Synthetische Biologie

synVicII – ein zweites Chromosom für *Escherichia coli*

SONJA JULIA MESSERSCHMIDT, TORSTEN WALDMINGHAUS

LOEWE-ZENTRUM FÜR SYNTHETISCHE MIKROBIOLOGIE, SYNMIKRO, UNIVERSITÄT MARBURG

DOI: 10.1007/s12268-015-0565-z
© Springer-Verlag 2015

■ „Lernen durch Bauen“ beschreibt einen zentralen Leitsatz der Synthetischen Biologie. Getreu diesem Motto baut unsere Arbeitsgruppe synthetische Chromosomen, mit dem Ziel, natürliche Chromosomen besser zu verstehen. Im Vergleich zu anderen Konstruktionsdisziplinen befinden wir uns in Bezug auf synthetische Chromosomen allerdings noch im Otto-Lilienthal-Gebrüder-Wright-Stadium, und es ist sicherlich mit „Abstürzen“ zu rechnen. Um trotzdem aus Fehlkonstruktionen lernen zu können, ist es wichtig, die grundlegende Physiologie der Zelle und damit das primäre Chromosom unverändert zu lassen. Um dennoch ein Chromosom bauen zu können, sollte dieses als zusätzliches Chromosom in der bakteriellen Zelle funktionieren. Eine naheliegende Strategie hierfür wäre, eine Kopie des Replikationsursprungs von *Escherichia coli*, *oriC*, als Grundlage für ein weiteres Replikon in der Zelle zu verwenden. Allerdings konkurrieren in diesem Fall die beiden Replikationsursprünge miteinander, was häufig zur Integration des zusätzlichen Replikons in das Hauptchromosom führt. Wie

könnte also die Ko-Existenz von zwei Chromosomen in einer Bakterienzelle realisiert werden? Die Antwort liefern Bakterien, die ihre genetische Information natürlicherweise auf zwei Chromosomen speichern, etwa der Cholera-Erreger *Vibrio cholerae*. Die beiden *V. cholerae*-Chromosomen werden von jeweils einem Replikationsursprung aus, mit jeweils einem spezifischen Initiatorprotein, repliziert. Dass der Replikationsursprung des zweiten Chromosoms von *V. cholerae* (*oriII*) in *E. coli* funktioniert, ist seit einiger Zeit bekannt [1]. Wir haben nun auf Grundlage von *V. cholerae oriII* das synthetische Mini-Chromosom synVicII gebaut und erfolgreich in *E. coli* eingebracht [2]. Das Design von synVicII erlaubt zum einen eine einfache Integration großer DNA-Stücke durch rekombinationsbasiertes Assemblieren in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* (Abb. 1). Zum anderen wurde ein System zur einfachen Messung der Stabilität von synVicII und seinen Varianten integriert. Dieses System basiert auf der Messung eines instabilen Fluoreszenzreporters in einzelnen Zellen mittels Durchflusszytometrie. Mithilfe dieses Assays konnten wir zeigen, dass synVicII stabiler an die Nachkommen weitergegeben wird als ein *oriC*-basiertes Replikon. Andere Experimente zeigten, dass die Kopienzahl von synVicII in *E. coli* derjenigen des Hauptchromosoms entspricht. Interessanterweise beginnt die Replikation von synVicII aber erst, nachdem etwa 60 Prozent des Hauptchromosoms repliziert sind. Dieses Timing spiegelt das Verhalten von

Chromosom II in *V. cholerae* wieder. Das wiederum bedeutet, dass synVicII als Modell für die DNA-Replikation in *V. cholerae* dienen könnte, die als attraktiver Angriffspunkt für die Entwicklung von *Vibrio*-spezifischen Antibiotika gilt [3]. Für die Biotechnologie wiederum sind sekundäre Chromosomen generell hochinteressant, weil sie die einfache Handhabung von Plasmiden mit der Stabilität von Chromosomen kombinieren. ■

Literatur

- [1] Egan ES, Waldor MK (2003) Distinct replication requirements for the two *Vibrio cholerae* chromosomes. *Cell* 114:521–530
- [2] Messerschmidt SJ, Kemter FS, Schindler D et al. (2015) Synthetic secondary chromosomes in *Escherichia coli* based on the replication origin of chromosome II in *Vibrio cholerae*. *Biotechnol J*, doi: 10.1002/biot.201400031
- [3] Yamaichi Y, Duigou S, Shakhnovich EA et al. (2009) Targeting the replication initiator of the second *Vibrio* chromosome: towards generation of Vibrionaceae-specific antimicrobial agents. *PLoS Pathog*, doi: 10.1371/journal.ppat.1000663

▲ **Abb. 1:** Konstruktion des synthetischen sekundären Chromosoms synVicII (gelb) in *Escherichia coli* auf Grundlage des Replikationsursprungs von *Vibrio cholerae*-Chromosom II (rot).

Sonja Julia Messerschmidt und Torsten Waldminghaus

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Torsten Waldminghaus
LOEWE-Zentrum für Synthetische Mikrobiologie, SYNMIKRO
Philipps-Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße
D-35032 Marburg
Tel.: 06421-28-23338
Fax: 06421-28-24430
torsten.waldminghaus@synmikro.uni-marburg.de
www.synmikro.com/waldminghaus