



Doctoral Thesis

Engineering of prokaryotic transcription regulators for mammalian cell biotechnology

Author(s):

Weber, Wilfried

Publication Date:

2003

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004554852> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss ETH No. 15097

Engineering of Prokaryotic Transcription Regulators for Mammalian Cell Biotechnology

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology Zürich
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by
Wilfried Weber
Diplom Biotechnologe, ESBS Strasbourg
born 07.05.1974
citizen of Germany

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Martin Fussenegger, examiner
Prof. Dr. Sabine Werner, co-examiner
Zürich, 2003

Abstract

Bacteria's flexibility to adapt to ever changing conditions in the environment has at a molecular level been transferred to cell-free systems, mammalian cells and animals to enable new opportunities in bioengineering, gene therapy, drug discovery, diagnostics and basic as well as applied research.

Bacterial transcriptional regulator proteins have been integrated into mammalian gene regulation networks, thereby enabling conditional and adjustable expression of desired target genes in cell culture and animals in response to small molecule compounds or physiological parameters: The E.REX (Erythromycin Regulated Expression) and QuoRex (Quorum-sensing Regulated Expression) gene regulation systems provide inducible and repressible gene expression following addition of macrolide antibiotics like erythromycin or butyrolactone signaling molecules derived from the bacterial quorum-sensing communication system. Both approaches display tight regulation characteristics in a large variety of mammalian cells including human primary cells and in mice implanted with E.REX- and QuoRex-engineered cells.

Genes under transcriptional control of the TIGR (Temperature-induced Gene Regulation) system are induced by lowering the incubation temperature, as exemplified by cold-induced angiogenesis in chicken embryos following TIGR-controlled expression of the vascular endothelial growth factor.

Besides these cell- and animal-based approaches, the bacterial transcriptional regulator proteins have been integrated in ELISA-like diagnostic tools for multi-parallel detection of antibiotics in food and environmental samples or for the discovery of new antibiotics in biological libraries.

Zusammenfassung

Die extreme Flexibilität von Prokaryoten, sich an ständig wechselnde Umweltbedingungen anzupassen, wurde auf molekularer Ebene in zellfreie Systeme, Säugerzellen und Tiere übertragen, um damit neue Möglichkeiten in der Bioprozesstechnik, der Gentherapie, der Diagnostik, sowie in vielen weiteren Forschungsfeldern zu eröffnen.

Hierfür wurden bakterielle transkriptionsregulierende Proteine in Säugerzellen oder Tiere integriert, wodurch die Transgen-Expression durch Zugabe von verschiedenen niedermolekularen induzierenden Substanzen oder durch veränderte Umgebungstemperaturen fein reguliert werden kann: Die E.REX (Erythromycin-Regulierte Expression) und QuoRex (Quorum-sensing Regulierte Expression) Genregulationssysteme ermöglichen induzierbare und reprimierbare Expression von Zielgenen durch die Zugabe von Makrolid-Antibiotika wie Erythromycin oder von Butyrolakton-Signalmolekülen aus bakteriellen Kommunikationssystemen ("Quorum-sensing"). Beide Ansätze zeigen hervorragende Regulationseigenschaften in einer Vielzahl von Säugerzellen inklusive menschlichen Primärzellen und in Mäusen.

Ergänzend dazu ermöglicht das neu entwickelte TIGR System (Temperatur-Induzierte Genregulation) die induzierbare Expression von Zielgenen durch Änderung der Umgebungstemperatur. Dies wurde exemplarisch gezeigt an der kälte-induzierbaren Blutgefäßbildung in Hühnerembryonen durch TIGR-gesteuerte Expression des menschlichen vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF). Neben diesen zellbasierten Ansätzen wurden die bakteriellen Transkriptionsregulatoren in ein ELISA-ähnliches Diagnostik-System integriert, das den multiparallelen Nachweis von Antibiotika in Lebensmitteln und anderen Umweltproben ermöglicht oder zur Entdeckung neuartiger Antibiotika in biologischen Substanzbibliotheken verwendet werden kann.