



## Syntetyczna biologia od bakteriofaga lambda do syntetycznej bakterii Synthia (*Mycoplasma laboratorium*)

Synthetic biology from bacteriophage lambda to synthetic bacteria Synthia (*Mycoplasma laboratorium*)

Wiesław Barabasz<sup>1</sup>, Anna Pikulicka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy, Kraków

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Agricultural University in Kraków

### Streszczenie

Biologia syntetyczna (*SynBio*) to nauka, która zajmuje się tworzeniem syntetycznych układów biologicznych, zdolnych wykonywać określone, zaprogramowane funkcje. Biologia syntetyczna łączy w sobie wiele różnych dziedzin, takich jak inżynieria genetyczna, biofizyka, biologia molekularna, biotechnologia, a także informatyka i modelowanie matematyczne. Biologia syntetyczna kładzie duży nacisk na takie modelowanie procesów zachodzących w komórce, aby można dokładnie przewidzieć, jak będzie działał projektowany układ, zanim jeszcze się go skonstruuje. Biologia syntetyczna daje potencjalną możliwość tworzenia mikroorganizmów, które całkowicie stworzone w warunkach laboratoryjnych mogłyby wytwarzać wszelkiego rodzaju nowe farmaceutyki, wykrywać substancje toksyczne, rozkładać zanieczyszczenia, niszczyć komórki rakowe, produkować biopaliwa dla pojazdów przyszłości czy nawet naprawiać uszkodzone geny. Celem biologii syntetycznej jest m.in. projektowanie i budowa nowych elementów biologicznych, takich jak enzymy, układy genetyczne i komórki, a także przebudowa istniejących systemów biologicznych. Duże znaczenie w powodzeniu biologii syntetycznej i jej działań będzie miało modelowanie matematyczne, które umożliwi przewidywanie niektórych cech nowych układów, co może posłużyć do ich

udoskonalania w celu wyeliminowania wad lub wprowadzenia pewnych usprawnień. Biologia syntetyczna zapowiada uzyskanie znacznych korzyści dla zdrowia, środowiska, zasobów żywnościowych i skutków ekonomicznych. Biologia syntetyczna może przynieść znacznie więcej korzyści, które swą wartością przewyższą obecne dylematy moralne i etyczne związane z tą nowoczesną dziedziną nauk biologicznych i medycznych. Biologia syntetyczna jest dyscypliną naukową o krok bardziej zaawansowaną niż biotechnologia i nie powinniśmy się obawiać jej niewłaściwego wykorzystania.

### **Słowa kluczowe**

biologia syntetyczna (SynBio), modelowanie procesów, bioinformatyka, sztuczne bakterie

### **Summary**

*Synthetic Biology (SynBio) is the science that deals with the creation of synthetic biological systems, able to perform certain programmed functions. Synthetic biology combines many different fields, such as genetic engineering, biophysics, molecular biology, biotechnology, and information technology and mathematical modeling. Synthetic biology puts a strong emphasis on modeling of processes in the cell, so that you can predict exactly how it will work designed system before it construct. Synthetic biology provides the potential to create microorganisms that are fully developed in the laboratory could produce all kinds of new pharmaceuticals, detect toxic substances decompose pollutants, destroy cancer cells, to produce biofuels for vehicles of the future, or even repair damaged genes. The aim of synthetic biology is, among other things, the design and construction of new biological elements, such as enzymes, genetic circuits and cells, as well as the reconstruction of existing biological systems. Of great importance in the success of synthetic biology and its actions will have a mathematical modeling, which allows to predict certain features of the new systems, which can be used to improve them in order to eliminate defects or introduce some improvements. Synthetic biology promises to achieve significant benefits to health, the environment, food resources and the economic impact. Synthetic biology can bring much more benefits that exceed the value of their present moral dilemmas and ethical issues related to the modern field of biological and medical sciences. Synthetic biology*

*is a scientific discipline one step more advanced than biotechnology and we should not fear its misuse.*

**Key words**

*Synthetic Biology (SynBio), process modeling, bioinformatics, artificial bacteria*

**Wprowadzenie**

Idea stworzenia „sztucznego życia” dla współczesnych biologów jest, co prawda, fascynująca, należy jednak postawić pytanie, czy w drugiej dekadzie XXI w. można zaprojektować i stworzyć nowy organizm w warunkach laboratoryjnych. Organizm nie bardzo skomplikowany, ale stosunkowo prosty, sztuczny system biologiczny, np. wirusa czy bakterię [1,2]. Okazuje się, że ostatnie osiągnięcia z zakresu biologii molekularnej i inżynierii genetycznej pozwalają mieć nadzieję, że taki organizm można będzie w niezbyt odległym czasie „stworzyć” w warunkach laboratoryjnych. Jego „rodzicami” będą komputer oraz „narzędzia” nowej dyscypliny nauki, nazwanej przez profesora Wacława Szybalskiego, biologią syntetyczną. Biologia syntetyczna jest połączeniem biologii molekularnej i inżynierii genetycznej, a kierunkowym celem tej dyscypliny jest projektowanie i konstruowanie sztucznych systemów biologicznych wzorowanych na naturalnych, ale tych, które nie istnieją w naturze [3, 4,5,6,7].

Według Wacława Szybalskiego biologia syntetyczna (*SynBio*) jest dyscypliną naukową o krok bardziej zaawansowaną niż biotechnologia, bowiem wykracza zdecydowanie poza ramy „typowej” biotechnologii [8]. Biologia syntetyczna to nauka, która zajmuje się tworzeniem syntetycznych układów biologicznych zdolnych wykonywać określone, zaprogramowane funkcje. Mówi się o konstruowaniu „biologicznych maszyn”, ponieważ można by tak zmodyfikować prosty organizm, np. bakterię *Escherichia coli*, aby reagowała w określony sposób na różne bodźce [9, 10]. Biologia syntetyczna łączy w sobie wiele różnych dziedzin takich jak inżynieria genetyczna, biofizyka, biologia molekularna, biotechnologia, a także informatyka i modelowanie matematyczne. Biologia syntetyczna kładzie duży nacisk na takie modelowanie procesów zachodzących w komórce, aby można dokładnie przewidzieć, jak będzie działał pro-

projektowany układ, zanim jeszcze się go skonstruuje. Naukowcy sądzą, że prowadząc badania w tej dziedzinie, zbliżają się do rozwiązania problemów fundamentalnych, takich jak ten, czym jest i jaka jest istota życia, a także do poszukiwania odpowiedzi na pytanie o początki życia na Ziemi i rozważań, czy gdzieś we wszechświecie może istnieć życie „skonstruowane” inaczej, oparte na innych zasadach niż na Ziemi. Interesująca jest także potencjalna możliwość tworzenia mikroorganizmów, które – całkowicie stworzone w warunkach laboratoryjnych – mogłyby wytwarzać wszelkiego rodzaju nowe farmaceutyki, wykrywać substancje toksyczne, rozkładać zanieczyszczenia, niszczyć komórki rakowe, produkować biopaliwa dla pojazdów przyszłości czy nawet naprawiać uszkodzone geny [11,12]. Ważnym aspektem jest też dążenie do standaryzacji biologicznych części, czyli tworzenia najprostszych „klocków”, tj. „biocegiełek”, syntetycznych elementów genetycznych (*BioBrick*), z których budować się będzie projektowane nowe układy biologiczne [13, 14, 15, 16]. Dzięki standaryzacji poszczególnych elementów układu możliwe będzie ich zastąpienie przez inne części w szybki i łatwy sposób. Oczywiście w biologii nie dysponujemy pełną wiedzą na temat działania wszystkich elementów biologicznych, ale wprowadzając coraz to nowe elementy do układów już działających, możemy poznać ich funkcję i procesy przez nie przeprowadzane. Standardowe części biologiczne można pozyskać z żywych organizmów w procesie powielania wybranej sekwencji DNA techniką nazywaną „PCR” [17, 18].

Zgromadzona dotychczas wiedza z zakresu nanotechnologii, genomiki, biologii molekularnej i technologii genomowej stworzyła realną szansę na dynamiczny rozwój syntetycznej biologii w najbliższej przyszłości. Każdy gen jest przecież specyficznym odcinkiem nici DNA, a jego sekwencje umiemy teraz szybko „czytać i pisać”, to znaczy sekwencjonować i syntetyzować w laboratorium! Ponadto zsekwencjonowanie genomu ludzkiego nie tylko pobudziło naszą wyobraźnię (np. medycyna personalna), lecz także pozwoliło postawić nowe ważne pytanie. Co dalej?

W 1974 r. profesor Wacław Szybalski, odpowiadając na pytanie „Co dalej?”, wprowadził do słownictwa naukowego termin biologia syntetyczna: „Aż do teraz pracowaliśmy nad opisową fazą biologii molekularnej. Jednakże prawdziwym wyzwaniem jest wkroczenie do fazy badań obejmujących biologię syntetyczną. Będziemy wymyślać nowe elementy kontrolne i wprowadzać je do genomów lub tworzyć od podstaw nowe

genomy. Będzie to pole do popisu o niczym nieograniczonym potencjale badawczym i praktycznie braku żadnych ograniczeń względem tworzenia «nowych, lepszych układów regulacyjnych» i w końcu... całych „syntetycznych” organizmów na podobieństwo «nowych, lepszych myszy»... Nie mam obaw co do tego, że da to początek ekscytującym, nowatorskim ideom w dziedzinie całej biologii syntetycznej”.

Należy w tym miejscu przypomnieć czytelnikom, że profesor Wacław Szybalski jest wybitnym polskim uczonym, biologiem molekularnym i genetykiem, szanowanym profesorem na Uniwersytecie Wisconsin-Madison w USA. Jego nazwisko kojarzone jest w świecie z bardzo różnorodnymi badaniami, ale przede wszystkim z tymi, które pozwoliły na opracowanie rewolucyjnych metod transformacji i transfekcji, tj. wprowadzania materiału genetycznego do komórek ludzkich. Wcześniej uważano, że transformować można obcym DNA wyłącznie proste komórki bakteryjne. Profesorowi Szybalskiemu i jego żonie Elżbiecie udało się wprowadzić obce DNA do komórek ludzkich i w ten sposób został on „ojcem chrzestnym” transformacji (transfekcji) zarówno komórek ludzkich, jak i innych komórek eukariotycznych [8, 19]. Waga tego odkrycia była na miarę Nagrody Nobla. Metody, które opracował, umożliwiły profesorowi otrzymanie w 1963 r. pierwszych hybrydomów, a także ponad 10 lat później (1975 r.) umożliwiły produkcję przeciwciał monoklonalnych przez komórki mysie (za co Nagrodę Nobla w 1984 r. otrzymali Georges Köhler i Cesar Milstein). Przeciwciała monoklonalne są niezwykle ważnymi narzędziami w diagnostyce i leczeniu wielu chorób. Badania prowadzone przez profesora Wacława Szybalskiego przyczyniły się także do powstania nowej dziedziny medycyny, ciągle jeszcze w fazie eksperymentalnej, ale obiecującej – terapii genowej [20]. Światowy rozgłos przyniósł prof. Szybalskiemu badania nad bakteriofagiem lambda [21, 22]. Spowodowały one przełom w biologii molekularnej. Profesor Wacław Szybalski odkrył, że informacja genetyczna zawarta w DNA tego ważnego wirusa bakteryjnego czytana jest w specyficzny sposób z obu nici DNA. Były to pierwsze doświadczenia wykazujące transkrypcyjną kontrolę rozwoju organizmu. Jego uwagi i hipotezy posłużyły innym i zostały wykorzystane w pracach uhonorowanych później Nagrodą Nobla. To właśnie profesor Wacław Szybalski jako pierwszy zaproponował zastosowanie wspomnianego faga lambda w klonowaniu genów, co potem pomogło innym amerykańskim badaczom w opracowaniu strategii klonowania fragmen-

tów DNA, co zostało uhonorowane Nagrodą Nobla [23]. Przeprowadzone w jego laboratorium doświadczenia lub stawiane przez niego hipotezy naukowe poprzedziły także inne wielkie odkrycia, takie jak odkrycie intronów i exonów czy też odkrycie u wirusów specyficznego enzymu odwrotnej transkryptazy.

### **Biologia syntetyczna – cele i kierunki poszukiwań naukowych**

W odróżnieniu od klasycznej inżynierii genetycznej i biologii molekularnej w biologii syntetycznej kładzie się duży nacisk na racjonalne projektowanie nowych systemów biologicznych oraz wykorzystanie technik modelowania matematycznego w taki sposób, aby można było przewidzieć zachowanie się nowego układu oraz tak pokierować jego metabolizmem, aby jego działanie przebiegało w zamierzonym kierunku. Biologia syntetyczna różni się zatem zdecydowanie od inżynierii genetycznej i biotechnologii, które zajmują się modyfikacjami genów i genomów. Dynamiczny rozwój biologii molekularnej oraz bioinformatyki, do którego doszło pod koniec XX w., stworzył solidne podstawy biologii syntetycznej. Kompletnie poznane genomy bardzo wielu organizmów oraz stworzone matematyczne modele opisujące interakcje genów i regulację ich ekspresji stworzyły podstawę rozwoju tej nowoczesnej dyscypliny. Ostatecznym celem konstruowania i badania syntetycznych cząsteczek i układów biologicznych ma być uzyskanie *ab initio* całych, prawidłowo funkcjonujących komórek, tkanek i organizmów syntetycznych. Naukowcy zajmujący się tworzeniem „syntetycznego życia”, wykorzystują techniki sekwencjonowania genów, syntezy DNA oraz modelowania matematycznego [24, 25, 26, 27]. Metody komputerowe pozwalają projektować i symulować sztuczne systemy biologiczne. Istotną rolę odgrywają także zaawansowane metody analizy komórkowej, stosowane w celu wykrycia zjawisk towarzyszących zmienionym szlakom bądź interakcjom, jakie mogą się pojawić w nowych, stworzonych w laboratoriach układach biologicznych.

Bardzo często uwaga biologów syntetycznych skupia się na wykorzystaniu naturalnych systemów biologicznych lub ich uproszczonych analogów jako komponentów nowo tworzonych układów syntetycznych. Najlepszym tego przykładem jest „syntetyczna komórka” Craiga Ventera, o której doniesienia obieżyły cały świat, wzbudzając zarówno zachwyty, jak i kontrowersje w wymiarze etycznym [28, 29]. Skonstruowana przez zespół Craiga Ventera komórka to w istocie naturalna komórka *Mycopla-*

*sma bacterium*, do której wprowadzono syntetyczny genom, zmieniając w ten sposób określony, naturalny gatunek bakterii *Mycoplasma genitalium* w inny, noszący syntetyczny genom. Sztucznie stworzony genom, tj. chromosom o wielkości ponad 50000 pz, to najdłuższy odcinek DNA, jaki udało się wyprodukować w warunkach laboratoryjnych. Craig Venter, znany w świecie uczony, dzięki swojej roli w poznaniu sekwencji nukleotydowej ludzkiego genomu w ramach projektu *Human Genome Project* (1990–2003), jest obecnie jednym z najbardziej wpływowych naukowców zajmujących się biologią syntetyczną i życiem syntetycznym [30, 31]. Ponadto zespół kierowany przez Craiga Ventera postawił w 2005 r. ważne pytanie, ile z 482 genów *Mycoplasma genitalium* można usunąć, aby upośledzony organizm zachować przy życiu (w laboratorium). Okazało się, że wystarczą zaledwie 382 geny, które są absolutnie niezbędne do życia tak zmienionej bakterii [32]. Prowadzi się obecnie badania w ramach różnych projektów kreowania sztucznych systemów biologicznych, np. mikroorganizmów, które będzie można wykorzystać w medycynie, przemyśle, produkcji żywności czy ochronie środowiska [33, 34].

Duże znaczenie w powodzeniu biologii syntetycznej i jej działań będzie miało modelowanie matematyczne. Badania nad zachowaniem się układów biologicznych odgrywać będą bardzo ważną rolę w biologii syntetycznej. Wiele metod matematycznych znalazło zastosowanie do symulowania zachowania działania badanych układów syntetycznych. Często stosowane są implementacje teorii grafów, algebry Boole'a, układy zwyczajnych równań różniczkowych, stochastyczne równania różniczkowe oraz procesy Markowa. Ponieważ rozpatrywane systemy biologiczne mieszczą się w matematycznej definicji układu dynamicznego, to do ich badania można będzie stosować zasadniczo wszystkie techniki rozwinięte przez teorię układów dynamicznych. Dostępnych jest wiele narzędzi programistycznych umożliwiających prowadzenie takich symulacji, a także racjonalne projektowanie obwodów genetycznych, z czego wiele jest już dostępnych za darmo [35, 36].

Tworzenie matematycznych modeli opisujących projektowane układy pozwala na przewidzenie niektórych cech, co może posłużyć do ich udoskonalania w celu wyeliminowania wad lub wprowadzenia pewnych usprawnień. Obecnie zostały rozwinięte wielkoskalowe modele sieci genetycznych tworzone z myślą o zastosowaniach w biologii syntetycznej. Pozwalają one na odtwarzanie podstawowych procesów biologicznych



takich jak transkrypcja, translacja oraz wpływ czynników transkrypcyjnych oraz sygnałów środowiskowych na działanie obwodów genetycznych.

Niestety wraz ze wzrostem złożoności układu drastycznie narasta złożoność obliczeniowa symulacji oraz stopień nieprzewidywalności zachowania się układu. Dodatkowym utrudnieniem w tworzeniu poprawnie działających modeli jest duża liczba czynników zewnętrznych, które zakłócają jego działanie, a często nie są należycie uwzględniane (bądź nie są znane) podczas konstruowania nowych modeli biologicznych.

Jak pisze profesor Magdalena Fikus: „Idea syntetycznej biologii jest to, żeby życie wokół nas bardziej przystosować do potrzeb człowieka, bo wiem przystosowanie świata do człowieka nie jest celem ewolucji” [37].

### **Od inżynierii genetycznej do biologii syntetycznej**

Postęp cywilizacji dokonał się dzięki zmieniającym się i udoskonalanym technologiom oraz ciągłym poszukiwaniu lepszych aspektów i warunków życia ludzkiego. Dla biologów ważny okazał się rok 1953, kiedy to poznaliśmy strukturę DNA, czyli związku chemicznego obecnego w chromosomach, w którym zakodowany jest komplet informacji genetycznej żywego organizmu (Watson i Crick, *Nature*). Dalsze badania nad strukturą i funkcją biologiczną DNA pozwoliły na rozwój nowych dziedzin nauki, jakimi były biologia molekularna, genetyka molekularna, inżynieria genetyczna czy biotechnologia. Dokładna znajomość budowy oraz sekwencji DNA jest obecnie niezbędna do prowadzenia badań w zakresie biologii molekularnej i syntetycznej. Rozwój technik sekwencjonowania znacznie przyspieszył rozwój współczesnej biologii [38, 39]. Wprowadzanie licznych usprawnień technicznych oraz lepszych i szybszych metod bioinformatycznej obróbki danych znacznie przyspieszyło proces sekwencjonowania całych genomów, transkryptomów i proteomów człowieka oraz bardzo wielu innych organizmów. Biolodzy syntetyczni wykorzystują sekwencjonowanie do kilku celów. Po pierwsze, zakrojone na szeroką skalę projekty badania całych genomów pozwalają na lepsze zbadania naturalnie organizmów występujących na naszej planecie. Dokładna znajomość naturalnych genomów jest konieczna do ich modyfikowania bądź projektowania ich sztucznych odpowiedników. Innym celem sekwencjonowania jest ustalenie poprawności skonstruowanych sieci genetycznych i wykluczenie obecności przypadkowych mutacji, które mogłyby zaburzyć ich



działanie. W związku z tym pojawiło się ważne pytanie, czy można „podmienić” genom bakterii.

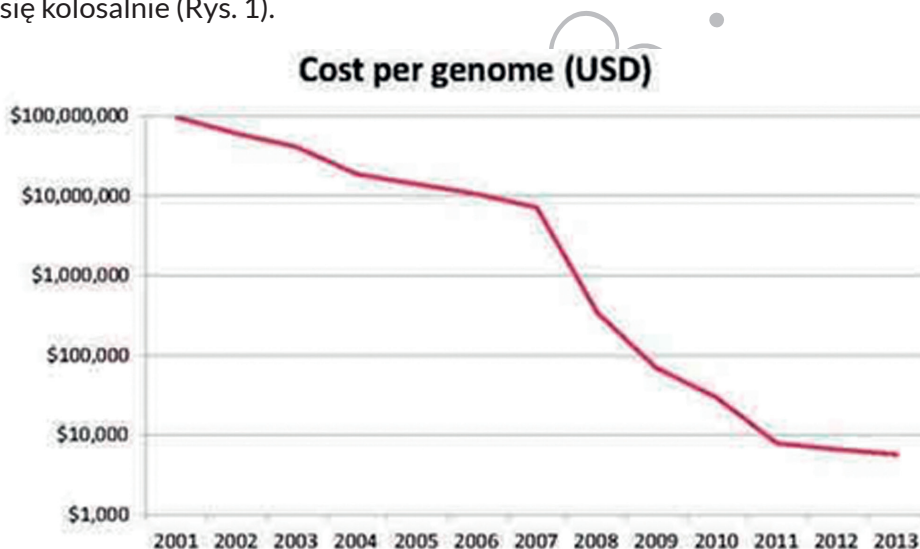
Najogólniej można powiedzieć, że obecne działania biologów syntetycznych zmiierają w dwóch kierunkach [40]:

- projektowanie i budowa nowych biologicznych części, urządzeń i systemów, które nie istnieją w świecie przyrody,
- rekonstrukcji (*re-design*), czyli ponownego projektowania istniejących naturalnych systemów biologicznych wykorzystywanych do celów użytecznych.

Pierwsza grupa badaczy wykorzystuje nienaturalne cząsteczki, próbując naśladować naturalne molekuly w celu stworzenia „sztucznego życia” lub zupełnie nowych elementów biologicznych, które służyć mogą do spełniania określonych pożytecznych funkcji. Mogą to być sztucznie syntetyzowane sekwencje DNA, które wcześniej nie istniały, albo syntetyczne substytuty nukleotydów czy substytuty aminokwasów itp. Druga grupa badaczy wykorzystuje naturalne cząsteczki i montuje je w systemy, które działają nienaturalnie i są wykorzystywane do budowy nowych układów biologicznych. Ogólnym celem jest poznanie, poprzez analizę i obserwację w warunkach laboratoryjnych, efektów działania takich skonstruowanych, nowych modeli. Do tej pory, dzięki biologii syntetycznej, udało się wyprodukować np. testy diagnostyczne dla chorób takich jak HIV oraz wirusów zapalenia wątroby [41].

Celem biologii syntetycznej jest m.in. projektowanie i budowa nowych elementów biologicznych takich jak enzymy, układy genetyczne i komórki, a także przebudowa istniejących systemów biologicznych. Biologia syntetyczna opiera się na postępie w biologii molekularnej komórki i biologii systemów. Elementem, który odróżnia biologię syntetyczną od tradycyjnej biologii, biologii molekularnej i komórkowej, jest możliwość projektowania i budowy najważniejszych elementów żywych komórek, tj. części enzymów, układów genetycznych, szlaków metabolicznych itd., które mogą być modelowane i dostosowane do spełniania określonych zadań. Te skonstruowane mniejsze elementy można następnie wykorzystywać do konstrukcji większych zintegrowanych systemów zdolnych do rozwiązywania konkretnych problemów. Podobnie jak inżynierowie projektowali układy scalone na podstawie znanych właściwości fizycznych materiałów, a następnie wytwarzali funkcjonujące obwody i całe procesory (o stosunkowo wysokiej niezawodności), syntetyczni biolodzy

wkrótce zapewne będą mogli projektować i budować systemy biologiczne. Należy jednak pamiętać o tym, że w przeciwieństwie do wielu innych dziedzin inżynierii biologia jako taka i jej procesy są mniej przewidywalne, a wynika to stąd, że mamy mniejszą wiedzę o elementach biologicznych wchodzących w skład komórki (sekwencje genów, właściwości białka, układy biologiczne) i ich zależnościach oraz bardzo złożonych interakcjach. Być może podejmowane próby „manipulowania” systemami życia na poziomie molekularnym doprowadzą jednak do lepszego zrozumienia i nowego podejścia do systemów biologicznych, tym bardziej że koszty sekwencjonowania DNA, RNA i białek w ciągu kilkunastu lat zmniejszyły się kolosalnie (Rys. 1).



Rysunek 1. Spadek kosztów sekwencjonowania ludzkiego genomu

Źródło: [www.BuildingBiotechnology.com](http://www.BuildingBiotechnology.com)

Syntetyczna biologia oferuje nowe możliwości tworzenia nowych gałęzi przemysłu z ważnymi skutkami ekonomicznymi i gospodarczymi. Jak postęp w dziedzinie chemii syntetycznej miał poważny wpływ na kształtowanie nowoczesnych struktur społecznych i gospodarczych w wiekach XIX i XX, tak biologia syntetyczna zapowiada uzyskanie znacznych korzyści dla zdrowia, środowiska, zasobów żywnościowych i skutków ekonomicznych. Wielu ludzi nie zdaje sobie sprawy ze stopnia zaawansowania dzisiejszych technologii ani z faktu, że takie modyfikacje są niezwykle precyzyjne. Biologia syntetyczna może przynieść znacznie więcej korzy-

ści, które swą wartością przewyższą obecne dylematy moralne i etyczne związane z tą bardzo nowoczesną dziedziną nauk biologicznych i medycznych.

Warto wspomnieć, że w czasopiśmie „Science” (2016 r.) znalazła się informacja, że zespół George’a Churcha z Harvard Medical School w Bostonie chce tak „przeprogramować” DNA bakterii *Escherichia coli*, aby było ono inne niż DNA wszystkich organizmów zamieszkujących Ziemię. Oznacza to konieczność dokonania ponad 62 tys. zmian w genomie bakterii. Oczywiście tak dużych zmian nie można dokonać klasycznymi molekularnymi metodami, w związku z tym zaprojektowano syntetyczny genom na komputerze i zsyntetyzowano go, fragment po fragmencie (każdy z nich liczył około 2 tys. par zasad). Krótkie odcinki zostały następnie połączone w dłuższe fragmenty DNA, po mniej więcej 50 tys. par zasad, a docelowo genom ma mieć wielkość 4 mln nukleotydów. Najpierw jednak naukowcy wypróbowują działanie poszczególnych segmentów syntetycznej bakterii, włączając je do genomów żywych bakterii i usuwając odpowiadającą im sekwencję. Na razie udało się znaleźć i naprawić 13 błędów skutkujących śmiercią bakterii; prace prawdopodobnie zostaną zakończone w ciągu kilku miesięcy. Nie będzie to jednak pierwsza sztuczna bakteria, bo podobną „skonstruowałam”, jak wspominałam wcześniej, zespół z Instytutu Craiga Ventera w La Jolla, ale ich syntetyczna bakteria ma genom skrajnie uproszczony. Natomiast obecnie zsyntetyzowana, zmodyfikowana bakteria *Escherichia coli* to projekt znacznie bardziej skomplikowany. Od naturalnych szczepów *Escherichia coli* będzie lepsza, będzie się różnić pod wieloma względami. Ma być odporna na wszelkie wirusy, niezdolna do wymiany genów z innymi organizmami i wytwarzająca białka, jakie nie występują w naturze. Zwykłe białka zbudowane są z 20 naturalnych aminokwasów. W wypadku udoskonalonej bakterii białka będą zawierać nowe aminokwasy syntetyczne. Co ważne, bez jednego z nich nie będą się mogły rozwijać w środowiskach naturalnych, toteż nie powinna sprawiać problemów, jeśli wydostanie się z laboratorium.

Oprócz nadziei i opisanych w artykule zalet biologii syntetycznej zgłaszane są także poważne naukowe wątpliwości związane z tworzeniem nowych komórek biologicznych, syntetycznych genów i genomów oraz ich potencjalnym wpływem na środowisko, ochronę przyrody, zrównoważone użytkowanie roślin w rolnictwie, różnorodność biologiczną

i zdrowie ludzkie. Prewencyjne podejście uregulowane ustawowo przez zobowiązania międzynarodowe oraz unijne ma zapobiec ewentualnemu zmniejszeniu różnorodności biologicznej przez produkty będące wytworem biologii syntetycznej.

### **Biologia syntetyczna w medycynie, przemyśle i w produkcji żywności**

Zarówno w Polsce, jak i w innych krajach rozwiniętych mamy do czynienia ze starzeniem się społeczeństwa. Ponadto jesteśmy świadkami nowej sytuacji, w której obserwuje się olbrzymi ruch ludności przemieszczającej się z obszarów wiejskich do miast. Nastąpił wzrost chorób zakaźnych spowodowany przez pojawienie się oporności na leki, a także ogólny wzrost chorób nowotworowych, otyłości, cukrzycy i chorób serca. Jest to poważny problem, który wymaga szybkiego rozwiązania i wyraźnie wskazuje, że musimy poprawić naszą zdolność do interwencji poprzez zastosowanie nowoczesnych metod diagnostyki, epidemiologicznego monitorowania chorób, leczenia, opieki i zapobiegania. Biologia syntetyczna stwarza możliwości opracowywania tanich, czułych testów w wypadku chorób zakaźnych, genetycznych i neurodegeneracyjnych. Bardzo znaczącym wkładem biologii syntetycznej wydaje się odkrywanie i poszukiwanie nowych skutecznych leków, w tym nowych antybiotyków [42]. Główne problemy w produkcji przemysłowej dotyczą dostaw surowców, kosztów produkcji i funkcjonalności przetworzonych materiałów [27, 43]. Surowce i produkcja są kosztowne ze względu na niedobór nakładów energii i wymogów kapitałowych oraz mogą być niebezpieczne dla pracowników i środowiska naturalnego. Materiały, które produkujemy, mają ograniczenia w ich funkcji i właściwościach. Materiały biologiczne są niedrogie, obfite i mają nowe funkcje takie jak samonaprawa, wytwarzane z niskim nakładem energetycznym w czystej produkcji. Biologia syntetyczna pozwoliłaby zmniejszyć zużycie energii, kosztów i negatywnego wpływu na środowisko, zapewniając przy tym lepsze właściwości nowym produktom. Lepsze właściwości mogą obejmować wytrzymałość, o czym świadczy np. produkcja nici pajęczej z wykorzystaniem zmodyfikowanych bakterii do tworzenia silniejszych materiałów włóknistych. Inne nowatorskie materiały obejmują materiały akrylowe produkowane z użyciem bakterii. To procesy, które zmniejszają zależność od dostaw ropy naftowej, a także emisję gazów cieplarnianych. W produkcji chemicznej są

opracowywane nowe biokatalizatory, które zmniejszają koszty i emisję szkodliwych dla środowiska produktów ubocznych. Niezwykle ważne wyzwanie dla biologii syntetycznej jest związane z zastosowaniem nowych źródeł energii. Zapotrzebowanie na energię nadal szybko rośnie z powodu rosnącej globalnej populacji i rozwijającego się świata. Duże ilości ropy i gazu należą do nielicznej grupy krajów, w tym niestabilnych politycznie. Kluczowe możliwości biologii syntetycznej w energetyce są związane z zastąpieniem paliw kopalnych biopaliwami, a także z poprawą wydajności i zmniejszeniem zanieczyszczenia. Obecnie trwają intensywne badania naukowe i prace wdrożeniowe nad optymalizacją procesów metabolicznych bakterii i zwiększenie produkcji etanolu. Paliwa drugiej generacji byłyby ekologiczne i zupełnie nieszkodliwe dla środowiska. Jako alternatywę dla istniejących, kopalnych źródeł energii proponuje się masową produkcję etanolu z celulozy; biopaliwa charakteryzującego się bardzo niską emisją dwutlenku węgla. Z kolei konstruowane nowe bakterie prośrodowiskowe będą mogły być szeroko wykorzystane do przeciwdziałania skutkom postępującego zanieczyszczenia środowiska naturalnego [44, 45]. Już w niedalekiej przyszłości globalne zwiększanie się populacji ludzkiej, wobec ograniczonej dostępności gruntów rolnych i ich ciągłego ubywania, a także wobec zachodzących zmian klimatycznych spowodują, że światowa produkcja żywności będzie musiała być coraz większa, bardziej efektywna i mniej podatna na działanie czynników zewnętrznych i dostępna przez cały rok [43]. Najnowsze osiągnięcia naukowe biologii syntetycznej mogą nam umożliwić tworzenie nowych, złożonych systemów biologicznych, które bez problemu będą mogły produkować w dużych ilościach dowolne białka jako produkt naturalny. Może to mieć rewolucyjny wpływ na nasze życie i sposób odżywiania, bowiem deficyt białka jest coraz bardziej dotkliwym problemem w krajach rozwijających się. Ponadto należy zaznaczyć, że w rolnictwie wprowadzanie nowych technologii jest często ograniczone względami bezpieczeństwa lub obawami o ich nadużycie. Biologia syntetyczna podejmuje to wyzwanie, bowiem ma olbrzymi potencjał do wzbogacenia zasobów żywności i może złagodzić niedobory żywności spowodowane przez rosnący popyt na żywność na całym świecie. Co prawda, mamy żywność GMO, ale ze względu na obawy o jej bezpieczeństwo, potęgowane przez organizacje ekologiczne i media, społeczeństwa wielu krajów sprzeciwiają się jej produkcji i dystrybucji. Przykładem zastosowania biologii syntetycznej do

rozwiązywania tych problemów jest już dzisiaj chociażby użycie drożdży piekarskich do masowej produkcji witamin i białek.

### **Obawy i zagrożenia**

Dynamiczny rozwój biologii syntetycznej zainicjował serię pytań dotyczących etyki, zagrożenia biologicznego, medycyny oraz ochrony własności intelektualnej. Podobnie jak podczas wcześniejszych debat na temat biotechnologii powstało wiele obaw związanych z niewłaściwym wykorzystaniem nowych odkryć i technologii będących owocami biologii syntetycznej [46]. Przykładem może być teoretyczna możliwość otrzymania patogennych mikroorganizmów na skutek zaistnienia nieznanymi wcześniej efektów wywołanych przez wprowadzenie obcych układów regulujących ekspresję genów. Badania przeprowadzone przez J. Craig Venter Institute, MIT oraz CSIS w 2007 r. miały na celu naukową ocenę niebezpieczeństwa takich badań i konstruowanych syntetycznych bakterii. Ponadto pojawiło się też kilka innych inicjatyw, których celem jest współpraca organizacji rządowych i naukowców nad krytyczną analizą możliwych zagrożeń wynikających z wprowadzania wielkoskalowych modyfikacji genetycznych organizmów. Przedstawiony w 2008 r. raport IASB „Technical solutions for biosecurity in synthetic biology” wyrósł z wcześniejszych propozycji wprowadzenia usprawnień technicznych, zapewniających większe bezpieczeństwo w zakładach przemysłowych i laboratoriach wykorzystujących osiągnięcia biologii syntetycznej [47]. Ponadto duże kontrowersje wzbudzają spory dotyczące praw patentowych do określonych sekwencji DNA lub białek [48].

Nie trzeba wielkiej fantazji, żeby wyobrazić sobie także rozmaite możliwe przykłady wykorzystania nowych metod nie dla pożytku ludzkości, ale wręcz przeciwnie – dla jej zagłady. Jeśli możliwe jest tworzenie mikroorganizmów, które będą „pracować” na rzecz człowieka, możliwe staje się tworzenie nowych chorobotwórczych drobnoustrojów jako złowrogiej broni biologicznej o nieznanym dotąd możliwościach. Takie dylematy towarzyszą naukowcom, pojawia się też wiele międzynarodowych inicjatyw mających na celu wypracowanie metod kontroli nad laboratoriami genetycznymi i zakładami, które wykorzystują osiągnięcia inżynierii genetycznej i biologii syntetycznej. Procedury związane z syntezą fragmentów DNA są wykonywane w laboratoriach coraz sprawniej i ta-



niej, dlatego tak ważne jest powołanie organów złożonych z naukowców i ekspertów rządowych, aby możliwa była kontrola tych prac.

W świetle ogromnych, często zaskakujących odkryć i dokonań XX i XXI w. w dziedzinie biologii i genetyki molekularnej, inżynierii genetycznej i biologii syntetycznej należy postawić także ważne pytanie: „Czego najbardziej się obawiamy i dlaczego?”

Prof. Magdalena Fikus, podsumowując nasze obawy, stwierdza, że: „możliwości ludzkiej ingerencji w przyrodę były od dawna bardzo imponujące – np. roślina, z której wyprowadzono kukurydzę – to dzika trawa. Jednak – dodała – była to zasługa „biotechnologii” klasycznej, gdzie nie zmieniano w sposób zamierzony określonych genów. Nieco bardziej zaawansowana biotechnologia pozwoliła na dodawanie do roślin pojedynczych genów z innych gatunków, które zmieniły ich cechy. Przykładem techniki GMO jest modyfikacja rośliny uprawnej poprzez dodanie białka produkowanego przez bakterię. Ochroniło to przed uszkodzeniem rośliny przez larwy szkodnika – omacnicy prosowianki”.

Badania genetyczne, inżynieria genetyczna, możliwości klonowania stoją już na tak wysokim poziomie rozwoju, że od tych zaawansowanych eksperymentów genetycznych nie ma odwrotu. Wizje i idee, które nam mogą się wydawać czystym science fiction, czystą abstrakcją, zaprzęają najtęższe mózgi świata. Na razie rzecz dzieje się przede wszystkim na poziomie najmniejszych, najprostszych organizmów – i tak pewnie będzie jeszcze przez długie lata. Myśląc optymistycznie, nie powinniśmy się zbyt obawiać. Możemy i chcemy mieć nadzieję na opracowanie nowych, bezpiecznych szczepionek, lepszych, skutecznych leków ratujących zdrowie i życie ludzkie, na zdrową żywność, a także konstrukcję zmodyfikowanych drobnoustrojów, „zaprzęganych” do przemysłowych procesów biotechnologicznych, unieszkodliwiania wszelkiego rodzaju środowiskowych zanieczyszczeń chemicznych czy zdolnych do naprawiania uszkodzonych genów.

Nieuchronnie pojawił się cały szereg pytań i poważnych wątpliwości dotyczących niewłaściwego wykorzystania tych nowych, fascynujących osiągnięć nauki. [1, 49, 50, 51]. Dyskutowane wątpliwości, obawy i możliwe zagrożenia dotyczą następujących pytań i problemów:

1. Bioterroryzm – teoretyczna możliwość wykorzystania patogennych mikroorganizmów jako broni biologicznej o nieznanym dotąd właściwościach.



2. Czy próby zsyntetyzowania sztucznego życia są etyczne i moralne?
3. Czy „manipulowanie genami” to nie ingerencja w „naturalny porządek” świata ożywionego i w naturę przyrody?
4. Czy syntetyczne organizmy nie wyeliminują jakiegoś ważnego biologicznego ogniwa w jakimkolwiek ekosystemie?
5. Czy potrafimy powstrzymać rozmnażanie się źle skonstruowanego organizmu, który uwolnił się przypadkowo do otoczenia i może zagrażać ludzkości i całej biosferze?
6. Czy powinna istnieć jakaś nieprzekraczalna granica ingerencji człowieka w otaczającą przyrodę?
7. Czy stworzone nowe organizmy mogą przekazywać swoje nowe nabyte cechy horyzontalnie i wertykalnie? Czy będą podlegać naturalnej zmienności i ewolucji?

### Podsumowanie

Jako podsumowanie niniejszego artykułu pozwalamy sobie zacytować mało optymistyczną wypowiedź wybitnej uczzonej, biologa i biotechnologa molekularnego z Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, prof. dr hab. Magdaleny Fikus na temat braku rozumienia w Polsce zarówno wyzwań, jak i światowych osiągnięć współczesnej biologii syntetycznej:

„W internecie są dostępne poważne raporty międzynarodowe, przygotowane dla parlamentów i rządów przez zespoły naukowców. Kiedy dwa lata temu w Wielkiej Brytanii ukazał się raport dotyczący biologii syntetycznej, tamtejszy odpowiednik naszego ministerstwa nauki przyznał 6 mln funtów na założenie zespołu pracującego nad tą dziedziną. To była decyzja z dnia na dzień; takie decyzje w Polsce nie zapadają. Chciałabym dożyć takiej chwili, kiedy rząd i parlament polski będą chciały się dowiedzieć czegoś od grupy specjalistów na tematy, które na pewno pojawią się w życiu społecznym. Ale ludzie, którzy rządzą krajem, nie chcą wiedzieć o sprawach ważnych dla nauki, podobno nie mają na to czasu. Z tego powodu w dyskusji na temat GMO jesteśmy spóźnieni już o mniej więcej 20 lat. Na świecie nikt już o tym nie mówi, teraz dyskutuje się na temat biologii syntetycznej, o której wielu z naszych polityków nie ma żadnego pojęcia – nie będę mówiła, o co jestem gotowa się założyć” – oceniła prof. Fikus.

## Piśmiennictwo

1. Calvert J. Synthetic biology: constructing nature? *The Sociological Review* 2010; 58: 95-112.
2. Żylicz M. Biologia syntetyczna: jak powstało życie na Ziemi? *Nauka* 2013; 4: 7-18.
3. Szybalski W. In Vivo and in Vitro Initiation of Transcription, Page 405. In: A. Kohn and A. Shatky (Eds.), *Control of Gene Expression*, pp. 23-4, and Discussion pp. 404-5 (Szybalski's concept of Synthetic Biology), 411-2, 415-7. New York: Plenum Press, 1974
4. [https://pl.wikipedia.org/wiki/Biologia\\_syntetyczna](https://pl.wikipedia.org/wiki/Biologia_syntetyczna)
5. <http://dolinabiotechnologiczna.pl/nowe-doniesienia/biotechnologia-nowosci/czym-jest-biologia-syntetyczna/>
6. <http://www.poradnia.pl/biologia-syntetyczna-do-czego-sluzzy.html>
7. <https://www.synberc.org/what-is-synbio>
8. Szybalski W. History of synthetic biology: Witnessing molecular biology from its beginnings. *Proceedings of The Fourth International Meeting on Synthetic Biology (SB 4.0)*, Hong Kong University of Science and Technology, The BioBrick Foundation, Oct. 10-12, 2008, pp. 48 - 50.
9. Gardner TS, Cantor CR, Collins JJ. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 2000; 403 (6767): 339-342.
10. Leyskaya A, Chevalier AA, Tabor JJ, et al. Synthetic biology: engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature* 2005 ; 441-442.
11. Borman S. Designed Pathways and Microbes. Hong Kong. Synthetic biology aims to generate biofuels, medicines, and novel organisms. *Chem Eng News* 2008; 86/46: 62-66.

12. Brune KD, Bayer TS. Engineering microbial consortia to enhance biomineralization and bioremediation. *Frontiers in Microbiology* 2012; 3: 203-207.
13. Calvert J. Ownership and sharing in synthetic biology: A 'diverse ecology' of the open and the proprietary? *BioSocieties* 2012; 7(2): 169-187.
14. Dana GV, Kuiken T, David Rejeski D, Allison A, Snow A A. Four Steps to Avoid a Synthetic-Biology Disaster. *Nature* 2012; 483: 29-31.
15. Lesiak JM, Stachowiak R, Bielecki J. Biologia syntetyczna jako nowa aplikacyjna dziedzina nauk ścisłych. *Post Mikrobiol* 2010; 49 (4): 233-237.
16. Moreno E. Design and Construction of "Synthetic Species". *PLoS ONE* 2012; 7: 1-6:
17. <http://syntheticbiology.northwestern.edu/>
18. <http://pubs.acs.org/journal/asbcd6>
19. Wieland M, Fussenegger M.: Engineering Molecular Circuits Using Synthetic Biology In Mammalian Cells. *Annu Rev Chem Biomol Eng* 2009; 3: 209-234.
20. Szybalski W. Synthetic biology and gene therapy (In Weigl's steps beyond his vaccine). in: Abstracts. 3rd Ukrainian-Polish Weigl Conference, Microbiology on service for human. pp. 26-27, Odesa National Mechnykov University, Odesa, Ukraine, 14-17 Sept. 2009.
21. Szybalski W. Genetic and molecular map of Escherichia coli bacteriophage lambda ( $\lambda$ ). In: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*. Fasman, G.D., Ed. 3rd Ed., Nucleic Acids, Vol. II. CRC Press, Cleveland, 1976, pp. 677-685.
22. Szybalska EH, Szybalski W. A comprehensive molecular map of bacteriophage lambda. *Gene* 1979; 7: 217-270.

23. Smith HO, Hutchison CA, Pfannkoch C, Venter JV. Generating a synthetic genome by whole genome assembly: phiX174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100 (26): 15440-15445.
24. Bennett G, Gilman N, Stavrianakis A, Rabinow P. From synthetic biology to biohacking: are we prepared? *Natural Biotechnology* 2009; 27(12): 1109-1111.
25. Chopra P, Kamma A. Engineering life through Synthetic Biology. In *Silico Biology*, 2008; 6-9.
26. Jankowska E, Szczepaniak K, Sabat D. Biologia syntetyczna: budowanie funkcjonalnych układów. *Studia i Materiały Informatyki Stosowanej* 2013; 5(10): 22-28.
27. Wellhausen R, Mukunda G. Aspects of the political economy of development and synthetic biology. *Systems and Synthetic Biology* 2009; 3: 115-123.
28. Dormitzer PR, Suphaphiphat P, Gibson DG, et al. Synthetic Generation of Influenza Vaccine Viruses for Rapid Response to Pandemics. *Science: Translational Medicine* 2013; 5(185): 185-188.
29. Gibson DG, Benders GA, Andrews-Pfannkoch C, et al. Complete Chemical Synthesis, Assembly, and Cloning of a *Mycoplasma genitalium* Genome. *Science* 2008; 319: 1215-1220.
30. [https://en.wikipedia.org/wiki/Craig\\_Venter](https://en.wikipedia.org/wiki/Craig_Venter)
31. <https://www.theguardian.com/science/2013/oct/13/craig-ventner-mars>
32. Glass JI, Smith HO, Hutchinson CA, Alperovich N, Assad-Garcia N. (Inventors). J. Craig Venter Institute, Inc. (Assignee). Minimal bacterial genome. United States Patent Application 20070122826. 2007

33. Ledakowicz S. Od inżynierii metabolicznej przez biologią systemów do inżynierii biologicznej. *Inż Ap Chem* 2009; 48 (3): 17-20.
34. Legocki AB. Aplikacyjne perspektywy biologii ery postgenomowej. *Biotechnologia* 2008; 80: 9-14.
35. Marchisio MA, Stelling J. Computational design of synthetic gene circuits with composable parts. *Bioinformatics* 2008; 1903-1910.
36. Kaznessis YN. Models for Synthetic Biology". *BMC Systems Biology* 2007; 1: 47-49.
37. [http://www.pol-nord.eu/wypowiedzi/Magdalena\\_Fikus\\_o\\_patentach\[1\].pdf](http://www.pol-nord.eu/wypowiedzi/Magdalena_Fikus_o_patentach[1].pdf)
38. Drmanac R. Sequencing by hybridization (SBH): advantages, achievements, and opportunities. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2002; 77: 75-10.
39. Ronaghi M. Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Research* 2011; 3-11.
40. Church GM, Elowitz MB, Smoke CD, Voigt CV, Weiss R. Realizing the potentiation of synthetic biology. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology* 2014; 15: 289-293.
41. <https://www.ibiology.org/ibioeducation/taking-courses/synthetic-biology-course.html>
42. Peplow M. News: Malaria drug made in yeast causes market ferment. *Nature* 2013; 494, (7436): 160-161.
43. Porcar M, Pereto J. Are we doing synthetic biology? *Systems and Synthetic Biology* 2012; 6: 79-83.
44. Oldham P, Hall S, Burton G. Synthetic Biology: Mapping the Scientific Landscape. *PLoS ONE* 2012; 7(4): e34368.

45. Schmidt M, de Lorenzo V. Synthetic constructs in/for the environment: Managing the interplay between natural and engineered biology. *FEBS Letters* 2012; 586: 2199-2206.
46. Wright O, Stan GB, Ellis T. Building-in Biosafety for Synthetic Biology. *Microbiology* 2013; 159: 1221-1235.
47. <https://www.bio.org/articles/synthetic-biology-explained>
48. Schmidt M. Diffusion of synthetic biology: a challenge to biosafety. *Systems and Synthetic Biology* (online first) DOI 10.1007/s11693-008-9018-z 2008.
49. Couzin J. Virology. Active poliovirus baked from scratch. *Science* 2002; 174-175.
50. de Lorenzo V. Environmental biosafety in the age of Synthetic Biology: Do we really need a radical new approach? *BioEssays* 2010; 32: 926-931.
51. Goldblat J.: The Biological Weapons Convention - An overview, *International Review of the Red Cross*, No. 318. 1997.

### **Adres do korespondencji**

prof. dr hab. Wiesław Barabasz  
Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy  
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków  
e-mail: rrbaraba@cyf-kr.edu.pl