

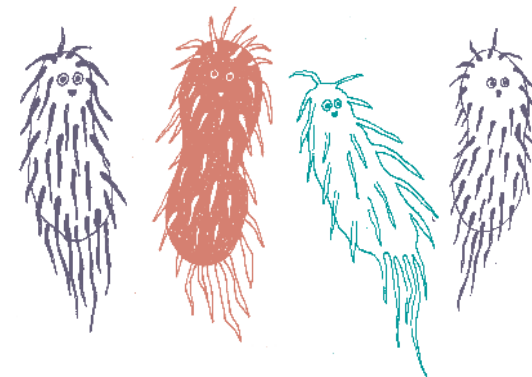
Geny i maszyny



Aleksandra Bertosik ★ Jakub Piątkowski ★ Marcin Ziemiak

Spis treści

Metoda naukowa	4	📖
Wstęp do biologii molekularnej	7	📖
Wprowadzenie do makrocząsteczek	9	📖
Biologiczne bazy danych	13	📖
Czym jest biologia syntetyczna	14	📖
Modele matematyczne w naukach biologicznych	15	📖
Narzędzia obliczeniowe w biologii syntetycznej	18	📖
Kilka słów o tym, jak regulowane są systemy biologiczne	20	📖
O sieciach genetycznych i do czego można je wykorzystać ...	24	📖
Dlaczego komórka jest taka skomplikowana	27	📖
Jak zbudować obwód genetyczny	29	📖
Zastosowania biologii syntetycznej - zarys	31	📖
Biologia DIY	33	📖
Biologia syntetyczna a kwestie etyczne	36	📖
Chemia biologiczna	39	📖
Projektowanie makromolekuł biologicznych	41	📖
Modyfikacje kwasów nukleinowych i rozszerzony kod genetyczny	43	📖
Wielkie marzenia - syntetyczne genomy i sztuczne życie	44	📖
Perspektywy na przyszłość	46	📖



Metoda naukowa

W SKRÓCIE

Jakimi kryteriami można się posłużyć, aby zdecydować, czy dane stwierdzenie jest naukowe? W tym rozdziale omówimy kryteria naukowości oraz przebieg dochodzenia do teorii naukowych.

POJĘCIA KLUCZOWE

ROYAL SOCIETY

Drugie najstarsze towarzystwo naukowe na świecie. Nadal jedno z najbardziej prestiżowych.

WIĘCEJ INFORMACJI

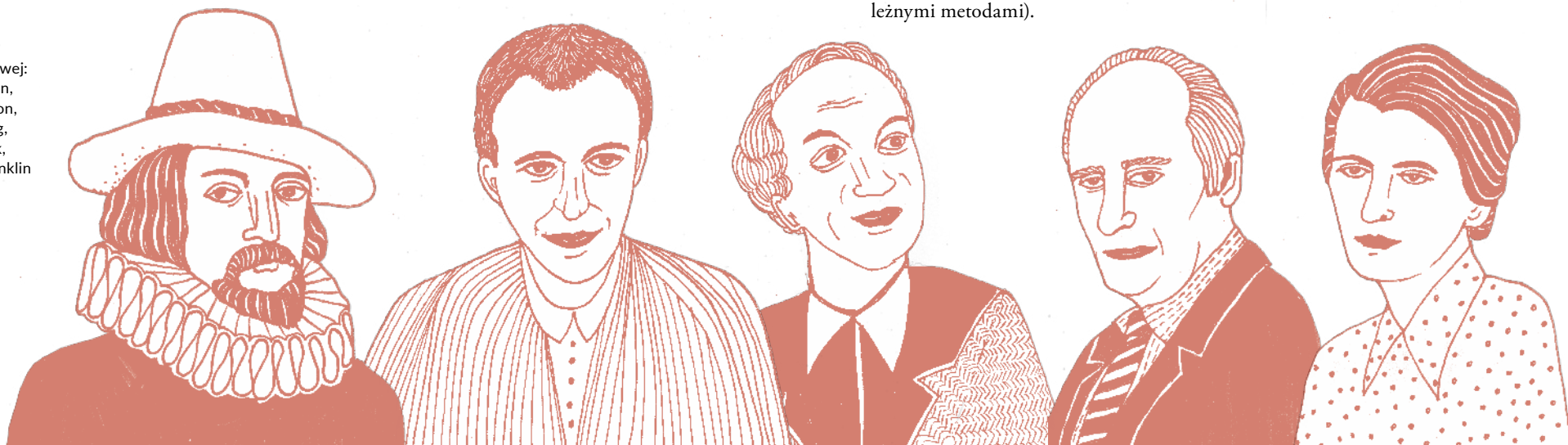
1. Gauch H.G., 2003, *Scientific Method in Practice*, Cambridge University Press
2. Watson J.D., Berry A., 2005, *Dna. Tajemnica życia*, W.A.B.

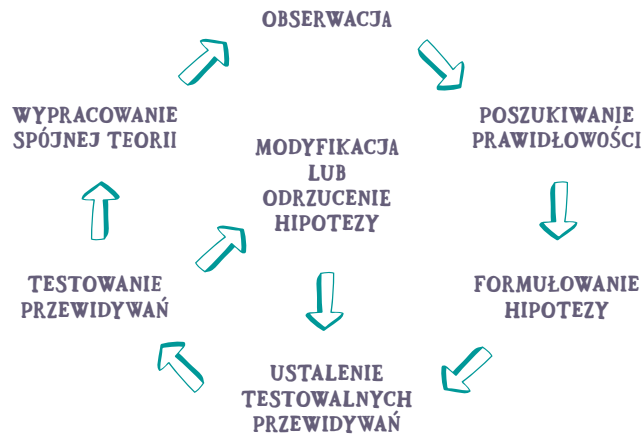
Metoda naukowa to podejście służące badaniu zjawisk naturalnych. Badania uznawane za naukowe powinny opierać się na empirycznych, mierzalnych oraz powtarzalnych obserwacjach. W naukach przyrodniczych początki metody naukowej datuje się na XVII wiek, a za jej ojca uchodzi Francis Bacon. Promowane przez niego empiryzm i sceptycyzm stanowiły inspirację do założenia jednego z najstarszych towarzystw naukowych – brytyjskiego Royal Society. Zastosowanie metody naukowej w rozmaitych dyscyplinach potrafi się różnić. Na wysokim poziomie ogólności można jednak stwierdzić, że metoda naukowa polega na obserwacji zjawisk naturalnych w poszukiwaniu prawidłowości, formułowaniu ich możliwych wyjaśnień (hipotez) oraz weryfikacji tych hipotez dalszymi obserwacjami eksperymentami i symulacjami. Hipoteza naukowa musi być falsyfikowalna, czyli potencjalnie możliwa do obalenia przez obserwację. Hipoteza, która pozytywnie i wielokrotnie przeszła próby obalenia oraz została powszechnie przyjęta przez środowisko naukowe, uzyskuje status teorii naukowej. Należy w tym miejscu podkreślić, że znaczenie słowa *teoria* w kontekście naukowym różni się diametralnie od znaczenia potocznego. Stąd w debacie naukowej praktycznie nie używa się stwierdzenia *to tylko teoria* (prędzej mówi się *to tylko hipoteza*). Teoria naukowa jest zatem kompleksowym wyjaśnieniem zjawisk przyrodniczych, które dodatkowo przeszło weryfikację doświadczalną.

Nie wyklucza się możliwości obalenia którejkolwiek teorii naukowej w przyszłych obserwacjach, przyjmuje się ją natomiast jako najlepsze dostępne w danym momencie wyjaśnienie obserwacji (aczkolwiek prawdopodobieństwo całkowitego obalenia długo obowiązujących i potwierdzonych niezliczonymi obserwacjami teorii – takich jak teoria ewolucji – jest niezmiernie mało prawdopodobne). W tym ujęciu metoda naukowa jest nieprzerwanym procesem obserwacji, tworzenia hipotez, potwierdzania lub obalania ich oraz udoskonalania i rozszerzania teorii już obowiązujących (rys. 2, 3). Dobrym przykładem zastosowania metody naukowej w biologii molekularnej były badania, które doprowadziły do odkrycia struktury DNA. Skład chemiczny tej cząsteczki, jak i fakt, że jest ona nośnikiem informacji genetycznej, były znane już wcześniej. Ale bez znajomości struktury trudno było przewidzieć mechanizm zapisu informacji genetycznej, jej powielania oraz odczytu. Linus Pauling, Francis Crick i James Watson wysunęli hipotezę, że DNA jest strukturą helikalną. Z tej hipotezy wywiedli przewidywanie, że wzór dyfrakcji promieni rentgenowskich przez włókna DNA będzie miał kształt litery x. Taki właśnie wzór dyfrakcji uzyskała doświadczalnie Rosalind Franklin (rys. 3). Ostateczny model DNA został zaproponowany przez Cricka i Watsona po szczegółowej analizie wyników uzyskanych przez Franklin oraz dostępnych wcześniej danych o składzie chemicznym cząsteczki. Ten model umożliwił wysuwanie dalszych hipotez odnośnie do mechanizmu powielania informacji genetycznej (testowanego następnie niezależnymi metodami).

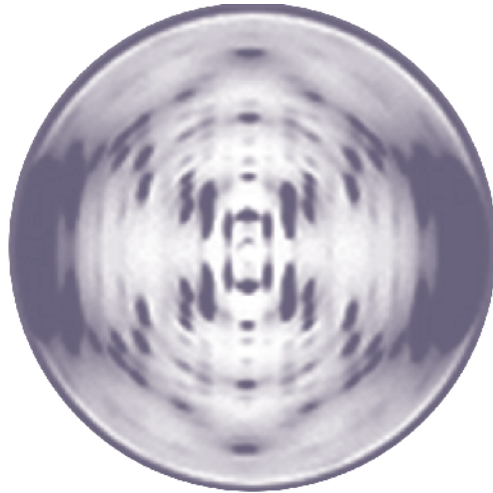


Rys. 1. Od lewej: Francis Bacon, James Watson, Linus Pauling, Francis Crick, Rosalind Franklin





→
Rys. 1. Schemat przebiegu badań prowadzonych zgodnie z metodą naukową



→
Rys. 2. Słynny wzór dyfrakcji promieni rentgenowskich na włóknach DNA, uzyskany przez Rosalind Franklin, znany też jako zdjęcie 51



→
Rys. 3. Schemat podwójnej helisy DNA

Biologia molekularna to dziedzina biologii koncentrująca się na badaniu aktywności, syntezy, struktury oraz oddziaływań pomiędzy biocząsteczkami, takimi jak DNA, RNA i białka. Dyscyplina zaistniała pod koniec lat trzydziestych XX wieku, wraz z rozwojem techniki izolacji biocząsteczek oraz ich analizy (takich jak krystalografia rentgenowska). Impulsem, który ogromnie przyspieszył jej rozwój, było poznanie struktury DNA w latach 50. oraz opracowanie podstawowych narzędzi inżynierii genetycznej w latach 70. i 80. W tym rozdziale skrótnie omówimy kluczowe odkrycia w obszarze biologii molekularnej oraz najważniejsze narzędzia w niej stosowane. Od roku 1944 do 1962 miał miejsce szereg przełomowych odkryć w biologii molekularnej. DNA został zidentyfikowany jako cząsteczka odpowiedzialna za dziedziczenie, poznano jego strukturę oraz ustalono, jaki jest mechanizm jego replikacji. Francis Crick, współodkrywcą struktury DNA, sformułował w tym okresie centralny dogmat biologii molekularnej, głoszący, iż informacja genetyczna przepisywana jest z DNA na RNA (rzadziej w odwrotnym kierunku), a na bazie RNA syntetyzowane jest białko. Za ukoronowanie tej fazy rozwoju biologii molekularnej można uznać rozwiązanie uniwersalnego kodu genetycznego – czyli sposobu, w jaki trójki nukleotydowe w DNA/RNA odpowiadają konkretnym aminokwasom w sekwencji białka. W latach 60. Francois Jacob i Jacques Monod zdołali też rozwikłać pierwszy prosty model regulacji wyrażania informacji genetycznej w bakteriach – operon laktozowy. Drugą fazę rozwoju biologii molekularnej w roku 1972 symbolicznie otwiera pierwsze wykorzystanie narzędzi inżynierii genetycznej – enzymów restrykcyjnych. Enzymy te można uznać za rodzaj molekularnych nożyczek, pozwalających precyzyjnie wycinać i łączyć ze sobą odcinki DNA o znanej sekwencji. W miarę szybkie i wydajne badanie konkretnych sekwencji DNA stało się możliwe w roku 1977, kiedy Frederick Sanger opracował autorską metodę sekwencjonowania (dziś ta metoda jest w pełni zautomatyzowana). W 1983 roku Kary Mullis opracował reakcję PCR (ang. *Polymerase Chain Reaction*), umożliwiającą namnożenie dowolnego fragmentu DNA w ogromnej ilości kopii. Od tego momentu można uznać, że zestaw podstawowych narzędzi biologii molekularnej i inżynierii genetycznej został skompletowany.

📖 W SKRÓCIE

Biologia molekularna zajmuje się badaniem molekularnych podstaw życia. Przez ostatnie 50 lat nauki biologiczne poczyniły ogromne postępy w tej dziedzinie tłumacząc mechanizmy takich fundamentalnych procesów, jak ekspresja informacji genetycznej oraz jej dziedziczenie.

📖 POJĘCIA KLUCZOWE

UNIWERSALNY KOD GENETYCZNY

Sposób przepisywania sekwencji trójek nukleotydowych na aminokwasy w sekwencji białka; jest z grubsza taki sam u większości żywych organizmów (istnieją nieliczne odstępstwa).

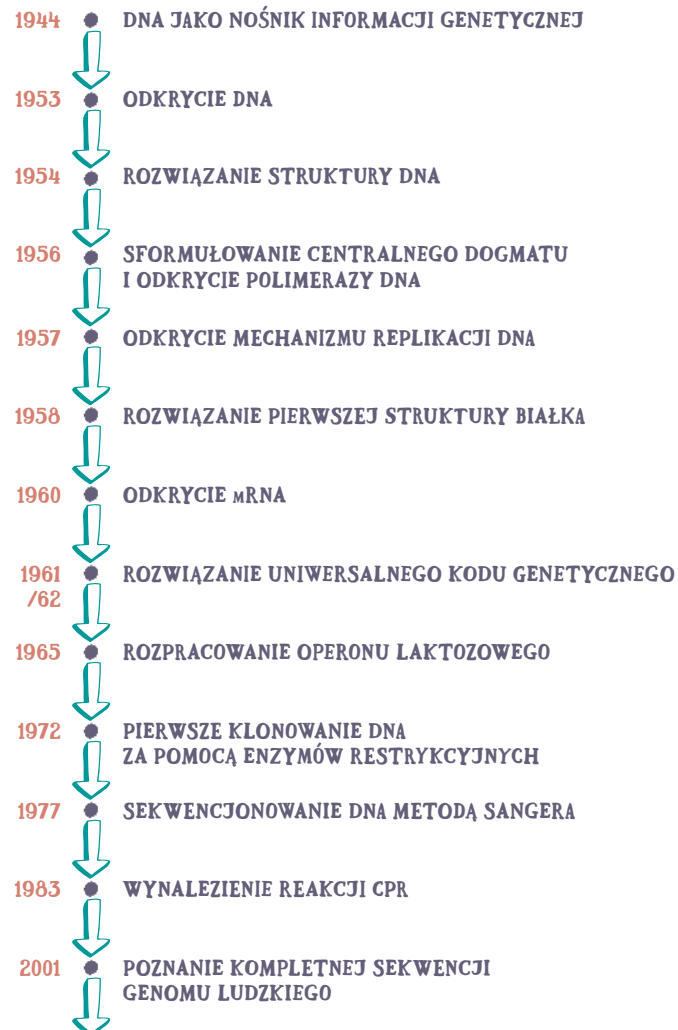
METODY WIELKOSKALOWE

Zautomatyzowane metody generujące ogromną ilość danych z zakresu sekwencji genetycznej, powstających RNA i białek.

📖 WIĘCEJ INFORMACJI

1. <http://www.dnai.org/timeline/index.html>
2. Watson J.D., Bakert A., Gann A., Levine M., 2005, *Molecular Biology of the Gene, Seventh Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press
3. Watson J.D., Berry A., 2013, *Dna. Tajemnica życia*, W.A.B.

W roku 2001 w wyniku działań konsorcjum rządowego oraz prywatnej firmy Craiga Ventera poznajemy kompletną sekwencję genomu ludzkiego. Biologia wkracza w epokę metod wielkoskalowych...



→
Rys. 1. Kluczowe odkrycia w biologii molekularnej na osi czasu

Z ogólnego punktu widzenia cząsteczką biologiczną (biomolekułą) jest każda cząsteczka istniejąca w żywym organizmie, wliczając w to duże makrocząsteczki, takie jak białka, kwasy nukleinowe, węglowodany i lipidy, oraz małe cząsteczki (metabolity i produkty naturalne). Biocząsteczki są zwykle endogenne (naturalnie występujące w organizmie), ale mogą być również egzogenne (wprowadzone do organizmu z zewnątrz). Teraz mamy zamiar podać podstawowe informacje o najważniejszych (w kontekście biologii syntetycznej) makrocząsteczkach, mianowicie kwasach nukleinowych i białkach.

KWASY NUKLEINOWE

Kwasy nukleinowe, takie jak DNA (kwas dezoksyrybonukleinowy) i RNA (kwas rybonukleinowy), są liniowymi polimerami składającymi się z monomerów nazywanych nukleotydami. Każdy naturalny nukleotyd posiada trzy części: pierścień cukrowy złożony z pięciu atomów, grupę fosforanową oraz zasadę azotową. Jeżeli cukier jest deoksyrybozą to polimerem jest DNA. Jeżeli natomiast cukier jest rybozą to polimerem jest RNA. Kwasy nukleinowe są istotne dla wszystkich znanych form życia, ponieważ pośredniczą one w kodowaniu, ekspresji oraz przekazywaniu dalej informacji genetycznej. Sama informacja jest zawarta w sekwencji kwasu nukleinowego (liniowa kolejność nukleotydów w danej cząsteczce DNA lub RNA).

Kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) jest kwasem nukleinowym zawierającym instrukcje genetyczne niezbędne do funkcjonowania wszystkich znanych organizmów żywych. Segmenty DNA zawierające tę informację genetyczną nazywane są genami. Niektóre inne sekwencje DNA pełnią funkcję strukturalną lub są zaangażowane w regulację wykorzystania informacji genetycznej. DNA składa się z dwóch liniowych polimerów, posiadających szkielet zbudowany z cukrów, i grup fosforanowych, połączonych ze sobą wiązaniami estrowymi. Te dwie nici są ze sobą połączone za pomocą wiązań wodorowych i posiadają przeciwne względem siebie kierunki – są one antyrównoległe. Każdy nukleotyd zawiera jeden z czterech rodzajów zasad azotowych (w skrócie nazywanych po prostu zasadami). Właśnie ta sekwencja czterech baz bezpośrednio koduje

W SKRÓCIE

W tym rozdziale krótko omówimy trzy rodzaje cząsteczek, będących głównym przedmiotem zainteresowania biologów molekularnych, oraz techniki ich badania.

POJĘCIA KLUCZOWE

ANTYRÓWNOLEGŁA ORIENTACJA NICI

Nici biegnące w przeciwnych kierunkach. Nici DNA posiadają dwa odmienne końce 5' i 3'. W podwójnej helisie koniec 3' jednej nici znajduje się tam, gdzie 5' drugiej.

METABOLIT

Praktycznie każdy produkt pośredni oraz końcowy metabolizmu, jednakże termin *metabolit* stosowany jest zwykle tylko do małych cząsteczek organicznych.

PRODUKT NATURALNY

Związek organiczny wyizolowany z naturalnych źródeł, który powstaje jako produkt metabolizmu.

WIĄZANIE WODOROWE

Rodzaj słabego, niekowalencyjnego oddziaływania pomiędzy elektrycznie ujemnym atomem i atomem wodoru, związanym z innym atomem elektrycznie ujemnym.

POLIMER

Duża cząsteczka złożona z wielu powtarzających się podjednostek.

TRANSKRYPCJA

Pierwszy etap ekspresji genu, w którym dany segment DNA jest kopiowany na mRNA przez enzym nazywany polimerazą RNA.

TRANSLACJA

Proces, w którym rybosomy tworzą białka, wykorzystując cząsteczki mRNA jako matrycę.

METABOLICZNY OBRÓT BIAŁKA

Krótko mówiąc, jest to równowaga między syntezą białek a degradacją białek w komórce.

WIECEJ INFORMACJI

1. Berg J.M., Stryer L., Tymoczko J.L., 2005, *Biochemia*, PWN

informację genetyczną. Tak zdefiniowany kod genetyczny określa sekwencję aminokwasów we wszystkich białkach. Organizmy prokariotyczne (bakterie) są stosunkowo proste, a ich DNA przechowywane jest w cytoplazmie. Natomiast organizmy eukariotyczne przechowują większość DNA w jądrze komórkowym, jedynie niewielka część ich DNA znajduje się w organellach, takich jak mitochondria i chloroplasty. W jądrze cząsteczki DNA są zorganizowane w długie struktury nazywane chromosomami. Podczas podziału komórki chromosomy są powielane (replikacja DNA), by zapewnić każdej komórce własny kompletny zestaw informacji genetycznej. Chromosomy zawierają także dużo białek pomocnych w organizowaniu i zagęszczaniu DNA.

Kwas rybonukleinowy (RNA) odgrywa istotną rolę w przenoszeniu informacji genetycznej od genów do białek. Trzy uniwersalne rodzaje RNA to: RNA transportowy (tRNA), RNA matrycowy (mRNA) i RNA rybosomalny (rRNA). mRNA przenosi informację genetyczną z DNA, sterując syntezą białka. rRNA jest aktywnym składnikiem rybosomu, który katalizuje powstawanie wiązania peptydowego. Natomiast tRNA pomaga w dostarczaniu aminokwasów potrzebnych do biosyntezy białek. Ponadto poznano wiele innych klas RNA, z których większość uczestniczy w regulacji ekspresji genów.

BIAŁKA

Białka są dużymi makrocząsteczkami, składającymi się z jednego lub więcej liniowych łańcuchów reszt aminokwasowych. Liniowy łańcuch reszt aminokwasowych nazywany jest polipeptydem. Każde białko zawiera co najmniej jeden długi polipeptyd. Krótkie polipeptydy, zawierające mniej niż około 20–30 reszt aminokwasowych, nie są uważane za białka i są nazywane po prostu peptydami. Główna różnica pomiędzy poszczególnymi cząsteczkami białka leży w ich sekwencji aminokwasów. Zazwyczaj sekwencja jest odpowiedzialna za przyjęcie przez białko określonej struktury trójwymiarowej, która określa z kolei jego aktywność. W krótkim czasie po lub w czasie syntezy niektóre reszty aminokwasowe w białku są modyfikowane chemicznie (modyfikacje posttranslacyjne), co zmienia właściwości fizyczne i chemiczne oraz strukturę białka. Białka wykonują szeroki wachlarz funkcji w organizmach, takich

jak reakcje metaboliczne, replikacja DNA, odpowiedź na bodźce oraz transport innych cząsteczek. Wiele białek to enzymy, które katalizują reakcje biochemiczne i mają zasadnicze znaczenie dla przemiany materii. Białka mają również funkcje strukturalne i mechaniczne. Cząsteczki te mogą również współpracować ze sobą podczas wykonywania swoich funkcji i prawie zawsze występują one w postaci stabilnych kompleksów złożonych z wielu cząsteczek białka. Po powstaniu białko istnieje w komórce tylko przez określony czas, następnie jest ono degradowane w procesie obrotu metabolicznego białek.

ISTOTNE METODY BADANIA MAKROČZĄSTEK

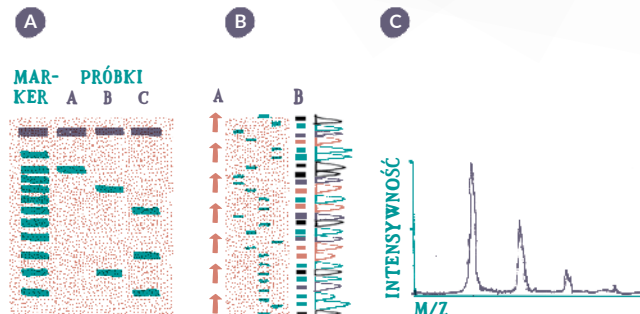
Elektroforeza – rozdział elektroforetyczny umożliwia podział cząsteczek pod względem rozmiarów. Tego rodzaju analiza może być stosowana zarówno względem DNA, RNA, jak i białek. Cząsteczki migrują w polu elektrycznym, przeciskając się przez żel zbudowany z dużych cząsteczek polimerów (takich jak agaroz lub poliakrylamid). Mniejsze cząsteczki przemieszczają się szybciej, większe – wolniej.

Sekwencjonowanie metodą Sangera – opiera się na syntezie drugiej nici DNA. W mieszaninie reakcyjnej jest domieszka dideoksynukleotydów, które przerywają reakcję. We współczesnej, zautomatyzowanej metodzie dideoksynukleotydy są wyznakowane fluorescencyjnie, dzięki czemu można stwierdzić, na którym nukleotydzie skończyła się synteza nici. We wcześniejszej, nieautomatyzowanej wersji przeprowadzano cztery niezależne reakcje. W każdej z nich tylko jeden z czterech nukleotydów przerywał reakcję i był wyznakowany radioaktywnie (następnie reakcje rozdzielano elektroforetycznie).

Spektrometria mas – technika umożliwiająca identyfikację białek. Białka są trawione enzymatycznie, a następnie ich fragmenty są identyfikowane na podstawie stosunku masy do ładunku. Można to uznać za rodzaj „sekwencjonowania białek”.



→
Rys. 1. Organizacja struktury białka



→
Rys. 2. Metody badania biocząsteczek: przykład rozdziłu elektroforetycznego DNA (A), sekwencjonowanie metodą Sanger (B), schemat wyniku analizy spektrometrii mas (C)

Biologiczne bazy danych to cyfrowe biblioteki informacji z zakresu nauk o życiu. Informacje biorą się z pojedynczych eksperymentów, analizy literaturowej, doświadczeń wysokoprzepustowych (takich, z których uzyskuje się bardzo dużo danych) oraz analiz bioinformatycznych. Mogą dotyczyć sekwencji genomowych, poziomów wyrażanych mRNA i białek oraz sieci interakcji, sieci regulacyjnych i sieci metabolicznych. Bazy danych mogą też zawierać informacje odnośnie do funkcji genów, lokalizacji białek, pokrewieństwa między genami z różnych organizmów oraz znaczenia klinicznego konkretnych mutacji. Bazy danych mogą dotyczyć wielu wymienionych wyżej aspektów naraz lub też tylko ich wycinków. Mogą też koncentrować się wyłącznie na wybranych organizmach modelowych (np. drożdżach piekarskich lub muszce owocowej). Według czasopisma *Nucleic Acids Research* w roku 2012 istniało 1380 biologicznych baz danych. Trzy największe bazy danych sekwencyjnych to amerykański GeneBank, europejski EMBL i japoński DNA Data Bank. Wszystkie trzy bazy regularnie wymieniają się danymi, aby zapewnić ich aktualność i kompletność.

INNE WAŻNE BAZY TO M.IN.:

- 📖 UniProt – baza sekwencji białkowych
- 📖 PDB (Protein Data bank) – baza struktur białkowych
- 📖 Rfam – baza rodzin RNA
- 📖 Pathway Commons – baza ścieżek biologicznych
- 📖 KEGG – baza ścieżek metabolicznych
- 📖 ArrayExpress – baza danych o poziomach ekspresji RNA
- 📖 PhenCode – baza łącząca ludzkie mutacje z fenotypami

Powyższa lista nie jest żadną miarą wyczerpująca. Każdego roku pojawiają się nowe bazy danych. Niektóre czerpią informacje bezpośrednio z wyników doświadczalnych lub z literatury. Inne integrują informacje z istniejących wcześniej baz, aby ułatwić naukowcom analizę danych i formułowanie hipotez badawczych.

📖 W SKRÓCIE

Skąd biolodzy biorą informacje niezbędne na różnych etapach projektów badawczych? Omówimy podstawowe rodzaje biologicznych baz danych pod kątem typów informacji, jakie można w nich znaleźć.

📖 POJĘCIA KLUCZOWE

NUCLEIC ACIDS RESEARCH
Czasopismo publikujące coroczne darmowe podsumowanie istniejących biologicznych baz danych.

📖 WIĘCEJ INFORMACJI

1. Galperin M.Y., Fernández-Suárez X.M., 2012, *The 2012 Nucleic Acids Research Database Issue and the online Molecular Biology Database Collection*, *Nucleic Acids Research*, 40 (Database issue), D1–8. doi:10.1093/nar/gkr1196

Czym jest biologia syntetyczna

W SKRÓCIE

Biologia syntetyczna stanowi nową, dynamicznie rozwijającą się dziedzinę biologii. Jednocześnie, przez wzgląd na swój inżynierski charakter, zdecydowanie wykracza poza tradycyjnie rozumianą biologię molekularną.

POJĘCIA KLUCZOWE

STANDARYZACJA

W kontekście biologii syntetycznej podejście dążące do stosowania jednolitych, ustalonych standardów w danej dziedzinie.

BIOLOGIA SYSTEMÓW

Multidyscyplinarna dziedzina, charakteryzująca się traktowaniem złożonych systemów biologicznych jako całości. Stanowi ona zarazem przeciwieństwo podejścia redukcyjnego.

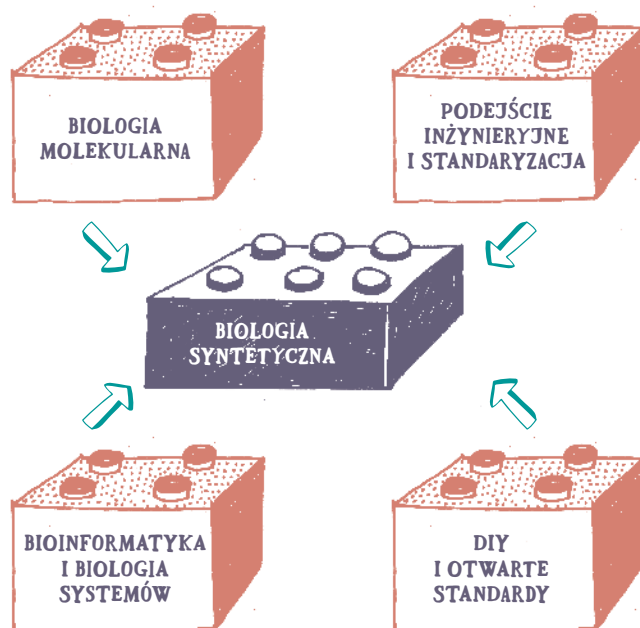
WIĘCEJ INFORMACJI

1. University of Washington, *Synthetic Biology*, <http://synbio.washington.edu/>



Rys. 1. Fundamenty biologii syntetycznej

Biologia syntetyczna stanowi próbę ujęcia biologii molekularnej w sposób inżynierski. Ale nie tylko. Badacze zaangażowani w tę dziedzinę starają się w sposób racjonalny projektować całe mechanizmy molekularne. Tworzyć złożone, zaprojektowane od podstaw maszyny molekularne, tam gdzie do niedawna genetycy jedynie wprowadzali subtelne, pojedyncze modyfikacje względem układów naturalnych. Biologia syntetyczna jest przedsięwzięciem interdyscyplinarnym, łączącym biologię molekularną, inżynierię genetyczną, bioinformatykę i biologię systemów. Biologia syntetyczna dąży do stworzenia jednolitych standardów i systemu wymiany danych, aby jak największa liczba badaczy mogła możliwie łatwo wykorzystywać i rozwijać wcześniejsze odkrycia. Biolodzy syntetyczni dążą też do tego, aby narzędzia biologii molekularnej i inżynierii genetycznej były dostępne dla wszystkich, w tym dla biologów hobbystów, aby jak najwięcej osób mogło świadomie uczestniczyć w kolejnych przełomach naukowych.



Modele matematyczne w naukach biologicznych

W SKRÓCIE

Choć tradycyjnie matematyka i biologia postrzegane są jako odmienne dyscypliny, to obecny postęp w dziedzinie nauk przyrodniczych i medycyny sprawił, że wiele eksperymentów biologicznych ma charakter ilościowy i może być opisanych językiem matematyki.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Każda nauka inżynierska wymaga narzędzi potrzebnych do budowania i analizy modeli. W zależności od dyscypliny używa się różnych narzędzi do tworzenia takich modeli, ale cel jest taki sam – stworzenie matematycznego opisu badanego zjawiska lub układu, tak aby móc przewidzieć jego działanie w różnych okolicznościach. W przypadku nauk biologicznych chcemy modelować w ten sposób organizmy żywe. W tym rozdziale (jak i paru kolejnych) zajmiemy się trochę mniej ambitnym, ale także ważnym celem – jak można modelować procesy metaboliczne lub regulację ekspresji genów.

Proces budowy modelu biologicznego to zwykle cykl wielokrotnych powtórzeń, w którym ustanawia się dużą ilość zmiennych, relacji matematycznych i parametrów liczbowych, dzięki czemu wykonane obliczenia i inne analizy matematyczne pozwalają na obserwację właściwości systemu oraz prognozy jego zachowania w przyszłości. W każdym takim cyklu model jest rozbudowywany, a następnie oceniany. Trzeba pamiętać, że nawet najbardziej wyrafinowane metody symulacji są mało użyteczne, jeśli początkowa struktura modelu posiada istotne wady.

Z wyżej wspomnianych powodów budowa modeli jest raczej czasochłonnym i żmudnym zadaniem. Co istotne, ważne spostrzeżenia biologiczne można uzyskać na każdym etapie budowy modelu. Pierwszym krokiem jest analiza istniejących danych doświadczalnych (ekspresja genów, interakcje białeczek etc.), które będą reprezentowane w modelu. Należy pamiętać, że model nie musi koniecznie obejmować wszystkiego, co wiemy o badanym systemie. Czasem prostsze systemy mogą być łatwiejsze w zrozumieniu i prawidłowym opisie matematycznym. Wybór rodzaju modelu oraz metod obliczeniowych jest jedną z najtrudniejszych czynności w procesie budowania modelu. Przykładowo wybranie zbyt wielu zmiennych do zasymulowania może prowadzić do trudności podczas budowy modelu matematycznego, jak i samych obliczeń. Następnym krokiem podczas budowy modelu jest odszukanie ewentualnych oddziaływań pomiędzy składnikami. Analiza takiej sieci może już dostarczyć ważnych informacji na poziomie systemu. Głębszy opis obejmuje także kierunek oddziaływań pomiędzy elementami sieci i pozwala zobrazować przepływ informacji w badanej sieci. Na koniec elementy modelu mogą być scharakteryzowane ilościowo (właściwości, takie jak poziom ekspresji genu, stabilność danego białka etc.). Wszystkie etapy budowy modelu oraz samych procedur obliczeniowych muszą być dokładnie udokumentowane w celu dalszej weryfikacji modelu oraz ewentualnego powtórzenia obliczeń przez innych naukowców. Wspólnota biologów opracowała zestawy wytycznych dotyczących prawidłowego opisu modeli, dane te powinny być udostępnione wraz z samym modelem. Wymagane informacje mogą być zakodowane w standardowych formatach zapisu danych biologicznych: na przykład Systems Biology Markup Language (SBML) dla modeli

WIECEJ INFORMACJI

1. Alon U., 2006,
*An Introduction to Systems
Biology: Design Principles
of Biological Circuits*,
Chapman&Hall

i symulacji oraz Simulation Experiment Description Markup Language (SED-ML) do symulacji i analiz. Wprowadzenie tych otwartych standardów miało istotny wpływ na dalszy rozwój biologii systemów, ułatwiając automatyzację zarówno symulacji, jak i eksperymentów biologicznych.

GROMADZENIE DANYCH DOŚWIADCZALNYCH

Postęp w biologii molekularnej, dokonany na początku tego wieku, doprowadził do ogromnego przyrostu danych biologicznych uzyskiwanych przez naukowców. Jedną z często stosowanych metod pozwalających zobaczyć, co dzieje się w ramach badanego układu biologicznego, jest użycie genów reporterowych, takich jak białko zielonej fluorescencji (GFP). Białko to nie jest szkodliwe dla komórek, co pozwala na efektywne prowadzenie badań, takich jak poziom ekspresji określonych genów czy ustalenie, w jakich fragmentach komórki występuje dane białko.

OPIS ILOŚCIOWY KOMÓRKI

Z inżynierskiego punktu widzenia komórka może być potraktowana jako zintegrowane urządzenie, którego działanie opiera się na tysiącach interakcji pomiędzy cząsteczkami biologicznymi. Znaczna część z tych cząsteczek to białka. W uproszczeniu można powiedzieć, że każde białko jest mikroskopijną maszyną zdolną do wykonywania określonych zadań. Na przykład *Escherichia coli* jest prostą bakterią, ale mimo tego zawiera w sobie kilka milionów cząsteczek białek podzielonych na około 4000 różnych typów. Podczas swojej egzystencji komórka napotka różne sytuacje, których przetrwanie wymagać będzie różnych zestawów białek. Dlatego też komórki muszą stale monitorować swoje środowisko – aby móc dostosować się do dynamicznie zmieniającego się środowiska. Na przykład, gdy materiał genetyczny komórki zostanie uszkodzony, to taka komórka zaczyna wytwarzać specjalne białka potrzebne do naprawienia DNA. Procesy regulacji syntezy białka są typowe dla praktycznie wszystkich komórek i są kontrolowane przez złożone systemy nazywane sieciami transkrypcyjnymi.



←
Rys. 1. Budowanie modelu biologicznego jako procesu cyklicznego. W każdym cyklu model staje się dokładniejszym opisem badanego procesu

Narzędzia obliczeniowe w biologii syntetycznej

W SKRÓCIE

Nauki inżynieryjnej, jaką jest biologia syntetyczna, nie da się uprawiać bez odpowiedniego aparatu matematycznego. Modelowanie złożonych układów biologicznych nastręcza trudności, ale przynosi też pierwsze praktyczne korzyści.

POJĘCIA KLUCZOWE

CECHY EMERGENTNE

Charakteryzują złożone układy. Nie wynikają w prosty sposób z elementów składowych układu, ale z oddziaływań między nimi.

INŻYNIERIA METABOLICZNA

Dziedzina zajmująca się optymalizacją procesów genetycznych i regulatorowych w komórce celem uzyskania jak najwyższej produkcji określonej substancji.

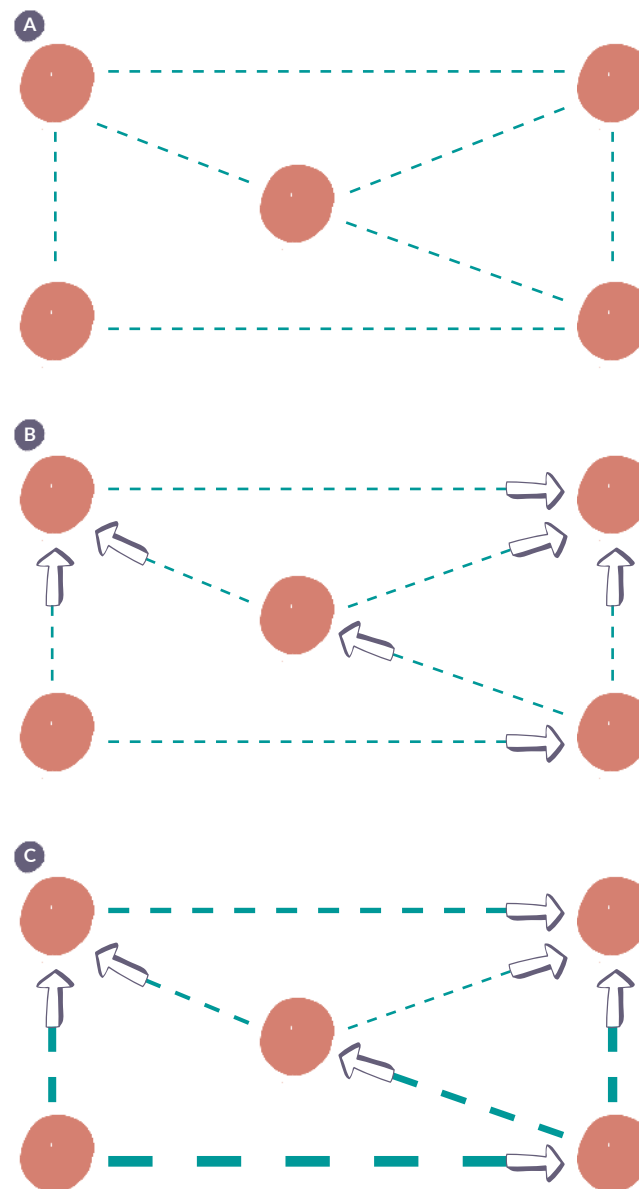
Jednym z podstawowych założeń biologii syntetycznej jest racjonalne projektowanie kompletnych systemów biologicznych. Wymaga to użycia odpowiednich narzędzi informatycznych i obliczeniowych. Nawet stosunkowo proste układy biologiczne mogą się bowiem zachowywać w wysoce nieprzewidywalny i nieintuicyjny sposób. Im bardziej złożony system modelujemy, tym większe prawdopodobieństwo, że będzie on wykazywał cechy emergentne (tj. niewynikające w prosty sposób z jego elementów składowych, a raczej z oddziaływań pomiędzy nimi). Dotyczy to zarówno układów molekularnych, jak i makroskopowych (dobrym przykładem mogą być owady społeczne, u których stosunkowo proste reguły kierujące zachowaniem pojedynczych owadów prowadzą do powstania złożonych struktur, takich jak ule pszczele czy kopce termitów).

Jednym z kluczowych podejść jest tworzenie sieci genetycznych i molekularnych. Mogą być to sieci przedstawiające jedynie same oddziaływania (fizyczne lub genetyczne) pomiędzy białkami lub genami. Takie sieci można skonstruować stosunkowo łatwo, jednak ich zdolności predykcyjne są stosunkowo ograniczone – pozwalają stwierdzić stabilność danego układu oraz przewidzieć, co może doprowadzić do jego dysfunkcji. Bardziej zaawansowane modele mogą uwzględniać naturę oddziaływania, jego kierunek oraz wartości ilościowe (np. wpływ obecności jednego białka na poziom innego białka; rys. 1). Tego rodzaju modele pozwalają czynić dużo bardziej szczegółowe przewidywania, ale wymagają też dokładnych danych doświadczalnych oraz wielu etapów weryfikacji.

Trzeba zaznaczyć, że w modelowaniu prostych układów biologicznych (takich jak oscylatory molekularne – rys. 2) biologia syntetyczna od dłuższego czasu odnosi sukcesy, natomiast od niedawna realne stały się bardziej zaawansowane projekty z zakresu inżynierii metabolicznej, tworzące nadzieję na coraz wydajniejszą i tańszą produkcję np. leków. Ostatnim spektakularnym sukcesem tego rodzaju było uzyskanie wydajnej produkcji leku antymalarycznego, artemizyny w drożdżu piekarskim *Saccharomyces cerevisiae*.

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Novère Le N., 2015, *Quantitative and logic modelling of molecular and gene networks*, *Nature Reviews, Genetics*, 16(3), 146–58. doi:10.1038/nrg3885
2. Woods M.L., Leon M., Perez-Carrasco R., Barnes C.P., 2016, *A Statistical Approach Reveals Designs for the Most Robust Stochastic Gene Oscillators*, *ACS Synthetic Biology*, 5(6), 459–70. doi:10.1021/acssynbio.5b00179
3. Paddon, C.J., Keasling, J.D., 2014, *Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development*, *Nature Reviews, Microbiology*, 12(5), 355–67. doi:10.1038/nrmicro3240



←
Rys. 1. Przykłady sieci oddziaływań:
(A) najprostsza sieć zawierająca tylko informacje o zajściu oddziaływania, (B) sieć uwzględniająca kierunek oddziaływania, (C) sieć uwzględniająca kierunek oddziaływania i wartości liczbowe, przedstawione jako różnice w grubości linii przerywanych

Kilka słów o tym, jak regulowane są systemy biologiczne

W SKRÓCIE

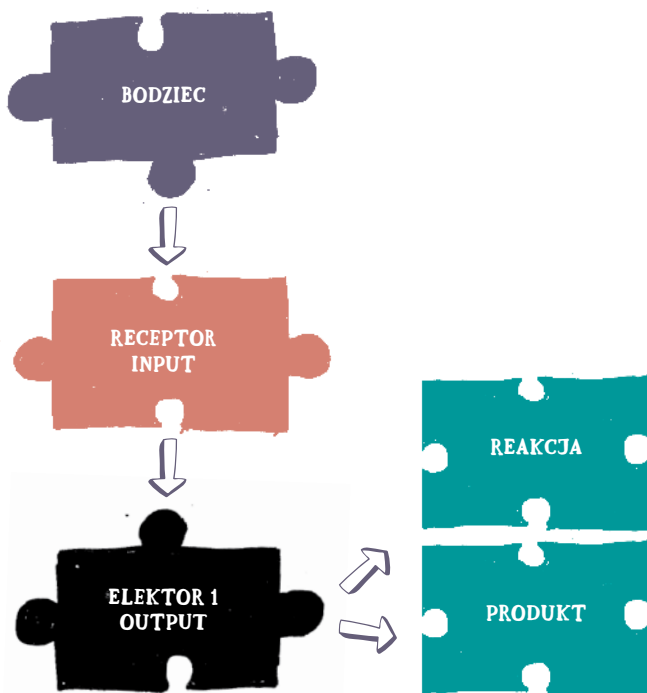
Komórka musi wymieniać z otoczeniem materię, energię i informacje. Sygnał jest odbierany przez receptor, a następnie wzmacniany i przekazywany przez łańcuch przekaźników do efektorów. Podstawowymi mechanizmami regulacji sieci sygnałowych są sprzężenia zwrotne dodatnie i ujemne.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Dzięki znajomości mechanizmu przekazywania sygnału w komórce, wiemy, jak go modyfikować na naszą korzyść.

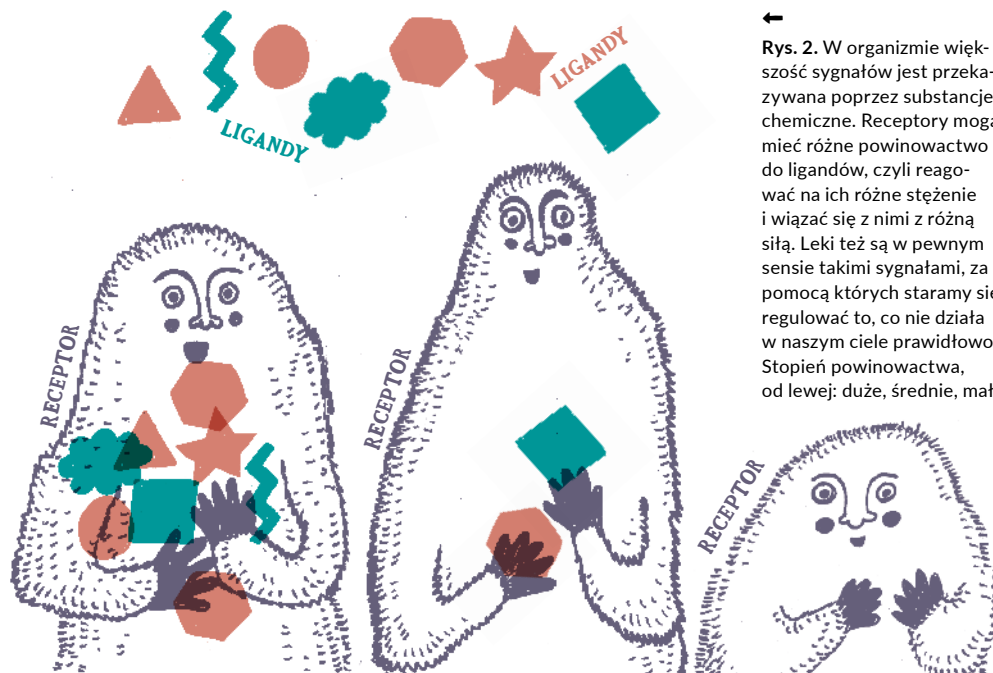
Komórka to jednostka samodzielna. Aby przeżyć, musi wymieniać informacje z otoczeniem: sąsiadującymi komórkami, otaczającymi tkankami i narządami (jeśli jest częścią organizmu wielokomórkowego). W przypadku organizmów jednokomórkowych sprawa też nie jest prosta. Komórka potrzebuje jeść (biolodzy i chemicy powiedzieliby, że potrzebuje dostarczać sobie substratów do reakcji chemicznych), wydalać (usuwać produkty metabolizmu), rozmnażać się, poruszać i utrzymywać stałe warunki reakcji chemicznych w swoim wnętrzu. Komórki nie mają świadomości, dlatego odbiór bodźców i reakcje muszą być w pełni zautomatyzowane.

Systemy komunikacji są niezwykle różnorodne i wiele z nich jest jeszcze niepoznanych albo nie do końca wyjaśnionych (czyli masz jeszcze bardzo dużo do odkrycia!). Relacjami i obiegiem informacji zajmuje się biologia systemów. Większość systemów wygląda tak, jak przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Ogólny schemat przekazywania sygnałów w komórce w reakcji na bodziec. Bodźcem wykrywanym przez receptor mogą być drgania, zmiana temperatury, dotyk, ból, pole elektryczne, pole magnetyczne, zmiana ciśnienia atmosferycznego, zmiana ciśnienia osmotycznego albo zmiana stężenia cząsteczki chemicznej (ligandu). Czym może być ligand i receptor? Może to być np. białko, RNA, DNA, małe cząsteczki organiczne lub nieorganiczne (jak tlenek azotu, neurotransmitery, hormony, transportery, enzymy, kanały jonowe

Leki o dużej mocy dają silny efekt nawet w małych stężeniach. Jeśli cząsteczka sygnałowa ma niewielką moc, wtedy potrzebne jest jej o wiele większe stężenie, by wywołać ten sam efekt po związaniu z receptorem jak w przypadku cząsteczki o dużej mocy. Skuteczność cząsteczki sygnałowej (leku) mówi, jak dużą odpowiedź komórkową powoduje w porównaniu do najwyższej kiedykolwiek zaobserwowanej. Cząsteczki sygnałowe mogą wiązać się z receptorem trwale (mocne wiązanie kowalencyjne) lub nietrwale (wiązanie niekowalencyjne). Wewnętrzne sygnały są zazwyczaj nietrwałe i ligand może odłączać i przyłączać się do receptora wielokrotnie. Jeden receptor może wiązać kilka ligandów w różnych miejscach albo mogą one rywalizować ze sobą o to samo miejsce. Ligand może aktywować albo zablokować receptor. Zazwyczaj z powodu oszczędności energetycznej systemu biologicznego do receptora przyłącza się niewiele cząsteczek sygnałowych w porównaniu do cząsteczek efektorowych. Do nasilenia odpowiedzi komórkowej służą kaskady kolejnych cząsteczek sygnałowych wewnątrz komórki. Daje to efekt lawiny. Można to porównać do polecenia sobie gry komputerowej przez ludzi – im więcej osób o niej usłyszy, tym więcej przekaże informacje swoim znajomym (rys. 3).



POJĘCIA KLUCZOWE

SYGNAŁY KOMÓRKOWE
RECEPTORY
KASKADY PRZKAŹNIKÓW
MOC LEKU
EFEKTORY
SPRZĘŻENIE ZWROTNE
BIOLOGIA SYSTEMÓW
BODZIEC
POWINOWACTWO LEKU
SKUTECZNOŚĆ LEKU

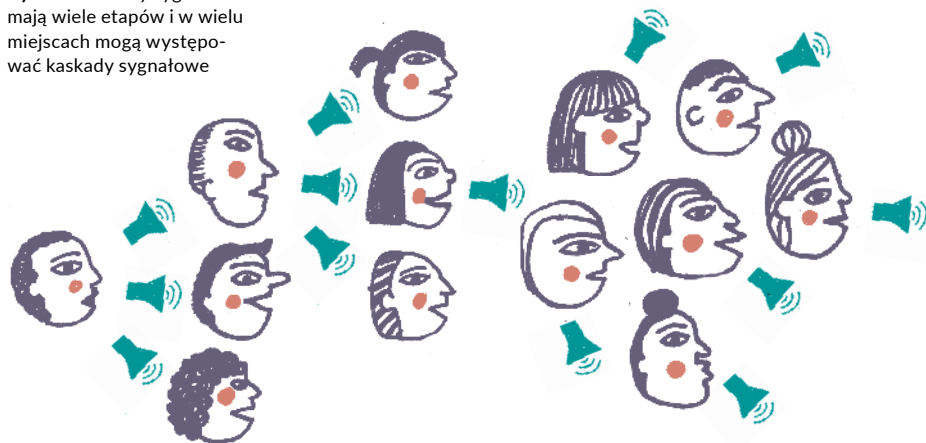
Rys. 2. W organizmie większość sygnałów jest przekazywana poprzez substancje chemiczne. Receptory mogą mieć różne powinowactwo do ligandów, czyli reagować na ich różne stężenie i wiązać się z nimi z różną siłą. Leki też są w pewnym sensie takimi sygnałami, za pomocą których staramy się regulować to, co nie działa w naszym ciele prawidłowo. Stopień powinowactwa, od lewej: duże, średnie, małe

WIECEJ INFORMACJI

1. Cameron D.E., Bashor C.J., Collins J.J., *A brief history of synthetic biology*, *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(5):381-90
2. Konieczny L., Roterman I., Spólnik P., *Biologia systemów. Strategia działania organizmu żywego*, 2010, PWN
3. *Genetyka molekularna*, pod red. P. Węgleńskiego, 2006, PWN
4. Khan Academy, *Overview of cell signalling*, <http://www.youtube.com/watch?v=FQFBygnIONU>

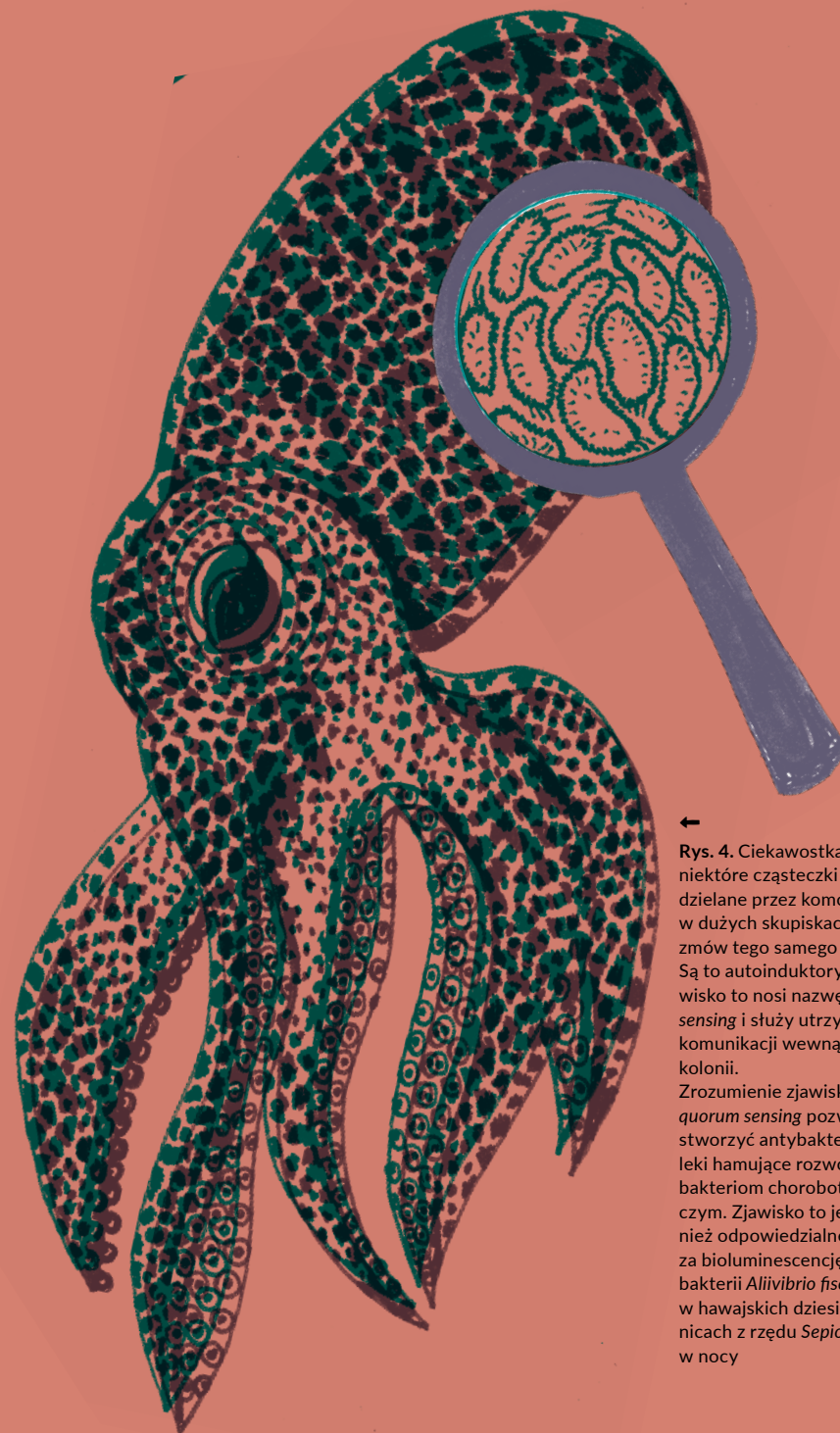


Rys. 3. Łańcuchy sygnałowe mają wiele etapów i w wielu miejscach mogą występować kaskady sygnałowe



Co dzieje się z sygnałem po drodze? Łańcuchy sygnałowe mają zazwyczaj wiele etapów i w kilku miejscach występują kaskady sygnałowe wzmacniające sygnał. Niektóre ligandy są związane z receptorem dłużej, inne odłączają się (oddysocjują) szybko. Powielony sygnał może wywoływać reakcję szlaku sygnałowego wielokrotnie.

Sygnał może ulec osłabieniu (atenuacji) w wyniku sprzężenia zwrotnego ujemnego, czyli wyłączenia receptora przez produkt końcowy szlaku. Alternatywnie może być podtrzymywany ciągle w wyniku sprzężenia zwrotnego dodatniego – wówczas produkt szlaku aktywuje receptor. Przykładem sprzężenia zwrotnego dodatniego jest operon laktozowy u *Escherichia coli*. Kiedy w środowisku bakterii laktozy jest pod dostatkiem, produkuje ona enzym, β -galaktozydazę, ułatwiający wykorzystanie laktozy jako źródła energii. Dzieje się tak, ponieważ laktoza odblokowuje jego działanie. Jeśli brak jest laktozy, to enzym nie jest produkowany. Przykładem sprzężenia zwrotnego ujemnego jest operon tryptofanowy u tej samej bakterii. Tryptofan jest aminokwasem niezbędnym do życia. Jeśli występuje w jej środowisku, to sam blokuje swoją produkcję, by zaoszczędzić energię organizmu. Jeśli go nie ma, blokada zostaje zdjęta i bakteria produkuje go samodzielnie.



Rys. 4. Ciekawostką jest, że niektóre cząsteczki są wydzielane przez komórki tylko w dużych skupiskach organizmów tego samego gatunku. Są to autoinduktory, a zjawisko to nosi nazwę *quorum sensing* i służy utrzymywaniu komunikacji wewnątrz całej kolonii. Zrozumienie zjawiska *quorum sensing* pozwoliło stworzyć antybakteryjne leki hamujące rozwój kolonii bakteriom chorobotwórczym. Zjawisko to jest również odpowiedzialne za bioluminescencję skupisk bakterii *Aliivibrio fischeri* w hawajskich dziesięciornikach z rzędu *Sepiolida* w nocy

O sieciach genetycznych i do czego można je wykorzystać

W SKRÓCIE

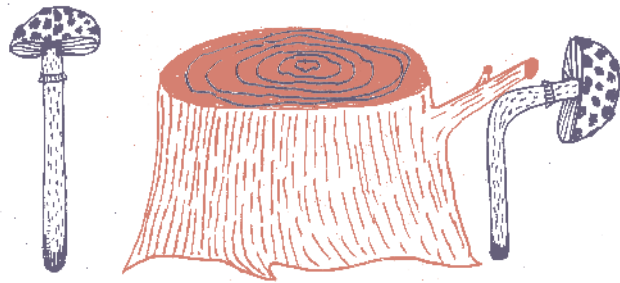
O funkcjonowaniu organizmu decyduje nie tylko genotyp. Z tego powodu także projektowanie szlaków metabolicznych wymaga uwzględnienia wielu zależności między genami, białkami i czynnikami środowiskowymi. Operon laktozowy jest prostym przykładem funkcjonowania sieci zależności w komórce.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Na działanie leku wpływa wiele procesów, których nie da się prosto przewidzieć. Sieci regulatorowe genów dają nadzieję, że w przyszłości profilaktyka i diagnostyka chorób, takich jak cukrzyca, nowotwory, choroby układu krwionośnego, będą efektywniejsze.

POJĘCIA KLUCZOWE

INŻYNIERIA
METABOLICZNA
BIOLOGIA SYSTEMÓW
BIG DATA
MEDYCYN
SPERSONALIZOWANA
GENOMIKA
EPIGENETYKA
BRAMKI LOGICZNE



Wspomnieliśmy już w ogromnym skrócie, na czym polega regulacja oraz przekazywanie sygnałów komórkowych i międzykomórkowych. Sieci regulatorowe interakcji genetycznych to podstawa wszystkich zdarzeń kształtujących organizmy. One także posiadają swoje regulatory, o których wykorzystaniu dokładniej opowiemy w rozdziale o projektowaniu obwodów genetycznych w biologii syntetycznej.

W tym rozdziale chcemy Cię trochę przerazić złożonością systemów biologicznych, a jednocześnie uspokoić Twoje obawy przed zmodyfikowanymi genetycznie biegającymi po ulicach potworami albo rzeczywistością jak z filmu GATTACA.

OPERON LAC JAKO PROSTY PRZYKŁAD WZAJEMNEJ REGULACJI GENÓW

Na początek podstawa – czym jest gen i jak działa? Spójrzmy na bakteryjny operon laktozowy, czyli zespół 3 genów wspólnie regulowanych i w tym przypadku związanych ze sobą funkcjonalnie (rys. 1.). Wygląda to dość skomplikowanie, prawda? A u roślin i zwierząt transkrypcja i translacja genu przebiegają jeszcze inaczej. To może z definicją genu będzie prościej.

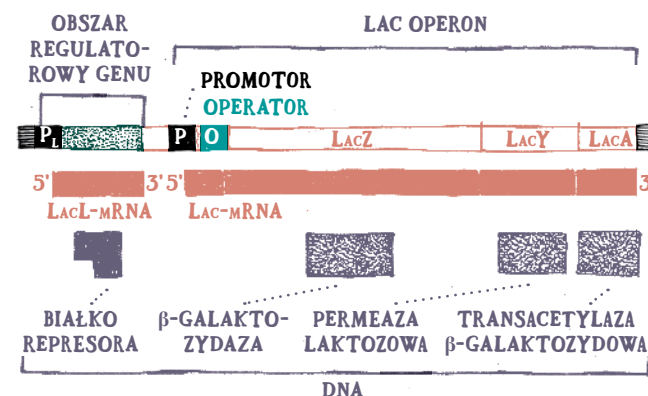
Gen to podstawowa jednostka dziedziczności, która determinuje powstania białka lub RNA, będąca liniową sekwencją nukleotydów w DNA. Definicja genu zmieniła się jednak od 1909 roku, kiedy wprowadził ją botanik Wilhelm Johannsen. W 2016 roku okazało się, że informacja o tym, jak i kiedy zbudować dane białko, jak długo je produkować i dokąd dostarczyć, jest zapisana nie tylko w sekwencji DNA, ale też w ułożeniu nici w jądrze komórkowym.

REGULACJA GENÓW W DUŻEJ SKALI

Sieci genetyczne są tysiące razy bardziej skomplikowane niż pojedynczy operon. Przez ostatnie 15 lat dzięki postępowi sekwencjonowania i rozwojowi metod analizy ogromnych, niepełnych i nieuporządkowanych zbiorów danych (big data) można było zacząć tworzyć skomplikowane wizualizacje i modele sieci genetycznych.

Wielu badaczy oczekuje, że sieci regulatorowe genów będą funkcjonować jako biomarkery (czyli molekularne znaczniki) usprawnią diagnostykę nowotworów, cukrzycy i innych chorób metabolicznych. W przyszłości uda się być może tworzyć modele sieci epigenetycznych, uwzględniające wpływ środowiska na genotyp. Jest to jednak dość odległa przyszłość, a przedsięwzięcie to będzie kosztowne i wymagające globalnej współpracy.

Największe nadzieje wiąże się z wykorzystaniem sieci regulatorowych w projektowaniu leków. Na szerszą skalę będzie również wykorzystywać się bramki logiczne, podobne do tych stosowanych w projektowaniu układów elektronicznych. Sieci regulatorowe mogą dodatkowo różnić się aktywnością w zależności od różnych warunków środowiska, stanu organizmu czy wieku. Już dziś oczywiście tworzy się ogromne sieci, ale wiadomo, że możliwości są o wiele większe. Takie podejście pozwala biologom na blokowanie niektórych szlaków biochemicznych, zwiększanie wydajności innych oraz otrzymywanie pożądaných substancji w innych organizmach niż te, z których pochodzą, np. ludzkiej insuliny w bakteriach.



Rys. 1. Schemat genów operonu laktozowego u *Escherichia coli*. Najpierw spójrzmy na geny operonu: region promotora (P_i), który reguluje początek transkrypcji genu/genów. Operator (O) to miejsce, do którego podczas nieobecności laktozy przyłącza się białko represora (R) i blokuje transkrypcję następujących po nim genów. Gen lacZ koduje enzym β -galaktozydazę rozkładającą laktozę do galaktozy i glukozy, wykorzystywanych jako łatwo przyswajalne źródło energii dla bakterii. Produkt genu jest wydzielany wewnątrz komórki, dlatego potrzebny jest gen lacY. Koduje on permeazę laktozową, która jest białkowym transporterem przenoszącym laktozę do komórki. Gen lacA koduje transacetylazę β -galaktozydową odpowiedzialną za transport cząsteczek laktozy wewnątrz komórki do miejsca hydrolizy. Rejony to sąsiadujące geny (nieistotne w tym momencie). Po przyłączeniu białka represora transkrypcja nie zachodzi, bo polimeraza RNA się nie mieści. Teraz spójrzmy na obszar kodujący białko represora po lewej stronie. Promotor represora (P_i) umożliwia transkrypcję genu białka represora (lacI). Geny z DNA są transkrybowane na mRNA, którego translacja pozwala otrzymać białka pomagające w wykorzystaniu laktozy. Laktoza wiąże białko represora, więc transkrypcja enzymu jest odblokowana.

Dlaczego komórka jest taka skomplikowana

WIECEJ INFORMACJI

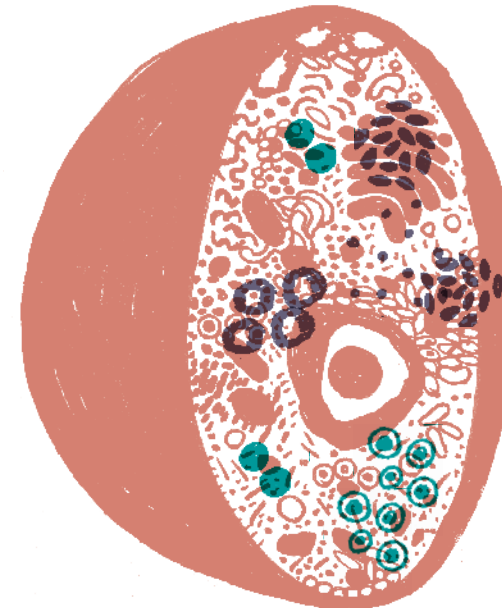
1. <http://sbrg.ucsd.edu/InSilicoOrganisms/OtherOrganisms>
2. Silva-Rocha R., Lorenzo de D., *Mining logic gates in prokaryotic transcriptional regulation networks*, FEBS Letters, 2008, 582(8): 1237–44
3. Emmert-Streib F., Dehmer M., Haibe-Kains B., *Gene regulatory networks and their applications: understanding biological and medical problems in terms of networks*, *Frontiers in Computational Biology*, 2014, 2:38, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4207011/>

→
Rys. 2. Interaktom (zbiór interakcji genetycznych) *Treponema pallidum* (kretka bladego). Kropki oznaczają geny, a linie – interakcje. Szacuje się, że człowiek ma około 20 000 genów, a ino popularny w badaniach biologicznych organizm – drożdże – około 6 000 genów. Tworzenie sieci interakcji pozwala na zawężenie ich liczby do analizy oraz wyodrębnienie najważniejszych połączeń



W marcu 2016 roku pracownicy J. Craig Venter Institute (JCVI) and Synthetic Genomics Inc. (SGI) ogłosili, że udało im się otrzymać bakterię JCVI-syn3.0. Jej genom zawiera 531560 par zasad i jedynie 473 geny, przy czym nieznana jest funkcja 149 z nich. Bakteria *Mycoplasma mycoides* powstała w ramach Minimal Cell Project, którego celem było sprawdzenie, ile naprawdę genów jest niezbędnych do przeżycia bakterii. Jest to najmniejsza syntetyczna bakteria, jaką udało wyhodować się w laboratorium. Dla porównania: w naturze występują bakterie, których genomy nie przekraczają 0,13 miliona par zasad, a największy genom to 14 milionów par zasad. Najwięcej jest jednak bakterii posiadających genom większy niż 2 miliony par zasad i mniejszy niż 5 milionów par zasad.

Odczytywanie, modyfikowanie i powielanie materiału genetycznego komórki podlega określonym zasadom. Są trzy główne poziomy, na których zachodzą interakcje molekularne. Przy projektowaniu organizmu trzeba brać je wszystkie pod uwagę. Te poziomy są przedstawione na rys. 2.



W SKRÓCIE

W komórce panuje ogromne zatłoczenie, a jej wewnętrzne jest bardzo dynamiczne. Genomy bakterii i wirusów można syntetyzować. W większości przypadków DNA jest transkrybowane (przepisywane) na mRNA, mRNA ulega translacji na białko.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Wiele procesów komórkowych różni się w poszczególnych typach komórek, dlatego trudno jest przygotować dobre i uniwersalne modele ich funkcjonowania.

POJĘCIA KLUCZOWE

MINIMAL CELL PROJECT
CENTRALNY DOGMAT
BIOLOGII
TRANSKRYPCJA
TRANSLACJA

←
Rys. 1. Schematyczna struktura komórki eukariotycznej

Jak zbudować obwód genetyczny

REPLIKACJA

WIĘCEJ INFORMACJI

1. *Podstawy biologii komórki*, pod red. B. Albertsa, 2009, PWN
2. *Kinesin Walking on a Microtubule*, www.youtube.com/watch?v=y-uuk4Pr2i8
3. *Biology Cell Structure*, <https://www.youtube.com/watch?v=URUJD5NEXC8>
4. *Fundamentals of Biology*, MIT OpenCourseWare, <https://www.youtube.com/watch?v=PzYOMWEE6U>
5. *Minimal Cell Project*, notka prasowa, <http://www.jcvi.org/cms/fileadmin/site/research/projects/minimal-cell/minimal-cell-release.pdf>

Projektowanie organizmów stawia przed biologami syntetycznymi wiele wyzwań. Organizmy eukariotyczne są bardziej skomplikowane niż prokariotyczne. Mimo że znamy działanie podstawowych cegiełek, to wciąż po ich połączeniu efekty okazują się różnić od tych spodziewanych. Wiele fragmentów DNA, do niedawna nazywanych „śmieciowymi”, ma duże znaczenie dla komórki, choć nie do końca jest ono poznane. Wśród nich są sekwencje powtórzone oraz nieaktywne elementy transpozycyjne (kiedy są aktywne potrafią „skakać” po genomie – same wycinać się i wklejać w losowe miejsca). Ponadto jeśli już uda się wprowadzić syntetyczne geny do bakterii, to trzeba je jeszcze jakoś w niej utrzymać, aby były dla bakterii przydatne i przekazywane kolejnym pokoleniom. Komórka pod względem informacyjnym przypomina ogromne miasto, które działa w miarę dobrze, ale nie da się od czasu do czasu uniknąć korków. W komórce praktycznie nie ma wolej przestrzeni i z tego powodu niemożliwe jest uniknięcie oddziaływań między sąsiadującymi cząsteczkami.

Przemiany wewnątrzkomórkowe zachodzą dynamicznie, a komórka cały czas zmienia się, reagując na bodźce z otoczenia. Regulacja komórek jest jeszcze bardziej złożona w przypadku organizmów tkankowych, gdyż ich komórki bardzo się od siebie różnią. Te wszystkie czynniki sprawiają, że rozwijanie biotechnologii jest drogie, wymaga czasu i współpracy wielu specjalistów.



→
Rys. 2. Centralny dogmat biologii. U zdecydowanej większości organizmów DNA jest przepisywane na mRNA, na podstawie którego składane są białka. Transkrypcja zachodzi w jądrze komórkowym, a translacja – w cytoplazmie

Biologia syntetyczna jest czasem nazywana przez dziennikarzy turboinżynierią genetyczną. Głównym celem biologów syntetycznych jest standaryzacja projektowania systemów biologicznych i wykorzystanie metod od dawna stosowanych w projektowaniu układów elektronicznych. Rozwijany jest nawet osobny język programowania – SBOl (Synthetic Biology Open Language), który służy m.in. do sporządzania projektów genetycznych wraz z opisem matematycznym.

Przykładem sztucznie zaprojektowanego, małego urządzenia genetycznego może być represylator przedstawiony na rys. 1. Optymalne parametry układu zostały dobrane dzięki modelowaniu matematycznemu, gdyż jest to układ niezwykle wrażliwy na zmiany i dobieranie ich eksperymentalnie byłoby zbyt czasochłonne i niepraktyczne.

Genetyczne puzzle – BioBricki™ to fragmenty DNA o charakterystycznych zakończeniach, które umożliwiają proste wykorzystanie ich w wielu różnych układach oraz umieszczenie na tzw. podstawowych plazmidach (ang. plasmid backbone). Można je porównać do kart pamięci, na których można zapisać i odtworzyć dowolne pliki (rys. 2.).



W SKRÓCIE

W rozdziale zawarte są podstawowe informacje na temat projektowania obwodów genetycznych – układów biologicznych modyfikujących funkcjonowanie organizmu-nosiela w zależności od tego, jaka została przypisana im funkcja.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Obwody genetyczne stanowią podstawowe narzędzie biologii syntetycznej, dlatego też wiedza na temat ich działania oraz zasad projektowania jest kluczowa.

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Alon U., 2006, *An Introduction to Systems Biology: Design Principles of Biological Circuits*, Chapman&Hall/CRC
2. Myers J.C., 2009, *Engineering Genetic Circuits*, Chapman&Hall/CRC

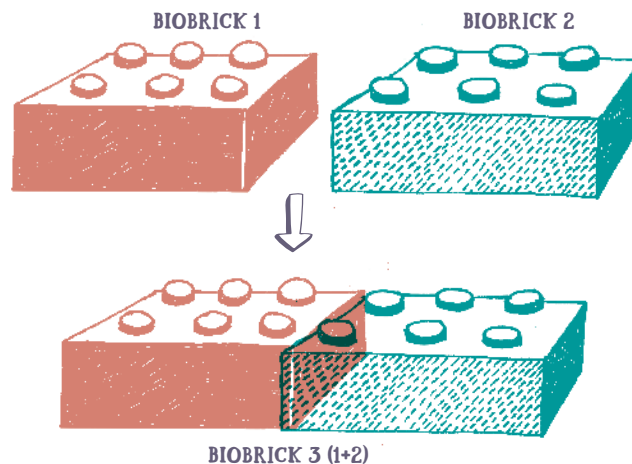
←
Rys. 1. System biologiczny składa się z urządzeń, które składają się z poszczególnych części, tzw. BioBricków™. Rysunek przedstawia modułowość takiego systemu, która jest jedną z podstawowych metod standaryzacji w biologii syntetycznej

Zastosowania biologii syntetycznej – zarys

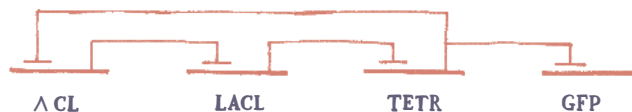
Podstawowymi technikami, które są niezwykle przydatne w biologii syntetycznej są PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy), klonowanie, tworzenie bibliotek DNA, interferencja RNA, cięcie enzymami restrykcyjnymi, mutageneza ukierunkowana oraz edytowanie genomów. Poza tym wykorzystuje się szereg metod stosowanych w chemii organicznej i materiałowej, takich jak: synteza oligonukleotydów, nanotechnologia DNA, mikroskopia sił atomowych i elektronowa oraz wprowadzanie alternatywnych par zasad i modyfikacje szkieletu fosforanowego do DNA.

→

Rys. 2. Represylator to układ oparty o trzy geny połączone sprzężeniem zwrotnym w pętlę, w taki sposób, że każdy gen jest represorem następnego genu, a sam jest represorowany przez gen go poprzedzający. Możemy dzięki temu obserwować oscylacje układu, widoczne dzięki świeceniu i gaśnięciu fluorescencyjnego białka GFP



Rys. 3. BioBricks™ umożliwiają składanie nawet znacząco skomplikowanych układów genetycznych. Wiele z nich powstało podczas międzynarodowego konkursu biologii syntetycznej iGEM (International Genetically Engineered Machine), organizowanego przez Massachusetts Institute of Technology w Bostonie



Czego nie mogę zbudować, nie mogę zrozumieć – te słowa słynnego fizyka Richarda Feynmana amerykański genetyk Craig Venter umieścił zakodowane w genomie pierwszej sztucznej bakterii. Powyższe stwierdzenie ilustruje jedno z głównych wyzwań biologii syntetycznej. Jest to pragnienie zbudowania od zera całej komórki bakteryjnej oraz stworzenie organizmu z wykorzystaniem alternatywnych liter kodu genetycznego.

Wielu naukowców ma również nadzieję na stworzenie bezpieczniejszych szczepionek, które będą dłużej chroniły przed mutującymi patogenami. Przykładem może być szczepionka na wirusa grypy H1N1 firmy Novartis. Dość znana też jest historia produkcji artemizyny, leku przeciwmalarycznego. Operon umożliwiający jego wytwarzanie został syntetycznie zaprojektowany tak, aby możliwa była jego produkcja w *E. coli*. Powodem było uszkodzenie jej naturalnego szlaku syntezy.

Dzięki biologii syntetycznej poznano mechanizm zahamowania dojrzewania limfocytów B. Powodowało to u pacjentów poważne niedobory odporności. Receptor BCR prawidłowo powinien znajdować się na powierzchni limfocytów B. Podczas badań został on na nich krok po kroku zrekonstruowany z mniejszych fragmentów. Dzięki temu podejściu dokładnie określono przyczynę blokady dojrzewania. Zastosowanie sztucznych obwodów genetycznych umożliwiło również udoskonalenie terapii niektórych zakażeń bakteryjnych za pomocą antybiotyków, np. chinologów czy etionamidu. Stworzono też zmodyfikowane fagi niszczące bakterie tworzące biofilmy. Kolejnym ciekawym pomysłem było wykorzystanie adenowirusów niosących syntetyczny operon umożliwiający precyzyjny atak na komórki nowotworowe. Chore komórki pozbawione były białka p53, będącego represorem tego operonu. Zdrowe komórki je posiadały, więc operon po wnikięciu do nich adenowirusa pozostawał nieaktywny.

Projektowanie szlaków metabolicznych jest niezwykle obiecujące. Wielu substancji nie można wyprodukować syntetycznie (np. białek posiadających liczne modyfikacje posttranslacyjne). Można w ten sposób obniżyć także koszty produkcji biopaliw. Pytaniem jest, w jakim organizmie powinno się produkować dany związek. Leki, które wymagają obróbki posttranslacyjnej takiej jak u ludzi, nie nadają się do produkcji w bakteriach. Mogłyby

W SKRÓCIE

Z biologią syntetyczną wiąże się ogromne nadzieje w medycynie, produkcji biopaliw, przemyśle chemicznym i rolnictwie. W tym rozdziale przejrzymy kilka zastosowań biologii syntetycznej oraz zastanowimy się, jaki wpływ ma organizm gospodarza na produkowane związki.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

XXI wiek jest czasem niezwykle szybkiego rozwoju nauk biomedycznych. Tempo zmian jest ogromne i warto mieć tego świadomość. Dla biologa nie mogłoby być ciekawszych czasów. XXI wiek będzie niewątpliwie wiekiem rozwoju biologii syntetycznej. Według Drew Endy, profesora biologii na Uniwersytecie Stanford, jest ona nauką, która może zmienić nasze relacje z naturą. Dlatego niezwykle ważne jest, aby obok skutecznych rozwiązań technicznych i biznesowych pamiętać o kwestiach społeczno-etycznych. Tylko współpraca biologów i lekarzy z ludźmi różnych dziedzin, od informatyków po dziennikarzy i prawników, pozwoli na bezpieczny, efektywny i harmonijny rozwój tej dziedziny. Nauka nigdy nie istnieje w oderwaniu od stosunków międzynarodowych i przemian kulturowych.

POJĘCIA KLUCZOWE

SZCZEPIONKI
ANTYBIOTYKI
ARTEMIZYNA
MODYFIKACJE
POSTTRANSLACYJNE
WYBÓR GOSPODARZA
BIOPALIWA
KAUCZUK
OPTYMALIZACJA PROCESU

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Khalil A., Collins J., *Synthetic Biology: Applications Come of Age*, *Nat Rev Genet*, 2010, 11(5): 367–379.
2. König H., Frank D., Heil R., Coenen C., *Synthetic Genomics and Synthetic Biology Applications Between Hopes and Concerns*, *Current Genomics*, 2013, 14, 11–24

wówczas wzbudzić bardzo silną reakcję układu odpornościowego. Najbezpieczniej jest użyć organizmu, w którym taka sama lub podobna cząsteczka jest już naturalnie produkowana. Wyzwaniem pozostaje wtedy już tylko optymalizacja procesu, np. w drożdżach lub w *E. coli*. Niestety jednak często jest to wybór pomiędzy niestabilnością procesu w nowym gospodarzu a niższą wydajnością w naturalnym. Jedną z powszechnych metod podniesienia wydajności jest wymiana promotora na silniejszy – np. operonu laktozowego. Alternatywnie można wytworzyć więcej produktu poprzez manipulowanie łączną produkcją całej kolonii.

Jak wspomnieliśmy, inaczej przebiega ekspresja genu w bakteriach, a inaczej w roślinach. Sytuacją, w której jest to ważne, jest produkcja syntetycznego kauczuku. Jest on zarówno alternatywą dla sztucznego kauczuku wytwarzanego z ropy naftowej, jak i dla naturalnego, wytwarzanego z izoprenu kauczukowców. Nie da się w prosty sposób przenieść genów kauczukowca do *E. coli*.

Nie ma na świecie produktu, którego cena w jakiś sposób nie zależałaby od ceny ropy naftowej. Jednym z ostatnich dokonań naukowców z firmy DSM jest stworzenie enzymatycznego koktajlu, który rozkłada mieszaninę ligniny i celulozy, zawartych w roślinach, do prostych pięcio- i sześciowęglowych cukrów (jak np. glukoza, ksyloza, arabinoza). Następnie zaprojektowane metodami biologii syntetycznej drożdże mogą fermentować taką mieszaninę do produktów, których można użyć jako biopaliwa.

Jako biopaliwa można też użyć dobrze znanego alkoholu etylowego, ale pochodzącego od drożdży, które produkują go o 40% więcej niż normalnie – tak jak zrobiono to w Purdue University's Energy Center w stanie Indiana w USA. Albo według pomysłu pochodzącego z Lawrence Berkeley Lab można by zmienić szlaki metaboliczne termitów zdolnych trawić celulozę.

Idea DIY (ang. *Do It Yourself* – zrób to sam) dotyczy szeregu działań: od niezależnych projektów artystycznych i rzemieślniczych, po majsterkowanie i projekty elektroników – hobbystów. Reprezentantów ruchu DIY w dużym stopniu motywują wartości wywodzące się z etyki hakerskiej. W tym miejscu należy się zatrzymać celem wyjaśnienia terminologii. Termin *hakowanie/haker* będą tutaj używane w znaczeniu dalece odstającym od tego, które najczęściej spotkać można w mediach głównego nurtu. Nie odnosi się ani do ludzi łamiących systemy zabezpieczeń celem popisania się umiejętnościami, ani do groźnych cyberprzestępców, ani nawet do bardzo głośnych ostatnimi czasy działań ideowych „haktywistów”. Dla zrozumienia tego odmiennego, w rzeczywistości bardziej pierwotnego (i uznawanego za poprawniejsze) znaczenia terminu *hakowanie* należy się cofnąć do lat 60. na MIT. To na MIT właśnie powstały załóżki ruchu skupionego na tworzeniu, modyfikowaniu oraz dzieleniu się nowymi rozwiązaniami z zakresu programowania. Kluczowa była nie tylko tematyka pracy, ale również sposób, w jaki ona przebiegała – poprzez pomysłowe szukanie granic tego, co da się osiągnąć, lub wymyślanie zupełnie nowych, zaskakujących zastosowań dla istniejących już technologii.

Biohacking czerpie inspirację z tamtego ruchu i dąży do udostępnienia podstawowych narzędzi inżynierii genetycznej hobbystom. Owi hobbysci mogą być biologami, którzy po godzinach pracy zajmują się projektami niezwiązanymi z ich głównym tematem badawczym, bądź też naukowcami z innych dziedzin, których przyciągnął interdyscyplinarny charakter biologii syntetycznej. Ale zainteresowanie biohackingiem wykazuje też coraz szersze grono ludzi niezwiązanych z nauką – od okazjonalnych czytelników prasy popularnonaukowej po artystów szukających nowych form wyrazu.

Wiele z takich projektów powstało jednak przy współpracy z tradycyjnymi instytucjami badawczymi, podczas gdy jednym z kluczowych założeń DIY jest działalność niezależna. W przypadku biohackingu pierwszą napotkaną przeszkodą są koszty sprzętu laboratoryjnego. Istnieje co prawda możliwość skompletowania kilku kluczowych przyrządów (mikrowirówki, pipet automatycznych, termocyklera) za cenę poniżej 1000 \$ poprzez skupowanie używanego sprzętu na serwisach takich jak eBay (rys. 1), jednak tego typu oferta jest nadal w większości niedostępna dla ludzi spoza

W SKRÓCIE

Czy biologię molekularną można uprawiać hobbystycznie? Z jakimi trudnościami zmagają się biolodzy – amatorzy i jakie są ich perspektywy na przyszłość? Co kryje się pod nazwą biologia DIY?

POJĘCIA KLUCZOWE

BIOART

Dziedzina z pogranicza biologii i sztuki. Wykorzystanie narzędzi współczesnej biologii jako formy wyrazu artystycznego

REJESTR STANDARDOWYCH CZĘŚCI BIOLOGICZNYCH

Otwarte repozytorium elementów genetycznych, mogących służyć w projektach z zakresu biologii syntetycznej.

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Ledford H., 2010, *Life Hackers*, *Nature*, 467
2. France G., 2011, *A Lab of Their Own*, *Science*, 333
3. Stallman R., *Hackers – Wizards Of The Electronic Age*, wywiad
4. Berg P., Singer M., 1995, *The Recombinant DNA controversy: twenty years later*, *PNAS*, 13(10), 1132–4

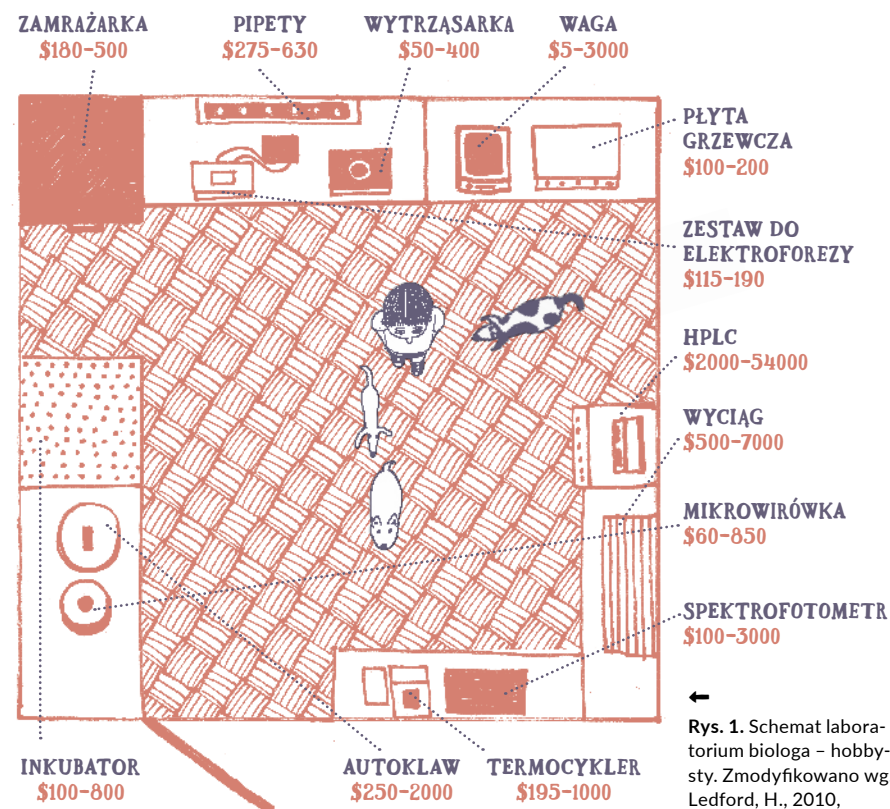
USA. Problem stanowią też odczynniki, których koszty bywają równie wysokie, a firmy je produkujące często odmawiają dostawy do prywatnych domostw. Aby pokonać powyższe przeszkody, powstał szereg inicjatyw. Jedne zmierzają do udostępnienia tanich odpowiedników profesjonalnego sprzętu, stworzonych według otwartych standardów, sprzedawanych jako zestawy do własnego montażu, inne wykorzystują wzrost dostępności druku 3D.

Stosunkowo niedawno na rynku pojawiła się też firma OpenBiotechnology, udostępniająca stosunkowo tanio odczynniki, enzymy, plazmidy i linie komórkowe dla biologów – hobbystów. Warto również wspomnieć o działaniu grup, takich jak GeneSpace i BioCurious, organizujących warsztaty dla potencjalnych biohakerów oraz udostępniających przestrzeń laboratoryjną na niezależne projekty. Środowisko biologów – hobbystów intensywnie korzysta też z Rejestru Standardowych Części Biologicznych prowadzonego przez MIT.

Problem zupełnie innej natury stanowi kwestia bezpieczeństwa, regulacji prawnych oraz uprzedzeń społecznych. Eksperymenty na mikroorganizmach przeprowadzane niezależnie od dużych placówek badawczych są zjawiskiem stosunkowo nowym i jako takie mogą wywołać gwałtowne reakcje agencji rządowych. Większość biologów – hobbystów nie spotkała się z żadnymi drastycznymi represjami, choć jeszcze w 2010 roku Jason Bobe (organizator pierwszego zlotu diybio) żartował, że z 2000 ludzi subskrybowanych na liście mailingowej diybio 30% to spamerzy, a 70% to funkcjonariusze służb. Z upływem czasu zainteresowanie FBI ruchem biohakerskim zmniejszyło się, po części wobec aktywnych działań samych biohakerów, aby kontrolować się nawzajem (podejście nazywane przez niektórych strażą sąsiedzką). Tym niemniej przepisy wielu państw (w tym Polski) nadal nie dopuszczają dokonywania najprostszyc manipulaacji genetycznych (np. transformacji bakterii plazmidem) poza jednostkami badawczymi do tego przeznaczonymi.

Wydaje się, że przynajmniej w najbliższej przyszłości lęk przed inżynierią genetyczną może być jednym z głównych hamulców rozwoju hobbystycznej biologii syntetycznej. Z drugiej strony warto pamiętać, że jeszcze w latach 80. istniał niemały lęk przed informatyzacją i tak jak dzisiaj wytwórnie hollywoodzkie lubią

straszyć potwornymi efektami manipulacji genetycznych, wtedy straszyły apokaliptycznymi konsekwencjami działań hakerów (w potocznym rozumieniu) i sztucznych inteligencji. Wówczas też nie podejrzewano, że komputer osobisty może przydać się komuś poza specjalistami i garstką pasjonatów. Czy oznacza to, że mini-laboratoria domowe staną się kiedyś równie powszechne jak dzisiaj komputery? Trudno przewidzieć. W najbliższej przyszłości dużo bardziej prawdopodobny jest scenariusz, w którym biologia syntetyczna dołączy do grona dziedzin, takich jak astronomia lub ornitologia, w których nikt już nie kwestionuje wagi wkładu zaangażowanych amatorów.



Rys. 1. Schemat laboratorium biologa – hobbysty. Zmodyfikowano wg. Ledford, H., 2010, *Life hackers*, Nature, 467

Biologia syntetyczna a kwestie etyczne

W SKRÓCIE

Szybki rozwój inżynierii genetycznej sprawił, że obecnie znalazła ona komercyjnie zastosowanie. Modyfikowane genetycznie organizmy (GMO) są pomocne w otrzymywaniu takich leków, jak insulina. Ponadto w wielu krajach GMO są stosowane jako rośliny uprawne. Mimo to wielu ludzi jest nieprzychylnie nastawionych do inżynierii genetycznej, często na skutek braku dostępu do rzetelnych źródeł informacji. Innym zagadnieniem, które wzbudza dużo kontrowersji, jest potencjalne wykorzystanie inżynierii genetycznej do modyfikowania ludzkiego genomu. Kwestia ta pozostała do tej pory nierozwiązana, jednak w najbliższej przyszłości może ona okazać się bardzo istotna.

POJĘCIA KLUCZOWE

GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANY ORGANIZM

Każdy organizm, którego materiał genetyczny został zmieniony za pomocą technik inżynierii genetycznej

GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANA ŻYWNÓŚĆ

Pokarmy wyprodukowane z organizmów genetycznie zmodyfikowanych.

Niektóre aspekty współczesnej biologii molekularnej są kontrowersyjne dla określonych grup ludzi. Większość kontrowersji jest głównie wywołana przez niezrozumienie pojęć naukowych, takich jak klonowanie molekularne, lub samej definicji modyfikowanego genetycznie organizmu. Niemniej jednak niektóre technologie (oraz ich dalekosiężne konsekwencje) mogą być przedmiotem poważnej dyskusji etycznej. Jednym z najbardziej znaczących źródeł kontrowersji, dotyczących nie tylko biologii syntetycznej, ale całej inżynierii genetycznej, jest żywność modyfikowana genetycznie (żywność GMO). Te spory koncentrują się nie tylko na zastosowaniu środków spożywczych i innych towarów pochodzących z upraw modyfikowanych genetycznie, ale także innych zastosowań inżynierii genetycznej w produkcji żywności. W dyskusję zaangażowani są konsumenci, rolnicy, firmy biotechnologiczne, urzędnicy rządowi, organizacje pozarządowe jak i sami naukowcy. Kluczowe pytania dotyczą kwestii, takich jak: 1) czy takie produkty powinny być oznakowane, 2) jaka jest rola regulatorów rządowych, 3) przeprowadzenie obiektywnych badań naukowych i ich publikacja, 4) wpływ upraw zmodyfikowanych genetycznie na zdrowie i środowisko naturalne (w tym wpływ na odporność na pestycydy) oraz 5) wpływ społeczno-ekonomiczny takich upraw. Należy także pamiętać, że już teraz organizmy GMO odgrywają rolę w produkcji biopaliw i farmaceutyków, takich jak insulina. Niektórzy ludzie uważają, że spożywanie GMO może być szkodliwe, jednak nie istnieją żadne naukowe dowody, że taka żywność może mieć jakikolwiek szkodliwy wpływ na zdrowie ludzi. Analiza bezpieczeństwa genetycznie modyfikowanych produktów żywnościowych jest prowadzona przez odpowiednie organy regulacyjne. Rozpoczyna się od oceny, czy jedzenie takie jest równoznaczne z niemodyfikowanymi genetycznie odpowiednikami, które zostały wcześniej uznane za nadające się do spożycia przez ludzi. Do tej pory nie ma żadnych udokumentowanych doniesień o chorobach wywołanych przez spożycie genetycznie zmodyfikowanej żywności. Dlatego też istnieje naukowy konsensus, mówiący, że obecnie dostępna żywność pochodząca z upraw GMO nie stwarza większego zagrożenia dla zdrowia ludzkiego niż żywność konwencjonalna. Mimo tego każdy produkt spożywczy GM wprowadzany na rynek musi zostać gruntownie przebadany

pod kątem możliwego wpływu na ludzkie zdrowie. Inne problemy wynikłe z obecności GMO w biosferze to potencjalne krzyżowanie się zmodyfikowanych genetycznie i niemodyfikowanych genetycznie organizmów, zanieczyszczenie żywności niemodyfikowanej przez GMO oraz wpływ GMO na środowisko naturalne. Niektóre grupy nacisku, takie jak organizacja Greenpeace, nieustannie starają się manipulować opinią publiczną, podając nieprawdziwe informacje mówiące, że wymienione wcześniej zagrożenia nie zostały odpowiednio zidentyfikowane i przebadane. Ponadto podają oni w wątpliwość obiektywizm organów regulacyjnych, jak i samych instytucji naukowych zajmujących się inżynierią genetyczną. Z powodu tych szkodliwych działań coraz więcej osób postrzega żywność GMO jako bezpieczną. Status prawny i regulacyjny żywności GM zależy od danego kraju, niektóre z nich zakazują lub ograniczają prowadzenie upraw GMO.

Inżynieria genetyczna może zostać teoretycznie użyta do zmiany wyglądu fizycznego oraz metabolizmu człowieka, a nawet poprawić jego fizyczne lub umysłowe zdolności. Dyskusja na temat inżynierii zarodków ludzkich doprowadziła do zaproponowania kilku możliwych podejść do tego zagadnienia: 1) każdy płód ma prawo do pozostania w nienaruszonym stanie – brak modyfikacji genetycznych, 2) rodzice posiadają prawo do genetycznego modyfikowania potomstwa, 3) każde dziecko ma prawo się urodzić wolne od chorób genetycznych, którym można zapobiec dzięki wykorzystaniu inżynierii genetycznej. Ostatni punkt wydaje się bardzo istotny, dlatego też wielu naukowców uważa, że należy wprowadzać pewne ograniczenia, ale nie można całkowicie zabraniać inżynierii na komórkach płciowych oraz zarodkach. W przypadku osób dorosłych inżynieria genetyczna może być postrzegana jako równoprawna technika polepszania stanu zdrowia, podobnie jak dieta, ćwiczenia fizyczne, edukacja, kosmetyka czy chirurgia plastyczna. Możliwe systemy regulacyjne obejmują całkowity zakaz, dostępność dla wszystkich zainteresowanych lub określony z góry poziom regulacji dostępu do takiej technologii. Na przykład Rada Amerykańskiego Stowarzyszenia Lekarzy do Spraw Etycznych i Sądowych (ang. The American Medical Association's Council on Ethical and Judicial Affairs) stwierdziła, że *modyfikacje genetyczne polepszające cechy osobnicze powinny być uznane za dopuszczalne*

LINIA ZARODKOWA

Populacja komórek danego organizmu, które są wystarczająco zróżnicowane, by w procesie rozmnażania mogły przekazać materiał genetyczny potomstwu.

TERAPIA GENOWA

Terapeutyczne dostarczanie cząsteczek kwasów nukleinowych (DNA lub RNA) do komórek pacjenta w celu leczenia choroby.

EDYCJA GENOMU

Typ inżynierii genetycznej, w którym DNA genomowe jest modyfikowane, usuwane lub zastąpione za pomocą narzędzi biologii molekularnej.

DOPING GENOWY

Hipotetyczne zastosowanie terapii genowej w celu poprawy wyników sportowych w wyczynowych imprezach sportowych.

CRISPR

System obrony organizmów prokariotycznych przed bakteriofagami oraz innymi formami obcego DNA. Obecnie wykorzystywany jako efektywna metoda edytowania genomów.

tylko w ściśle ograniczonych sytuacjach: (1) wyraźne i znaczące korzyści dla płodu lub dziecka, (2) brak wpływu na inne właściwości lub cechy oraz (3) równy dostęp do inżynierii genetycznej, niezależnie od dochodu i statusu społeczno-ekonomicznego.

Od samego początku biotechnologii istniały grupy naukowców, które protestowały przeciwko wszelkim próbom modyfikacji ludzkich komórek rozrodczych. Takie podejście jest nadal powszechne w większości krajów. Wraz z pojawieniem się nowych technik, takich jak CRISPR, w marcu 2015 roku grupa naukowców zaproponowała światowe moratorium w sprawie klinicznego zastosowania technologii pozwalających na edycję ludzkiego genomu, prowadzących do odziedziczenia tak wprowadzonych zmian. Co ważne, w kwietniu 2015 roku ogromne kontrowersje wzbudziły wyniki badań naukowych nad edycją genomów ludzkich zarodków przy pomocy CRISPR. Badania te nie doprowadziły jednak do powstania żywych zarodków posiadających modyfikacje w genomie. Obecnie istnieją też pewne obawy, że sportowcy mogą skorzystać z terapii genowej w celu poprawy osiąganych wyników. Do tej pory nie odnotowano żadnego przypadku dopingu genetycznego, ale obecnie istniejące terapie genowe mogą mieć takie skutki. Niektórzy etycy uważają nawet, że doping genetyczny może zwiększyć ogólną wydajność sportowców i powinien być on legalny (jeśli wszyscy uzyskają równy dostęp). Krytycy twierdzą natomiast, że jakakolwiek interwencja terapeutyczna w celu poprawienia wyników naraża fundamenty etyczne sportu i powinna być zakazana.

Chemia biologiczna (często nazywana też biologią chemiczną) jest dyscypliną naukową na pograniczu chemii, biologii i fizyki. Podobnie jak w przypadku biologii syntetycznej, biologia chemiczna jest jednym z kilku nauk interdyscyplinarnych, których celem jest uzyskanie bardziej holistycznego opisu rzeczywistości. Chemia biologiczna polega na zastosowaniu technik chemicznych i związków uzyskanych przez chemików organicznych w celu poznawania i modyfikowania systemów biologicznych. Dyscyplina ta wywodzi się z chemii medycznej i chemii bioorganicznej, ale zawiera także elementy farmakologii, genetyki, biochemii i inżynierii metabolicznej. Badania przeprowadzone przez biologów chemicznych są często bardziej związane z biologią komórki niż typową biochemią. Biochemików interesuje bowiem bardziej badanie chemii biocząsteczek i regulacji szlaków biochemicznych, podczas gdy naukowcy zajmujący się chemią biologiczną mają do czynienia z nowymi związkami chemicznymi stosowanymi w biologii. Mimo to czasami chemia biologiczna także poszukuje odpowiedzi na pytania bezpośrednio związane z działaniem systemów biologicznych na poziomie molekularnym (np. regulacja lub monitorowanie procesów metabolicznych w komórce za pomocą sztucznie wprowadzonego związku chemicznego). Jednakże w przeciwieństwie do biochemii czy biologii syntetycznej, gdzie głównym źródłem zmian w funkcjonowaniu organizmu są mutacje lub inne modyfikacje genetyczne, systemy badawcze chemii biologicznej opierają się na związkach organicznych, które zostały zaprojektowane do konkretnego celu. Pomimo, że większość badań w zakresie chemii biologicznej jest prowadzonych bezpośrednio na biocząsteczkach, dyscyplina ta często nawiązuje do biologii syntetycznej. Wszystkie wspomniane wcześniej cząsteczki można modyfikować chemicznie w celu utworzenia „syntetycznego” żywego systemu, który posiada zaprojektowane wcześniej właściwości. Przykładowo rozpoznawanie molekularne DNA oparte jest głównie na szkielecie fosforanowym, więc nukleotydy mogą być modyfikowane chemicznie bez większego wpływu na integralność strukturalną DNA. Na przykład jedna grupa naukowców zaproponowała poszerzony kod genetyczny zawierający osiem nowych par zasad, które mogą być włączone do DNA w reakcji PCR. Naturalnie istniejące aminokwasy są pod pewnymi względami ubogimi

W SKRÓCIE I DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Chemia biologiczna jest stosunkowo nową interdyscyplinarną dziedziną wiedzy, która stawia sobie ambitny cel: wykorzystanie istniejących związków i reakcji chemicznych w celu badania funkcjonowania żywych organizmów na poziomie cząsteczek i komórek. Dzięki technikom biologii chemicznej możliwe jest nie tylko lepsze zrozumienie biologii komórki, ale także subtelne manipulowanie procesami zachodzącymi w komórce. Podobnie jak biologia syntetyczna, chemia biologiczna także cechuje się podejściem inżynierskim. Połączenie tych dwóch dyscyplin może otworzyć nowe możliwości w tworzeniu sztucznych układów biologicznych oraz modyfikowaniu już istniejących organizmów.

Projektowanie makromolekuł biologicznych

POJĘCIA KLUCZOWE

ROZPOZNANIE MOLEKULARNE

Specyficzne oddziaływanie pomiędzy dwiema lub więcej cząsteczkami, zachodzące poprzez oddziaływania niekowalencyjne, takie jak wiązania wodorowe.

CHEMIA BIOORGANICZNA

Dyscyplina naukowa, która łączy elementy chemii organicznej i biochemii.

CHEMIA MEDYCZNA

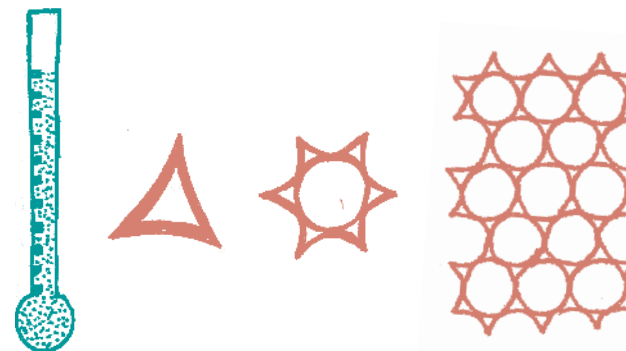
Dyscyplina na pograniczu syntetycznej chemii organicznej i farmakologii, mająca na celu projektowanie, syntezę chemiczną i komercjalizację leków.

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Miller A.D., Tanner J., *Essentials of Chemical Biology: Structure and Dynamics of Biological Macromolecules*, 2008, Wiley

blokami budulcowymi dla cząsteczek białek. Nie działają niezależnie od siebie i co więcej, relacja pomiędzy liniową sekwencją aminokwasów a budową przestrzenną białka jest bardzo złożona i do tej pory słabo poznana. Chemia biologiczna stawia sobie za cel modelowanie, projektowanie i syntezę modyfikowanych chemicznie peptydów, a następnie ocenę ich funkcji biologicznych. Ponadto w pełni uformowane białka mogą być połączone na wiele nowych sposobów, co może pozwolić na powstanie kompleksów białkowych, które do tej pory nie istniały w przyrodzie, a mogą znaleźć komercyjne zastosowania. Można łatwo sobie wyobrazić korzyści ekonomiczne z użycia technologii, gdzie modyfikowane chemicznie białka są pomocne w celu bardziej wydajnego otrzymywania leków lub nowych materiałów. Wreszcie: szlaki sygnalizacyjne w komórce lub żywym organizmie mogą być tak zmodyfikowane, aby zależnie od potrzeb można je było włączyć lub wyłączyć poprzez dodanie specyficznych związków organicznych. Pozwala to na nowe podejście do badania obwodów genetycznych w biologii syntetycznej oraz znacznie poszerza spektrum narzędzi dostępnych dla biologów zainteresowanych biologią syntetyczną.

Skoro można wymyślać nowe, niewystępujące naturalnie nukleotydy i swobodnie modyfikować DNA i RNA, to czemu nie spróbować też z białkami? Na przykład podmienić w białku niektóre aminokwasy na te niewystępujące w organizmach żywych. Jak wpłynie to na jego strukturę i funkcję. Jaką część białka można dowolnie „zepsuć” bez żadnych konsekwencji? Można też połączyć dwa lub więcej białek ze sobą, tworząc tzw. białko fuzyjne, albo zastąpić część naturalnej sekwencji syntetyczną. W inżynierii białek stosuje się dwa podejścia: racjonalne projektowanie albo ukierunkowana ewolucja. Pierwsze opiera się na wspomnianej w poprzednich rozdziałach mutagenезі ukierunkowanej. Polega ona na podmianie aminokwasów w wybranych miejscach na podstawie znajomości sekwencji białka. Niestety jednak nie jest to rozwiązanie idealne: nie wszystkie białka mają poznane struktury i nie zawsze modele obliczeniowe się sprawdzają. Do problemu modyfikacji białka można też podejść inaczej. Podczas ewolucji ukierunkowanej aminokwasy są mutowane losowo, a następnie selekcionowane. Proces powtarza się, dopóki nie otrzyma się pożądanego wyniku. Przykładem białka zaprojektowanego od zera jest Top7. Ma ono długość 93 aminokwasów i jest stabilne, choć strukturą w ogóle nie przypomina istniejących białek. Nie posiada żadnej istotnej funkcji – jest sprawdzianem możliwości technicznych. Udaje się jednak tworzyć syntetyczne enzymy restrykcyjne działające niczym molekularne nożyczki do cięcia DNA, głównie metodą ewolucji ukierunkowanej.



W SKRÓCIE

Biologia syntetyczna to nie tylko projektowanie sekwencji DNA. Kwasy nukleinowe i białka można wykorzystywać nie tylko jako nośniki sygnałów komórkowych, lecz jako materiał budulcowy. Strukturę i funkcję białka można zmieniać, podmieniając aminokwasy poprzez mutagenезę lub ewolucję ukierunkowaną. Można też jako leki wykorzystać niektóre ich części aktywne biologicznie, naśladowane przez peptydomimetyki. Co ciekawe, DNA i stabilna postać RNA może tworzyć rozmaite struktury 2D i 3D, które znajdują zastosowanie w medycynie i elektronice.

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

Obecnie większość patentowanych leków to makrocząsteczki biologiczne. Syntetyczne elementy niewystępujące naturalnie często cechują nowe, ciekawe właściwości fizyko-chemiczne i biologiczne.



Rys. 1. RNA nanogwiazdki z polimeru odpornego na wysoką temperaturę, uzyskane przez prof. P. Guo i W. Farisha z UK College of Pharmacy i Markey Cancer Center

Modyfikacje kwasów nukleinowych i rozszerzony kod genetyczny

POJĘCIA KLUCZOWE

MUTAGENEZA
UKIERUNKOWANA
EWOLUCJA
UKIERUNKOWANA
PEPTYDOMIMETYKI
HYBRYDYZACJA DNA
NANOTECHNOLOGIA DNA
NANOTECHNOLOGIA RNA

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Luisi P.L., Chiarabelli C. eds., *Chemical Synthetic Biology*, Wiley 2011
2. H. Li et al, *rna as a Stable Polymer to Build Controllable and Defined Nanostructures for Material and Biomedical Applications*, *Nano Today*, 2015 10, 631–655
3. <http://seemanlab4.chem.nyu.edu/>, strona Neda Seemana, który jako pierwszy w 1982 r. zaproponował wykorzystanie DNA jako materiału
4. phys.org/news/2014-04-team-potential-rna-heat-resistant-polymer.html

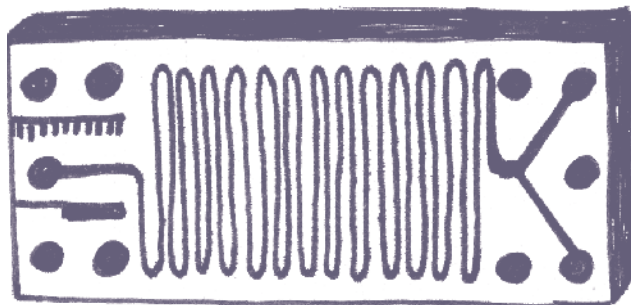


Rys. 2. Dwuwymiarowa siatka z DNA (umieszczana np. wewnątrz płytki lab on a chip i służąca do selekcji makrocząsteczek)

Gorącym tematem w obszarze projektowania leków są także peptydomimetyki, które „udają” części białek, tak by przyłączyć się do naturalnego receptora i wywołać odpowiedź komórkową. Ich zaletą jest to, że są prostsze w otrzymaniu (szybka synteza chemiczna) oraz wytrzymalsze niż naturalne białka.

Inżynieria DNA jest tańsza, a obliczenia prostsze niż w przypadku białek ze względu na mniejszą liczbę składników: naturalnych aminokwasów jest 20, nukleotydów tylko 4. Nanotechnologia DNA wykorzystuje go przede wszystkim jako materiał do budowy struktur 2D i 3D, a nie jako nośnik informacji. Pierwszy raz DNA wykorzystywana w ten sposób w 1982 roku. Istnieją dwa podejścia do budowania takich nanostruktur. W pierwszym struktura DNA jest wykorzystywana jako szablon dla nanocząsteczek. Co ważne, wiązanie się nanocząsteczek do DNA jest specyficzne oraz odwracalne. Druga metoda oparta na hybrydyzacji, czyli wiązaniu się ze sobą co najmniej dwóch nici DNA tak, że tworzą przestrzenną strukturę. Dotąd udało się otrzymać dwuwymiarowe i trójwymiarowe wielościanny, struktury przypominające origami, samoskładające się struktury przypominające cegły i dachówki oraz nanogwiazdki. Mają one bardzo wiele zastosowań: od transportu leków po elektronikę.

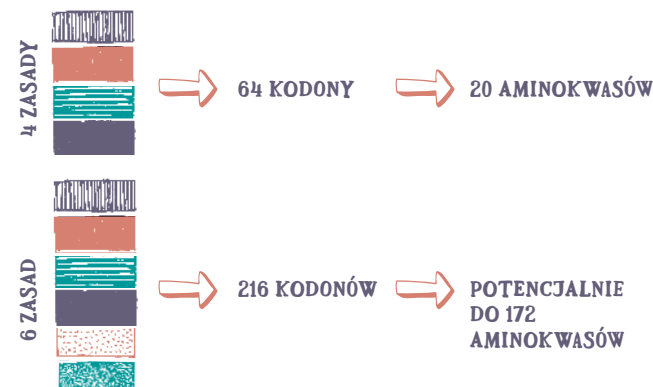
Tworzenie przestrzennych struktur RNA wydawałoby się karłowatym pomysłem ze względu na jego wysoką niestabilność w porównaniu do DNA. Udało się jednak uzyskać formy RNA stabilne nawet w wysokich temperaturach. Pozwalają one na budowę mikrogąbek, wiązek, wielokątów, tabliczek i wraz z DNA są ciekawym obiektem badań w inżynierii materiałowej.



Sekwencję DNA wszystkich żywych organizmów tworzą tylko dwa rodzaje par zasad A–T i C–G. Trójki tych par kodują sekwencje białek, których sekwencja z kolei składa się z 20 podstawowych aminokwasów biogennych. Rozszerzenie liczby dostępnych par zasad i aminokwasów umożliwiłoby uzyskanie całkiem nowych cząsteczek białek, o niespotykanych do tej pory właściwościach.

Liczne grupy badawcze pracowały nad odkryciem nienaturalnych par zasad. Pierwsze badanie tego rodzaju prowadzono już pod koniec lat 80., ale dopiero w roku 2014 udało się uzyskać niestandardową parę zasad, która obok par standardowych ulegała stabilnej replikacji w komórce bakteryjnej. Dodatkowa para oznacza powiększenie teoretycznej liczby różnych aminokwasów, które można zakodować w sekwencji DNA do 172.

Nienaturalne pary zasad stanowią zatem milowy krok w pracach nad rozszerzonym kodem genetycznym, ale nie są wcale w nich niezbędne. W związku z tym, że kod genetyczny jest zdegenerowany (tzn. kilka kodonów odpowiada temu samemu aminokwasowi) i istnieją aż trzy kodony STOP, możliwe jest przypisanie któremuś z kodonów niestandardowego aminokwasu (rys. 1). Tą metodą zdołano dodać aż 71 niestandardowych aminokwasów w procesie syntezy białka przez komórki bakteryjne, drożdżowe i ssące. Nie jest to proces łatwy; wymaga bowiem wprowadzenia zmian w podstawowych elementach maszyneryi komórkowej – w cząsteczkach tRNA i w odpowiadających im syntazach aminoacylo-tRNA (enzymach przyłączających odpowiedni aminokwas do tRNA).



W SKRÓCIE

Biologia syntetyczna osiągnęła etap, na którym możliwe jest modyfikowanie podstawowej maszyneryi komórkowej, aby tworzyć niespotykane wcześniej w przyrodzie biocząsteczki.

POJĘCIA KLUCZOWE

NIENATURALNE PARY ZASAD
Inne pary zasad niż te standardowo występujące w DNA.

AMINOKWASY BIOGENNE
Podstawowe 20 aminokwasów tworzących białka w organizmach żywych.

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Malyshev D.A., Chen T., Dhali K., Laverne T., Foster J.M., Corrêa I.R., Dai N., Romesberg F.E., May 7 2014, *A Semi-Synthetic Organism with an Expanded Genetic Alphabet*, *Nature*, 509: 385–8. Doi:10.1038/Nature13314
2. Wang L., Brock A., Herberich B., Schultz P.G., April 2001, *Expanding the Genetic Code of Escherichia Coli*, *Science*, 292 (5516): 498–500
3. Xie J., Schultz P.G., 2005, *Adding Amino Acids to the Genetic Repertoire*, *Current Opinion in Chemical Biology*, 9 (6): 548–54



Rys. 1. Potencjalne dalsze rozszerzenie kodu genetycznego z wykorzystaniem nienaturalnej pary zasad

Wielkie marzenia – syntetyczne genomy i sztuczne życie

W SKRÓCIE

Wielkoskalowa synteza oraz metody składania długich odcinków DNA umożliwiły w ostatnich latach tworzenie całych genomów, zaprojektowanych wedle zamierzeń badaczy. Jak daleko jesteśmy od stworzenia syntetycznego życia?

POJĘCIA KLUCZOWE

SYNTETYCZNA GENOMIKA

Dziedzina biologii syntetycznej zajmująca się tworzeniem nowych genomów w oparciu o te istniejące już w przyrodzie.

GENOM MINIMALNY

Genom zawierający najmniejszą liczbę genów umożliwiających przeżycie prostej komórki bakteryjnej.

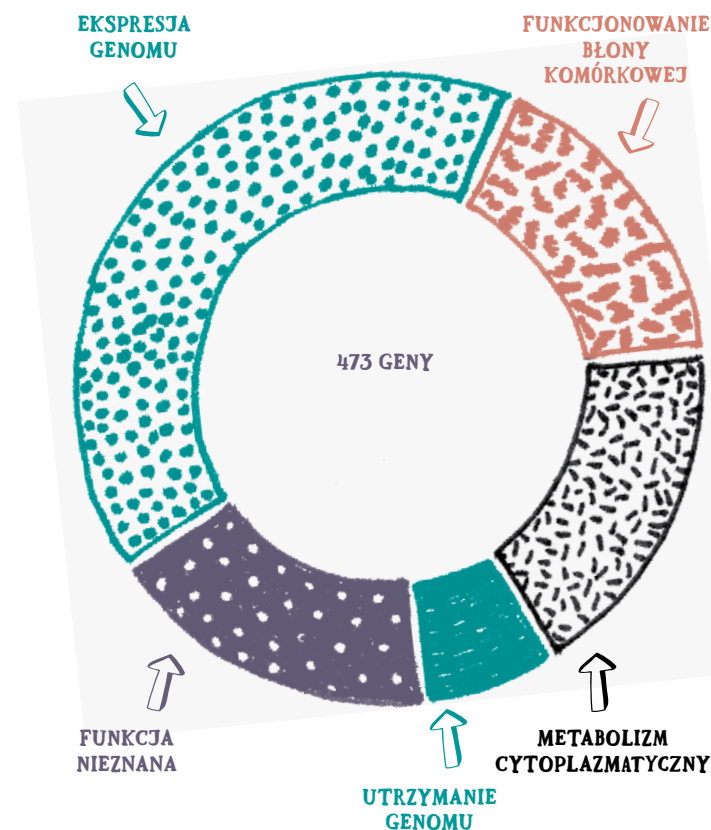
Stworzenie syntetycznego genomu nawet najprostszego organizmu jednokomórkowego było jeszcze do niedawna celem niewyobrażalnie trudnym do osiągnięcia. Wprowadzenie go do żywej komórki, tak aby zaczął funkcjonować, również uchodziło za wielkie wyzwanie. Obydwu tych zadań podjął się Instytut Craiga Ventera. Bakteria *Mycoplasma genitalium* została wybrana jako obiekt badań, ponieważ posiadała najmniejszą liczbę genów spośród znanych wówczas organizmów komórkowych. Projekt docelowy zakładał stworzenie syntetycznego genomu minimalnego. Genom minimalny stanowiłby krok milowy w rozwoju biologii syntetycznej. O ile bakteria z minimalnym garniturem genów niekoniecznie byłaby najwydajniejszym narzędziem biotechnologicznym, skrajne uproszczenie sieci oddziaływań genetycznych potencjalnie ułatwiłoby dążenia zmierzające do racjonalnego projektowania układów genetycznych oraz tworzenia od podstaw przewidywalnych maszyn biologicznych. W 2016 roku zespół Craiga Ventera zdołał stworzyć syntetyczny genom zawierający 473 geny (*Mycoplasma genitalium* wyjściowo posiadała 482 geny), bazujący na genomie *Mycoplasma mycoides*, oraz wprowadzić go do komórki *Mycoplasma capricolum*, tworząc nowy, syntetyczny gatunek nazwany Synt 3.0 (rys. 1). Owa bakteria z minimalnym genomem była w stanie przeżyć i dzielić się. Trzeba podkreślić, że o ile genom Synt 3.0 był w całości syntetyczny, maszyna komórkowa, która umożliwiła jego replikację i ekspresję, syntetyczna nie była. Nie można zatem Syn 3.0 uznać za przykład w pełni sztucznego życia. Cały czas trwają prace nad stworzeniem jeszcze bardziej minimalnego genomu opartego o genom *Mycoplasma genitalium*, potencjalnie zawężonego do 382 genów. Docelowy syntetyczny organizm ma nosić nazwę *Mycoplasma laboratorium*.

Przy okazji poruszenia tematu dodatkowych par zasad i niestandardowych aminokwasów warto wspomnieć o xNA – kwasach nukleinowych, w których cukry inne niż ryboza (jak w RNA) lub dezoksyryboza (jak w DNA) tworzą rusztowanie cząsteczki. Tego rodzaju cząsteczki mogą (teoretycznie) zawierać zarówno naturalne, jak i nienaturalne pary zasad. Różnią się od DNA i RNA pod względem stabilności i nie będą replikowane przez standardowe polimerazy RNA i DNA, pozostając w efekcie „niewidoczne” dla maszynarii niezmodyfikowanych komórek. „x” w skrócie xNA

oznacza „xeno”, czyli obce. Udało się stworzyć syntetyczny aparat replikacyjny, zdolny do powielania niektórych typów xNA, czyniąc z nich alternatywną matrycę do przekazywania informacji genetycznej. xNA jest zatem niezmiernie ciekawym obiektem badań – zarówno z perspektywy biologii syntetycznej i medycyny (niektóre xNA mogą oddziaływać z naturalnymi kwasami nukleinowymi), jak i biologii ewolucyjnej (jako model alternatywnych ścieżek, jakimi potencjalnie mogło się potoczyć życie na najwcześniejszych etapach ewolucji).

WIĘCEJ INFORMACJI

1. Razin S., Herrmann R., eds., Hutchison A.C., Montague M.G., 2002, *Mycoplasmas and the Minimal Genome Concept*, Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas, New York, Kluwer Academic/Plenum, pp. 221–54.
2. Hutchison A.C., Ray-Yuan C., Noskov N.V., Assad-Garcia N., Deerinck J. T., Gill J., Ellisman H.M., Kannan K., Karas B. J., 2016-03-25, *Design and synthesis of a minimal bacterial genome*, Science, 351 (6280)
3. Longest Piece of Synthetic DNA Yet, Scientific American News, 24 January 2008
4. Pinheiro, Vitor B. et al, *Synthetic genetic polymers capable of heredity and evolution*, Science, 2012, 341–344.



Rys. 1. Minimalny genom Syn 3.0 wraz z funkcjami genów (wg. Thomas Shaffe [2] Creative Commons 4 International)

DLACZEGO TO JEST WAŻNE

W tym rozdziale chcielibyśmy przedstawić kilka interesujących perspektyw dla przyszłego rozwoju biologii syntetycznej i dyscyplin pokrewnych. Ponadto może warto postawić sobie kilka pytań dotyczących zarówno samej dyscypliny, jak i jej możliwego wpływu na nasze życie w przyszłości. Co wyróżnia biologię syntetyczną pośród innych podejść do biologii i biotechnologii? Jakie są przyszłe aplikacje, które mogą zostać zrealizowane za pośrednictwem biologii syntetycznej? Czego można oczekiwać od biologii syntetycznej w stosunku do korzyści, jakie może ona zapewnić, jak i zagrożeń, które może ona stworzyć? Teraz możemy przejść do zasygnalizowania kilku możliwych ścieżek rozwoju biologii syntetycznej, które zdaniem autorów są ciekawe lub dobrze rokują na przyszłość.

USPRAWNIONA BIOSYNTETYZA ZWIĄZKÓW NATURALNYCH

Naturalne produkty nadal odgrywają wiodącą rolę zarówno w poszukiwaniu nowych leków, jak i podstawowych badaniach medycznych. Niemniej jednak ostatnie postępy w chemii i biosyntezie kombinatorycznej (modyfikacje grup funkcyjnych, regiochemii i stereochemii) pozwalają na manipulowanie naturalnych szlaków syntetycznych. Może to zaoferować nowe możliwości na otrzymywanie analogów produktów naturalnych. Przykładami mogą być: 1) poszerzona specyficzność substratowa enzymów, 2) rozwój heterologicznych systemów ekspresji dla szlaków syntezy produktów naturalnych. W bliskiej przyszłości można spodziewać się, że kombinatoryczna biosynteza naturalnych produktów ulegnie dalszej poprawie w wyniku zastosowania metod chemii biologicznej oraz inżynierii białka.

NOWE SZCZEPY MIKROORGANIZMÓW I ICH ZASTOSOWANIA

Produkcja mikrobiologiczna posiada istotną przewagę nad katalizą chemiczną: wykorzystuje tysiące enzymów dostosowanych wcześniej przez naturę do wydajnej produkcji wielkiej gamy różnych związków chemicznych. Dlatego też w ostatnich latach położono duży nacisk na poszerzenie dostępnego spektrum biopaliw, przy użyciu bakterii i innych mikroorganizmów.

Postęp w inżynierii metabolicznej zwiększył zakres dostępnych produktów chemicznych otrzymywanych na bazie biologicznej, takich jak leki, prekursorzy tworzyw sztucznych i składników biopaliw. Jednak nadal istnieją pewne problemy do rozwiązania. Naturalne enzymy są często wrażliwe na temperaturę i pH ponadto wiele z nich nie funkcjonuje dobrze w organizmach modelowych stosowanych powszechnie w przemyśle. Powszechnie stosowanym rozwiązaniem tego problemu jest wprowadzanie do organizmów syntetycznych szlaków metabolicznych oraz ich dalsza optymalizacja. Syntetyczne szlaki metaboliczne muszą spełnić szereg kryteriów, takich jak maksymalne wykorzystanie wcześniej występujących reakcji metabolicznych, minimalna liczba etapów syntezy oraz

maksymalizacja wydajności. W idealnym świecie zaprojektowane szczepy powinny zachowywać się zgodnie z wynikami wcześniej przeprowadzonych symulacji metabolizmu. Wymaga to m.in. dokładnej i niezawodnej kontroli ekspresji genów. Na szczęście, różne elementy genetyczne (promotory, stacje RBS, terminatory etc.), zostały stosunkowo dobrze scharakteryzowane. Jednakże właściwości elementów genetycznych są często różne w różnych kontekstach (inny organizm, warunki zewnętrzne etc.) dlatego też dopracowanie bioprodukcji wymaga zwykle dużo pracy eksperymentalnej.

Wiele z tych badań koncentruje się na wprowadzeniu obcych szlaków enzymatycznych do modelowych organizmów. Innym ważnym założeniem jest wprowadzenie do przemysłu nowych organizmów posiadających pożądane cechy (łatwość hodowli lub efektywny metabolizm). Prawdziwym wyzwaniem jest jednak wprowadzenie i ekspresja obcych ścieżek metabolicznych do pożądanego organizmu przy jednoczesnym wyeliminowaniu lub znacznej redukcji niepożądanych ścieżek metabolicznych. Jak wspomniano wcześniej, drożdże są wydajnymi i łatwymi w hodowli producentami biopaliw. Niestety większość narzędzi biologii syntetycznej zostało opracowanych i dostosowanych do typowych bakterii, takich jak *Escherichia coli*. Dopiero od niedawna zaczęto adaptować techniki biologii syntetycznej z myślą o badaniach nad drożdżami i innymi organizmami eukariotycznymi. Opisane metody mogą być zastosowane do edycji szlaków biochemicznych oraz genomów drożdży. Możliwa jest coraz bardziej precyzyjna kontrola ekspresji genów na poziomie zarówno transkrypcyjnym, jak i translacyjnym. Co więcej, znaczna liczba genów, które są odpowiedzialne za występowanie pożądanych cech (takich jak poprawa produkcji biopaliw oraz zwiększona tolerancja wobec toksycznych produktów ubocznych związanych z tym procesem), została już zidentyfikowana.

W przyszłości, należy się spodziewać stworzenia i dokładnego scharakteryzowania dużych bibliotek zawierających zmodyfikowane sieci metaboliczne oraz całe genomy. Dlatego też konieczny będzie dalszy rozwój metod pozwalających na analizę dużych zbiorów i znalezienie tam wartościowych informacji. Ponadto konieczne jest systematyczne eliminowanie niepożądanych funkcji enzymatycznych obniżających wydajność głównego procesu.

KSENOBIOLOGIA

Ksenobiologia (XB) jest częścią biologii syntetycznej (termin ten wywodzi się z greckiego słowa *xenos*, czyli „obcy”). XB opisuje hipotetyczne formy metabolizmu, które nie zostały jeszcze opisane i nie występują w przyrodzie. W praktyce ksenobiologia zajmuje się zwykle badaniami nad nowymi układami biologicznymi na poziomie molekularnym. Do tej pory dyscyplina ta zajmuje się głównie rozważaniami teoretycznymi, jednak w ciągu ostatnich lat stworzono pierwsze układy biologiczne, które można opisać jako „ksenobiologiczne”. Jednym z takich przykładów (opisanych w poprzednim rozdziale) jest wykorzystanie XNA jako nośnika informacji genetycznej. W daleko idącej perspektywie ta dyscyplina (znacznie bardziej niż inne działy biologii syntetycznej) może podważyć obecnie istniejące prawne regulacje dla inżynierii genetycznej. Obecny system prawny jest dostosowany tylko do organizmów zmodyfikowanych genetycznie i nie bierze pod uwagę organizmów posiadających sztucznie stworzone systemy ekspresji genów lub alternatywny metabolizm. Na szczęście, organizmy będące rzeczywiście „obce” pod względem biochemii raczej nie zostaną stworzone w ciągu najbliższych kilku lat, więc decydenci powinni mieć wystarczająco dużo czasu, aby przygotować się na nadchodzące wyzwania zarządzania.

NIKTÓRE DALSZE WYZWANIA I PERSPEKTYWY

Biologia syntetyczna zaczęła się dynamicznie rozwijać na początku tego wieku. Opracowanie technik współczesnej inżynierii genetycznej pozwoliło na zaprojektowanie i wykonanie pierwszych obwodów genetycznych. Dalsze postępy w zakresie biologii syntetycznej zaowocowały stworzeniem bardziej zaawansowanych systemów takich, jak syntetyczne genomy czy XNA. Szereg naukowców i inżynierów oczekuje, że biologia syntetyczna pomoże w rozwiązywaniu wielu światowych wyzwań, takich jak dostęp do taniej energii, leczenie chorób tropikalnych, czy też rekultywacja zanieczyszczonych terenów. W tej chwili nie można z całą pewnością odpowiedzieć czy w najbliższym czasie uda się znaleźć praktyczne rozwiązania. Na pewno jednak konsekwencje społeczno-ekonomiczne dalszego rozwoju biologii syntetycznej będą tematem zażartej debaty naukowej.

Publikacja powstała dzięki współpracy
iGEM Team Warsaw (Aleksandra Bartosik,
Marcin Ziemniak, Jakub Piątkowski)
z laboratorium biologicznym
Centrum Nauki Kopernik (Elżbieta Turek,
Stanisław Łoboziak), w ramach programu
SYNERGENE – Responsible SPACE Research
and Innovation (RRI) in Synthetic Biology,
czyli Odpowiedzialne Badania i Innowacje
w Biologii Syntetycznej.

Publikacja ta ma na celu popularyzację
wiedzy na temat biologii syntetycznej.
Jest to nowa, szybko rozwijająca się
dyscyplina naukowa, której przyświeca
idea projektowania i tworzenia sztucznych
systemów biologicznych. Mogą być one
wzorowane na systemach występujących
w naturze lub budowane od podstaw,
z wykorzystaniem m.in. narzędzi
inżynierii genetycznej.

Autorzy

- 📧 Aleksandra Bartosik
- 📧 Marcin Ziemniak
- 📧 Jakub Piątkowski

Projekt graficzny i skład

- 📧 Katarzyna Walentynowicz

