

Współczesne wyzwania nauk przyrodniczych

Inżynierowie życia



ANDRZEJ B. LEGOCKI

Instytut Chemii Bioorganicznej, Poznań
Polska Akademia Nauk
legocki@ibch.poznan.pl

Prof. dr hab. Andrzej B. Legocki jest przewodniczącym Wydziału Nauk Biologicznych PAN i twórcą jednego z najsilniejszych w Polsce ośrodków biologii strukturalnej i molekularnej zajmującego się rozwiązaniem struktur przestrzennych białek i kwasów nukleinowych oraz rozpoznawaniem ich funkcji

Dzięki połączeniu zdobyczy wielkich dziedzin nauki – biologii molekularnej i chemii organicznej stosowanej – możemy podejmować wyzwania dotyczące ochrony zdrowia i zachowania środowiska naturalnego

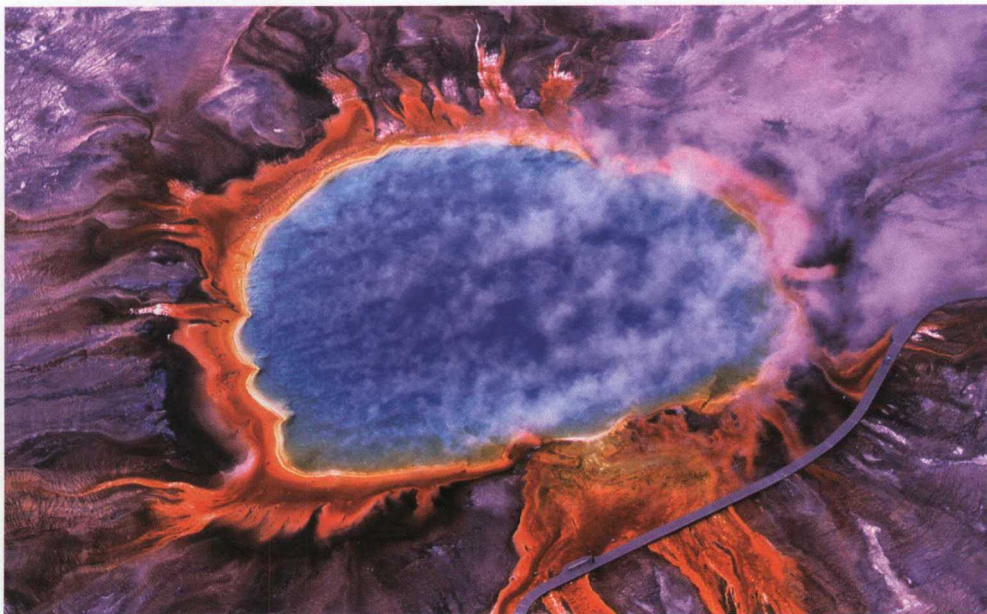
W drugiej połowie XX wieku w naukach przyrodniczych dominowały podejścia redukcjonistyczne. Kulminacją było pojawienie się genomiki, nowego działu biologii molekularnej zajmującego się architekturą genomów organizmów żywych. Spektakularne osiągnięcia genomiki, których ukoronowaniem było zsekwencjonowanie w 2003 roku genomu ludzkiego, stały się podstawą do rozwinięcia zaawansowanych technologii analizowania całych populacji białek (proteomika), metabolitów komórkowych (metabolomika), a także struktur przestrzennych białek i kwasów nukleinowych.

W bazach danych zapisanych jest obecnie 840 pełnych sekwencji genomów mikroorganizmów, a dalszych 1500 jest opracowywanych. Dostępne są sekwencje 5 milionów genów pochodzących od 600 różnych gatunków. Sam zapis molekularny nie wystarcza jednak, aby wyjaśnić pojawienie się życia na Ziemi. Wiele kluczowych dylematów (np. przypadek czy konieczność?) wchodzi w obszary rozważań filozoficznych.

Od systemowej do syntetycznej

W miarę gromadzenia danych molekularnych zaczęły rozwijać się zintegrowane kierunki badawcze – podejmowano próby uogólnienia zjawisk przyrodniczych. Pojawiła się biologia systemów opisująca naturalne systemy biologiczne – od sieci wewnątrzkomórkowych pojedynczych organizmów do całych grup współżyjących ze sobą genetycznie odległych gatunków. Dzięki wprowadzeniu do tej dziedziny zdobyczy chemii organicznej powstał nowy kierunek przyrodniczy – biologia syntetyczna. Jej celem jest konstruowanie cząsteczek i instalacji biologicznych niewystępujących w przyrodzie i wyposażonych w z góry określone i zwykle użyteczne cechy.

W gorących źródłach Yellowstone w warunkach zbliżonych do tych, które panowały na Ziemi wtedy, gdy formowało się na niej życie, odnaleziono wiele zadziwiających mikroorganizmów. Ze względów poznawczych i technologicznych mogą się one bardzo przydać naukowcom



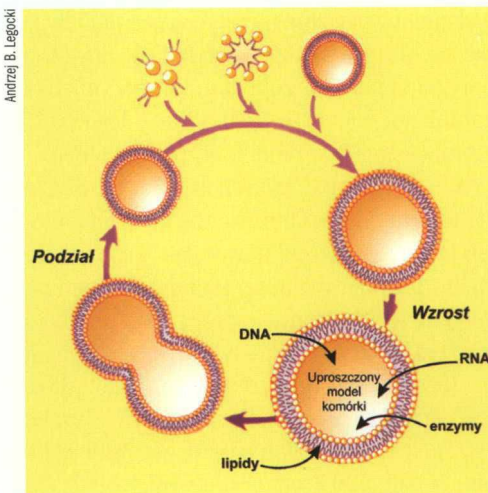
Yellowstone National Park

Chodzi nie tyle o kopiowanie czy usprawnianie już istniejących systemów naturalnych, ile o tworzenie nowych, nieistniejących w przyrodzie, prostszych układów biologicznych do celów technologicznych i poznawczych. Można się spodziewać, że dziedzina ta odegra w najbliższych dekadach kluczową rolę w rozwoju biomedycyny, przemysłu farmaceutycznego, w ochronie środowiska, a także w zmniejszaniu naszej zależności od konwencjonalnych zasobów surowcowych.

Komórka minimalna

Najdoskonalszymi reaktorami do wytwarzania wszelkich produktów organicznych są żywe komórki. Komórki roślinne potrafią wytwarzać 200 tysięcy różnego typu metabolitów! To wynik ewolucyjnego przystosowania roślin trwale przypisanych do jednego miejsca, więc często eksponowanych na trudne warunki środowiska. Rośliny mają duże genomy, w których zakodowane są m.in. mechanizmy obronne i adaptacyjne uruchamiane w przypadku zagrożeń czy bodźców stresowych. Znacznie mniejsze genomy mają mikroorganizmy – bakterie i wirusy. Jednym z pierwszych problemów praktycznych, którymi zajęła się biologia syntetyczna, było stworzenie prostych, syntetycznych lub półsyntetycznych układów komórkowych. Punktem wyjścia była koncepcja „komórki minimalnej”. Zdefiniowanie takiej komórki, ściślej zaś, jej genomu, zdawało się przydatne zarówno do celów poznawczych, jak i do wdrożenia zastosowań technologicznych. Jakiej wielkości miałyby być zestaw genów umożliwiający najprostsze funkcje życiowe, na które składają się: zdolność do samoodtworzenia się, samodzielny metabolizm oraz utrzymywanie stabilności? Organizmy o najmniejszych znanych genomach to ludzki pasożyt *Mycoplasma genitalium* (540 tysięcy nukleotydów kodujących 517 genów) i symbiotyczna bakteria mszyc – *Buchnera aphidicola* (450 tysięcy nukleotydów, 450 genów). Genom bakterii modelowej *Escherichia coli* ma dla porównania wielkość 4,6 miliona nukleotydów i koduje 4300 genów, genom człowieka zaś kodujący 25 tysięcy genów struktury liczy 3,2 miliarda nukleotydów.

Idea komórki minimalnej uruchomiła niezwykle interesujący nurt dociekań o ogólniejszym znaczeniu, który nawiązuje do najwcześniejszych stadiów ewolucji życia na



Uproszczony schemat wzrostu i podziału liposomowych struktur pęcherzykowatych jako modeli pierwotnych błon komórkowych (wg Szostak, J.W. et al., 2001)

Ziemi. Można przyjąć, że przebieg zdarzeń prebiotycznych zachodził według znacznie prostszych scenariuszy niż współczesny cykl powstania komórki, choćby dlatego że uczestniczyła w nich znacznie mniejsza liczba genów i komponentów molekularnych. W tym sensie tworzone prostsze systemy komórkowe można traktować jako układy modelowe wczesnych faz rozwoju życia na naszej planecie. Do ich tworzenia podchodzi się w dwojaki sposób. Podejście redukcjonistyczne polega na zmniejszaniu liczby komponentów współczesnej komórki metodami inżynierii genetycznej. Alternatywą jest podejście ewolucyjne wykorzystujące powiększanie stopnia złożoności struktur komórkowych, poczynając od najprostszych. Większość monomerów wchodzących w skład makrocząsteczek biologicznych może tworzyć się z prostych związków nieorganicznych w wyniku reakcji chemicznych. Być może w taki właśnie sposób, wkrótce po uformowaniu się naszej Ziemi, został zapoczątkowany łańcuch zdarzeń, które doprowadziły do powstania życia. Szacuje się, że dla utrzymania funkcji życiowych bakterii wystarczy nie więcej niż 250–350 genów.

Ostatni wspólny przodek

Poznanie organizacji genomów archaicznych sprzed 3,5 miliarda lat może przybliżyć tajemnicę złożoności i niezwykłej różnorodności przyrody ożywionej. Pojęcie „ostatniego wspólnego przodka” LUCA (*Last Universal Common Ancestor*) wiąże się z Darwinowską koncepcją pochodzenia wszystkich żywych gatunków od jednego wspólnego przodka. Jednak próba odtworzenia genomu LUCA jest

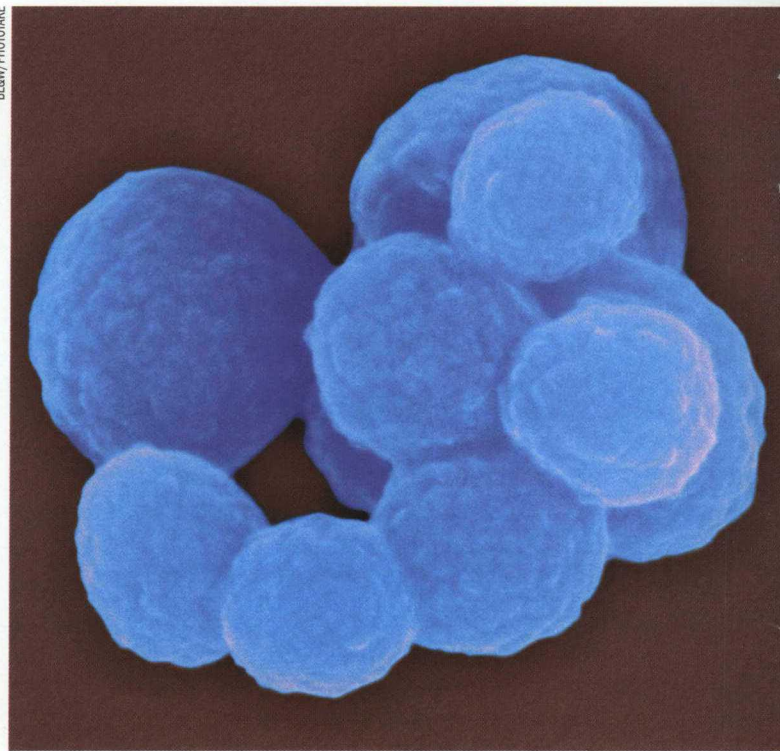
Współczesne wyzwania nauk przyrodniczych

zadaniem wyłącznie teoretycznym, ponieważ nie da się prześledzić wszystkich zawiłości horizontalnego przepływu genów między gatunkami oraz przebiegu mutacji losowych, które wystąpiły w długim okresie ewolucji.

W ciągu kilku ostatnich lat na drodze syntez chemicznych udało się otrzymać długie łańcuchy DNA, a nawet całe genomy. To wielki przełom w nauce. Pierwszym pełnym genomem otrzymanym drogą syntezy chemicznej w 2004 roku był DNA bakteriofaga Φ X174 o długości 5386 nukleotydów. Pięć lat później ta sama pracownia Craiga J. Ventera z USA doniosła o zsyntetyzowaniu ponad 100-krotnie dłuższej cząsteczki – genomu bakteryjnego *Mycoplasma genitalium* o długości 582 970 nukleotydów. Synteza polegała na otrzymaniu i następnie połączeniu 101 fragmentów o długości 5–7 tysięcy nukleotydów. Opracowano specjalną technologię umieszczenia długich łańcuchów DNA w sztucznym chromosomie drożdży *S. cerevisiae*. Tę syntezę uznano za obiecujące osiągnięcie na drodze do skonstruowania w laboratorium układu komórkowego ze sztucznie wytworzonych elementów.

Bakterie z głębin

W poszukiwaniu organizmów, które mogły zachować do naszych czasów użyteczne i niespotykane gdzie indziej właściwości, sięgnięto do głębin oceanów. W warunkach zbliżonych do tych, jakie panowały na Ziemi wtedy, kiedy formowały się na niej załążki życia, wykryto wiele zadziwiających mikroorganizmów. Na przykład bakterie autotroficzne (wykorzystujące do podtrzymania funkcji życiowych proste związki nieorganiczne) *Methanococcus jannaschii* o genomie wielkości 1,7 miliona nukleotydów, kodującym ok. 1800 genów. Gatunek ten znaleziono na głębokości 2600 m, gdzie ciśnienie wynosi 200 atmosfer, w paśmie wulkanów wschodniego Pacyfiku. Bakterie te potrafią przetwarzać wodór i dwutlenek węgla na gaz energetyczny – metan. Odkrycie tych właściwości bakterii skłoniło naukowców do podjęcia prób wytworzenia tzw. paliw IV generacji z wykorzystaniem CO_2 , który jest głównym sprawcą efektu szklarniowego. Autorzy pomysłu (z Instytutu C.J. Ventera) zapowiedzieli przygotowanie bakterii do celów technologicznych już w końcu roku 2010! Jeśli dotrzymają obietnicy, a wytwarzanie metanu z dwutlenku węgla okaże się opłacalne, roz-



pocznie się nowa era biotechnologii ekologicznej. Zapotrzebowanie jest ogromne.

Inżynieria nowych białek

Procesy życiowe opierają się na stosunkowo niewielkiej liczbie struktur białkowych stanowiących małą część teoretycznie możliwych kombinacji pomiędzy 20 aminokwasami. Doświadczenia pokazały, że możliwe jest tworzenie aktywnych cząsteczek białka zbudowanych z 9-aminokwasowego alfabetu. Nie znamy odpowiedzi na pytanie, co zacydowało, że w ewolucji pojawiły się akurat te a nie inne struktury białkowe. Mógł to być przypadek lub właśnie uprzywilejowane właściwości termodynamiczne niektórych struktur, np. większa trwałość w określonym środowisku. Nowe kierunki inżynierii białkowej oparte na symulacjach komputerowych wyszukują modele białek zbudowanych z sekwencji aminokwasowych niewystępujących w przyrodzie. W literaturze przyjęła się nawet termin „białka nigdy niepowstałe” (*never born proteins*). Kilka powołanych specjalnie w tym celu konsorcjów badawczych prowadzi prace nad tą grupą białek. Podejmowane są też prace nad zwiększeniem trwałości niektórych fizjologicznie ważnych białek (np. surowicy) poprzez wprowadzenie do cząsteczek białkowych aminokwasów niewystępujących

Jaka powinna być „komórka minimalna”? Ile musi mieć genów, by funkcjonować? *Mycoplasma genitalium* jest organizmem o jednym z najmniejszych genomów – ma 540 tysięcy nukleotydów i 517 genów

w białkach naturalnych dla uodpornienia ich na degradację chemiczną w komórce. Projektowane są także „biocząsteczkowe czujniki” do monitorowania naturalnych szlaków metabolicznych, które mogą być wykorzystywane w diagnostyce nowotworów.

Sztuczne membrany

By stworzyć minimalną komórkę, w której wewnątrz umieszczone byłyby otrzymane laboratoryjnie komponenty biologiczne, wykorzystuje się właściwości ciałek liposomowych mogących pełnić funkcję membran biologicznych. Pierwszym sukcesem była przeprowadzona w odpowiednio spreparowanych liposomach replikacja bakteriofaga Q β RNA. Ciałka tłuszczowe (lipidowe) wykazują naturalną tendencję do pewnego typu samoorganizacji – oplaszczania niektórych struktur białkowych hydrofobowymi strukturami kwasów tłuszczowych. Funkcjonalna błona komórkowa powinna być też przepuszczalna dla niskocząsteczkowych substratów oraz podatna na wzrost. Stworzenie sztucznych błon komórkowych, które byłyby w stanie zapewnić wymianę substratów i komponentów komórkowych, jest bez wątpienia trudnym wyzwaniem.

Dla zdrowia i środowiska

Wśród wielu programów biologii syntetycznej są takie, których celem są konkretne produkty biotechnologiczne. Na przykład projekt Unii Europejskiej „Programowana kataliza bakteryjna *à la carte*” jest poświęcony ochronie środowiska. Nacisk w tych badaniach położony jest na otrzymanie komórek bakteryjnych o genomach znacząco zredukowanych przy zachowanej ich zdolności do degradacji związków chloroaromatycznych.

Inna grupa ważnych projektów biologii syntetycznej dotyczy takiego zmieniania szlaków metabolicznych w organizmach modelowych, by wytwarzały one poszukiwane biopreparaty. Doskonałym przykładem są próby uruchomienia w komórkach drożdży szlaku biosyntezy kwasu artemizynowego – prekursora ważnego leku antymalarycznego – artemizyny, która w przyrodzie występuje w niewielkich ilościach w roślinie bylicy piołunie (*Artemisia absinthium*).

Malaria (zimnica) towarzysząca człowiekowi od czasu hominidów zbiera dziś większe żniwo niż kiedykolwiek. Co roku zapada na

nią blisko pół miliarda ludzi. Wywołuje ją kilka gatunków pierwotniaków (zarodźców), które uodporniają się na leki chininopodobne, więc konieczne jest opracowanie nowego leku. Do wytworzenia artemizyny wybrano komórki drożdży, do których genomu wprowadzonych ma być 12 sztucznych genów koniecznych do przeprogramowania przemian komórkowych związanych z tzw. szlakiem mewalonowym.

Wprowadzenie osiągnięć nowej biologii do praktyki jest wypadkową wielu czynników. Niezwykle ważnym jest akceptacja społeczna. Przykładem nieudanej próby jest historia ryżu transgenicznego *Golden Rice* wytwarzającego β -karoten (prowitaminę A), ważny suplement diety, szczególnie cenny dla uboższej ludności w rejonach dotkniętych klęskami głodu i niedożywienia. Zmodyfikowane linie takiego ryżu uzyskano w roku 2000. Mimo nagłośnienia osiągnięcia i dużego zapotrzebowania na „wzbożony” ryż dotychczas nie udało się wprowadzić go do powszechnej kultury rolnej.

Rozwaga uczonych

Rozwój biologii syntetycznej może przynieść ogromne korzyści, jednak jak to zwykle bywa z postępem, niesie on ze sobą pewne zagrożenia. Nauka powinna udzielić możliwie jasnych odpowiedzi na pytania, które pojawiły się wraz z biologią syntetyczną. Czy manipulowanie syntetycznymi genomami i półsyntetycznymi układami biologicznymi niesie więcej zagrożeń niż prace z genomami i układami naturalnego pochodzenia? Czy wprowadzenie do biotechnologii syntetycznych genomów i replikujących łańcuchów DNA może być niebezpieczne? Czy technologia syntezy chemicznej genomów może przyczynić się do odtworzenia groźnych patogenów, które zostały już wyeliminowane ze środowiska?

Znalezienie przekonujących odpowiedzi na wszystkie pojawiające się wątpliwości nie zawsze będzie możliwe, a w każdym razie nieprędko. Rozwaga i odpowiedzialność, które powinny być wpisane w świadomość każdego człowieka nauki, są niezwykle ważnymi, jeśli nie zasadniczymi, przykazaniami etosu twórczości i poznania. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

Legocki A.B. (2009). Naukowe definicje życia. *Nauka*, 1, 123–133.

Szostak J.W., Bartel D.P., Luisi L. (2001). Synthesizing life. *Nature*, 409, 387–390.