

IGEM Tübingen

Ein Wettbewerb
zur Inspiration und
Förderung
innovativer und
intelligenter Ideen
im Bereich der
synthetischen Biologie



Inhalt

4 Grußworte

10 Was ist iGEM?

12 Das Team

14 Vergangene Projekte

20 Warum Sie uns unterstützen sollten

2 Sponsoren





Prof. Dr. Dr. h.c.

Detlef
Weigel

Direktor am Max Planck
Institut für Entwicklungsbiologie

Die großen Probleme unserer Zeit – seien es die unausweichliche Klimaerwärmung, die Belastung der Umwelt durch Rohstoffgewinnung oder die Verknappung landwirtschaftlicher Flächen – erfordern dringend erfinderische und effektive Lösungsmaßnahmen. Nur so kann, auch bei einer immer weiter wachsenden Weltbevölkerung, ein würdiges Leben aller Menschen auf der Erde sichergestellt werden.

Die Biotechnologie, im Speziellen die Synthetische Biologie, bietet eine Vielzahl wirkungsvoller Lösungsansätze, die nicht mehr aus unserem Leben wegzudenken sind. Nur zwei Beispiele sind die Herstellung von Humaninsulin in *E. coli* und Hefen und rekombinant hergestellte Enzyme, mit denen auch bei niedrigen Temperaturen Wäsche effektiv gereinigt werden kann.

Als Direktor am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie freue ich mich besonders über hochmotivierte, kreative junge Köpfe, die sich mit hohem Einsatz aktueller Probleme annehmen, die uns alle betreffen. Der iGEM Wettbewerb bietet nicht nur eine Möglichkeit, wichtige praktische

Erfahrungen zu sammeln, sondern er trägt auch zum internationalen Austausch junger Forscher bei und bringt jedes Jahr eine Vielzahl an Innovationen und Verbesserungsvorschläge hervor. Deshalb unterstütze ich das iGEM Team Tübingen äußerst gerne. Das Tübinger interdisziplinäre Team hat ausgezeichnete Chancen, sein originelles Projekt erfolgreich abzuschließen. Ich wünsche dem Team ein erfolgreiches Jahr, viel Durchhaltevermögen und viele neue Erkenntnisse.

Der internationale Wettbewerb Genetically Engineered Machine (iGEM) bietet den Studierenden die einmalige Gelegenheit, ihr Wissen aus dem Studium anwendungsorientiert in ein reales Problem umzusetzen. Der iGEM-Wettbewerb bietet den Studierenden wertvolle Erfahrungen im Soft Skill Bereich wie Projektmanagement, Teamkommunikation, Öffentlichkeitsarbeit und die Möglichkeit, bereits in einem frühen Stadium des Studiums an der Laborbank zu arbeiten. Das Projekt wird vom iGEM-Team selbst ausgewählt, was die Studierenden deutlich motiviert, alle Anstrengungen in die erfolgreiche Umsetzung ihrer Ideen zu stecken. Damit ist der Weg für das iGEM-Team Tübingen geebnet, in den letzten Jahren mehrere Medaillen und Auszeichnungen des iGEM-Wettbewerbs mitzunehmen. Nach dem iGEM-Wettbewerb haben die bisherigen Teilnehmer auf den Ideen aufgebaut, die sie mit ihren iGEM-Teams verfolgt haben, sie in wissenschaftliche Publikationen oder gar Start-up Unternehmen umgewandelt und generell eine erfolgreiche Karriere in Wissenschaft und Industrie begonnen. Der Bereich der Synthetischen Biologie findet in den letzten Jahren große öffentliche Aufmerksamkeit und rückt zunehmend in das Rampenlicht

der Medien. Bei bahnbrechenden Technologien wie CRISPR/Cas ist es wichtig, 1) hochmotivierte Studenten in ihrem Wunsch zu unterstützen, diese Technologien zu nutzen, um die Welt zum Besseren zu verändern, und 2) die Studenten dazu anzuleiten, an einer evidenzbasierten, aber kontroversen Diskussion über die Vorteile und Risiken dieser Technologien teilzunehmen. In diesem Jahr hat das iGEM-Team Tübingen ein Projekt rund um die CRISPR/Cas-Technologie entwickelt. Das Team wird ein innovatives mikrobielles Chassis als Konzept für mehr biologische Sicherheit im Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen entwickeln, bauen und testen.

Mit Ihrer Unterstützung können Sie zum Erfolg des diesjährigen iGEM-Teams Tübingen beitragen, um wieder nicht nur die Universität Tübingen, sondern die gesamte Region bei Outreach-Veranstaltungen, in den Medien und nicht zuletzt bei der einflussreichen Abschlusskonferenz (Giant Jamboree) am Massachusetts Institute of Technology in Boston, USA, zu vertreten.

Dr.

Bastian Molitor

**Junior - Gruppenleiter
Umweltbiotechnologische Gruppe
Universität Tübingen
und Mentor
des iGEM Team Tübingen 2019**





Theresia Bauer

**Ministerin für Wissenschaft,
Forschung und Kunst
Land Baden-Württemberg**

Die iGEM Competition, an der jedes Jahr mehrere hundert studentische Teams aus aller Welt teilnehmen, ist ohne Frage der renommierteste internationale Wettbewerb der synthetischen Biologie. Ich freue mich, dass regelmäßig auch Teams aus Baden-Württemberg teilnehmen und unser Land immer wieder sehr erfolgreich vertreten.

Der Wettbewerb bietet aber nicht nur die Möglichkeit, sich bereits im Studium international zu vernetzen. Er schafft auch erste Einblicke in die Forschung und vor allem in die interdisziplinäre und internationale Zusammenarbeit, ohne die Wissenschaft heute nicht mehr vorstellbar ist.

Mit der synthetischen Biologie widmet sich die iGEM Competition außerdem einem Themenfeld, in dem die Chancen und Risiken der modernen Biologie offensichtlich werden. Die faszinierenden Möglichkeiten der modernen Biologie gehen auch mit einer immer größeren Verantwortung einher. Daher ist die Auseinandersetzung mit der Bioethik, ebenso wie die Kommunikation mit der breiten Öffentlichkeit, ein wichtiger Aspekt des Wettbewerbs. Durch ihr Engagement im iGEM Team können die Studierenden bereits früh in ihrer wissenschaftlichen Karriere Erfahrungen hierzu sammeln.

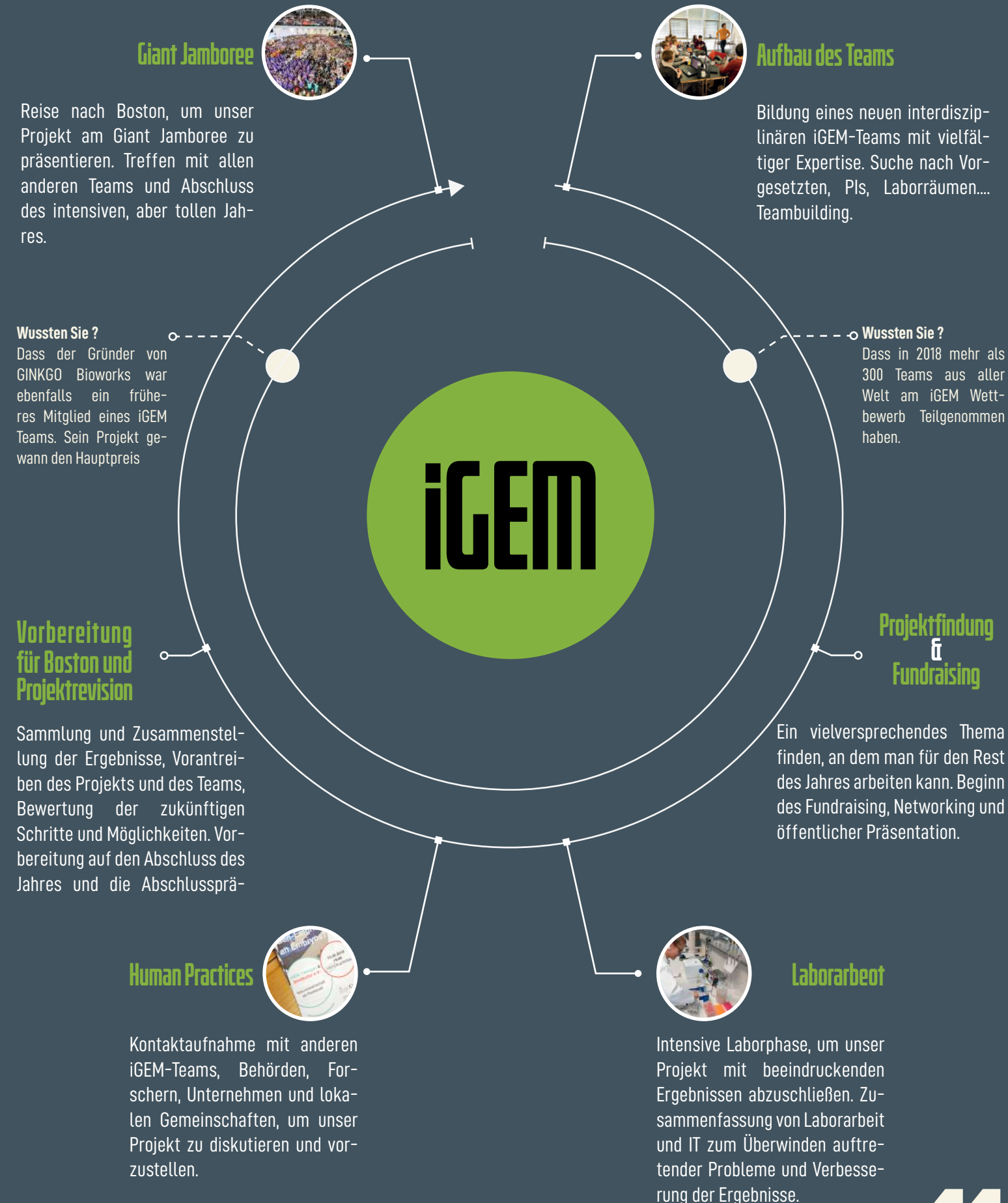
Ich wünsche dem iGEM Team Tübingen und allen anderen baden-württembergischen Teams viel Erfolg und vor allem viel Freude und wertvolle Eindrücke beim diesjährigen Wettbewerb.

Was ist iGEM?

iGEM (International Genetically Engineered Machine) ist ein internationaler Wettbewerb im Bereich der synthetischen Biologie, der auf Initiative des Massachusetts Institute of Technology in Boston ins Leben gerufen wurde. Ziel des Wettbewerbs ist es, innovative und intelligente Lösungen für relevante und aktuelle Probleme zu entwickeln. Die Teilnahme bei iGEM ermöglicht es unserem Team das in der Universität vermittelte Wissen interdisziplinär und eigenständig anzuwenden. Nicht selten kommt es vor, dass aus den Projekten wissenschaftliche Publikationen entstehen, wie beispielsweise bei unserem Projekt 2017, oder Start-Ups gegründet werden. Im Rahmen von zahlreichen Symposien auf europaweiter so wie auch internationaler Ebene und unserem Engagement für Öffentlichkeitsarbeit, Lehre

und interfakultäre Vernetzung, vertreten wir die Universität Tübingen, sowie die Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät. Der diesjährige Wettbewerb kommt mit dem Giant Jamboree in Boston zum Ende, einem Kongress mit mehreren tausend Teilnehmern, auf dem alle Projekte der involvierten Teams vorgestellt werden. Das iGEM Team Tübingen stellt seit 2011 jährlich ein iGEM Team, das durch seine herausragende Leistung in der Lage ist die Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Baden-Württemberg und Deutschland erfolgreich zu repräsentieren.

2019-2020



Wer Wir sind

Wir, das iGEM-Team Tübingen 2019, sind eine Gruppe von 15 Studierenden mitunter aus folgenden Bereichen: Biochemie, Biotechnologie, Chemie, Bioinformatik, Molekulare Medizin und Nanoscience. Mit unserem interdisziplinär aufgestellten Team werden wir uns auch in diesem Jahr mit einem spannenden und zukunftsweisenden Forschungsthema beschäftigen. Die Expertise unseres kompetenten Laborteams, die Erfahrungen aus den letzten Jahren, vereint mit unserer hohen Motivation und nicht zuletzt die Unterstützung von Forschungsgruppen und Firmen, werden uns helfen das Ziel eines erfolgreichen Projektes zu verwirklichen. Besonders am Herzen liegt uns hierbei die Sicherheit genveränderter Systeme und deren Anwendung im klinischen Bereich.

Mit unserer diesjährigen Arbeit wollen wir uns nicht nur mindestens einen der begehrten Hauptpreise beim "Giant Jamboree" in Boston verdienen, sondern auch einen Beitrag zum Fortschritt in der Synthetischen Biologie leisten.

Instruktoren



Patrick Schweizer
Umwelt Biotechnologie PhD



Sarah Schulz
Umwelt Biotechnologie PhD



Dr. Peng Fei
Umwelt Biotechnologie post Doc.

Fakultätsberater



Dr. Bastian Molitor
Junior group leader



Prof. Dr. Largus Angenent
Environmental Biotechnology

Das Team



Katharina Czik
Molekulare Medizin B.Sc



Eva Kunzelmann
Biochemie B.Sc



Patrick Müller
Molekulare Medizin B.Sc



Marie Evers
Molekulare Medizin B.Sc



Antonia Binder
Biochemie B.Sc



Jonas Steinwender
Nano-Science B.Sc



Zoe Kentischer
Biochemie B.Sc



Marco Kögel
Nano-Science B.Sc



Lukas Heumos
Bioinformatik M.Sc



Mirna Maalouf
Pharmazie M.Sc



Steffen Lemke
Bioinformatik M.Sc



Jakob Keck
Nano-Science M.Sc



Famke Bäuerle
Nano-Science M.Sc



Luzia Hamma
Kognitionswissenschaften B.Sc.



Carolin Schwitalla
Biochemie B.Sc



Lina Widerspick
Molekulare Medizin B.Sc

Vergangene Projekte

2013

Entwicklung eines **Sensors auf Hefebasis für Progesterin, einer Kontaminationsquelle im Abwasser**, durch Aktivierung der Expression von Luciferin, der quantitative spektrometrische Messungen ermöglicht.

2014

Aufbau des T-ECO-Systems (Tübinger Erythrozytenkonverter auf O), welches die für die Blutgruppen verantwortlichen Glykoproteine der Erythrozytenoberfläche verändert, um die Zellen auf die seltenere Blutgruppe O **umzustellen**.

2015

Entwicklung eines **lichtinduzierbaren Expressionssystems**, basierend auf den Dimerisierungsmöglichkeiten des fluoreszierenden Proteins Dronpa.

2016

Entwurf einer Fructoseverarbeitenden Laktobazillus zur Integration in das Mikrobiom von fructoseintoleranten Menschen. Herstellung eines Pipettierroboters zur Durchführung einfacher Klonierungsexperimente.

2017

Entwicklung eines **neuartigen Antibiotikums**, das nur gegen β -Lactam-resistente Krankheitserreger wirkt, ohne andere im Körper lebende Bakterien zu beeinträchtigen.

2018

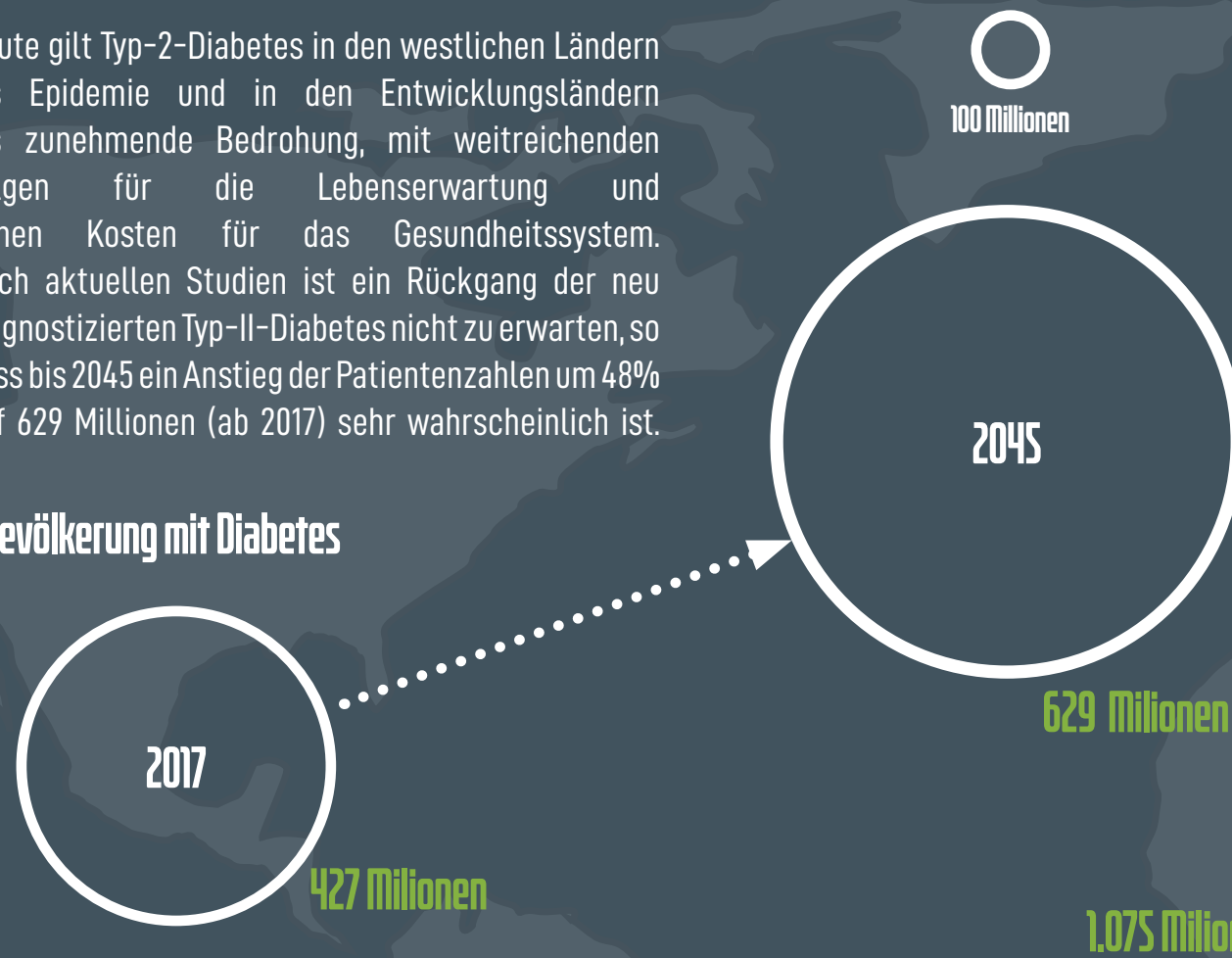
Entgiftung von Botulinumtoxinen durch Kopplung an verschiedene Substanzen, die für therapeutische Strategien und spezifisches neuronales Targeting verwendet werden. Außerdem **Homologie-Modellierungsalgorithmen, Molekulardynamiksimulationen** und ein **Entimmunisierungs-Workflow**.

2019
Wetlab

Probiotikum zur Therapie von Typ II Diabetes mellitus

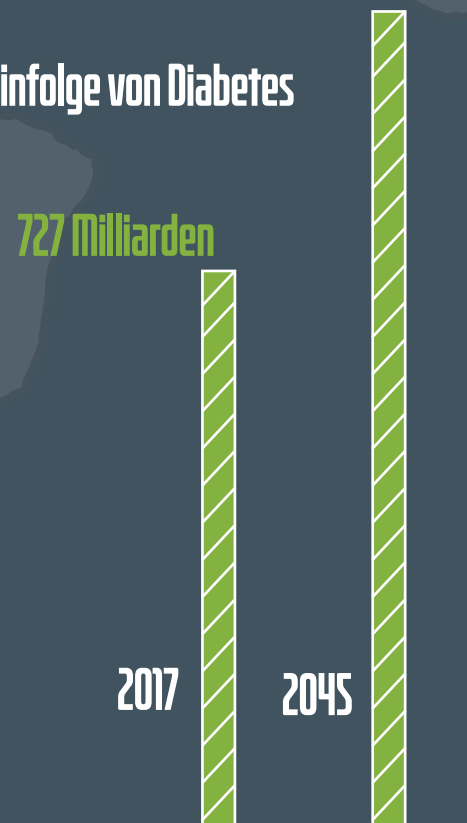
Heute gilt Typ-2-Diabetes in den westlichen Ländern als Epidemie und in den Entwicklungsländern als zunehmende Bedrohung, mit weitreichenden Folgen für die Lebenserwartung und hohen Kosten für das Gesundheitssystem. Nach aktuellen Studien ist ein Rückgang der neu diagnostizierten Typ-II-Diabetes nicht zu erwarten, so dass bis 2045 ein Anstieg der Patientenzahlen um 48% auf 629 Millionen (ab 2017) sehr wahrscheinlich ist.

Bevölkerung mit Diabetes



Ausgabe infolge von Diabetes

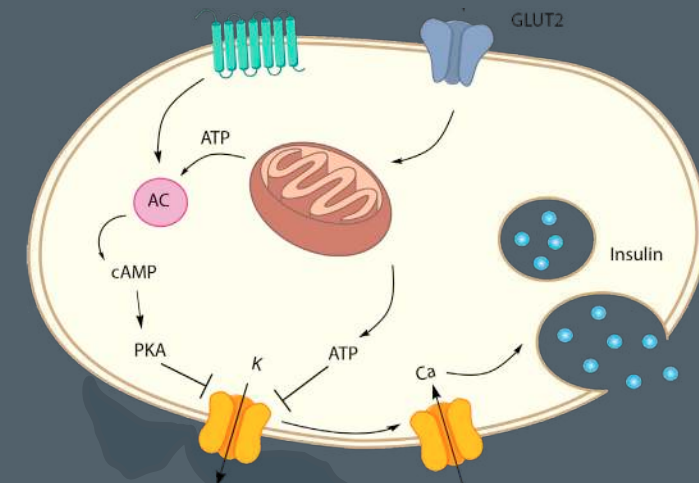
„4 Millionen Tode im Jahr
2017“



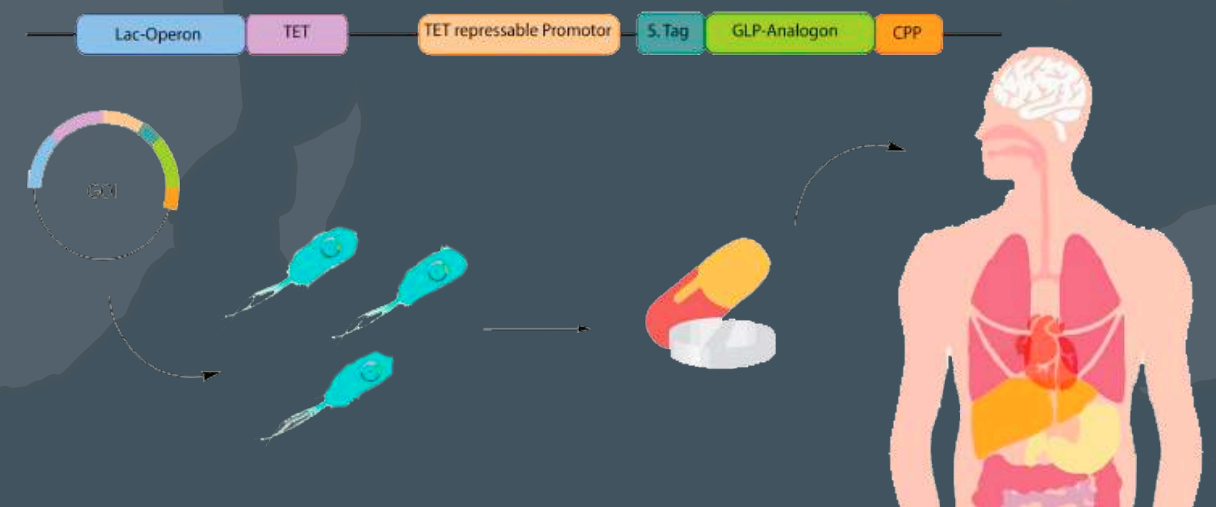
Diabetes mellitus wird durch einen Mangel an Insulinempfindlichkeit verursacht, was zu einer verminderten Aufnahme von Glukose in die Zellen und daraufhin zu einer Energiekrise der Zellen führt. Bei Typ-2-Diabetes mellitus versucht der Körper, diesen relativen Mangel durch mehr Insulinausschüttung auszugleichen. Dies führt zu erhöhtem Stress in den insulinproduzierenden Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse, was schließlich zum Zelltod führt....

Da Glucagon-ähnliches Peptid (GLP-1) bei Patienten mit Diabetes Typ 2 herunterreguliert wird, werden GLP-1-Analoga verwendet, um den „Incretin“-Effekt nachzuahmen. GLP-1 selbst wird durch das Enzym Dipeptidylpeptidase 4 (DPP4) schnell abgebaut, daher ist sein Potenzial als Medikament begrenzt. So ist unser Ziel die Synthese und Sekretion eines metabolisch stabilen GLP-1-Analogen durch das probiotische E.coli Nissle 1917.

Die Bindung des GLP-1-Analogons an den GLP-1-Rezeptor aktiviert die gekoppelte Adenylatcyclase und leitet die Produktion von cAMP ein. Die erhöhten cAMP-Werte führen zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA). Insgesamt wird dies zur Stimulation der Insulinsekretion führen, die durch einen erhöhten Kalziumioneneinstrom in die Bauchspeicheldrüsenzellen vermittelt wird.



Vereinfachte Darstellung unseres Projekts. Das Plasmid, das für das GLP-Analogon und die Signalmoleküle für die Aufnahme in den Blutkreislauf kodiert, wird in einen probiotischen E. coli-Stamm eingebracht welcher das Peptid anschließend im Darm des Patienten ausscheidet. Dieses Peptid kann über den Darm aufgenommen werden um die Insulinsekretion in der Bauchspeicheldrüse zu erhöhen. Um das extrakorporale Überleben des Organismus zu verhindern, werden wir ein Kill-Switch-System mit Regulatoren einführen, die auf der intestinalen Umgebung basieren.



Erstellen einer Datenanalysepipeline für GUIDE-Seq- und CIRCLE-Seq-Experimente zur Identifizierung von Off-Target-Sites in CRISPR/Cas9-Experimenten.

Da unsere Bioeindämmung auf einem CRISPR-System der Klasse I Typ I basiert, werden wir die CRISPR/Cas9-Technologie für den Bau des Chassis einsetzen. Die CRISPR/Cas9 (oder ähnliche) Technologie hat sich zu einem vielseitigen Toolkit für die Genbearbeitung in allen Lebensbereichen entwickelt. Jedoch sind trotz der Erfolge in vielen Fällen Off-Target-Tätigkeiten zu beobachten. Eine moderne Methode zur Bestimmung dieser Effekte ist der GUIDE-Seq-Assay. Unser Ziel ist es daher, einen reproduzierbaren und parallelisierbaren GUIDE-Seq-Datenanalyse-Workflow auf Basis des bioinformatischen Workflow-Management-Systems Nextflow zu generieren.

What is CRISPR ?

Clustered, regularly interspersed
short palindromic repeat

Nachdem die geschnittene DNA im CRISPR-Locus (ein Teil des bakteriellen Genoms) verankert wurde, wird sie transkribiert und in kleine Stücke, die sogenannte crRNA, geschnitten.

CAS9

V-DNA Repeat

Dieser Komplex rekrutiert einen weiteren RNA-Strang und zusätzlich den CAS9-Komplex. Gemeinsam sind sie nun in der Lage, bei einer erneuten Virusinfektion dessen DNA zu erkennen und zu schneiden, was das Virus harmlos macht.

Mit Hilfe der sgRNA ist es nicht nur möglich, bestimmte Genabschnitte auszuschneiden. Man ist damit auch in der Lage Mutation einzubringen, bestimmte Segmente auszuschalten oder eine ganz neue Sequenz einzuführen.

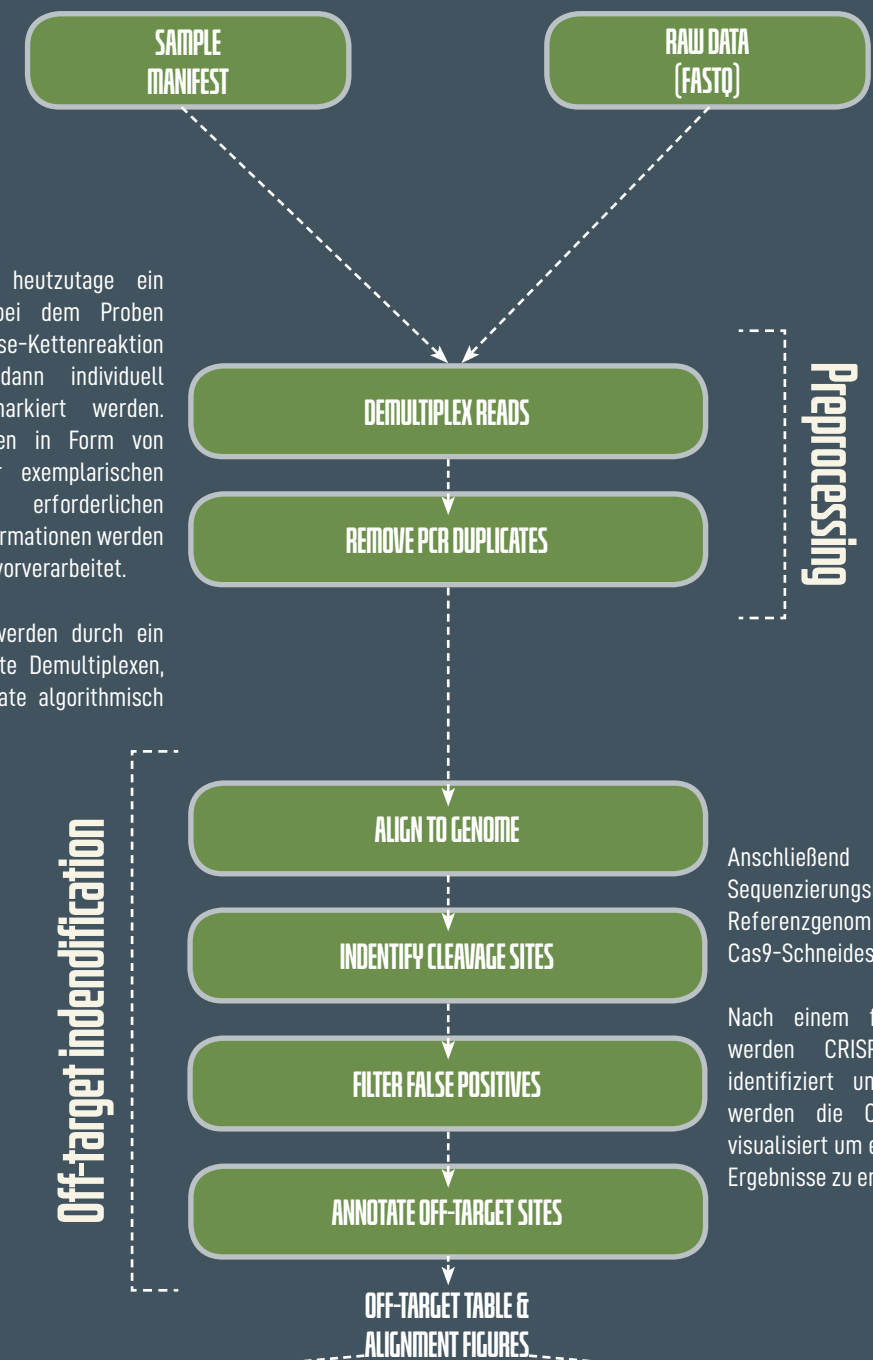
Trotz der hohen Spezifität kann es vorkommen das der CAS9 komplex an sog. Homologe Sequenzen bindet welche ein ähnliches Motiv wie die Zielsequenz besitzen. diese falschen Sequenzen nennt man Off Targets. Mit Hilfe der Bioinformatik kann man nun vorhersagen, welches diese Off-Target Sequenzen sind.

CRISPR kann als quasi adaptives Immunsystem von Bakterien betrachtet werden. Nach dem „überstehen“ einer Virusinfektion wird dessen DNA geschnitten und in das bakterielle Genom eingebaut.

Für den täglichen Gebrauch wurden crRNA und tracerRNA zu sgRNA kombiniert. Mit dieser ist es möglich, DNA-Abschnitte in Organismen mit 24 bp Länge zu erkennen und zu schneiden.

Die Sequenzierung ist heutzutage ein hochparalleler Prozess bei dem Proben zunächst über die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) dupliziert und dann individuell mit einem Barcode markiert werden. Rohsequenzierungsdaten in Form von FASTQ-Dateien und einer exemplarischen Manifestdatei mit erforderlichen experimentellen Designinformationen werden zunächst in zwei Schritten vorverarbeitet.

Die einzelnen Barcodes werden durch ein Verfahren, das so genannte Demultiplexen, aufgelöst und PCR-Duplikate algorithmisch entfernt.



Anschließend werden die Sequenzierungslesungen auf ein Referenzgenom abgestimmt und CRISPR/Cas9-Schneidestellen identifiziert.

Nach einem falsch-positiven Filterschritt werden CRISPR/Cas9 Off-Target-Effekte identifiziert und kommentiert. Schließlich werden die Off-Target-Effekte interaktiv visualisiert um eine einfache Überprüfung der Ergebnisse zu ermöglichen.

OFF-TARGET TABLE & ALIGNMENT FIGURES

1	G	A	G	T	C	C	G	A	G	C	A	G	A	A	G	A	A	G	A	A	N	G	G
	T	A
	.	.	G	.	.	T	A	A	G	A	.
A	T	C	G	A
.	.	.	C	G	.	.	G	A	C	G	G
A	.	A	.	.	A	.	A	.	.	G	A
A	C	.	.	.	T	G
A	.	.	A	G	.	.	C	G	G	A
T	C	A	.	.	.	A
.	.	.	C	A	A	G
.	.	.	.	T	A	G	T

Warum sie uns Unterstützen sollten

Das iGEM-Team Tübingen ist eine selbstständige und unabhängige Forschungsgruppe motivierter Studierender und daher auch für Organisation und Finanzierung eigenverantwortlich. Um ein erfolgreiches Projekt im Rahmen von iGEM zu verwirklichen und unsere Ziele in diesem Wettbewerb zu erreichen, benötigen wir die **Unterstützung von Firmen, Institutionen, Vereinen und Privatpersonen**. Dabei helfen uns nicht nur finanzielle Förderungen, sondern auch die Bereitstellung von Materialien und Ressourcen.

Das Mitwirken an einem iGEM-Projekt bietet jedem der Studierenden während des Projektjahres daher eine **einzigartige Weiterbildungsmöglichkeit** sich Fähigkeiten anzueignen, die mitunter auch in der zukünftigen akademischen Laufbahn bzw. dem späteren Werdegang der Teilnehmenden von Belang sind. Dazu zählen eben der Vertiefung, Erweiterung und Verbesserung der praktischen Expertise insbesondere wertvolles Wissen im Bereich der Projektorganisation, -umsetzung, -präsentation, -finanzierung sowie auch anständige Öffentlichkeitsarbeit. Dies sind auch für den späteren Werdegang **wertvolle**

Fähigkeiten, die Teilnehmer von iGEM aus der großen Masse herausstechen lässt. Da iGEM ein internationaler Wettbewerb ist, werden durch den kulturellen Austausch auch neue nationale und internationale Kontakte geknüpft. Zudem fördert der interdisziplinäre Wettbewerb nicht nur den regen Austausch zwischen den Studierenden, sondern greift durch eine enge Vernetzung und Kommunikation mit Professoren, Firmen, Forschern und ehemaligen Teilnehmern auf einen großen Wissens- und Erfahrungspool zurück.

Durch die Förderung in den letzten Jahren konnte das iGEM-Team Tübingen stets erfolgreich sein Ziel und Projekt verwirklichen. **Zudem kommen Sponsoren über das iGEM-Team Tübingen mit fähigen und motivierten, jungen Wissenschaftlern in Kontakt**, und werden mit einem innovativen, wissenschaftlichen Projekt in Verbindung gebracht. Im Gegenzug zu einer Förderung unseres Projektes eröffnet sich für unsere Förderer die Möglichkeit der Bewerbung und Repräsentation in der Öffentlichkeit, bei Präsentationen, auf unserer Website und in vielen sozialen Netzwerken.



Social Media:

Poster:

Portfolio:

Banner

kleines Logo

kleines Logo

Social Media:

Poster:

Portfolio:

Presse:

Banner

Kleines Logo

Kleines Logo

Erwähnung bei Interviews



Social Media:

Poster:

Portfolio:

Presse:

T-Shirts:

E-Mail:

Mehr:

Banner & Videos

Großes Logo

Representation auf Titelseite

Erwähnung bei Interviews

Logo auf der Rückseite

Großes Logo

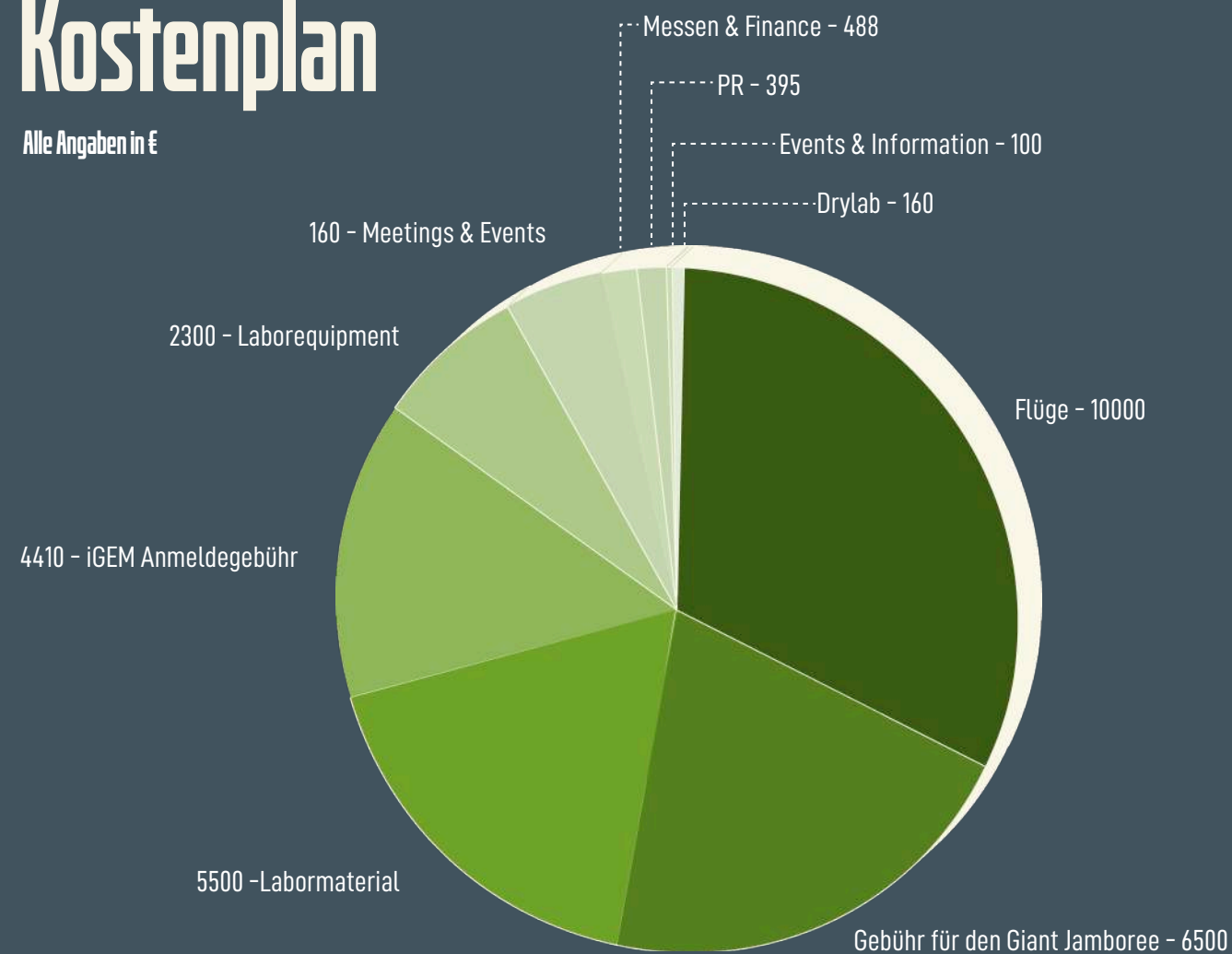
Representation auf Produkten

Sponsoring

Ein wesentlicher Bestandteil eines iGEM-Projekts ist die Finanzierung. Die Kosten die während eines Jahres intensiver Recherche zum eigenen Thema entstehen sind immens und müssen ausgeglichen werden. Nachfolgend finden Sie eine exemplarische Auflistung der Kosten unseres iGEM-Projekts.

Kostenplan

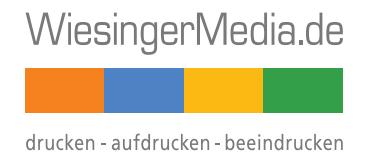
Alle Angaben in €



Sponsoren 2017/2018



MERCK



Mit der **großzügigen Unterstützung** unserer Sponsoren war es dem iGEM-Team Tübingen bisher immer möglich, erfolgreich am iGEM-Wettbewerb teilzunehmen. Durch die finanzielle Unterstützung und die Bereitstellung von Materialien haben unsere Sponsoren zu unserem Erfolg beigetragen und es uns ermöglicht, **ambitionierte Forschungsthemen selbstständig abzuschließen und eine einzigartige und hervorragende Ausbildung zu erhalten**. Da wir ein studentisch organisiertes Team sind, das für Organisation, Planung, Finanzierung und Öffentlichkeitsarbeit selbst verantwortlich ist, wäre eine Teilnahme an iGEM für uns, ohne Unterstützung nicht möglich gewesen. Unsere Sponsoren ebneten nicht nur den Weg für ein vielversprechendes Projekt sondern konnten sich auch mit hochmotivierten Studierenden austauschen und sich an der Initiierung des interkulturellen Austauschs beteiligen. **Wir sind sehr dankbar für Ihre Unterstützung und Hilfe!**

Web:

www.igem-tuebingen.de

Kontakt:

Mail: famke.baeuerle@igem-tuebingen.de

Tel: +49 176 97894002

Mail: patrick.mueller@igem-tuebingen.de

Social Media:



facebook.com/igemtuebingen



[@iGEM_Tuebingen](https://www.instagram.com/@iGEM_Tuebingen)



[@iGEM.Tuebingen](https://www.twitter.com/@iGEM.Tuebingen)

