

## Medienmitteilung

Ansprechpartner

Christian Wißler

Stv. Pressesprecher

Wissenschaftskommunikation

Telefon

+49 (0) 921 / 55-5356

E-Mail

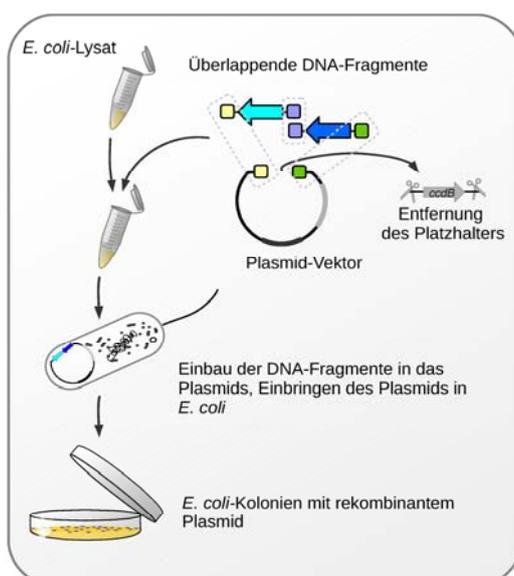
christian.wissler@uni-bayreuth.de

Thema

**Forschung: Naturwissenschaften**

# Hocheffizient und kostengünstig: Bayreuther Biologen entwickeln neues Verfahren zur Klonierung

Die DNA, welche die Erbinformationen eines Organismus enthält, besteht aus einer langen Reihe von Nukleotiden. Um die in der Abfolge dieser Bausteine begründeten Funktionen untersuchen zu können, müssen DNA-Fragmente in Trägermoleküle eingesetzt und vervielfältigt werden. Für diesen Vorgang der Klonierung hat ein Forschungsteam der Universität Bayreuth ein hocheffizientes, schnelles und kostengünstiges Verfahren entwickelt, das auf allen Gebieten der Biologie, Biochemie und Biotechnologie sehr flexibel einsetzbar ist. Dabei entfällt das aufwändige Screening von Bakterienkolonien. In *Scientific Reports* stellen die Wissenschaftler ihre Innovation vor.

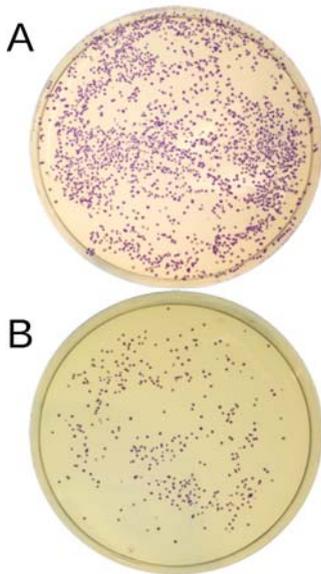


Wichtige Schritte des neuen Klonierungsverfahrens. Grafik: David Oliver Richter.

Allen Verfahren, die derzeit zur Klonierung eingesetzt werden, ist gemeinsam, dass DNA-Fragmente zunächst in größere Trägermoleküle, sogenannte Vektoren, eingebaut werden. Die mit DNA-Fragmenten beladenen Vektoren werden anschließend in Bakterien eingeschleust. Indem sich die Bakterien vermehren und so eine Bakterienkolonie bilden, werden die DNA-Fragmente tausendfach vervielfältigt. Bisher haben diese Verfahren einen wesentlichen Nachteil: Weil der Einbau von DNA-Fragmenten in das Trägermolekül nicht immer störungsfrei und mit der nötigen Perfektion gelingt, besitzen keineswegs alle, sondern nur einige Kolonien die Vektoren mit den zu vervielfältigenden DNA-Fragmenten. Um diese „Erfolgsfälle“ zu identifizieren, war bisher ein zeitaufwändiges und teures Screening unvermeidlich.

Den Bayreuther Forschern unter der Leitung von Prof. Dr. Stefan Schuster ist es jetzt gelungen, dieses Screening überflüssig zu machen. Bei dem von ihnen verwendeten Vektor handelt es sich um ein Plasmid, das in seiner

Ringstruktur ein toxisches Gen enthält. DNA-Fragmente werden nun so in das Plasmid eingebaut, dass sie dieses Gen ersetzen. Gelingt das nicht, bleibt das toxische Potenzial im Plasmid erhalten. Wird in



E. Coli-Bakterien in der Petrischale, die das rekombinante – das heißt mit DNA-Fragmenten beladene – Plasmid enthalten und blaues Protein produzieren. Die Herstellung wird durch zwei DNA-Fragmente (A) bzw. durch drei DNA-Fragmente (B) gesteuert. Jeder Punkt stellt eine Bakterienkolonie dar. Die Anzahl der Kolonien ermöglicht Rückschlüsse auf die Effizienz der Klonierung. Fotos: David Oliver Richter.



Thomas Toesko, Mitautor der neuen Studie, in einem Labor der Bayreuther Tierphysiologie.  
Foto: Christian Wißler.

einem solchen Fall das Plasmid in ein *E. coli*-Bakterium eingeschleust, setzt die toxische Wirkung ein: Sie führt dazu, dass das Bakterium vermehrungsunfähig wird und nicht lange überlebt. Dadurch ist von vornherein gewährleistet, dass nur solche *E. coli*-Bakterien Kolonien bilden, in denen die DNA-Fragmente tatsächlich enthalten sind. Sie müssen nicht nachträglich mühevoll ausgelesen werden. „Unser neues Klonierungssystem ist vor allem deshalb so effizient, weil die Auslese der mit klonierten DNA-Fragmenten ausgestatteten Bakterien zuverlässig von selbst erfolgt. Die vervielfältigten Plasmide können aus diesen Bakterien isoliert und weiterverwendet werden – sei es, um die klonierte DNA zu analysieren oder um sie für die biotechnologische Herstellung von Proteinen einzusetzen“, sagt der Bayreuther Biologe Dr. David Richter, Erstautor der Studie.

Das in *Scientific Reports* vorgestellte Verfahren vereinfacht den Vorgang der Klonierung noch in einer weiteren Hinsicht: Die Wissenschaftler haben eine aus den Zellen von *E. coli*-Bakterien gewonnenen Extrakt (SLiCE) so optimiert, dass er sich hervorragend als „Klebstoff“ eignet, um mehrere DNA-Fragmente wie die Glieder einer Kette aneinanderzureihen und zu verbinden. So können jetzt die verschiedensten Kombinationen von DNA-Fragmenten in das Plasmid eingefügt werden – und zwar deutlich schneller als mit bisherigen Methoden.

Das Bayreuther Forscherteam hat das neue Klonierungssystem auf den Namen „ZeBRα“ getauft. Das Akronym leitet sich von den wissenschaftlichen Bezeichnungen zweier Faktoren ab, die dabei entscheidend sind. Das verwendete Plasmid ist ein „**Z**ero-**B**ackground Vector“. Dies bedeutet: Bakterien, die Plasmid-Moleküle ohne die zu vervielfältigenden DNA-Fragmente enthalten, bilden keine störenden Kolonien im Hintergrund. „**R**edα-Exonuclease“ ist wiederum ein Bestandteil des *E. coli*-Extracts, mit dem verschiedene DNA-Fragmente aneinandergelinkt und in den Vektor eingebaut werden können.

Anknüpfend an die jetzt veröffentlichten Forschungsergebnisse wollen die Wissenschaftler ihr Klonierungsverfahren künftig um weitere Funktionen bereichern und dadurch vielseitiger einsetzbar machen. Insbesondere soll der Vektor so optimiert werden, dass er die Transformation bestimmter Organismen oder Zelllinien erleichtert. Dabei werden DNA-Fragmente direkt in Organismen oder Zellen übertragen. Weil auch diese Übertragung relativ selten zustande kommt, ist es vorteilhaft, wenn der Vektor DNA-Sequenzen mitbringt, die zur Bildung fluoreszierender Proteine führen. Diese Proteine machen dann den erfolgreichen Einbau der DNA-Fragmente sichtbar.



### Veröffentlichung:

David Richter, Katharina Bayer, Thomas Toesko, Stefan Schuster: ZeBR $\alpha$  a universal, multi-fragment DNA-assembly-system with minimal hands-on time requirement, Scientific Reports 9 (2019), DOI: 10.1038/s41598-019-39768-0

### Kontakte:

Prof. Dr. Stefan Schuster  
Lehrstuhl für Tierphysiologie  
Universität Bayreuth  
Telefon: +49 (0)921 55-2470  
E-Mail: [stefan.schuster@uni-bayreuth.de](mailto:stefan.schuster@uni-bayreuth.de)

Dr. David Oliver Richter  
Lehrstuhl für Tierphysiologie  
Universität Bayreuth  
Telefon: +49 (0)921 55-2477  
E-Mail: [david1.richter@uni-bayreuth.de](mailto:david1.richter@uni-bayreuth.de)

### Redaktion:

Christian Wißler  
Stabsabteilung Presse, Marketing und Kommunikation  
Universität Bayreuth  
Universitätsstraße 30 / ZUV  
95447 Bayreuth  
Telefon: +49 (0)921 / 55-5356  
E-Mail: [christian.wissler@uni-bayreuth.de](mailto:christian.wissler@uni-bayreuth.de)

### Über die Universität Bayreuth

Die Universität Bayreuth existiert seit 1975 und ist eine der erfolgreichsten jungen Universitäten in Deutschland. Sie liegt im ‚Times Higher Education (THE) Young University Ranking‘ auf Platz 30 der 250 weltweit besten Universitäten, die jünger als 50 Jahre sind. Interdisziplinäres Forschen und Lehren ist Hauptmerkmal der 154 Studiengänge an sieben Fakultäten in den Natur- und Ingenieurwissenschaften, Rechts- und Wirtschaftswissenschaften sowie den Sprach-, Literatur und Kulturwissenschaften. Die Universität Bayreuth hat rund 13.500 Studierende, ca. 1.250 wissenschaftliche Beschäftigte, 239 Professorinnen und Professoren sowie etwa 950 nichtwissenschaftliche Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter. Sie ist der größte Arbeitgeber der Region. (Stand 21.12.2018)