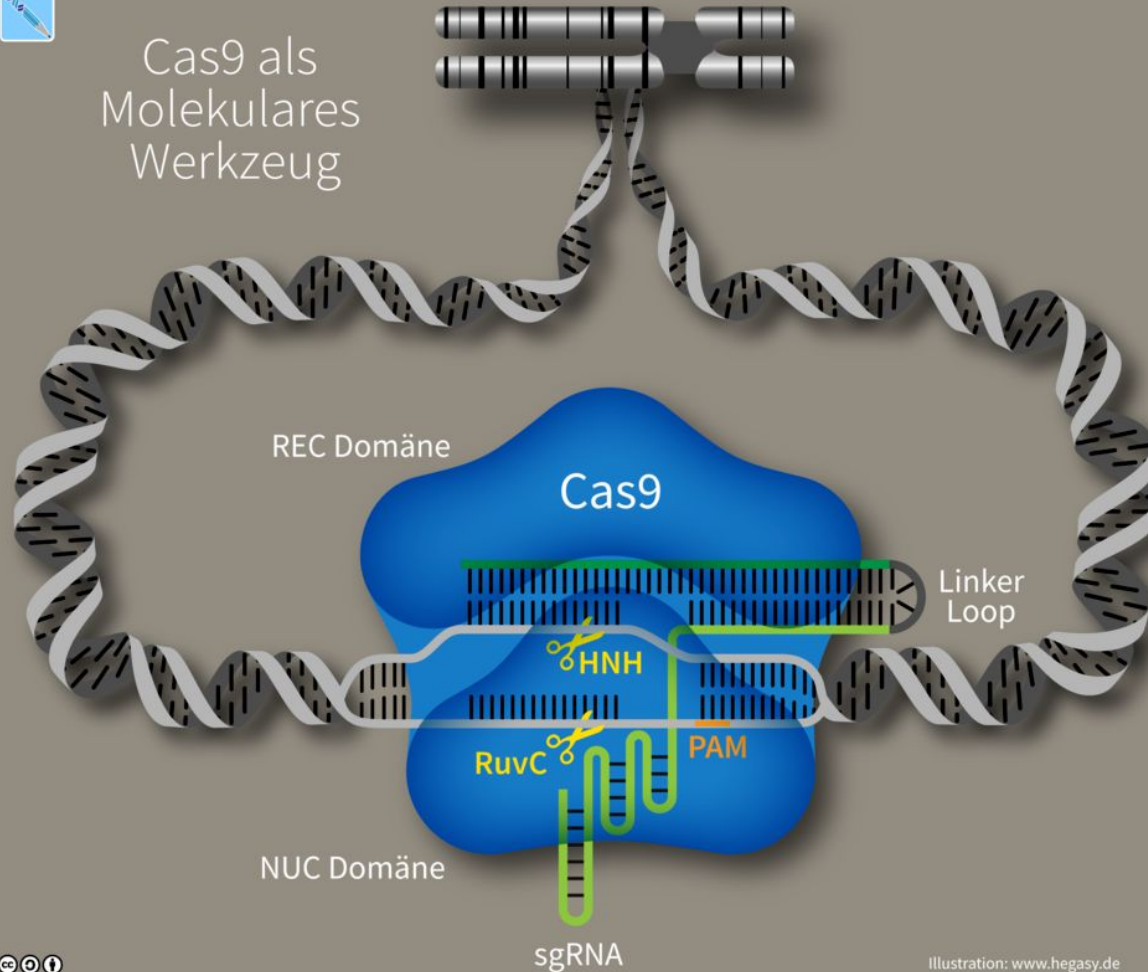
Die pre-crRNA wird in „reife“ crRNA umgewandelt

Phase 3: INTERFERENZPHASE

Das Bakterium zerstört das eingedrungene Virus, indem mithilfe der „passenden“ crRNA und Cas9 das genetische Material des Virus zerschnitten wird

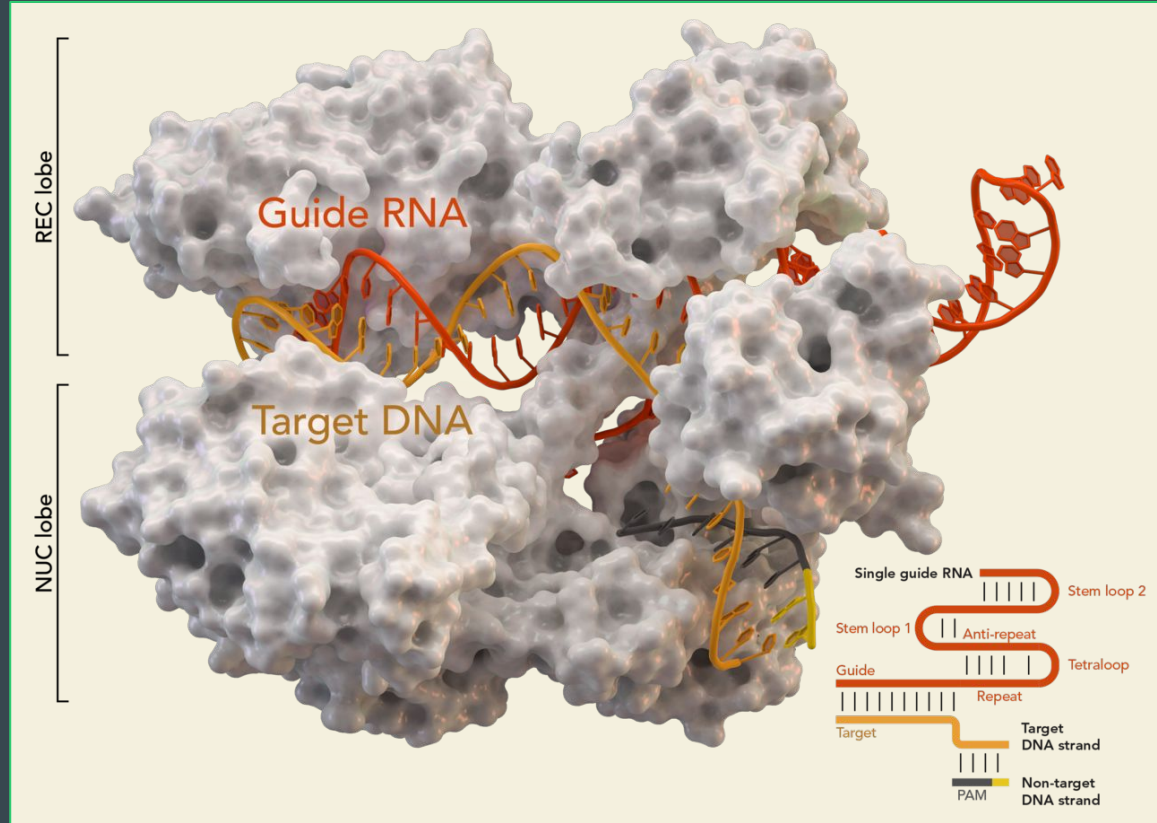


Cas9 als Molekulares Werkzeug



CRISPR-assoziiertes Protein fungiert als Genschere

- Klasse II (Cas9)
schneidet dsDNA
 - Anwendung mittels Design der sgRNA
- Klasse I (Cas3) baut die komplette dsDNA ab
 - Verwendung in unserem Projekt zum Abbau des DNA unseres Bakteriums
- Nicht-schneidendes Cas (dCas) als DNA bindendes Protein



4. Projekt 2019



Probiotikum zur Behandlung von Diabetes Typ II

Motivation: Wieso Diabetes Mellitus Typ II?

- Relativer Mangel an Insulin → verminderte Aufnahme von Glukose
 - Übermäßigen Verzehr von zuckerhaltiger Nahrung
 - genetische Gründe (Mutation in einem essentiellen Gen)

IDF Diabetes atlas:

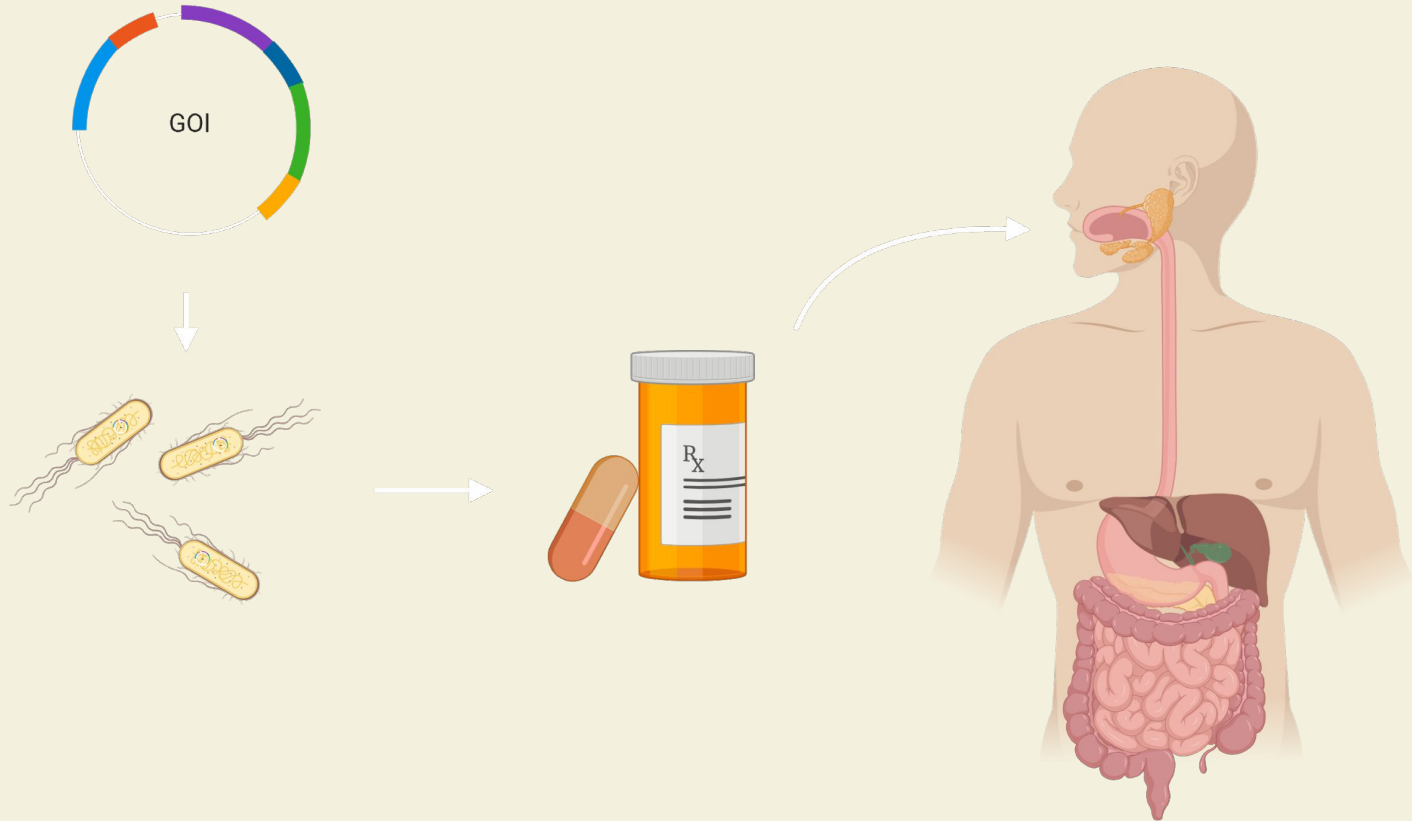
- 1 in 11 adults has diabetes (425 million)



- 12% of global health expenditure is spent on diabetes (\$727 billion)
- Three quarters of people with diabetes live in low and middle income countries



Die modifizierten *E. coli* Nissle werden gefriergetrocknet und dem Patienten als Kapsel oral verabreicht

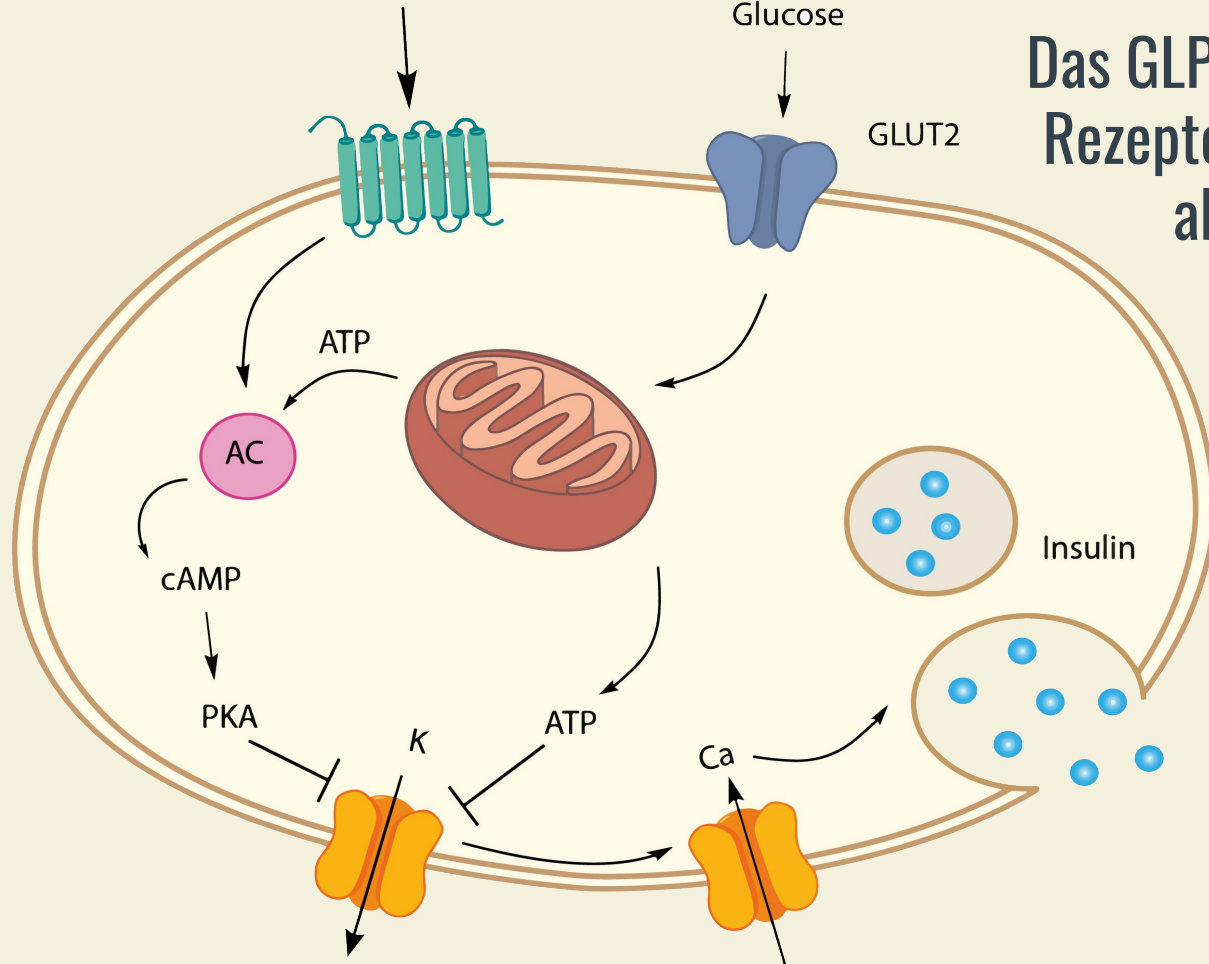


GLP-1-Analogen

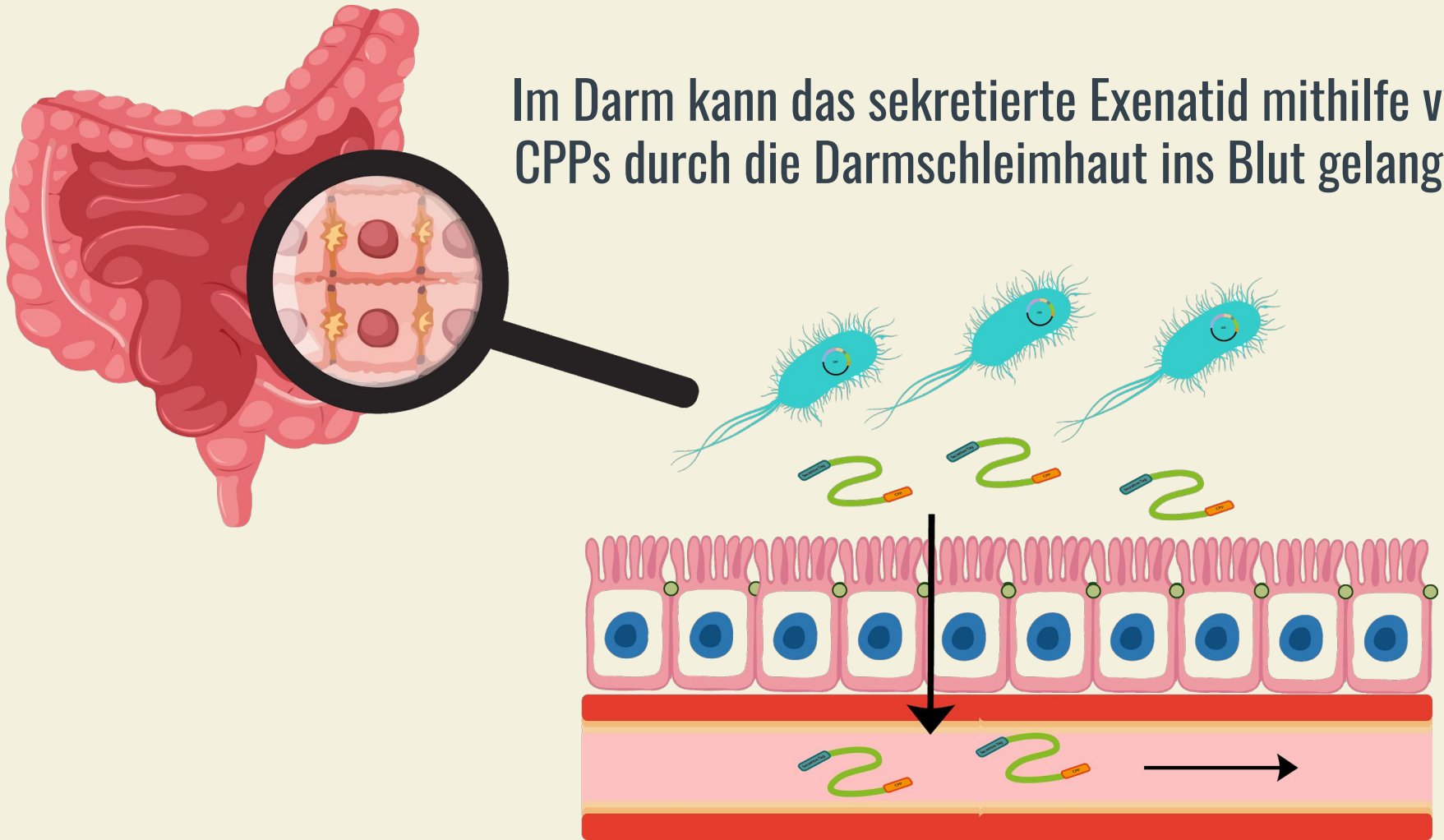
Glucose

GLUT2

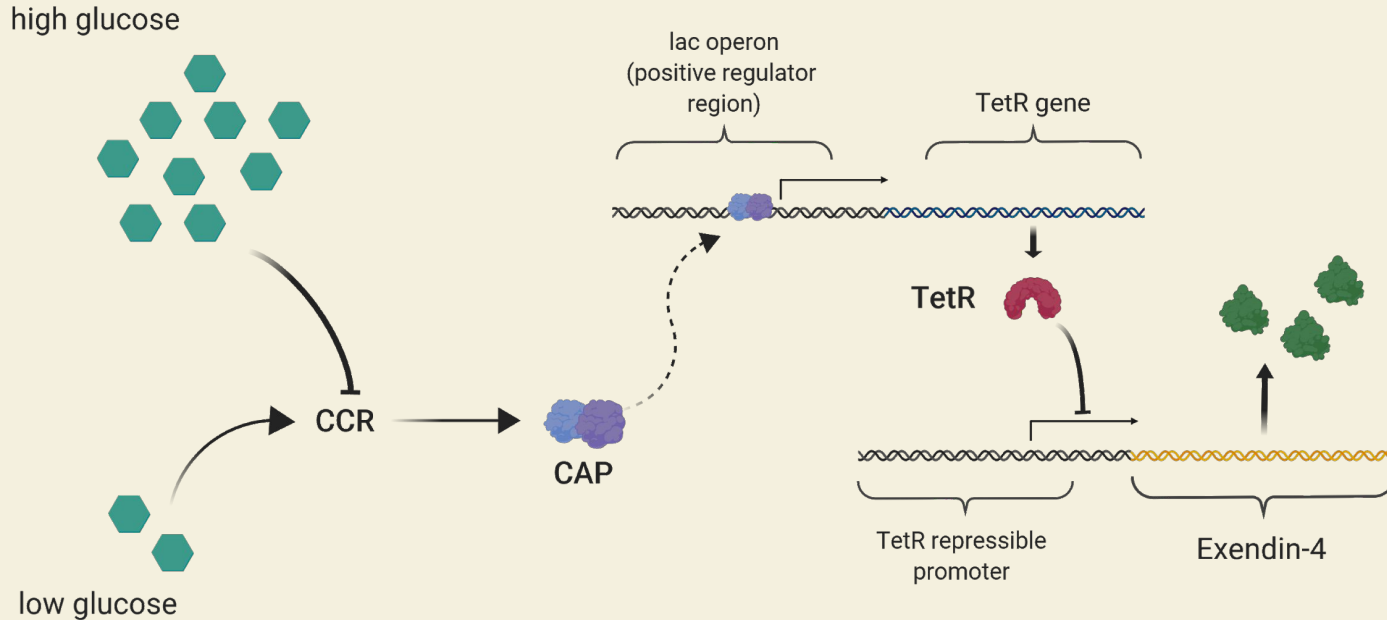
Das GLP-Analogen bindet an einen Rezeptor der den Adenylat-Zyklus aktiviert und die Produktion von cAMP initiiert.



Im Darm kann das sekretierte Exenatid mithilfe von CPPs durch die Darmschleimhaut ins Blut gelangen

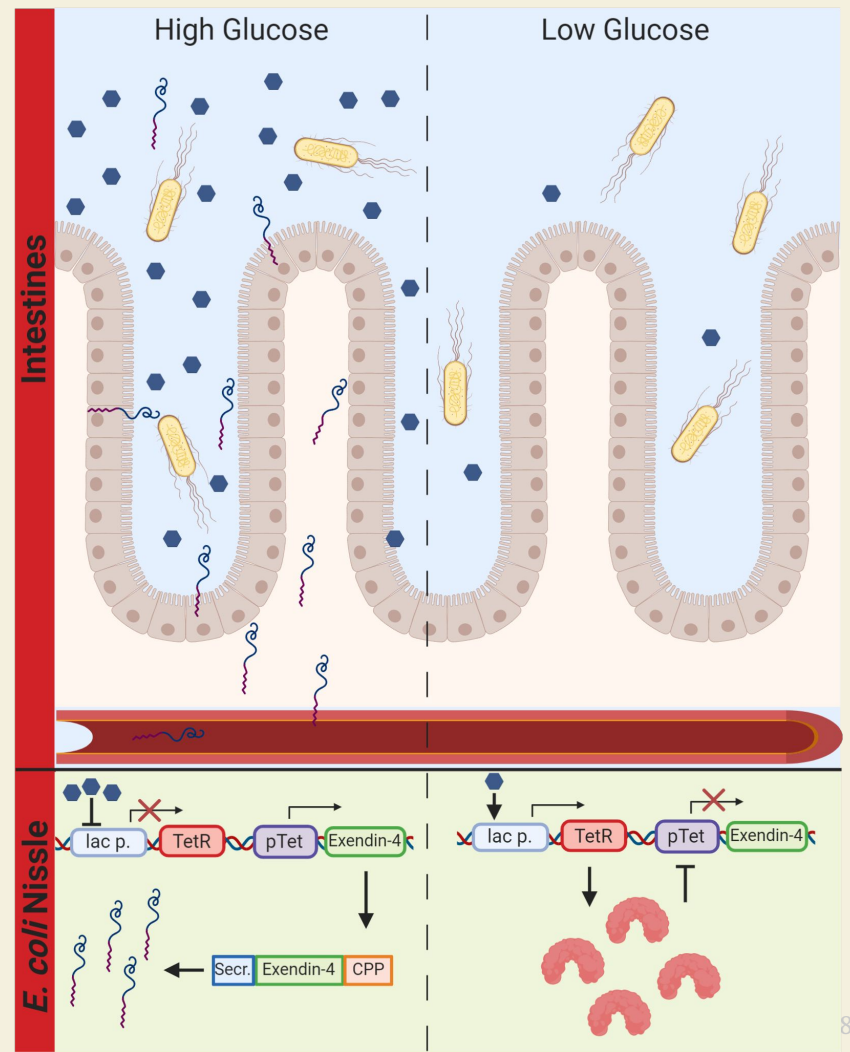


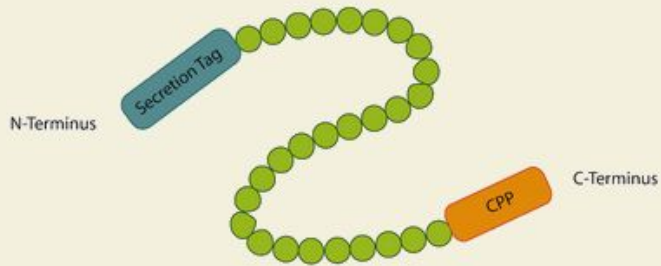
Vor Exenatid-4 befindet sich ein TetR repressibler Promotor → wird nur in Gegenwart von Glukose transkribiert



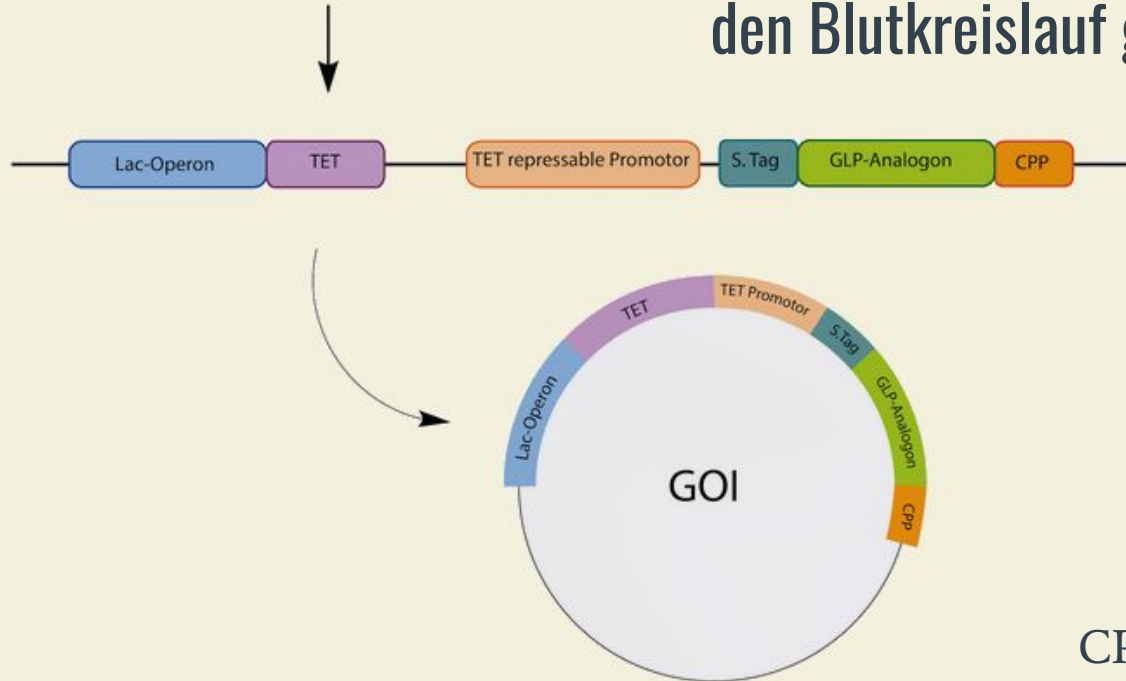
CCR = carbon catabolite repression
CAP = catabolite activator protein

Vor Exenatid-4 befindet sich ein TetR
repressibler Promotor
→ wird nur in Gegenwart von
Glukose transkribiert



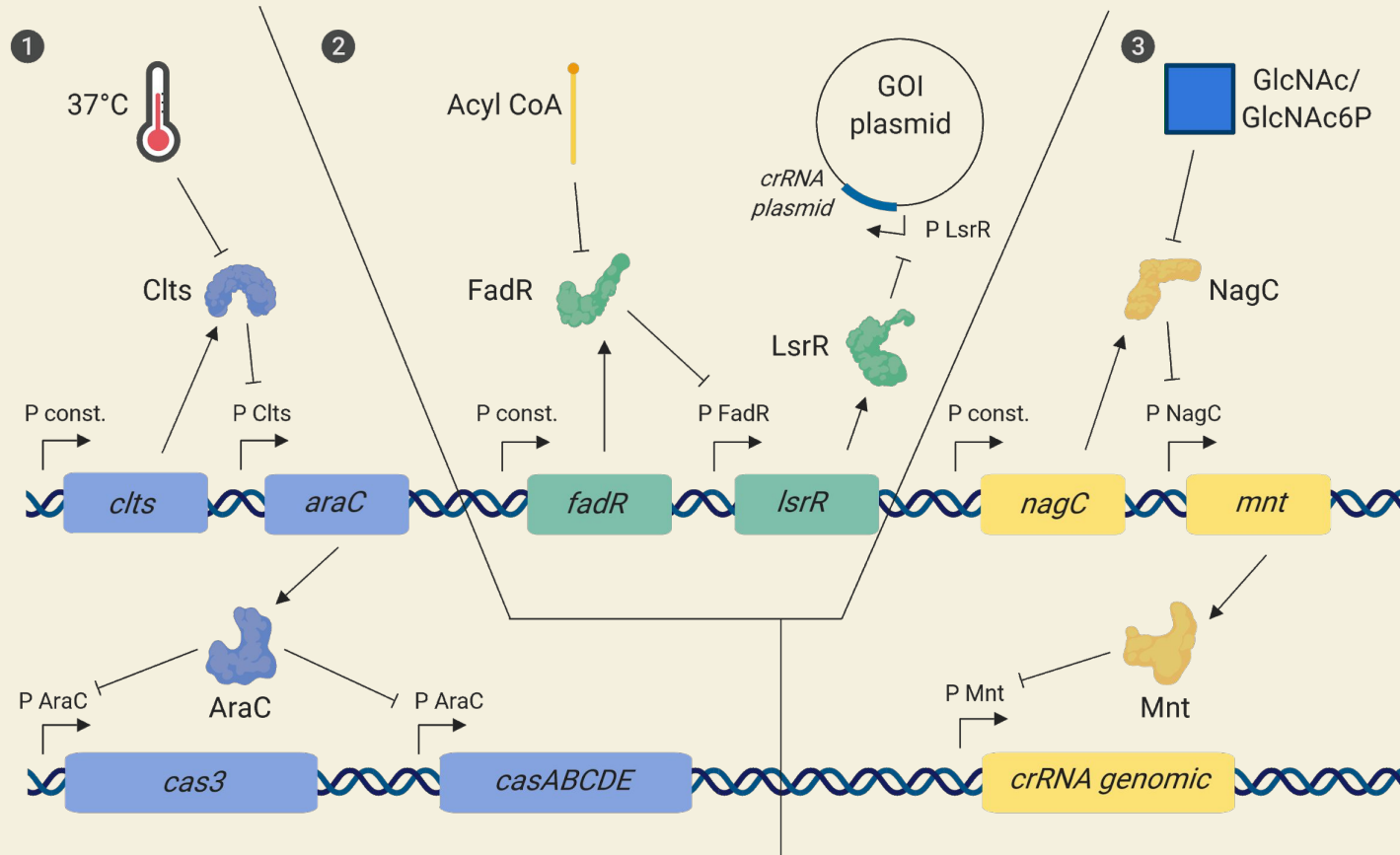


Exenatid wird mit einem Sekretionssignal und einem CPP modifiziert, damit es die Epithelzellen des Darms passieren und in den Blutkreislauf gelangen kann.

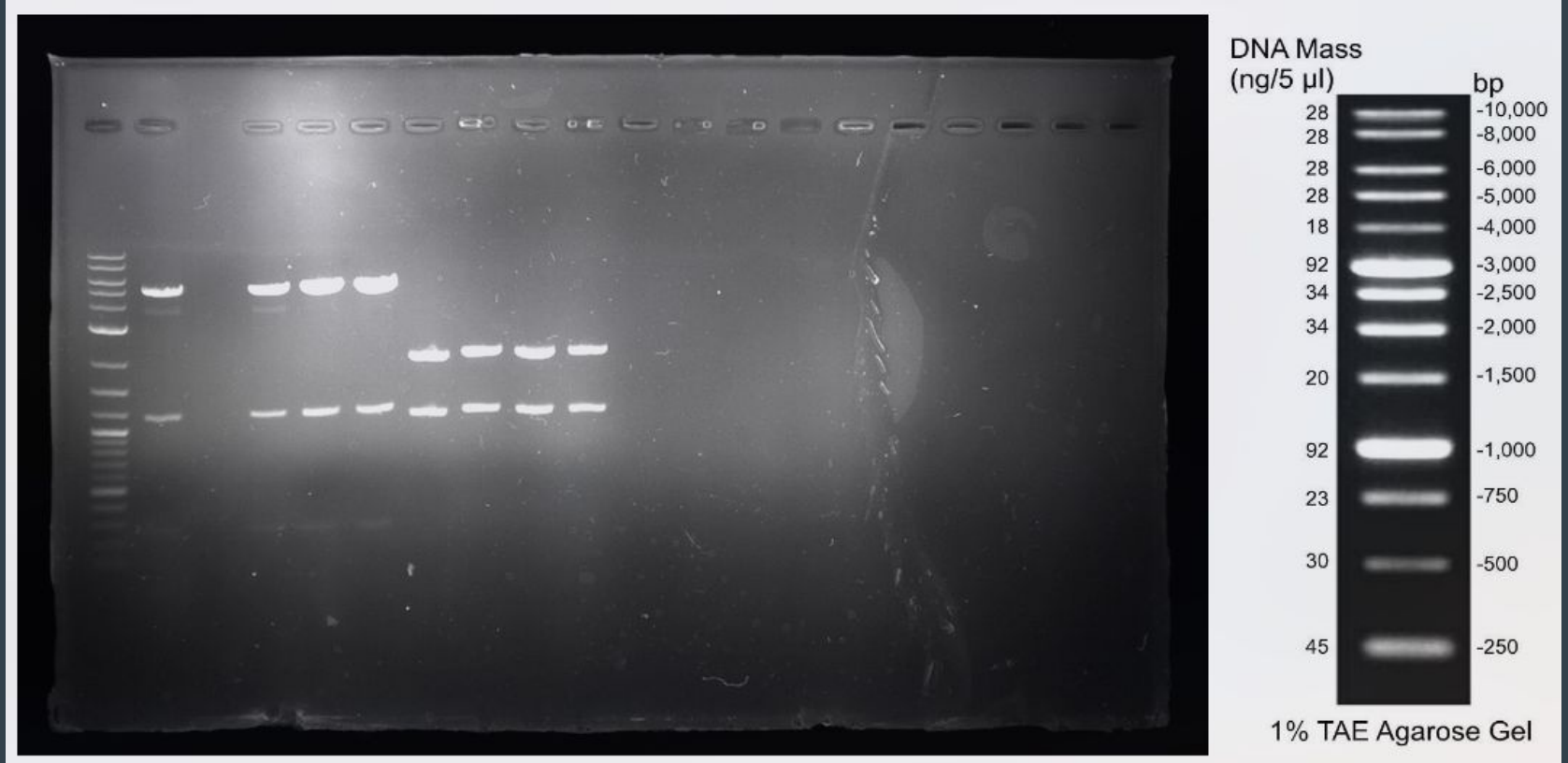


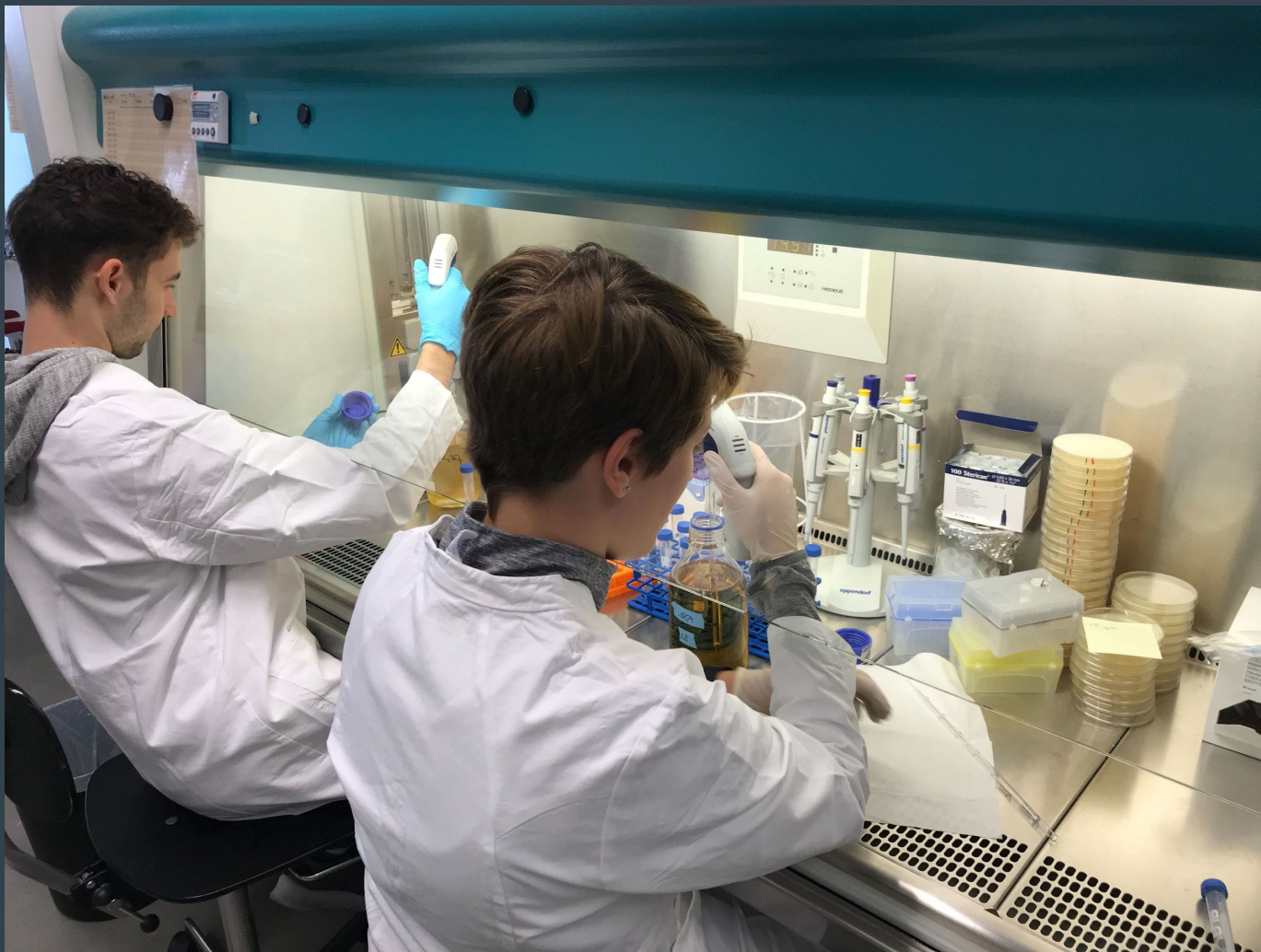
CPP = Cell Penetrating Peptide

Unser "kill switch" wird mit drei doppelt negierten Biosensoren reguliert.



Digestions after Miniprep





Team Tuebingen 2019



Danke an:

- AG Angenent (MPI, Uni Tübingen)
 - Prof. Dr. Lars Angenent
 - Dr. Pengfei Xia
 - Dr. Bastian Molitor
 - Patrick Schweizer
 - Sarah Schulz
- AG Wohlleben (Uni Tübingen)
- Prof. Dr. Klaus Harter (Uni Tübingen ZMBP)
- Angel Angelov, Christina Engesser (NCCT Tübingen)
- Dr. Vladimir Benes (EMBL)
- Dr. Lisa Maier (UKT)



Vielen Dank für Eure Aufmerksamkeit!



Mehr Infos unter...

igem-tuebingen.com

2019.igem.org/Team:Tuebingen

5. Fragerunde



Studium, iGEM, Tübingen

Wichtige Datenbanken zur Recherche

- Google Scholar: <https://scholar.google.de/>
 - Veröffentlichungen zu allen Themen
- Protein Data Bank: <https://www.rcsb.org/>
 - Proteinstrukturen, Funktionen, [...]
- NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (dazu gehört auch BLAST)
 - Genbank (DNA)
 - Pubmed (Datenbank für biomedizinische Veröffentlichungen)
 - [...]
- EMBL: <https://www.ebi.ac.uk/ena>
- Organismus-spezifisch (z.B. Drosophila - <https://flybase.org/>)
- https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_biological_databases
 - Viele, viele weitere....

Projektorganisation

- Mindestens wöchentliche Treffen
- Kommunikation in einem Chat wie Slack
 - Unterteilung in Aufgaben/Ressorts
- Teilen von Daten in der Cloud
 - Google Drive
 - Dropbox
- Gegebenenfalls Überblick anstehende Aufgaben
 - Trello

CRISPR

