

Naam:
Klas:

Synthetische biologie

Wat is er mogelijk en wenselijk?



Colofon



Universiteit Utrecht



Freudenthal Instituut
voor Didactiek van Wiskunde en Natuurwetenschappen

v3.0

Deze lesmodule is ontwikkeld door het Freudenthal Instituut voor Didactiek van Wiskunde en Natuurwetenschappen, in het kader van het Europese project SYNENERGENE.

Auteurs

Miranda Overbeek, Marie-Christine Knippels, Dirk Jan Boerwinkel,
Liesbeth de Bakker, Vera Weetzel, Michiel van Harskamp

Illustraties

Jenty Heijstek

Vormgeving

Miranda Overbeek

Op deze lesmodule is de Creative Commons Naamsvermelding Niet-commercieel Gelijk delen 3.0 Nederland Licentie van toepassing (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/nl>).

Bij vragen of opmerkingen kunt u contact opnemen met het Freudenthal Instituut (fisme@science.uu.nl).



Deze lesmodule is ontwikkeld met subsidie van het 'European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration' (subsidieovereenkomst nummer: 321488).

Inhoud

Onderdeel 1:	
Synthetische biologie: Wat is het en wat kan je ermee?	4
Onderdeel 2:	
Een iGEM-toepassing van synthetische biologie kiezen.....	9
Onderdeel 3:	
De iGEM-toepassing uitwerken.....	11
Onderdeel 4:	
Hoe wenselijk is jullie iGEM-toepassing?.....	13
Onderdeel 5:	
Presentaties en dialoog.....	18

ONDERDEEL 1

Synthetische biologie: Wat is het en wat kan je ermee?

Filmpje

Je krijgt een filmpje over synthetische biologie te zien. Lees eerst de volgende opdrachten.



<https://youtu.be/UHBdEwNbXI0>

Opdracht 1

Na 2.50 wordt het filmpje stopgezet. Wat is, volgens het filmpje, synthetische biologie?.

.....

.....

.....

.....

.....

In het tweede deel van het filmpje wordt een aantal toepassingen van synthetische biologie besproken. Vul de onderstaande tabel verder in.

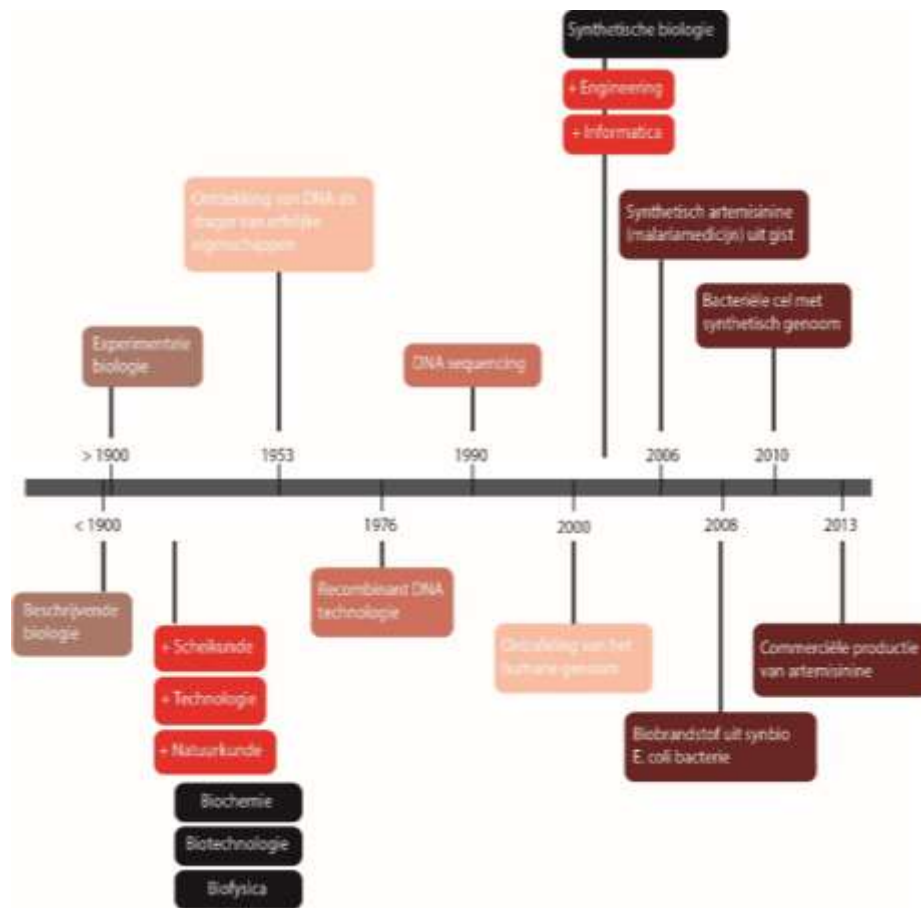
Technieken	Toepassingen
DNA knippen en plakken / recombinant DNA technologie	E. Chromi: detecteert verschillende concentraties van een giftige stof

Geschiedenis

Toen biologen aan het begin van de 20^e eeuw gingen samenwerken met natuurkundigen, scheikundigen en technologen leidde dit tot grote ontwikkelingen. Dit zijn bijvoorbeeld de opkomst van de biotechnologie en de ontwikkeling van nieuwe technieken, zoals de recombinant DNA technologie en DNA sequencing. Toen biologen aan het begin van de 21^e eeuw ook gingen samenwerken met informatici en engineers (ontwerpers/bouwers), leidde dit tot de opkomst van de synthetische biologie (zie figuur 1).

Synthetische biologie (synbio) is dus een wetenschapsgebied waarin verschillende specialismes samenwerken. In de synbio worden bestaande technieken, zoals de recombinant DNA technologie en DNA sequencing, verder ontwikkeld. Met deze vernieuwde technieken kunnen onderzoekers nieuwe biologische systemen ontwerpen en bouwen. Ze kunnen bijvoorbeeld nieuwe functies in een bestaande cel, weefsel of organisme brengen, of zelf nieuwe cellen creëren met synbio.

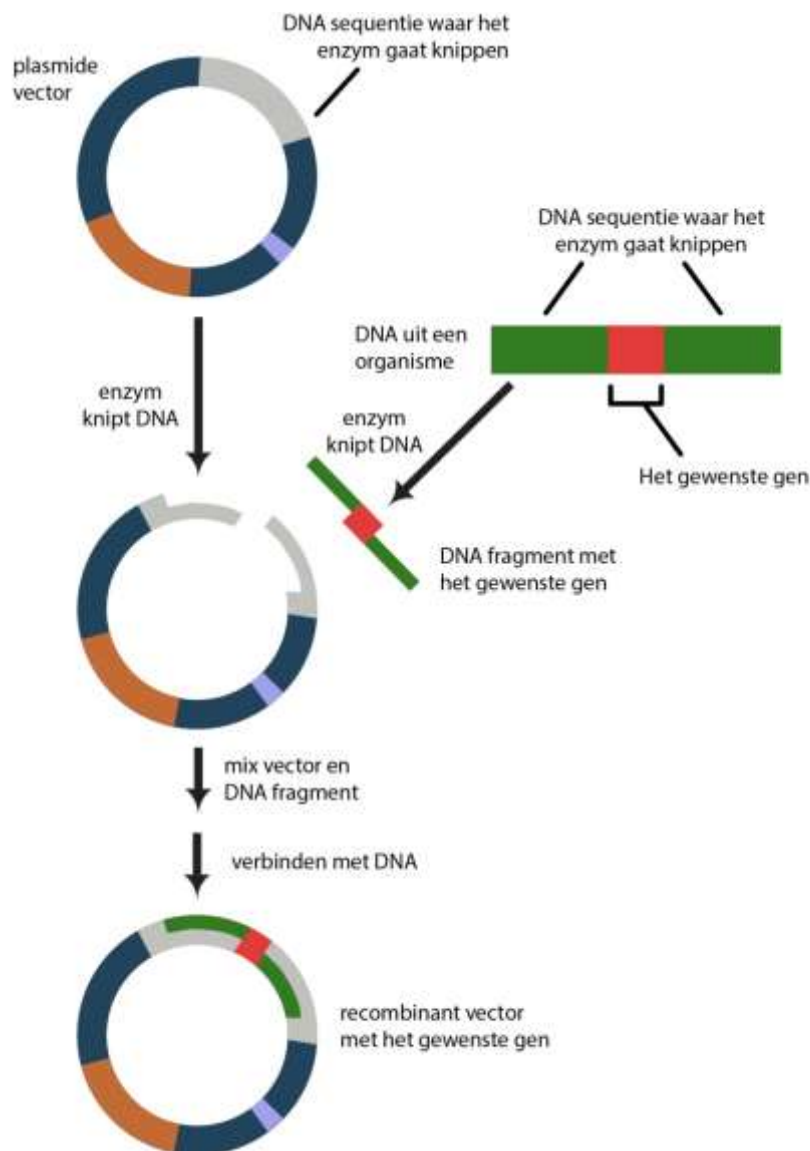
Om beter te begrijpen wat synbio inhoudt, vergelijken we synbio met een computer: Bij synbio wordt de software (DNA) ontworpen en in de hardware (de cel) gestopt. Verschillende software zorgt voor andere programma's (processen in de cel). Door stukjes uit de software te knippen, plakken en combineren kunnen allerlei programma's, met verschillende functies, worden ontworpen. Ook kan je software die normaal niet in de hardware voorkomt ontwikkelen. Met synbio kun je ook zelf hardware creëren.



Figuur 1: Geschiedenis van synthetische biologie

Technieken

Synthetische biologie is gebaseerd op de **recombinant DNA technologie**. In figuur 2 kun je nog eens bekijken hoe dit werkt.

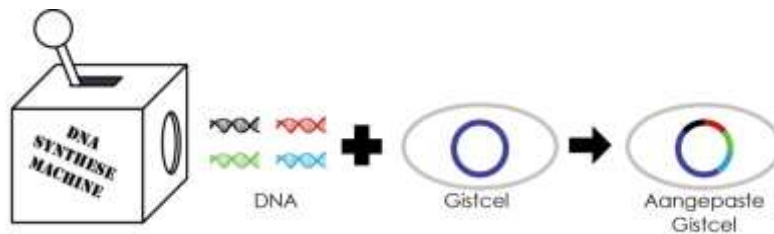


Figuur 2: Recombinant DNA technologie

In de synthetische biologie hoeven onderzoekers de gewenste stukken DNA niet meer te knippen uit bestaand DNA: ze kunnen het gewenste DNA zelf ontwerpen en dan bestellen via internet. Het DNA wordt dan synthetisch gemaakt door een machine, met suiker als grondstof. Ook kunnen onderzoekers via een online database **BioBricks** bestellen. Dit zijn stukken DNA met een bepaalde functie (ze coderen bijvoorbeeld voor een bepaald eiwit), die zo ontworpen zijn dat je ze gemakkelijk met elkaar kan combineren. BioBricks worden daarom ook wel 'plug-and-play DNA' genoemd. Er zijn verschillende soorten BioBricks, bijvoorbeeld:

- BioBricks met alleen een coderend gen of een onderdeel van het DNA dat een gen kan reguleren.
- BioBricks die het coderende gen bevatten en ook alle onderdelen die dit gen reguleren.
- BioBricks van meerdere genen die samen een functie uitvoeren.

Onderzoekers kunnen BioBricks gebruiken om een bestaand organisme, een gistcel bijvoorbeeld, aan te passen. Dit gaat dan als volgt (figuur 3):



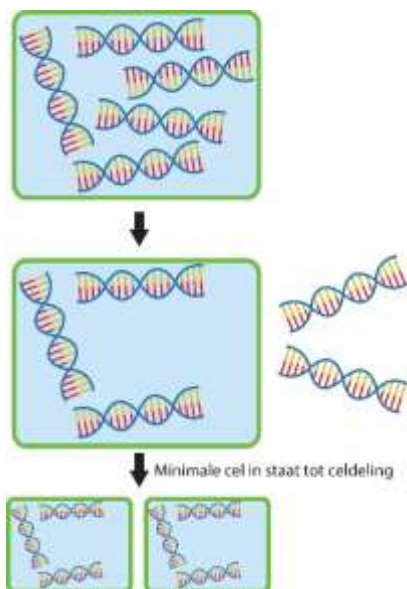
Figuur 3: Een gastheer aanpassen met synthetische biologie technieken. In dit geval is de gastheer een gistcel.

Opdracht 2

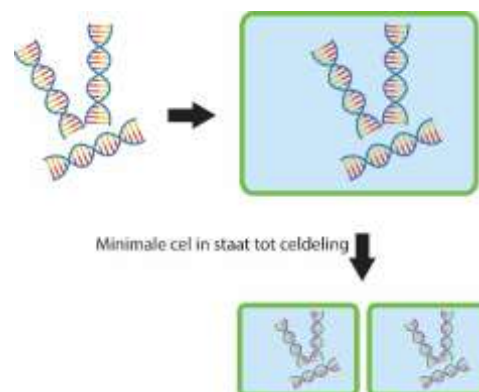
Laat zien wat het verschil is tussen de klassieke recombinant DNA technologie en de recombinant DNA technologie zoals deze bij synthetische biologie gebruikt wordt. Verander daartoe figuur 2: laat in deze figuur zien hoe je bij synthetische biologie aan het gewenste gen komt. Je kan hiervoor bijvoorbeeld delen van de figuur wegstrepen of delen eraan toevoegen.

Onderzoekers proberen ook om **minimale cellen** te creëren. Dit zijn cellen die alleen die genen bevatten die nodig zijn om te overleven. In de toekomst kunnen onderzoekers mogelijk BioBricks toevoegen aan deze minimale cellen, om de cellen een bepaalde functie te geven, zoals het produceren van een medicijn.

Minimale cellen kunnen op twee manieren worden gemaakt: top-down en bottom-up. **Top-down** betekent dat een onderzoeker in een bestaande cel aanpassingen maakt. Om een minimale cel te maken, haalt de onderzoeker dan zoveel mogelijk genen uit de cel, totdat alleen de genen overblijven die de cel nodig heeft om te kunnen overleven en delen (figuur 4). **Bottom-up** betekent dat de onderzoeker zelf vanuit niets een cel bouwt. De onderzoeker schrijft zelf het DNA, of maakt gebruik van BioBricks. Door alleen de genen te kiezen die de cel nodig heeft om te kunnen overleven en delen, krijg je een minimale cel (figuur 5).



Figuur 4: Minimale cel gemaakt op de top-down manier



Figuur 5: Minimale cel gemaakt op de bottom-up manier

Opdracht 3

Wat is het voordeel van het inbrengen van een BioBrick in een minimale cel (mogelijke toekomstige methode), vergeleken met het inbrengen van een BioBrick in een bestaand organisme zoals een gistcel (huidige methode)?

.....

.....

.....

Toepassingen

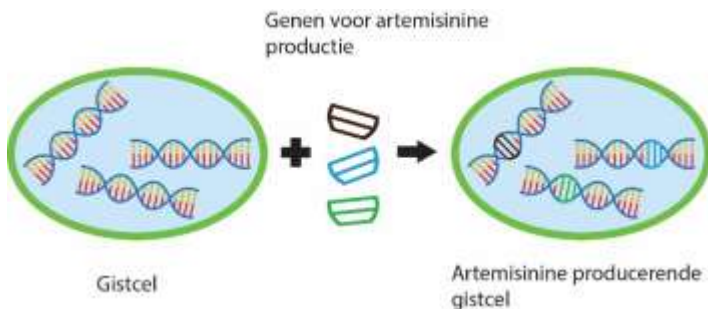
Synthetische biologie wordt pas sinds een tiental jaren gebruikt, maar er zijn al een aantal indrukwekkende toepassingen ontwikkeld.

Goedkoop medicijn tegen malaria

Het malariamedicijn **artemisinine** werd oorspronkelijk gewonnen uit het plantje zomeralsem. Deze manier is duur, en er was niet altijd voldoende medicijn beschikbaar. Door met synthetische biologie de genen voor artemisinineproductie te synthetiseren en in gist in te brengen (figuur 6), kunnen gisten het medicijn nu snel en goedkoop produceren in een reactorvat. Een farmaceutisch bedrijf maakt op deze manier artemisinine, dit levert zo'n 100 miljoen malariabehandelingen per jaar op.



Zomeralsem



Figuur 6: De gesynthetiseerde genen voor de productie van artemisinine worden in het DNA van gist ingebouwd. De gist kan nu artemisinine produceren.

Duurzame brandstof

Bio-ethanol is een alcohol die gebruikt kan worden als duurzame autobrandstof. Bio-ethanol wordt gemaakt met behulp van bakersgist, die suikers uit maïs in bio-ethanol om kan zetten. Dit kan tot gevolg hebben dat maïs als voedingsproduct te duur wordt. Met synthetische biologie is het mogelijk om in plaats van maïs restproducten van landbouwgewassen, zoals stro en maïsloof, als grondstof voor bio-ethanol te gebruiken. Dit is gerealiseerd door genen aan bakersgist toe te voegen die de suikers in restproducten in bio-ethanol om kunnen zetten. De eerste fabriek die op deze manier bio-ethanol maakt, is in 2014 geopend.



Lab waar gisten rest-suikers omzetten in bio-ethanol (op de sectie Industriële Microbiologie van de TU Delft).

ONDERDEEL 2

Een iGEM-toepassing van synthetische biologie kiezen

In het filmpje aan het begin van de les heb je gehoord over de iGEM-competitie: een internationale competitie tussen studententeams, die met BioBricks toepassingen van synthetische biologie bedenken en testen. Met je groepje gaan jullie een iGEM-toepassing uitwerken. In de derde les gaan jullie deze toepassing aan de klas presenteren.

Wie zitten er in je groepje? Namen:

De toepassingen

Kies, in overleg met je docent, een iGEM-toepassing die jullie uit willen werken. Jullie kunnen kiezen uit deze vier toepassingen:

1. LactoAid - Een slim verband voor brandwonden

Infecties door *Staphylococcus aureus* en *Pseudomonas aeruginosa* zorgen vaak voor complicaties bij de behandeling van brandwonden. Daarom heeft het iGEM-team uit Groningen in 2014 een nieuw soort verband ontwikkeld. Dit verband voorkomt deze infecties en dringt het gebruik van antibiotica terug. In het verband zit een gel met genetisch gemodificeerd *Lactococcus lactis*. Deze gemodificeerde bacterie detecteert de bovenstaande ziekteverwekkers in de wond en produceert vervolgens o.a. het antimicrobiële *nisine*.



2. Grätzel cellen – Duurzame energie

In veel Afrikaanse landen is er gebrek aan elektriciteit en zijn er vaak stroomstoringen. Zowel de bevolking als de economie heeft hier last van. Daarom heeft het iGEM-team uit Darmstadt in 2014 de "Grätzel cel" ontwikkeld. Een Grätzel cel kan elektriciteit produceren zoals een zonnecel, maar kan dat ook onder lastige omstandigheden, zoals tijdens bewolking of een zandstorm. De hoofdcomponent van de Grätzel cel is *anthocyanidine* (dat is een bloempigment), geproduceerd door een *E. coli* bacterie.



3. BananaGuard – Bananen van uitsterven redden

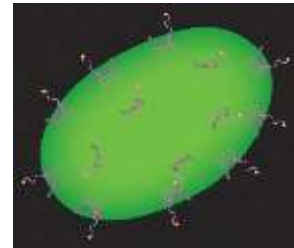
Bananenplanten worden wereldwijd bedreigd door *Fusarium oxysporum*: een schimmel die van bananenplanten leeft totdat ze dood gaan. Daarom heeft het iGEM-team uit Wageningen in 2014 de BananaGuard ontwikkeld. De BananaGuard is een genetisch systeem in de



bacterie *Pseudomonas putida* dat de aanwezigheid van *Fusarium oxysporum* detecteert en vervolgens antischimmelstof produceert, zodat de schimmel gedood wordt.

4. Click Coli – Een jasje voor bacteriën

Een fundamenteel probleem bij het gebruiken van genetisch gemodificeerde bacteriën is dat ze niet goed kunnen overleven in sommige omstandigheden terwijl we dat wel willen, zoals bijvoorbeeld in een reactorvat of in het immuunsysteem van de mens. Daarom heeft het iGEM-team uit Eindhoven in 2014 de Click Coli ontwikkeld. De Click Coli is een soort jasje (coat) dat aan *E. coli* bacteriën 'geklikt' kan worden. Met deze coat worden de genetisch gemodificeerde *E. coli* bacteriën minder snel uit het menselijk lichaam verwijderd, waardoor ze gebruikt kunnen worden voor therapieën.



De presentatie

In de derde les moeten jullie met je groepje een presentatie van **5 minuten** houden over jullie iGEM-toepassing. In de presentatie moeten de volgende vragen beantwoord worden:

1. Welk probleem lost de toepassing op en hoe?
 - Is er al een andere oplossing voor dit probleem? Zo ja, welke? En waarom is de iGEM-toepassing dan een betere oplossing?
2. Wat is de toepassing?
 - Hoe heet de toepassing, hoe werkt het en hoe ziet het eruit?
3. Met welke techniek(en) is de toepassing gemaakt?
 - Geef zo mogelijk een schematische tekening ter verduidelijking van hoe de toepassing gemaakt is.
4. Wat zijn de gevolgen van de toepassing? → Hier gaan jullie in de volgende les mee aan de slag (in onderdeel 4 'Hoe wenselijk is jullie toepassing?', blz. 13).

Huiswerk

Zoek voor de volgende les informatie op die je nodig hebt om antwoord te kunnen geven op vraag 1 t/m 3. Spreek met je groepje af wie wat opzoekt.

Gebruik hiervoor één van de volgende websites:

- **LactoAid:** <http://2014.igem.org/Team:Groningen>, zie blz. 21 voor een toelichting op deze iGEM-toepassing.
- **Grätzel cellen:** http://2014.igem.org/Team:TU_Darmstadt, zie blz. 23 voor een toelichting op deze iGEM-toepassing.
- **BananaGuard:** http://2014.igem.org/Team:Wageningen_UR, zie blz. 24 voor een toelichting op deze iGEM-toepassing.
- **Click Coli:** http://2014.igem.org/Team:TU_Eindhoven, zie blz. 25 voor een toelichting op deze iGEM-toepassing.

ONDERDEEL 3

De iGEM-toepassing uitwerken

Wissel de informatie die jullie opgezocht hebben uit en noteer de antwoorden op de onderstaande vragen. Dit moeten jullie de volgende les aan de klas presenteren.

Bij elke vraag wordt steeds een voorbeeld-antwoord gegeven aan de hand van artemisinine, om je een idee te geven van wat er ingevuld moet worden.

Opdracht 1: Welk probleem lost de toepassing op en hoe?

- *Welk probleem lost de toepassing op?*

Malaria is een ziekte die jaarlijks veel mensen treft. Het huidige medicijn tegen malaria is duur en niet voldoende beschikbaar. Artemisinine is een medicijn tegen malaria.

.....

.....

.....

- *Hoe lost de toepassing dit probleem op?*

De artemisinine uit gist is gemakkelijk, goedkoop en op grote schaal te produceren. Hierdoor is het medicijn goedkoper en voldoende beschikbaar.

.....

.....

.....

- *Is er al een andere oplossing voor dit probleem? Zo ja, welke?*

Ja, het huidige malariamedicijn wordt uit de plant zomeralsem gewonnen. Er wordt geprobeerd om de opbrengst van deze planten te optimaliseren.

.....

.....

.....

- *Als er al een oplossing is, waarom is de iGEM-toepassing dan een betere oplossing?*

Het optimaliseren van de opbrengst van zomeralsem zorgt niet voor voldoende en betaalbare artemisinine, onze toepassing doet dit wel.

.....

.....

.....

.....

Opdracht 2: Wat is de toepassing?

- *Hoe heet de toepassing?*

Artemisinine.

.....

- *Hoe werkt de toepassing?*

De aangepaste gistcel produceert artemisinine.

.....

.....

.....

.....

Opdracht 3: Met welke techniek(en) is de toepassing gemaakt?

- *Met welke techniek(en) is de toepassing gemaakt?*

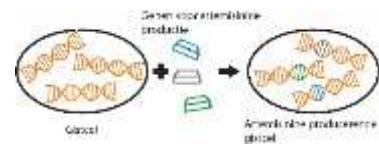
DNA synthetiseren dat de meest optimale nucleotidenvolgorde heeft om artemisinine in gist te kunnen produceren, en inbouwen in het DNA van gist met de recombinant DNA technologie.

.....

.....

.....

- *Geef zo mogelijk een schematische tekening ter verduidelijking.*



.....

.....

ONDERDEEL 4

Hoe wenselijk is jullie iGEM-toepassing?

Hoe wenselijk is jullie iGEM-toepassing eigenlijk? Wat zijn de voor- en nadelen van deze toepassing? Hier gaan jullie individueel en in je groepje over nadenken.

Individueel

Opdracht 1

Zou je willen dat de iGEM-toepassing echt uitgevoerd wordt? Waarom wel/niet? Schrijf dit kort voor jezelf op.

Mening:

.....

.....

Argumenten:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Met je groepje

Bespreek met je groepje of jullie zouden willen dat de iGEM-toepassing echt uitgevoerd wordt. Leg aan elkaar uit waarom jullie dat vinden. Luister naar elkaar en probeer te begrijpen wat de ander wil zeggen. Als het niet duidelijk is wat iemand zegt of waarom iemand iets vindt, vraag dan door. Bijvoorbeeld:

- "Wat bedoel je met ... ?"
- "Waarom denk je dat?"

Opdracht 2

Schrijf de conclusie op. Als jullie het niet met elkaar eens geworden zijn, noteer dan de verschillende zienswijzen.

Conclusie:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Opdracht 3

Noteer de argumenten voor jullie conclusie. Schrijf elk argument op één post-it. Deze post-its hebben jullie nodig bij de volgende vraag.

Vanuit verschillende perspectieven

De volgende opdrachten maak je met behulp van de **perspectieventabel** (blz. 26). In de tabel staan vijf perspectieven van waaruit je naar een nieuwe ontwikkeling kan kijken: vooruitgang, economie, risico, ethiek en globalisatie. Jullie gaan nu over de wenselijkheid van de iGEM-toepassing nadenken vanuit deze vijf perspectieven.

Opdracht 4

Lees de omschrijvingen van de vijf perspectieven en de voorbeelden. Plaats de post-its met argumenten die jullie bij opdracht 3 gemaakt hebben onder de verschillende perspectieven in de tabel.

Opdracht 5

Vul de tabel verder aan; geef vanuit elk perspectief een argument voor en tegen de iGEM-toepassing.

Opdracht 6

Welk perspectief gebruiken jullie zelf wanneer je nadenkt over de iGEM-toepassing?

.....
.....
.....
.....
.....

Opdracht 7

Is door het kijken vanuit de verschillende perspectieven jullie mening en/of argumentatie veranderd, over waarom jullie zouden willen dat de iGEM-toepassing wel/niet echt uitgevoerd wordt?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

De volgende opdracht moeten jullie verwerken in jullie presentatie.

Opdracht 8

Welke mogelijke gevolgen heeft jullie iGEM-toepassing voor de maatschappij? Verwerk in jullie presentatie minstens één positief en één negatief mogelijk gevolg. Gebruik hierbij ter inspiratie jullie ingevulde perspectieventabel.

- *Welk(e) mogelijk(e) positief(e) gevolg(en) heeft de toepassing?*
Betere bestrijding van malaria, meer mensen worden genezen.

.....
.....

-
- *Welk(e) mogelijk(e) negatief(e) gevolg(en) heeft de toepassing?*

Als artemisinine in gist gemaakt wordt, is er minder zomeralsem nodig. Dit is slecht voor de economie van de landen waarin zomeralsem geproduceerd wordt, zoals Vietnam en landen in Oost Afrika.

.....

.....

.....

- *Als je naar deze gevolgen kijkt, vinden jullie de toepassing dan een goed idee? Waarom vinden jullie dit wel of niet?*

Ja, veel mensen kunnen genezen van malaria is belangrijker dan de economische risico's.

.....

.....

.....

.....

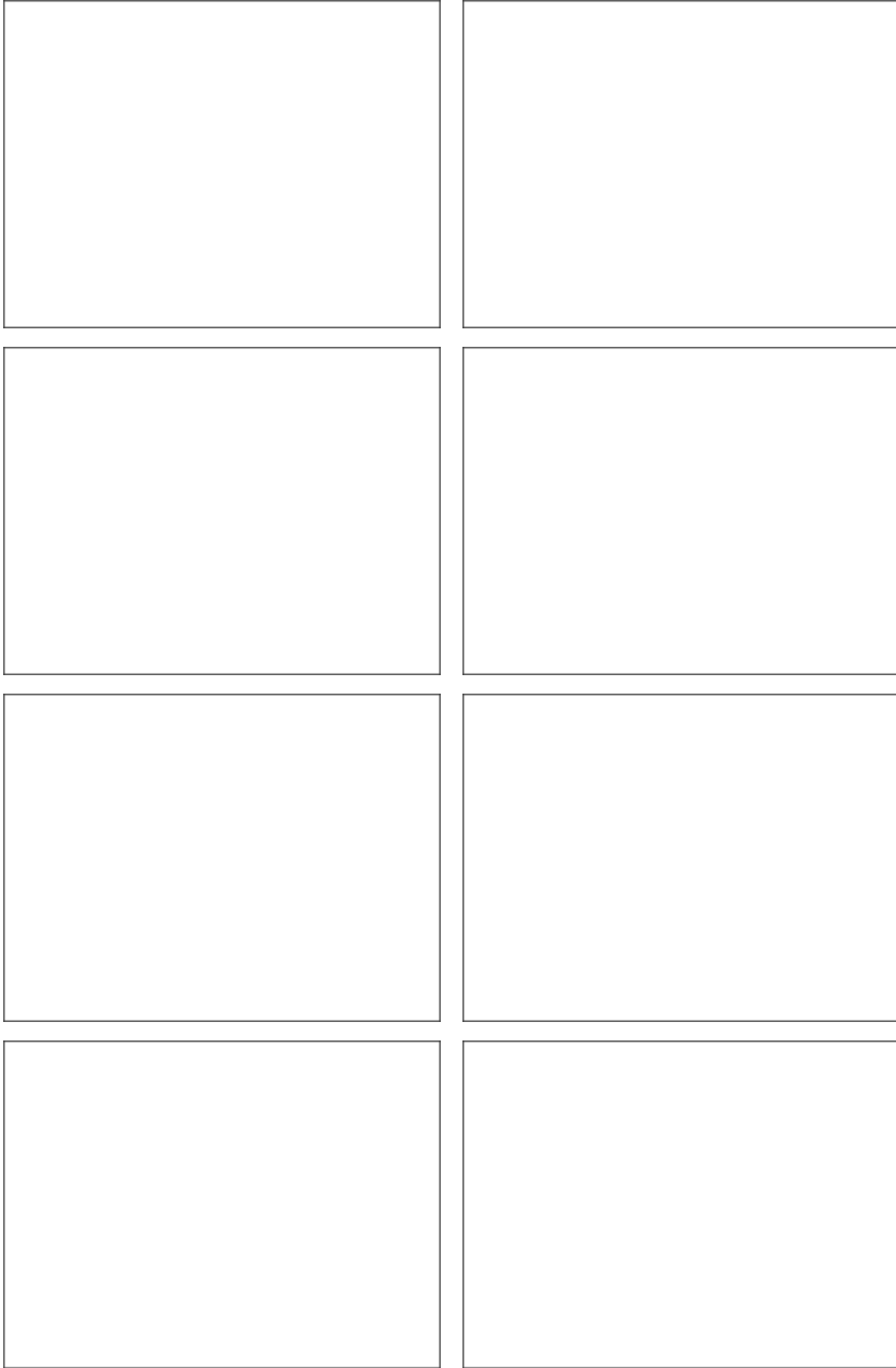
.....

Huiswerk

Maak een presentatie van **5 minuten** die jullie in de volgende les geven. Geef in de presentatie antwoord op de 4 vragen hieronder (die jullie hebben uitgewerkt in onderdeel 3 en 4). Eindig jullie presentatie met **een stelling** over de wenselijkheid van jullie iGEM-toepassing.

1. Welk probleem lost de toepassing op en hoe?
 - Is er al een andere oplossing voor dit probleem? Zo ja, welke? En waarom is de iGEM-toepassing dan een betere oplossing?
2. Wat is de toepassing?
 - Hoe heet de toepassing, hoe werkt het en hoe ziet het eruit?
3. Met welke techniek(en) is de toepassing gemaakt?
 - Geef een schematische tekening ter verduidelijking van hoe de toepassing gemaakt is.
4. Wat zijn de gevolgen van de toepassing?
 - Wat zijn positieve gevolgen?
 - Wat zijn negatieve gevolgen?
 - Moet de toepassing volgens jullie uitgevoerd worden? Eindig jullie presentatie met een stelling over de wenselijkheid van de toepassing.

De slides op de volgende pagina kun je gebruiken om de structuur van jullie presentatie uit te denken.



ONDERDEEL 5

Presentaties en dialoog

Presentaties

Schrijf bij elke presentatie op welke toepassing en techniek er gepresenteerd worden, en noteer kort je mening over de wenselijkheid van de toepassing.

Presentatie door:	Toepassing:	Techniek:	Mening:

Dialogo

Tijdens de klassikale dialogo kijken jullie vanuit de verschillende perspectieven naar de wenselijkheid van de iGEM-toepassingen, en naar de wenselijkheid van synthetische biologie.

Nu gaan jullie eerst de dialogo voeren.

Nadat jullie de dialogo hebben gevoerd noteer je hieronder argumenten die genoemd zijn, die jij van belang vindt met betrekking tot de wenselijkheid van synthetische biologie.

	Argumenten VOOR	Argumenten TEGEN
Vooruitgang		
Economie		
Risico		
Ethiek		
Globalisatie		

Jouw mening over synthetische biologie

Vind jij synthetische biologie wenselijk? Waarom?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Is door de presentaties en klassikale dialoog jouw mening en/of argumentatie over de wenselijkheid van synthetische biologie veranderd? Waarom?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Bijlage 1: Toelichting bij het iGEM project LactoAid

<http://2014.igem.org/Team:Groningen>

De volgende uitleg kan je helpen om het LactoAid project beter te begrijpen. Verder is het nuttig om in je leerboek genexpressie nog eens door te lezen om de betekenis van de termen promotor, inductor, operon en repressor te begrijpen.

In de teksten op de website gaat het om drie bacteriën: *Pseudomonas*, *Staphylococcus* en *Lactobacillus*. De eerste twee zijn ziekteverwekkers. De derde (*Lactobacillus*) wil het iGEM-team gebruiken als verpakking ('chassis') voor het gen-construct dat ze gaan maken. De volgende uitleg beperkt zich tot *Pseudomonas*; **in je presentatie hoef je ook alleen *Pseudomonas* te bespreken.**

Pseudomonas aeruginosa (vanaf hier afgekort P.a.) vertoont het verschijnsel 'quorum sensing'. Quorum sensing is een vorm van genregulatie waarbij de bacterie signaalstoffen maakt waar hij zelf op reageert. Als de dichtheid van de bacterie toeneemt, neemt ook de concentratie van de signaalstoffen toe en fungeren deze stoffen als inductor, dat wil zeggen dat ze genen kunnen aanzetten. Omdat het signaalstoffen en genen van dezelfde bacterie zijn, noemen we deze stoffen ook wel **autoinducers**. Genen die door deze stoffen worden aangezet beïnvloeden het 'gedrag' van P.a., zoals het aanmaken van gifstoffen (virulentie) en het vormen van biofilms. **Biofilms** zijn lagen van bacteriën waarbinnen ze relatief beschermd liggen. Door het systeem van quorum sensing gaat P.a. dus pas bepaalde activiteiten ondernemen als de bacterie een bepaalde dichtheid heeft bereikt. Als je dat systeem kunt verstoren, kan je dus ook de schadelijkheid van de bacterie verminderen.

Het basale idee van het iGEM-ontwerp is om de signaalstoffen/autoinducers van P.a. te gebruiken om genen aan te zetten in een andere, onschadelijke bacterie (*Lactobacillus*). De genen die worden aangezet zorgen er op twee manieren voor dat de ziekteverwekker wordt bestreden: Ze coderen voor een enzym dat de signaalstof afbreekt (*AHL lactonase*) en voor een stof die de productie van biofilm voorkomt (*Dispersine*). De genen voor deze stoffen zijn kunstmatig ingebracht in *Lactobacillus*. Rondom deze genen heeft het iGEM team nog andere onderdelen gebouwd die nodig zijn om het geheel te laten werken.

Let op:

- In de teksten worden de signaalstoffen/autoinducers van P.a. soms aangeduid met *PAI* (AI van Auto-Inducer) en soms met *AHL*.
- De signaalstoffen kunnen niet zomaar *Lactobacillus* binnenkomen. Daarvoor is een stof in de celmembraan nodig: *LasR*. *LasR* koppelt aan de signaalstof *PAI*. De verbinding die hierdoor ontstaat, vormt de inductor die de promotor *pLasI* kan aanschakelen.
- RBS betekent Ribosome Binding Site, dat is het deel van het DNA dat codeert voor het RNA dat bij de eiwitsynthese koppelt aan het ribosoom (elk gen heeft dus een RBS).
- Om de genproducten te laten werken moeten ze uit de *Lactobacillus*-cel komen, want ze moeten inwerken op de ziekteverwekker. Omdat de genproducten niet zelf door het membraan kunnen, is er ook een hulpstof nodig die hiervoor zorgt.

Op de volgende pagina vind je een tabel met belangrijke begrippen. Als je de definities achter de begrippen zet, is de toepassing beter te begrijpen.

Belangrijke begrippen bij LactoAid

Autoinducers	
Biofilm	
Inductor	
Operon	
Promotor	
Quorum sensing	
Repressor	
Ribosome binding site	

Bijlage 2: Toelichting bij het iGEM project Grätzel cellen

http://2014.igem.org/Team:TU_Darmstadt

De volgende uitleg kan je helpen om het Grätzel cellen project beter te begrijpen. Verder is het nuttig om in je leerboek genexpressie nog eens door te lezen om de betekenis van de termen promotor, inductor, operon en repressor te begrijpen.

Dit project gaat om de productie van een stof die bruikbaar is als pigment in een fotocel die energie kan leveren: *Pelargonidine*. Om van de uitgangsstof *Tyrosine* dit pigment te maken zijn er zes enzymen nodig, waarvan de genen afkomstig zijn van verschillende organismen. Deze worden ingebouwd in een speciale stam van *E.coli*: *BL21(DE3)*. In deze stam is de promotor *T7* uit het lactose operon ingebouwd. Deze promotor wordt normaalgesproken geïnduceerd door lactose, maar in dit project wordt de daarop lijkende stof *ITPG* gebruikt, die niet wordt afgebroken en daardoor in de cel aanwezig blijft.

Een reeks enzymen in een reactieketen werkt beter als deze ook ruimtelijk bij elkaar liggen, zoals je ook ziet in de ademhalingsketen. Dit wordt bereikt door een **scaffold** (soort werkbank van eiwitten) te maken waarin steeds drie verschillende enzymen uit de reactieketen bij elkaar zitten.

Tenslotte bevat het project ook een **Kill switch** die de bacterie doodt zodra er geen overvloed aan glucose meer is. Op deze wijze wordt voorkomen dat bacteriën die buiten de opstelling terecht komen overleven.

Let op:

- In de teksten op de website wordt slordig omgegaan met het verschil tussen het gen en het genproduct (het eiwit). Soms worden de eiwitten genoemd, terwijl het dan gaat om de genen voor deze eiwitten.

Belangrijke begrippen bij Grätzel cellen

Hieronder vind je een tabel met belangrijke begrippen. Als je de definities achter de begrippen zet, is de toepassing beter te begrijpen.

Fotocel	
Inductor	
Kill switch	
Operon	
Pigment	
Promotor	
Repressor	
Scaffold	

Bijlage 3: Toelichting bij het iGEM project BananaGuard

http://2014.igem.org/Team:Wageningen_UR

De volgende uitleg kan je helpen om het BananaGuard project beter te begrijpen. Verder is het nuttig om in je leerboek genexpressie nog eens door te lezen om de betekenis van de termen promotor, inductor, operon en repressor te begrijpen.

De bacterie *Pseudomonas putida* is gekozen omdat deze niet gevoelig blijkt voor de werking van *fusaric acid* uit de schimmel, dankzij een pompsysteem dat deze stof uit de cel kan pompen. De transcriptie van de genen voor deze pomp wordt waarschijnlijk aangezet door *fusaric acid*, via het koppelen aan de *repressor pp1262*. Doordat *fusaric acid* bindt aan de repressor, komt de promotor van de achterliggende genen vrij en worden deze afgelezen. Hierdoor wordt de eiwitpomp die *fusaric acid* de cel uitpompt gemaakt. Ditzelfde systeem kan je ook gebruiken om *fusaric acid* aan te tonen, door i.p.v. de genen voor de pompeiwitten, genen voor een kleurstof in te bouwen (**reporter gene**).

De volgende stap is om in een genproduct met bovenstaande genregulatie (repressor die bindt aan *fusaric acid* waarna promotor vrijkomt) genen te plaatsen die coderen voor stoffen die de pathogene schimmel *Fusarium oxysporum* bestrijden.

Tenslotte moeten er systemen worden ingebouwd die verspreiding van de gemodificeerde bacterie en overdracht van plasmiden (**horizontale transfer**) tegengaan. Er is sprake van een dubbele beveiliging:

1. Een **Kill switch** die de bacterie uitschakelt als er geen *Fusarium* in de buurt is.
2. Een systeem dat horizontale transfer voorkomt. Alleen bacteriën die twee verschillende plasmiden hebben overleven, doordat elk van beide plasmiden een verschillende gifstof heeft + het antigif voor het gif uit de andere plasmide. Overdracht van 1 plasmide op een andere bacterie (horizontale transfer) zal dus altijd dodelijk zijn.

Belangrijke begrippen bij BananaGuard

Hieronder vind je een tabel met belangrijke begrippen. Als je de definities achter de begrippen zet, is de toepassing beter te begrijpen.

Horizontale transfer	
Inductor	
Kill switch	
Operon	
Plasmide	
Promotor	
Reporter gene	
Repressor	

Bijlage 4: Toelichting bij het iGEM project Click Coli

http://2014.igem.org/Team:TU_Eindhoven

De volgende uitleg kan je helpen om het Click Coli project beter te begrijpen. Verder is het nuttig om in je leerboek genexpressie nog eens door te lezen om de betekenis van de termen promotor, inductor, operon en repressor te begrijpen.

In dit project wordt een membraaneiwit geproduceerd dat de cel moet beschermen. Daarvoor heeft dit eiwit aan de buitenkant een bindingsplaats nodig, waar andere stoffen aan kunnen hechten.

De techniek houdt het volgende in:

- Op een bepaalde plek in het gen voor het membraaneiwit wordt een stopcodon (TAG) ingebouwd. Bij normale translatie komt er dus geen compleet eiwit.
- Er wordt een afwijkend (*ortogonal*) tRNA-synthetase gebruikt, dat voor TAG geen stop 'leest' maar een aminozuur inbouwt dat eveneens afwijkend is (*pAzF*). In aanwezigheid van het afwijkende synthetase en het afwijkende aminozuur, ontstaat er dus een eiwit met het afwijkende aminozuur ingebouwd.
- Doordat andere stoffen (*DBCO*) weer aan dit afwijkende aminozuur kunnen binden, en die andere stoffen weer gekoppeld kunnen worden aan een fluorescerende stof, kan gemeten worden in welke mate het membraaneiwit aan de buitenkant is ingebouwd.

Belangrijke begrippen bij Click Coli

Hieronder vind je een tabel met belangrijke begrippen. Als je de definities achter de begrippen zet, is de toepassing beter te begrijpen.

Aminozuur	
Inductor	
Membraaneiwit	
Operon	
<i>Ortogonal</i>	
Promotor	
Repressor	
Stopcodon	

Bijlage 5: Perspectieventabel

	Vooruitgang	Economie	Risico	Ethiek	Globalisatie
Omschrijving	Wat kan de toepassing opleveren in termen van vooruitgang? Kleven er ook nadelen aan deze vooruitgang?	Wat kan de toepassing opleveren in termen van economische vooruitgang? En wie hebben er dan voordeel van? Kan het leiden tot oneerlijke winstverdeling? Of gaat de economie erop achteruit? En wie hebben daar dan nadeel van?	Welke risico's kan de toepassing met zich meebrengen? Wat zijn de risico's voor mens, dier en natuur?	Is de toepassing ethisch verantwoord: mag dit wel? Willen we dit wel? Waar trekken we de grens?	Wat zijn de gevolgen van de toepassing als je wereldwijd kijkt? Verbetert het de positie van ons land in de wereldeconomie? Hebben derdewereldlanden er baat bij?
Voorbeeld	Argument voor: Door de toepassing kunnen veel mensen genezen van borstkanker.	Argument voor: Met de verkoop van de toepassing valt veel geld te verdienen. Dit is goed voor de economie.	Argument tegen: Je weet niet welke gevolgen het heeft wanneer de toepassing (met synthetisch DNA) per ongeluk in de natuur vrijkomt.	Argument tegen: We mogen de natuur niet alleen voor ons eigen gewin aanpassen en gebruiken.	Argument tegen: Derdewereldlanden kunnen de toepassing niet betalen, waardoor je nog grotere verschillen krijgt.
Argument voor			X		
Argument tegen					

