

**Justyna Maria Lesiak<sup>1</sup>, Radosław Stachowiak<sup>1\*</sup>, Jacek Bielecki<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii UW  
00-096 Warszawa, ul. Miecznikowa 1

*Wpłynęło we wrześniu 2010 r.*

1. Wstęp. 2. Podstawowe założenia. 3. Syntetyczne cząsteczki i układy biologiczne. 4. BioBrick – podstawowy standard tworzenia syntetycznych *elementów*. 5. Nazewnictwo polskojęzyczne. 6. Narzędzia matematyczno-informatyczne w biologii syntetycznej. 7. Wykorzystanie biologii syntetycznej w biotechnologii i medycynie. 8. Kwestie etyki w biologii syntetycznej. 9. Podsumowanie

### **Synthetic biology as a new application fields of science**

*Abstract:* Synthetic biology is considered one of the most innovative disciplines of recent times. It may revolutionize not only researches on complex biological structures and systems, but also their application in medicine, pharmacology and biotechnological industry. Up to this moment we are able to synthesize large particles of DNA and DNA-analogues or even to use some nucleic acid triples as codons for newly created nucleotides for novel polypeptides and proteins. It is possible to use microorganisms for production of non-existing in nature biomolecules and biomaterials, or to create “thinking” biological systems, that will respond in predictable way to external stimuli. One of the most important features of synthetic biology is standardization. The most common standard is the BioBrick<sup>®</sup> Assembly Standard, developed by Tom Knight’s group. It allows very simple and universal creating of genetic parts, as well as their exchange between laboratories and building up complex expression cassettes from basic parts. Although the BioBrick<sup>®</sup> Parts Registry is quickly expanding there is still a great need of new BioBricks<sup>®</sup>, especially those coding sequences of frequently used genes.

1. Introduction. 2. The basic assumptions. 3. Synthetic molecules and biological systems. 4. BioBrick – the basic standard for the creation of synthetic *elements*. 5. Polish nomenclature. 6. Mathematical and informational tools on synthetic biology. 7. Use of synthetic biology in biotechnology and medicine. 8. Ethics in synthetic biology. 9. Summary

---

**Słowa kluczowe:** BioBrick, biological systems, biomolecules, genetic parts

**Key words:** BioBrick, systemy biologiczne, biocząsteczki, fragmenty genetyczne

---

## **1. Wstęp**

Biologia syntetyczna jest stosunkowo nową dziedziną nauk ścisłych, łączącą biotechnologię z matematyką, informatyką, chemią i fizyką oraz – co najważniejsze – z inżynierią.

Występuje w niej silna tendencja do możliwie najczęstszego wykorzystywania myśli i rozwiązań inżynierskich na wszystkich polach, co przejawia się przede wszystkim we wprowadzaniu standardów, a także w szerokim zastosowaniu modelowania matematycznego przy projektowaniu i tworzeniu układów biologicznych [9], chemicznej syntezie genów i kaset ekspresji, wykorzystywaniu meta serwerów do predykcji struktur i funkcji białek na podstawie różnych danych itp. Jakkolwiek do badań wciąż najchętniej wykorzystuje się mikroorganizmy, coraz częściej podejmowane są próby wprowadzania biologii syntetycznej do manipulacji układami bardziej skomplikowanymi, jak komórki eukariotyczne i organizmy zwierzęce [17, 20] lub roślinne [3, 27].

## **2. Podstawowe założenia**

Biologia syntetyczna opiera się na trzech podstawowych filarach – standaryzacji, umożliwiającej ujednoczone tworzenie i opisywanie elementów biologicznych [4]; rozprzęganiu, czyli przydzielaniu konkretnych obszarów całego badania specjalistom od danych dziedzin, a następnie łączenia wyników w spójną całość [13]; oraz abstrahowaniu [14]. Abstrahowanie polega na rozpatrywaniu problemu na różnych stopniach złożoności. Zaproponowana hierarchia stawia na najniższym szczeblu *DNA*, jako materiał genetyczny, po nim następuje *element* (part), jako cząsteczka o podstawowej funkcji biologicznej – np. gen kodujący dane białko. Kolejny poziom, *urządzenie biologiczne* (device), jest konstruowane z dwóch lub więcej elementów i pełni wyznaczoną funkcję; wiele urządzeń tworzy *układ* (system). Badacze pracujący nad konkretnym poziomem powinni mieć ogólną wiedzę dotyczącą elementów całej hierarchii, nie muszą jednak posiadać dokładnej znajomości funkcjonowania wszystkich jej składowych.

---

\* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii UW, 00-096 Warszawa, ul. Miecznikowa 1; tel. 22 55 41 312; [radeks@biol.uw.edu.pl](mailto:radeks@biol.uw.edu.pl)

Dzięki standaryzacji, rozprzęgnięciu i abstrahowaniu każde zagadnienie, niezależnie od stopnia złożoności, może być dokładnie rozpracowane na wielu płaszczyznach, spełniając tym samym założenia biologii syntetycznej.

### 3. Syntetyczne cząsteczki i układy biologiczne

Możliwość wykorzystywania najnowszych rozwiązań technicznych i osiągnięć z różnych dziedzin nauki powoduje, że biologia syntetyczna tak chętnie korzysta z chemicznie tworzonych cząsteczek biologicznych i manipuluje żywymi organizmami, aby syntetyzowały kwasy nukleinowe i białka zbudowane z niestandardowych elementów. Obecnie możliwa jest synteza wielkocząsteczkowego DNA [16] oraz jego analogów [9, 10, 14, 24, 25], a nawet wykorzystanie niektórych trójek nukleotydowych jako kodonów dla nowo utworzonych aminokwasów [1], z których następnie powstają syntetyczne polipeptydy [21] i białka [12, 22]. Nauka jest w stanie wykorzystać mikroorganizmy do produkcji niewystępujących w przyrodzie biomolekuł i biomateriałów, czy też stworzyć „myślący” układ biologiczny, który odpowiadałby w określony sposób na zadawane mu bodźce [6].

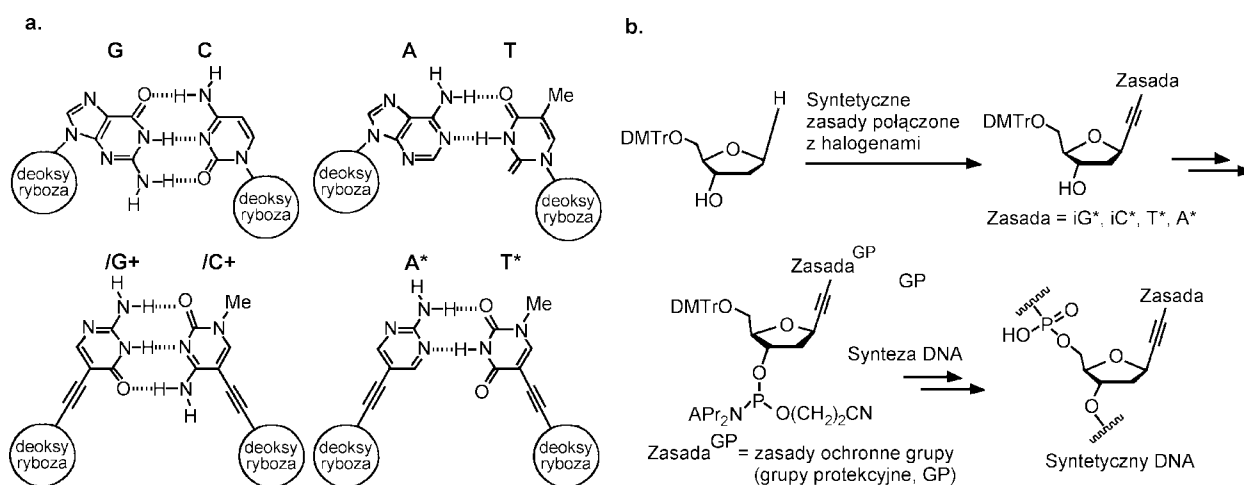
Ostatecznym celem konstruowania i badania syntetycznych cząsteczek i układów biologicznych ma być uzyskanie *ab initio* całych, prawidłowo funkcjonujących komórek, tkanek i organizmów syntetycznych. Choć stworzenie żywej komórki wciąż pozostaje poza zasięgiem możliwości współczesnej nauki, coraz częściej przeprowadzane są doświadczenia, które mają do tego doprowadzić. Znany jest przykład utworzenia pęcherzyka wielkości bakterii, otoczonego błoną lipidową i zdolnego w określonych warunkach do wzrostu i podziału [6, 7]. Wprowadzone do niego polimerazy

syntetyzowały RNA, zaś aparat translacyjny umożliwił syntezę kilku określonych białek, w tym markerowego białka zielonej fluorescencji GFP (Green Fluorescent Protein). Bariera nie do pokonania okazała się jednak nieodnawialność puli polimeraz podczas podziałów pęcherzyka. Zdecydowanie lepiej biologia syntetyczna radzi sobie z mniej złożonymi układami, jakimi są np. wirusy. Wykazano, że zsyntetyzowane cDNA wirusa polio po transkrypcji do RNA może się powielać i podlegać translacji w pozakomórkowej mieszaninie, tworząc *de novo* cząsteczki wirusa. Testy na komórkach ssących i myszach potwierdziły wirulentne właściwości tych cząsteczek, identyczne z właściwościami wirusa polio [5]. Biologia syntetyczna chętniej podejmuje próby poznawania życia na różnych jego poziomach przez podejście „bottom-up” (dół-góra), zakładające tworzenie struktury czy układu *ab initio*, niż „top-down” (góra-dół), czyli przez np. monitorowanie funkcjonowania komórki podczas usuwania kolejnych genów do absolutnego minimum [8, 23, 26].

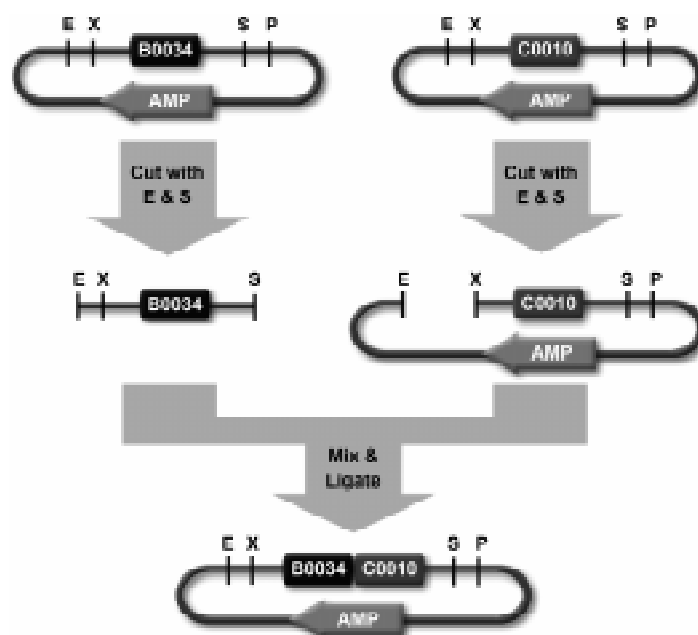
### 4. BioBrick – podstawowy standard tworzenia syntetycznych elementów

Pisząc o biologii syntetycznej nie sposób nie wspomnieć o najpopularniejszym standardzie, stworzonym na potrzeby manipulowania organizmami na poziomie DNA – o BioBrick Assembly Standard [18, 19].

BioBrick (biocegółka) to prosty lub złożony syntetyczny element genetyczny. Posiada prefiks, w obrębie którego znajdują się miejsca rozpoznawane przez enzymy restrykcyjne EcoRI i XbaI oraz sufix z miejscami dla enzymów SpeI i PstI. Taka standaryzacja budowy każdego elementu ułatwia projektowanie klonowań i umożliwia wymianę gotowych modułów genetycznych między laboratoriami. Podstawowym



Rys. 1. Porównanie struktury naturalnych i sztucznych zasad (a) oraz schemat syntezy sztucznego DNA(b).  
(Na podst. Doi i wsp. [10])



Rys. 2. Tworzenie złożonego elementu (part) z dwóch podstawowych – B0034, będącego miejscem wiązania rybosomów (RBS) oraz C0010, będącego przykładowym białkiem (źródło: Parts Registry)

elementem może być gen kodujący białko, promotor, terminator, represor czy miejsce wiązania rybosomu (RBS, ribosome binding site).

Z tych elementów można z nich zbudować dowolnie zaprojektowany ciąg, tworzący np. operon czy kasetę ekspresji genów, a posługując się kilkoma modułami genetycznymi nawet całe sieci regulacyjne. Pomysł stworzenia takich biocegiełek w inżynierskim standardzie powstał pod koniec lat 90. zeszłego wieku w laboratorium Toma Knighta z Massachusetts Institute of Technology. Lista dotychczas zgromadzonych elementów znajduje się na stronie Registry of Standard Biological Parts ([www.partsregistry.org](http://www.partsregistry.org)), utworzonej przez Tima Gardniera i Jamesa Collinsa (MIT).

## 5. Nazewnictwo polskojęzyczne

W polskojęzycznym piśmiennictwie naukowym nie pojawiło się dotychczas słownictwo z zakresu biologii syntetycznej. Z uwagi na postępujące wysycanie terminologii naukowej kalkami z języka angielskiego niezbędne jest wprowadzenie choć częściowo spolszczonych nazw. Odmiana przez przypadki słowa „BioBrick” czy jego dosłowny przekład – „biocegiełka”, powinny zostać zaliczone do slangu laboratoryjnego niż oficjalnego nazewnictwa.

Proponuje się zatem wprowadzenie terminu „syntetyczny element genetyczny” jako odpowiednik słowa „BioBrick part”. Analogicznie jak w języku angielskim można mówić o elementach prostych (basic parts) lub złożonych (composed parts). Element genetyczny znajdujący się na plazmidzie należałoby naz-

wać syntetycznym modulem genetycznym. Nazwy „BioBrick” należy natomiast używać wyłącznie w przypadku opisywania metody łączenia elementów genetycznych, np. „wektor został utworzony w standardzie BioBrick Assembly (BioBrick Assembly Standard)”, lub jako nazwy własnej.

## 6. Narzędzia matematyczno-informatyczne w biologii syntetycznej

Obecność matematyki i informatyki w biologii syntetycznej zaznacza się w szczególności sposobem, ze względu na możliwości, jakie oferują obecnie specjalistyczne programy bioinformatyczne. Wykorzystanie modelowania matematycznego pozwala na mniej lub bardziej dokładne określenie funkcjonowania układów syntetycznych. Im bardziej złożony jest układ, tym trudniej przewidzieć, jak zachowa się w danych warunkach – wpływają na niego różnorodne czynniki zewnętrzne, takie jak niekontrolowane wahania warunków środowiska, w którym badany układ się znajduje czy zmiany w funkcjonowaniu samego organizmu [14]. Na potrzeby modelowania matematycznego powstało wiele specjalistycznych programów, jak MatLab, CellDesigner czy Promot, oferujących najnowocześniejsze rozwiązania informatyczne do tworzenia symulacji komputerowych dla układów o różnym stopniu skomplikowania.

Poza modelowaniem matematycznym chętnie wykorzystywanym w biologii syntetycznej narzędziem są meta serwery, przewidujące struktury drugo-, i trzeciorzędowe białek oraz ich funkcje, najczęściej na podstawie przyrównania wprowadzonych przed badacza

sekwencji aminokwasowych do zaimplementowanych już w bazie serwera danych. I-TASSER jest jednym z najpopularniejszych i najlepszych takich serwerów, wysoko oceniane są także ROSETTA, HMMSTR/ROSETTA czy MODELLER. Do przewidywania struktur drugorzędowych polipeptydów stosuje się programy APSSP, JPred, PhD, PREDATOR czy PSIPred.

## 7. Wykorzystanie biologii syntetycznej w biotechnologii i medycynie

M a r n e r w swojej publikacji o biologii syntetycznej wymienia trzy główne dziedziny, na których rozwój może mieć ona znaczący wpływ: konstrukcja biomolekuł i biomateriałów, synteza niskoprodukcyjna i na skalę masową różnego rodzaju substancji chemicznych, w tym biopaliw, oraz tworzenie „myślących” układów biologicznych, odpowiadających w konkretny, przewidywalny sposób na zmiany zachodzące w środowisku zewnętrznym [22]. Największe nadzieje związane są z produkcją na skalę wielkoprzemysłową biopaliw i związków wykorzystywanych w medycynie przez bakterie [1, 2, 29, 30]. Jako przykłady można podać model bakterii *Escherichia coli* stworzony do badań związanych z produkcją biopaliw [11], drożdże *Saccharomyces cerevisiae* wytwarzające kwas artemisynowy – substrat antybiotyku na wielo-lekooporne szczepy *Plasmodium* wywołujące malarię [28], czy też projekt drużyny z Cambridge na konkurs biologii syntetycznej iGEM 2009, który opierał się na zmodyfikowanych *E. coli* będących barwnymi sensorami skażenia wód jonami metali ciężkich [31].

Biologia syntetyczna wykracza zdecydowanie poza ramy „typowej” biotechnologii. Wykorzystanie chemicznej syntezy genów umożliwi tworzenie od nowa białek nieistniejących w przyrodzie, o cechach dokładnie wybranych przez twórcę; w tym także enzymów posiadających np. określone biokatalityczne właściwości [22]. Grupa E l l i s - B e h n k e stworzyła syntetyczne białko RADDA16-I, które w roztworach soli samo sieciuje formując hydrożel i potrafi tworzyć fibrylarną matriks *in vivo*. Zespół przebadł młode chomiki, którym przecięto nerw wzrokowy, a następnie wstrzyknięto RADDA16-I. Badania wykazały, że nastąpiła regeneracja tkanki nerwowej w poprzek cięcia, łącząc dwa końce nerwu, a także, że funkcje wzrokowe nerwów u chomików zostały częściowo przywrócone [12].

## 8. Kwestie etyki w biologii syntetycznej

Biologia syntetyczna jest dziedziną, której pewne działania mogą wydawać się dwuznaczne z punktu widzenia etyki. Z powodu bardzo szybkiego jej rozwoju

brakuje zapisów prawnych, które regulowałyby sposoby wykorzystania jej osiągnięć czy granice, których nie powinna przekraczać. Definicja *życia* w obliczu biologii syntetycznej nabiera innego znaczenia, niż przyjmuje się ogólnie, jako że możliwe staje się powoli tworzenie go „od podstaw”. Jakkolwiek nie udało się zsyntetyzować *ab initio* nawet komórki minimalnej, nie można zapomnieć, że nawet same próby mogą się niektórym wydawać etycznie dwuznaczne i być poddawane dyskusji.

Najczęściej pojawiające się pytanie jest wątpliwością natury bioetycznej – czy tak dalece posunięte manipulowanie żywymi organizmami nie jest naruszeniem pewnego naturalnego porządku. Na rozwiązanie czekają również problemy związane z tworzeniem organizmów potencjalnie niebezpiecznych dla człowieka, które mogłyby zostać wykorzystane np. przez bioterrorystów. Należy jednak pamiętać, że problemy natury etycznej dotyczące nauk biologicznych zazwyczaj nie ograniczają się do jednej dziedziny tylko, i tak jest też w tym przypadku – dyskutowane zagadnienia bardzo często pokrywają się zakresem z inżynierią genetyczną, biologią molekularną, biotechnologią czy biomedycyną.

## 9. Podsumowanie

Biologia syntetyczna jest uznawana za jedną z najbardziej przyszłościowych dziedzin obecnie rozwijanych w nauce, jako że pociąga za sobą ogromne możliwości; nie tylko w zakresie badań kompleksowych układów biologicznych, ale przede wszystkim w ich praktycznym wykorzystaniu na skalę gospodarczą w medycynie, farmacji i szeroko rozumianym przemysle biotechnologicznym. W 2007 roku powstało czasopismo naukowe *Systems and Synthetic Biology* [33], skupiające artykuły z zakresu biologii syntetycznej, zaś samą dziedzinę wspiera i propaguje w sposób wyjątkowy Massachusetts Institute of Technology (MIT) w Cambridge (MA, USA), który ustanowił międzynarodowy konkurs biologii syntetycznej iGEM (International Genetically Engineered Machine), zrzeszający młodzież akademicką i pracowników naukowych z całego świata [32].

## Piśmiennictwo

1. Atsumi S., Hanai T., Liao J.C.: Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. *Nature*, **7174**, 86–89 (2008)
2. Aibel D., Fussenegger M.: Mammalian synthetic biology – from tools to therapies. *Bioessays*, **32**, 332–345 (2010)
3. Bowen T.A., Zdunek J.K., Medford J.I.: Cultivating plant synthetic biology from systems biology. *New Phytol.* **179**, 583–587 (2008)

4. Canton B., Labno A., Endy D.: Refinement and standardization of synthetic biological parts and devices. *Nat Biotechnol.* **26**, 787–793 (2008)
5. Cello J., Paul A.V., Wimmer E.: Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*, **297**, 1016–1018 (2002)
6. Chang T.M.: Artificial cells containing multienzyme systems. *Methods Enzymol.* **112**, 195–203 (1985)
7. Deamer D.: A giant step towards artificial life? *Trends Biotechnol.* **23**, 336–338 (2005)
8. Delaye L., Moya A.: Evolution of reduced prokaryotic genomes and the minimal cell concept: variations on a theme. *Bioessays*, **32**, 281–287 (2010)
9. Denisov A.Y., Hannoush R.N., Gehring K., Damha M.J.: A novel RNA motif based on the structure of unusually stable 2',5'-linked r(UUCG) loops. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 11525–11531 (2003)
10. Doi Y., Chiba J., Morikawa T., Inouye M.: Artificial DNA made exclusively of nonnatural C-nucleosides with four types of nonnatural bases. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 8762–8768 (2008)
11. Dunlop M.J., Keasling J.D., Mukhopadhyay A.: A model for improving microbial biofuel production using a synthetic feedback loop. *Syst. Synth. Biol.* DOI 10.1007/s11693-010-9052-5 (2010)
12. Ellis-Behnke R.G., Liang Y.X., You S.W., Tay D.K. i wsp.: Nano neuro knitting: peptide nanofiber scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 5054–5059 (2006)
13. Endy D.: Foundations for engineering biology. *Nature*, **7067**, 449–453 (2005)
14. Eschenmoser A.: The TNA-family of nucleic acid systems: properties and prospects. *Orig. Life Evol. Biosph.* **34**, 277–306 (2004)
15. Fu P.: A perspective of synthetic biology: assembling building blocks for novel functions. *Biotechnol. J.* **6**, 690–699 (2006)
16. Gibson D.G., Benders G.A., Andrews-Pfannkoch C. i wsp.: Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. *Science*, **319**, 1215–1220 (2008)
17. Greber D., Fussenegger M.: Mammalian synthetic biology: Engineering of sophisticated gene networks. *J. Biotechnol.* **130**, 329–345 (2007)
18. Knight T., Rettberg R., Chan L., Endy D., Shetty R., Che A.: BBF RFC 9: Idempotent vector design for the standard assembly of Biobricks. MIT Artificial Intelligence Laboratory, MIT Department of Biology, MIT Division of Biological Engineering, 2003
19. Knight T.: Draft Standard for BioBrick Biological Parts, OpenWetWare, 2007
20. Kramer B.P., Fussenegger M.: Hysteresis in a synthetic mammalian gene network. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 9517–9522 (2005)
21. Kwon I., Kirshenbaum K., Tirrell D.A.: Breaking the degeneracy of the genetic code. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 7512–7513 (2003)
22. Marner W.D. 2nd.: Practical application of synthetic biology principles. *Biotechnol. J.* **10**, 1406–1419 (2009)
23. Moya A., Gil R., Latorre A., Peretó J., Pilar Garcillán-Barcia M., de la Cruz F.: Toward minimal bacterial cells: evolution vs. design. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 225–235 (2009)
24. Nielsen K.E., Rasmussen J., Kumar R., Wengel J., Jacobsen J.P., Petersen M.: NMR studies of fully modified locked nucleic acid (LNA) hybrids: solution structure of an LNA: RNA hybrid and characterization of an LNA: DNA hybrid. *Bioconjug. Chem.* **15**, 449–457 (2004)
25. Nielsen P.E.: Peptide nucleic acids and the origin of life. *Chem. Biodiversity*, **4**, 1996–2002 (2007)
26. Pósfai G., Plunkett G. 3rd, Fehér T., Frisch D., Keil G.M., Umenhoffer K., Kolisnychenko V., Stahl B., Sharma S.S., de Arruda M., Burland V., Harcum S.W., Blattner F.R.: Emergent properties of reduced-genome *Escherichia coli*. *Science*, **312**, 1044–1046 (2006)
27. Purnick P.E., Weiss R.: The second wave of synthetic biology: From modules to systems. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **10**, 410–422 (2009)
28. Ro D.K., Paradise E.M., Ouellet M., Fisher K.J., Newman K.L., Ndungu J.M., Ho K.A., Eachus R.A., Ham T.S., Kirby J., Chang M.C., Withers S.T., Shiba Y., Sarpong R., Keasling J.D.: Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature*, **7086**, 940–943 (2006)
29. Savage D.F., Way J., Silver P.A.: Defossilizing fuel: how synthetic biology can transform biofuel production. *ACS Chem. Biol.* **3**, 13–16 (2008)
30. Wilkinson B., Micklefield J.: Mining and engineering natural-product biosynthetic pathways. *Nat. Chem. Biol.* **7**, 379–86 (2007)
31. <http://2009.igem.org/Team:Cambridge>
32. <http://2010.igem.org>
33. <http://www.springer.com/biomed/journal/11693>