

합성생물학의 재현성에 관한 연구

2021년 1학기 UST 현장연구 E

합성생물학전문연구단 김하성

List of students

std_name	std_acc	std_email	std_aff
김승화	user02 / userpass02	hayleykim97@kribb.re.kr	합성생물학전문연구단
김태현	user03 / userpass03	tete310@kribb.re.kr	합성생물학전문연구단
박성균	user04 / userpass04	tjdrns27@kribb.re.kr	합성생물학전문연구단
Aporva	user05 / userpass05	aporva03@gmail.com	합성생물학전문연구단
Georgii	user06 / userpass06	sdsuwe@gmail.com	합성생물학전문연구단
유병현	user07 / userpass07	yoobh256@naver.com	합성생물학전문연구단
오석진	user08 / userpass08	dhtjrws95@naver.com	합성생물학전문연구단
허성보	user09 / userpass09	ljj9322@naver.com	합성생물학전문연구단
이진주	user10 / userpass10	hsb@kribb.re.kr	합성생물학전문연구단

Introduction

2021.3.4. 목, 연구동 세미나실

생물학이 물리, 화학 분야와 다른 점 중 하나는 그 대상이 너무 복잡하다는 것임. 합성생물학은 생물학에 공학의 개념을 도입하여 복잡한 생명현상의 원리를 실제 만들어가며 이해하려는 시도임. 공학에서의 대부분의 결과물이 그렇듯 합성생물학 연구는 실제 문제에 대한 해결책을 제시하기 위한 목적을 가지고 있음. 발견과 관찰에 기반한 전통적인 생물학 연구의 패러다임이 합성생물학을 통해 발명으로 전환되었다고 볼 수 있음. 본 현장실습에서는 합성생물학 발전의 원동력이 되었던 iGEM 사례 분석을 통해 다음 세 가지 목표로 수업을 진행함.

- 합성생물학 개념 정립
- 사용된 부품/회로들의 정량적 데이터 수집 및 재현성 분석
- Rmarkdown/Rstudio 활용 능력 학습

Reproducibility in Biology

2021.3.8. 화, 연구동 소회의실

생물학에서 실험결과의 낮은 재현성은 생물학 연구의 발전을 저해하는 고질적인 문제임.¹ 이는 생명체의 복잡성에서 기인한다고 볼 수 있으며 Rmarkdown의 철학 또한 이러한 재현성의 관점에서 해석할 수 있음. 다음은 이러한 Rmarkdown 철학과 필요성에 대한 영상임.

Garrett Grolemond | R Markdown The bigger picture | RStudio (2019)

Rmarkdown은 Rstudio의 강의를 링크 참고하며 Markdown은 Pandoc의 문법을 링크 참고.

Data collection - iGEM teams

2021.3.11. 목 Remotemeeting

Naver cloud 사용하려 했으나 연구원 정책상 클라우드 사용은 금지되어 있어서 활용 못 함. 우선 각자 개인 PC에 R/Rstudio 설치 요청. 추후 효과적인 자료 공유 방안 고민 필요.

igem.org 에서 5~10개 팀을 선정하고 각 팀의 이름, 위키페이지, 요약 등을 각자 자유롭게 작성하여 카톡으로 제출. 아래 리스트의 pdf 외 파일 타입은 다른 이름으로 저장하여 확인.

- 2-2 iGEM Team 선정 박성군.pdf
- 210311 현장연구_김태현_210311_160543.pdf
- 210311 iGEM 팀 선정-이진주.hwp
- iGEM 유병현.docx
- iGEM_AporvaGupta.xlsx
- iGEM_Georgii.xlsx
- igem_오석진.xlsx
- 현장연구 E 210311 수업 김승화.hwp
- iGEM_허성보.xlsx

Rmarkdown practice

2021.3.15. 월 Remotemeeting

목표

- 각자 정리한 iGEM 정리한 테이블을 검토하고 공통적으로 선택한 team이 있을 경우 논의를 통해 조정
- 본인이 선택한 team에서 사용한 방법 이해
- 본인이 선택한 team에서 사용한 DNA 부품, 회로 정리
- Rmarkdown, R 사용법 실습 (아래 참고)

할 일

- Rstudio 접속: <http://192.168.122.155:8787>
- 주어진 계정 (user02~user10) 으로 로그인
- 프로젝트 생성, 프로젝트이름은 ResearchE-userxx
- Markdown 연습 링크
- Rmarkdown 연습 링크
- 본인이 정리한 iGEM team과 다른 사람이 정리한 iGEM team 비교
- 각자 정리한 iGEM 정리한 테이블이 모두 다른 포맷, 내용이나 이를

References

- (1) Begley, C. G.; Ellis, L. M. Raise Standards for Preclinical Cancer Research. *Nature* **2012**, 483 (7391), 531-533.

2-2 iGEM Team 선정

2021년 3월 11일 목요일 오전 10:17

iGEM의 Overgraduation Team을 5개 선정하고
Feature를 선정하여 Markdown이용

- ☐ NANOFLEX
Wiki : <https://2020.igem.org/Team:UofUppsala/>
Description : Biosensor의 Regulator를 Antibody Variable region으로 대체하여 활용
Epitope를 Cell 외부로 표지하여 Marker와 결합 되도록 하였음.
Tag : Biosensor
- ☐ TAS_taipei
Wiki : https://2020.igem.org/Team:TAS_Taipei/
Description : 바이러스 감염 진단 시 낮은 농도의 Virus를 감지하기 위하여 Rolling PCR 방법 도입. + RNA에 특이적인 Polymerase이용 낮은 농도에서 감지.
Original method : 침, 검체 면봉을 이용하여 RT-PCR kit 이용. - 고온 PCR머신 필요
iGEM method : 37도 내외의 온도에서 적용 가능하며 Circular DNA를 Directly 증폭하여 감도, 특수성을 높임
Tag : Virus
- ☐ UC Davis
Wiki : https://2020.igem.org/Team:UC_Davis/Design-computational
Description : 방선균등 곰팡이의 BOE를 탐색하기 위한 DNA sequence기반 전사인자 탐색 프로그램
Original method : MEME 프로그램(DNA sequence FASTA파일에서 PWM 생성) 이용,
Sequence 자동생성프로그램을 이용하여 무작위로 생성한 Sequence중 Promoter PWM을 선정하여 Model에 이용.
Tag : Program
- ☐ UNILausanne
Wiki : <https://2020.igem.org/Team:UNILausanne/Description>
Description : CRC(대장암) 치료를 위한 E.coli nizzel biosensor system. /
항암 펩타이드의 Oscillation을 구현하는 Circuit을 Design하여 지속적 항암제 투여
Tag : therapeutics

iGem review

iGEM

주소: iGem site

List

2020

Therapeutics

Team: Cornell

- wiki
- North America(US)
- Title: A novel bacteria therapy and monitoring for metastatic breast cancer
- Content: 기존 유방암 치료방법인 Chemotherapy의 단점을 해소하기 위해 Trichosantin을 사용한 bacterial therapy를 진행함과 동시에 bacteria에서 항시발현되는 형광단백질을 imaging할 수 있는 device를 통해 진단 까지 가능하도록 디자인함.

Team: Harvard

- wiki

현장연구 210311

iGEM 팀 선정

이진주

TU Kaiserslautern

https://2020.igem.org/Team:TU_Kaiserslautern

- ▶ 목표 : IPBES에 의한 동식물 멸종 / microtoxic pollutants에 의한 수질 오염
- ▶ 방법 : Green algae *Chlamydomonas reinhardtii*를 이용한 micropollutants 분해 효소 발현.

Leiden

<https://2020.igem.org/Team:Leiden/Description>

- ▶ 목표 : Pandemic 상황을 빠르게 해결하기 위해 global한 질병 진단 방법 필요
- ▶ 방법 : Pathogenic species의 핵산을 빠르게 감지하기 위한 방법 개발
isothermal DNA amplification method에 colorimetric readout을 병행함.
pathogen genome에 맞는 여러 세트의 프라이머를 사용, 다양한 pathogen에 적용될 수 있도록 함. (specificity 문제 고려 필요)

AFCM-Egypt

<https://2020.igem.org/Team:Leiden/Description>

- ▶ 목표 : DNA-launched RNA replicons를 이용한 Breast cancer 백신 개발 연구
- ▶ 방법 : DNA vaccine circuit 제작, multi-epitope DNA vaccine 생산

EPFL

<https://2019.igem.org/Team:EPFL/Description>

- ▶ 목표 : 전염성이 강한 식물 관련 질병을 빠르게, 현장에서 탐색할 수 있는 진단 키트 개발
- ▶ 방법 : 수 주에서 수 시간으로 진단 시간 감소, 현장에서 진단 가능
마이크로니들을 이용한 DNA 추출, RPA reaction 후 paper disc에 반응시키면 확인 가능

Munich

<https://2019.igem.org/Team:Munich/Description>

- ▶ 목표 : 유전자 발현의 dynamics를 시간에 따라 모니터링하기 위한 기술 개발
- ▶ 방법 : ALiVE (Analysis of Living cells via Vesicular Export)
BioBrick에 기반하여 exosome 분비와 viral budding 과정을 조절해 특정 transcripts를 living cell에서 배출되도록 함.

TU_Eindhoven

https://2019.igem.org/Team:TU_Eindhoven/Description

- ▶ 목표 : AMR (항생제 저항성)을 감소시키고 항생제의 대체제를 찾고자 함.
- ▶ 방법 : 필요한 항생제를 정확히 진단함으로써 항생제의 남용과 broad-spectrum 항생제

2018

Team:Bilkent-UNAMBG

<http://2018.igem.org/Team:Bilkent-UNAMBG>

항생제 수질오염 문제

Penicillin Bioremediation

Engineering bacteria that can capture penicillin in wastewater

Team:Rice

<http://2018.igem.org/Team:Rice>

majority of biological parts have only been characterized in specific model organisms such as *Escherichia coli* or *Saccharomyces cerevisiae*.

expand the range of synthetic biology applications by developing tools which would facilitate the expression of genetic constructs in a wider variety of strains.

Team:Yale

<http://2018.igem.org/Team:Yale>

플라스틱 문제

Our project aimed to tackle PET pollution by genetically engineering a synthetic *Escherichia coli* and *Acetobacter baylyi* co-culture to degrade and metabolize PET.

2019

Team:TU_Kaiserslautern

https://2019.igem.org/Team:TU_Kaiserslautern

플라스틱 문제

Revolutionizing plastic degradation by introducing *Chlamydomonas reinhardtii* as a eukaryotic secretion platform

Team:Ionis_Paris

https://2019.igem.org/Team:Ionis_Paris

cinergy

버려지는 담배꽂이 때문에 환경오염

담배꽂이를 에너지로 바꿈

Team	Wiki Page	Title	Problem	Solution	Summary
IIT-Roorkee	https://2020.igem.org/Team:IIT-Roorkee/Parts	Pyomancer	Hospital Acquired Infections from multi-drug resistant bacteria	Antibacterial fusion protein	Design of novel antimicrobial protein complexes made by fusion of pyocins and bacteriophage tail fiber proteins
IISER-Berhampur	https://2020.igem.org/Team:IISER_Berhampur/Model	FRaPpe	Lack of antivirals or vaccines against Dengue Virus	FRET based high throughput screening method	FRaPpe system when cloned and transfected will report which peptides work best in interrupting host-virus PPIs
Manchester	https://2020.igem.org/Team:Manchester	Hipposol	Coral bleaching associated with traditional sunscreen products	Hipposudoric acid to act as a natural sunscreen	Used retrosynthesis and Flux balance analysis to design a biochemical pathway to generate hipposudoric acid
Harvard	https://2020.igem.org/Team:Harvard	MOTbox	Developing a delivery system for antibodies against COVID-19	Machine Learning with DNA origami	Designed and computationally validated a novel DNA origami nanostructure to selectively deliver the optimized antibody sequences to immune cells for rapid antibody production in vivo
Stanford	https://2020.igem.org/Team:Stanford/Description	SEED	Lack of resources for testing during the COVID-19 Pandemic	Self-replicating diagnostic system	Creating a cell that is a live test that can infinitely replicate itself, be grown anywhere around the world, and wouldn't require any expertise or lab equipment to administer or read

Figure 5: Aporva

Team Name	Project title	Wiki	Description	Problem	Solution
Queens-Canada	Velcriston	https://2020.igem.org/Team:Queens_Canada	Biosensor for monitoring in vivo levels of phosphate, potassium, parathyroid hormone, FGF23 and glucose	Lack of real-time and fast detection of phosphate levels	Complex of biomarker binding proteins and fluorophore pairs (for FRET)
Nantes	The A3 project	https://2020.igem.org/Team:Nantes	Sulfuric acid production from degraded algae	Green algae overgrowth on water: green tides produce H ₂ S which causing toxic effects resulted several deaths of dogs, horses, humans	Enzyme cocktail for algae cell wall degradation, sulfate reduction into H ₂ S and chemical conversion of the latter into sulfuric acid
NEFU-China	BOLD	https://2020.igem.org/Team:NEFU_China	Landmine detection biosensor	Detection of landmines left after wars have weaknesses and limitations, including substantial cost, high misdetection rates, susceptible to electromagnetic interference, etc.	Engineered bacteria inside the device can sense DNT (dinitrotolene) and its metabolite THT, and then produce optical signal
Moscow	HaploSense	https://2020.igem.org/Team:Moscow	Hepatitis C virus genotype detection	Expensive testing or the impossibility to perform tests in peripheral regions. Clinical importance of genotype differentiation, often wrong genotype determination	CasX-based portable detection system
EPFL	EspressoEAU	https://2020.igem.org/Team:EPFL	Pesticides detection in drinkable water using yeasts	Determination of trace amount of pesticides is usually performed in analytical laboratories, thus villagers cannot fastly on-site assess quality of water	Low-cost, easy-to-use on site yeast based biosensor

Figure 6: Georgii

team name	year	track	wiki	problem	solution
NCKU_Tainan	2019 grand prize	Therapeutics	https://2019.igem.org/Team:NCKU_Tainan	It is complicated to focus on treating Chronic Kidney Disease	targeting the root (the accumulation of uremic toxins) of the problem is going to bring a greater effect in solving this issue.
TU_Kaiserslautern	2019 Second Runner up	Environment	https://2019.igem.org/Team:TU_Kaiserslautern	plastics are accumulated and 400,000,000 MT OF CO ₂ are produced by burning plastic every year	decomposing PET into its monomers terephthalic acid and ethylene glycol by transferring the genes for the enzymes PETase and MHETase into the genome of green alga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
Valencia_UPV	2018 grand prize	New Application	http://2018.igem.org/Team:Valencia_UPV	Access to Synthetic Biology by an interested Printer is a fully-equipped bioengineering layperson is currently hampered by several barriers, device able to automate the process of including a required background knowledge and printing genetic circuits in bacteria but availability of expensive and often bulky technological made as simple and easy to operate as a equipment.	domestic desktop printer.
Vilnius-Lithuania	2017 grand prize	Foundational Advance	http://2017.igem.org/Team:Vilnius-Lithuania	The SynORI framework enables scientists to build a multi-plasmid system in a standardized manner by(1. selecting the number of plasmid groups 2. choosing the copy number of each group 3. Picking the type of copy number control (specific to one group or regulating all of them at once).	making synOri
William_and_Mary	2017 first runner up	Foundational Advance	http://2017.igem.org/Team:William_and_Mary	to be able to control the dynamical properties of circuits —to move beyond circuits that focus on endpoint, steady-state values and explore the rich variety of dynamical systems.	Degradation Based Control of Gene Expression Speed/Orthogonal Degradation Tags/Modeling
Marburg	2018 Grand Prize Winner	Foundational Advance	http://2018.igem.org/Team:Marburg	We have seen a renaissance of research into <i>Vibrio natriegens</i> , the world's fastest growing bacterium. <i>V. natriegens</i> has a lot of potential to become the next universally applicable chassis organism, challenging <i>E. coli</i> 's dominance. To fully realize this potential, several steps have to be taken.	by providing the research community with open source strains, tailored specifically to cloning, protein expression and interaction. Additionally, we conducted basic microbial research, establishing procedures and protocols for cloning and molecular biology research.

Figure 7: 오석진

현장연구 E 210311 수업 김승화

1. Amsterdam

Team code: 343761

Track: Information processing

Title: Forbidden FRUITS: stable microbial production strategies for non-native compounds

Student Leaders:

Dennis Dekker

Robin Laird

Student Members:

Joris Visser

Kelly Klomp

Samira van den Bogaard

MINGDONG LIU

Diana Victoria Ramírez López

wiki: <https://2020.igem.org/Team:Amsterdam>

methods: medium and stock preparation, Phusion PCR, Gel Purification for plasmids, Inoculation of liquid culture, Experiments in 24 well plate cultivator, gRNA insertion on background replicative plasmid, Transformation a plasmid into E.coli, Conjugation of plasmids into Synechocystis using E.coli, CRISPR Cpf1 in Synechocystis, Drylab guidelines(Python, PEP8, Gitlab)

2. GO_Paris-Saclay

Team code: 342728

Track: Information Processing

Title: HuGenesS

Student Members:

Guillaume Garnier

Mathieu Nairabeze

Godefroy Glaude

Baptiste ORTHEAU

Ines Yousfi

Delphine POLVÉ

Clémentine Sejotte

Ekaterina Aleksenko

Alice CARON

Nathan Chatelet

Florent Poubanne

Maxime Mahout

Ibrahim Soumana Adamou

wiki: https://2020.igem.org/Team:GO_Paris-Saclay

No.	Team	Country	Track	Prize	Project	Method	Wiki
1	Leiden	Netherlands	Diagnostics	Grand Prize Winner	COVID-19 진단 검사 개선	모듈식으로 구성된 DNA/RNA 진단 키트 개발	https://2020.igem.org/Team:Leiden
2	Aachen	Germany	Foundational Advance	First Runner up	ATP 생산 과정 개선	순환 ATP 생성용 생물 반응기 개발	https://2020.igem.org/Team:Aachen
3	TuDelft	Netherlands	Food & Nutrition	Best Track Award	메뚜기때 퇴치를 통한 농작물 보호	메뚜기 유전자 표적 박테리오파지 활용 바이오 살충제 개발	https://2020.igem.org/Team:TUdelft
4	Groningen	Netherlands	Food & Nutrition	Track Award Nomminate	뿌리 기생 선충류 퇴치를 통한 농작물 보호	선충류 기피 물질 분비 박테리아 증 형성 분말 개발	https://2020.igem.org/Team:Groningen
5	Calgary	Canada	Food & Nutrition	Gold medal	낙후 지역 비타민A 보급 방안 마련	비타민A 생산 효모 균주 개발	https://2020.igem.org/Team:Calgary
6	UPCH_Peru	Peru	Food & Nutrition	Gold medal	서리로 인한 농작물 피해 해결	얼음 결정 성장 방지 단백질(AFP) 비료 개발	https://2020.igem.org/Team:UPCH_Peru
7	Lethbridge	Canada	Food & Nutrition	Bronze medal	감자의 질병 내인성 및 영양소 증진	항진균성 항균 펩티드(AMP) 발현 감자 개발	https://2020.igem.org/Team:Lethbridge

Figure 9: 허성보