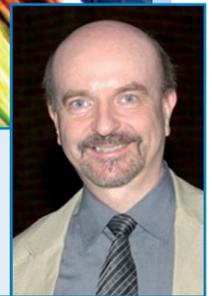


¿Quién teme la Biología sintética?

Víctor de Lorenzo

Profesor de Investigación del CSIC en Programa de Biología de Sistemas del Centro Nacional de Biotecnología donde dirige el Laboratorio de Microbiología Ambiental Molecular (<http://www.cnb.csic.es/~meml>). En la actualidad **coordina la iniciativa europea ST-FLOW** (<http://www.cnb.csic.es/~stflow-project>) para desarrollar estándares para la ingeniería de sistemas biológicos complejos, dentro del cual se ha lanzado la colección de vectores SEVA (*Standard European Vector Architecture*, <http://seva.cnb.csic.es>).



Tanto la *Biología de Sistemas* como la *Biología Sintética* forman parte de una agenda investigadora en Ciencias de la Vida que trata de comprender a las entidades biológicas como objetos completos en vez de conformarse con un mero análisis de sus componentes¹. Para ello es necesario apartarse del reduccionismo extremo de la Biología Molecular y tratar de hacer frente a la complejidad de los sistemas vivos como tales utilizando una perspectiva integradora. Uno de los objetivos fundamentales de la Biología de Sistemas es el exponer las propiedades implícitas en la organización interna de los objetos biológicos. Con este fin, cualquier enfoque *sistémico* se organiza en tres etapas, a saber: la descripción del sistema, la de-construcción del sistema en sus componentes y, eventualmente, la re-construcción del sistema con las mismas u otras propiedades (Fig. 1). Hay que hacer notar que el término *de-construcción* tiene dos significados diferentes, ambos incorporados a la jerga de la Biología de Sistemas. En primer lugar, significa un dismantelamiento gradual de los componentes de un objeto para su análisis o reutilización. Pero de-construcción es también el descubrimiento de un significado implícito u oculto en un texto o en un dispositivo, que no se desprende de una descripción superficial. Por último, la reconstrucción de un sistema es una prueba final de comprensión de su funcionamiento, haciéndose eco de la célebre observación del ganador del Premio Nobel de Física en 1965, Richard Feynman «... *lo que no puedo crear, no lo entiendo*». La Biología Sintética retoma este último aspecto hasta el punto de proponer el diseño de sistemas biológicos no-naturales siguiendo un plan racional que se traduzca en propiedades *a la carta* tanto para responder a preguntas fundamentales como para aplicaciones biotecnológicas.

Pero, por interesante que sea, este contenido más científico de la Biología Sintética parece estar completamente

eclipsado por el significado que ha dado al término la comunidad más activa en promocionar el campo: los ingenieros. Tom Knight (Massachusetts Institute of Technology) merece el crédito de haber sido el primero en mirar a los sistemas biológicos con los ojos de un ingeniero *puro y duro* y en importar a la Biología muchos de los marcos conceptuales y la jerga descriptiva que se usa para la fabricación de circuitos eléctricos. Inspirado por la obra de Harold Morowitz, un físico y biólogo de Yale, Knight adoptó en los años 90 una nueva visión de los objetos vivos que le llevaron a establecer un grupo de Biología en el Laboratorio del Inteligencia Artificial del MIT. Este equipo (y sus descendientes emigrados a otros lugares en los años siguientes), creó y cultivó el concepto de *parte biológica* o BioBrick, uno de los productos más inspiradores (y polémicos) de esta escuela². Tales BioBricks son segmentos de ADN que codifican funciones biológicas únicas e inequívocas y que se declaran (aunque no necesariamente se demuestran) como componentes conectables, intercambiables y reutilizables. Sobre esta base, la colección de BioBricks y partes biológicas (<http://partsregistry.org>) ha ido creciendo cada día y su impacto ha sido enorme a través del concurso anual iGEM (<http://www.igem.org>) en el que estu-

La reconstrucción de un sistema es una prueba final de comprensión de su funcionamiento

diantes pre-graduados de Biología e Ingeniería de un gran número de Universidades de todo el mundo (entre ellas, por

ejemplo, Valencia, Lleida y Sevilla) compiten por los mejores diseños genéticos de sistemas biológicos. Para ello, los concursantes deben proponer una combinación racional de BioBricks de la colección con objeto de generar propiedades que antes no existían. La analogía de estos diseños con los circuitos eléctricos permitiría así modificar las características de los sistemas biológicos existentes o la creación de otros nuevos por completo. De acuerdo también con esta visión *ingenieril* de los sistemas vivos, las actividades biológicas pueden abstraerse, modularizarse y reconectarse de forma

racional, tal y como un ingeniero diseñaría dispositivos para un Airbus... Aunque todo esto esté en una fase temprana, el encuentro entre la Ingeniería *de verdad* (no solo metafórica como en la *Ingeniería Genética*) y la Biología Molecular va a tener necesariamente consecuencias³. Pero, ¿cuánto de todo esto es algo realmente nuevo y cuanto es simplemente cambiar el nombre a cosas que ya existen?

La cuestión en juego es si los sistemas vivos pueden en realidad dividirse en una lista de piezas que luego puedan re-conectarse con un propósito distinto a la funcionalidad que tienen en su situación natural. Mientras que esto sería ideal para un constructor, el hecho es que el funcionamiento de prácticamente todas las partes biológicas existentes parece ser dependiente de su contexto. La presión evolutiva da lugar con frecuencia a una complejidad cada vez mayor de las redes de interacción entre componentes y a una interdependencia creciente en todas las escalas⁴. Además, las proteínas poseen una capacidad asombrosa para contactar otras proteínas y desarrollar nuevos vínculos moleculares en cuanto se someten a la presión selectiva en un nuevo huésped. Uno puede pasar por alto este hecho y hacer la abstracción de que las unidades biológicas, una vez separadas de su contexto nativo, pierden su capacidad inherente para conectar a otros componentes y por lo tanto se pueden volver a ensamblar siguiendo un plan racional. Pero no es deseable abusar de esta abstracción: necesitamos un marco conceptual más adecuado que nos permita entender cuales son los *bloques mínimos de construcción* de los sistemas biológicos que permitan una re-ingeniería al gusto del usuario⁵.

En mi opinión, hay dos cuestiones independientes que deben abordarse lo antes posible para que la Biolo-

gía Sintética pueda cumplir mínimamente alguna de sus promesas. En primer lugar, las unidades de construcción para la ingeniería biológica, deberían ser *ortogonales* (es decir, con un funcionamiento independiente del contexto). Esto disminuiría la posibilidad de que aparezcan propiedades emergentes inesperadas en los objetos diseñados (el peor escenario para un ingeniero). Hay algunos intentos parciales en esa dirección que implican, por ejemplo, la expansión del código genético mediante la reasignación de tripletes redundantes, o en la creación de códigos de cuatro

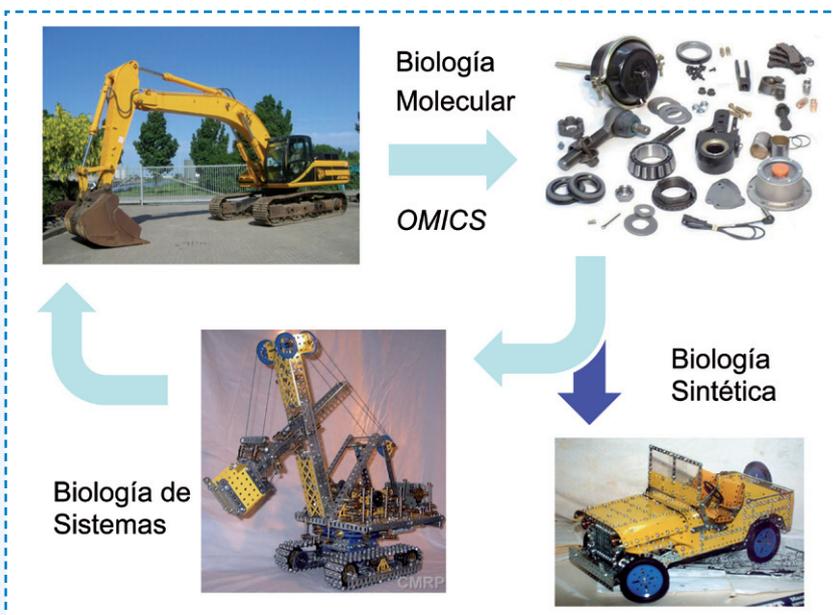
bases en vez de tres. El problema de la sustitución de los aminoácidos naturales en las proteínas por homólogos

no-naturales es todavía una tarea bastante difícil. Otra posibilidad atractiva es el desarrollar ácidos xeno-nucleicos (XNAs) como moléculas portadoras de información alternativas al DNA canónico, ya que estos XNAs serían incapaces de intercambiar material genético con su entorno⁶. Todavía hay un largo camino para transformar los componentes, módulos y sistemas biológicos existentes en equivalentes ortogonales, pero la recompensa en términos de ingeniería será sin duda enorme.

La segunda cuestión es la estandarización y el formato de las partes biológicas y los módulos para facilitar (e incluso disociar) su concepción y su producción de su montaje final. La estandarización de los materiales de la ingeniería industrial globalizada permite que el diseño de un objeto se conciba en Chicago, las piezas se produzcan en Méjico y el montaje final se realice en Malasia para el mercado europeo. Los que hacen el montaje no tienen necesariamente que saber cómo fueron diseñados o producidos esos componentes. ¿Hay algo similar que se pueda hacer con los dispositivos biológicos? Hay muchas maneras

Los beneficios de tener unas normas de montaje para ensamblar segmentos de ADN podrían ser enormes

Fig. 1. La relación entre la Biología de Sistemas y la Biología Sintética puede asimilarse al proceso resumido en la figura. Un sistema complejo puede dividirse en partes y dispositivos más simples a través de la Biología Molecular y las técnicas ómicas. Con esos componentes pueden desarrollarse modelos que capturan la arquitectura interna y las bases del funcionamiento de ese sistema. Pero también pueden reconectarse de forma racional para generar nuevas funcionalidades y propiedades.



de abordar esta cuestión, que dependen del objetivo final. La estandarización de los procedimientos de clonación es fácil, ya que muchas enzimas de restricción producen extremos cohesivos pre-establecidos en los segmentos de ADN que facilitan su posterior ligadura a otras secuencias. Sin embargo esta oportunidad de estandarización se ha venido ignorando desde el comienzo de la ingeniería genética. Cada laboratorio y cada empresa producen vectores con arquitecturas completamente arbitrarias y nombres aún más arbitrarios. Hay una necesidad urgente de contar con algún tipo de estándares y formatos fijos para los vectores y su designación. Para ello bastaría adoptar un conjunto de reglas muy simples sobre las secuencias que están en los puntos de unión entre los elementos funcionales de los vectores correspondientes. La nomenclatura de los plásmidos y otras herramientas genéticas es igualmente caótica. En los comienzos de la era de los plásmidos se propusieron estándares de construcción y denominación, pero fracasaron estrepitosamente. Ni los intereses comerciales ni el espíritu más o menos anárquico de muchos biólogos moleculares (en contraste con la cultura más metódica de ingeniería) parecen ayudar mucho en este sentido. Los beneficios de tener unas normas de montaje para ensamblar segmentos de ADN podrían ser enormes. Nuestro laboratorio ha hecho recientemente una propuesta para la arquitectura de vecto-

res para bacterias Gram-negativas que hemos denominado formato SEVA (*Standard European Vector Architecture*) y que esperamos que sea de gran utilidad⁷. Tal vez el problema del ensamblaje de ADN desaparecerá pronto con el abaratamiento de la síntesis de ADN. ¡Entre tanto la mayoría de los laboratorios de Biología Molecular seguirá empleando procedimientos manuales y caprichosos de cortar y pegar ADN para hacer sus construcciones!

Pero el reto real de la estandarización no es el *montaje de fragmentos de DNA*, sino la *ingeniería de funciones biológicas*. En este aspecto, uno se enfrenta desde el principio con problemas nada triviales, comenzando por el de cuantificar esas funciones y predecir su rendimiento. Un caso claro de esto es la transcripción y su medida. Muchas redes genéticas en Biología Sintética se basan en circuitos transcripcionales en los que los promotores son los dispositivos que computan una o más señales de entrada (*inputs*) y los convierten en señales de salida (*outputs*) con una lógica predeterminada, tal y como lo hacen las puertas lógicas de los ordenadores⁸. Sin embargo la electrónica tiene unidades de medida bien definidas (amperios, ohmios, etc.) y sistemas para cuantificarlas de manera infalible. Los biólogos, por el contrario, utilizan sistemas indicadores (*reporters*) de todo tipo (*lacZ*, *GUS*, *lux*, *GFPs*, *ina*, etc.) junto con procedimientos

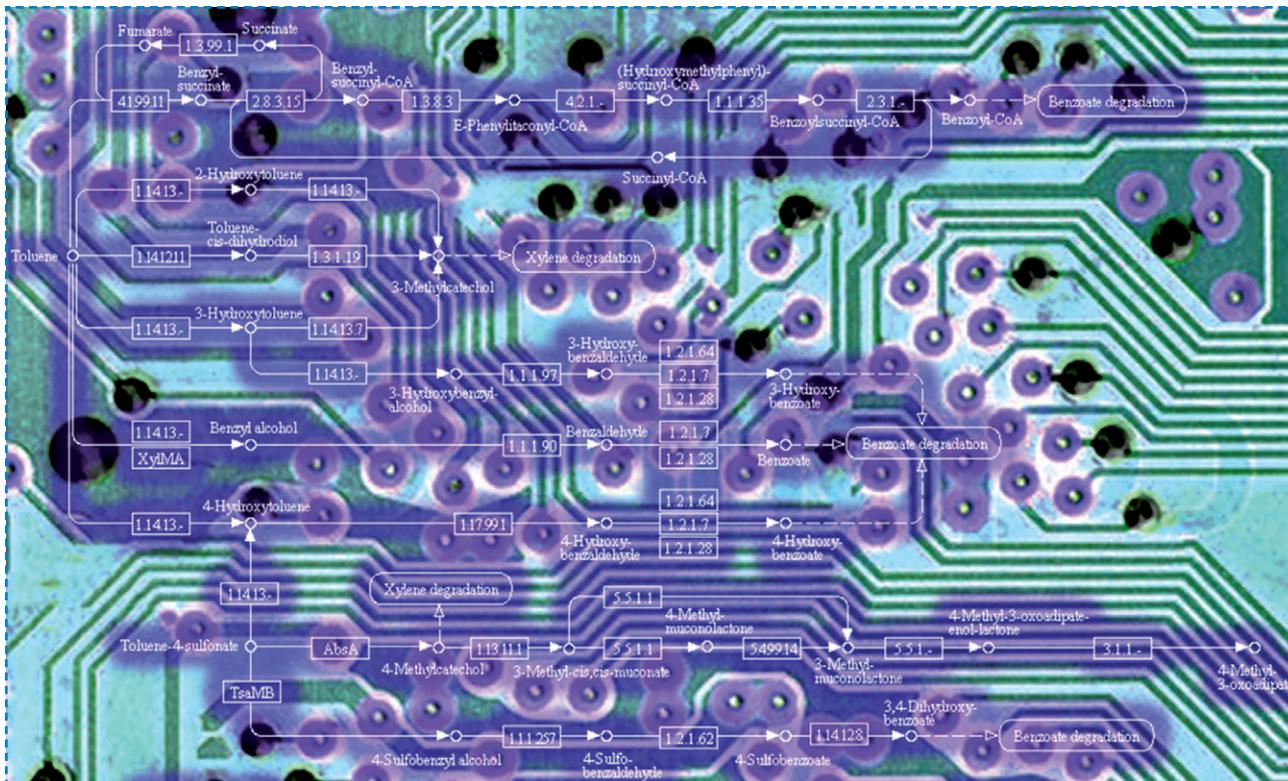
La ortogonalización y la estandarización son los desafíos inmediatos más difíciles para la Biología Sintética

NÚMERO 55

36

SEM@FORO

JUN. 2013



de lo más variado para medirlos⁹. Es muy difícil comparar los datos de potencia de un mismo promotor en dos laboratorios distintos con dos *reporters* distintos. Incluso las míticas unidades Miller de β -galactosidasa tienen el problema de carecer de una referencia interna que haga las medidas inequívocas, por no decir nada de los efectos post-transcripcionales. Pero es que además los trabajos más recientes sobre transcripción en procariontes (usando, por ejemplo, secuenciación masiva de RNA) están revelando rasgos inquietantes sobre cómo las bacterias, aún las más simples, gestionan su maquinaria de expresión *in vivo*. Iniciaciones abortivas, terminaciones prematuras, producciones masivas de RNAs anti-sentido, comportamiento estocástico de la RNA polimerasa, promotores crípticos y un largo etcétera generan toda una colección de transcritos de cada gen, desafiando la noción del operón como sistema codificante de un mRNA poli-cistrónico perfectamente definido. A la vista de esto, ¿se pueden proponer normas y estándares para la transcripción como herramienta de construcción de sistemas biológicos no-naturales pero predecibles? Evidentemente uno tiene primero que acudir a Biología de Sistemas para entender las reglas y luego explotar esas reglas para construir bio-sistemas. Pero, mientras tanto, cuanto más se miran los datos reales, más intentos fallidos vemos de predecir la potencia de los promotores y el grado de dependencia contextual de cualquier módulo transcripcional. ¿Podemos establecer principios fiables y unidades reales de la actividad, teniendo en cuenta que todavía ignoramos algunos hechos fundamentales sobre el control de la transcripción?

Un primer intento en la buena dirección podría ser la estandarización de los métodos de medida de la fuerza de los promotores para darnos una cuantificación operativa de los niveles de expresión de los genes de interés⁹. Pero ¿qué ocurre cuando se pone el mismo promotor al frente de un gen diferente en un contexto fisiológico o genómico distinto? Muchos biólogos de la vieja guardia argumentarían que esto es imposible de predecir. ¿Debemos entonces desistir de hacer intentos para desarrollar promotores estandarizados con una especificación precisa de la función de transferencia entre el *input* y el *output*. Esta es una pregunta abierta que se encuentra en el centro de la Biología Sintética contemporánea. Tal vez podamos volver una vez más a la naturaleza y encontrar en ella respuestas a esta cuestión. Por ejemplo, las ARN polimerasas virales, como la del archi-famoso bacteriófago T7, parecen

haber evolucionado precisamente para funcionar de una manera muy independiente de la maquinaria de expresión del hospedador. Dado que la mayor parte de la diversidad genética de la Biosfera reside en el *viroma* ambiental, bien puede ocurrir que las construcciones sintéticas del futuro se basen en bloques de construcción ortogonales reclutados de bacteriófagos en vez de bacterias de crecimiento rápido. Hay a la vista una agenda de investigación considerable antes de llegar a una conclusión definitiva sobre estas cuestiones. Entre tanto, aunque la ortogonalización y la estandarización son en mi opinión los desafíos inmediatos más difíciles a la Biología Sintética, el campo ya está produciendo dividendos muy interesantes. La primera ola de innovaciones biotecnológicas con un componente de Biología Sintética ya está en camino de la mano de la ingeniería metabólica, los biomateriales y los biocombustibles^{10,11}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Porcar, M. et al. (2011) The ten grand challenges of synthetic life. *Systems and Synthetic Biology* 5, 1-9.
2. Canton, B., Labno, A. & Endy, D. (2008) Refinement and standardization of synthetic biological parts and devices. *Nature Biotechnology* 26, 787-793.
3. de Lorenzo, V. & Danchin, A. (2008) Synthetic biology: discovering new worlds and new words. *EMBO Reports* 9, 822-827.
4. de Lorenzo, V. (2010). Synthetic Biology: something old, something new. *BioEssays* 32, 267-270.
5. de Lorenzo, V. (2011) Beware of metaphors: chasses and orthogonality in synthetic biology. *Bioengineered* 2, 3-7.
6. Schmidt, M. & de Lorenzo, V. (2012) Synthetic constructs in/for the environment: managing the interplay between natural and engineered Biology. *FEBS Letters* 586, 2199-2206.
7. Silva-Rocha, R. et al. (2013) The Standard European Vector Architecture (SEVA): a coherent platform for the analysis and deployment of complex prokaryotic phenotypes. *Nucleic Acids Research* 41, D666-675.
8. Silva-Rocha, R. & de Lorenzo, V. (2008) Mining logic gates in prokaryotic transcriptional regulation networks. *FEBS Letters* 582, 1237-1244.
9. de Las Heras, A., Carreno, C. A., Martinez-Garcia, E. & de Lorenzo, V. (2010) Engineering input/output nodes in prokaryotic regulatory circuits. *FEMS Microbiology Reviews* 34, 842-865.
10. Keasling, J. D. (2012) Synthetic Biology and the development of tools for metabolic engineering. *Metabolic Engineering* 14, 189-195.
11. Zhang, F., Rodríguez, S. & Keasling, J. D. (2011) Metabolic engineering of microbial pathways for advanced biofuels production. *Current Opinion in Biotechnology* 22, 775-783.