



La nueva frontera de la biotecnología: genomas sintéticos y microorganismos no naturales

Victor de Lorenzo

A pesar de su creciente polisemia el término biología sintética se relaciona principalmente con la ingeniería racional de objetos biológicos (vivos o no), con la intencionalidad de crear funciones y propiedades no existentes como tal en la naturaleza. En ese sentido, el componente de ingeniería de la biología sintética pasa de ser una metáfora (como en la ingeniería genética) a ser una verdadera metodología. Pero hay otras disciplinas y comunidades ya existentes que reclaman su propio territorio dentro del campo. Este artículo analiza la relación entre la biología sintética y la ingeniería genética desde la perspectiva de los riesgos—reales o imaginarios— asociados a la adopción de una u otra en proyectos biotecnológicos.

El (re)nacimiento de la biología sintética y la posibilidad inmediata de diseñar cromosomas *a la carta* a cargo de microorganismos no enteramente naturales y con genomas producidos químicamente reaviva, en cierta medida, los debates que han tenido lugar desde los años setenta hasta finales de los noventa acerca del impacto ambiental de las tecnologías del DNA recombinante. Un tema actual de gran preocupación sería qué riesgos implican para la salud y el medio ambiente, qué podría ocurrir mediante la liberación accidental o consciente de los microbios que llevan genomas sintéticos. Este artículo aboga por enmarcar esta cuestión en la ya extensa historia y la riqueza de datos sobre el diseño, ejecución y estudios de riesgo realizados en Estados Unidos y la Unión Europea sobre los microorganismos modificados genéticamente (GEMS) destinados a la biorremediación *in situ* en condiciones no contenidas.

El comportamiento de agentes de ese tipo proporciona unos antecedentes adecuados

que permiten hacer frente a las incertidumbres planteadas por los nuevos microbios sintéticos que están a la vista. Sobre esta base, es poco probable que nos enfrentemos, al menos en los próximos 10-15 años, a nuevas preguntas sobre seguridad que no hayan sido ya tratadas antes, con respecto a las tecnologías tradicionales sobre DNA recombinante y su uso en ingeniería genética. La sorprendente homeostasis de las comunidades microbianas naturales da a las bacterias modificadas o totalmente artificiales pocas posibilidades de prosperar como entidades libres en los ecosistemas naturales y juegan a nuestro favor en términos de contrarrestar y contener posibles riesgos. Además, el mayor peligro encarnado por los microorganismos no naturales (el que pudiesen evolucionar de forma impredecible) sería mucho más fácil de manejar que el de muchos microbios naturales. En este sentido, los genomas sintéticos y los microorganismos no naturales no solo son similares a las bacterias recombinantes, sino que además encarnan el auténtico (no metafórico) concepto de la ingeniería genética de los sistemas biológicos.

► De lo natural a lo sintético

Los límites entre la biología sintética y la ingeniería genética varían considerablemente dependiendo de las definiciones más inclusivas o exclusivas que se dan a tales términos.¹ Sin embargo, esta frontera es una importante referencia para la evaluación del riesgo, como la que está en juego en identificar nuevos factores y riesgos relacionados con la biología sintética que no se han reconocido en el pasado. Parte del problema deriva de un uso incorrecto del lenguaje y de la frecuente confusión entre la realidad y las metáforas empleadas para describir esta realidad.² El término *ingeniería genética* es una fuerte metáfora que evoca la acción de unir componentes separados con ciertas propiedades siguiendo un plan racional, pero esta vez utilizando genes como componentes básicos del sistema. En realidad, el tipo de ingeniería genética iniciada por Stanley Cohen y Herbert Boyer en los años setenta era, sobre todo y durante mucho tiempo (hasta que se popularizaron y simplificaron las técnicas de secuenciación del DNA), una tarea de

«ensayo-y-error», con un diseño muy poco racional. Aun cuando las secuencias del DNA se volvieron disponibles masivamente, tal manipulación genética dependía en gran medida de las habilidades del operador y estaban sujetas a una considerable incertidumbre.

La biología sintética (por lo menos una de sus ramas) rescata el programa de diseño de la primera ingeniería genética dotando a este campo con una metodología de ingeniería *de verdad* más que de usar el término como una analogía. Por otra parte, la biología sintética expande los tipos de elementos que se pueden incorporar en la ingeniería de sistemas biológicos mucho más allá del repertorio de funciones y secuencias disponibles en el mundo ordinario.^{1,3,4} Sin embargo, la transición entre los organismos vivos naturales y las entidades crecientemente sintéticas es más un proceso continuo de tecnologías, conceptos y objetos que un proceso a saltos con algunas lagunas intermedias. La biología sintética, pues, toma cuerpo y recapitula gran parte de lo que se ha hecho en el pasado y todavía se hace en el marco de la ingeniería genética, aunque luego siga distintas direcciones. Es evidente que hay una superposición amplia entre la vieja y la nueva disciplina.

Los materiales biológicos que se pueden producir con lo que consideramos ahora los enfoques sintéticos pueden ser clasificados en ocho etapas (fig. 1). En el primer caso tenemos elementos naturales aislados y microorganismos naturales, muchos de los cuales se han utilizado desde la era precientífica y siguen siendo utilizados hasta hoy en día (por ejemplo, en las fermentaciones). Como resultado de su coevolución intrínseca con el resto del mundo biológico (tipo 1), los microbios tienen una alta conectividad y la capacidad de interactuar con su entorno físico-químico; esto los hace los más útiles para ciertos fines, pero también los más peligrosos e impredecibles para otros. Antes de la llegada de la secuenciación rápida y barata, muchos de estos microorganismos eran en su mayoría *cajas negras*, donde ciertos genes de interés se expresaban dentro del contexto de un sistema enorme e impenetrable. Los genomas de un gran número de estas cepas, que fueron seleccionados sobre la base de ensayo-y-error, revelaron características inesperadas muchos años después.

Un ejemplo revelador es la llamada cepa de *Escherichia coli* Nissle 1917.⁸ Este microorganismo fue aislado de un soldado al que se encontró que no sufría diarreas en las trincheras de la Primera Guerra

Mundial. Análisis posteriores revelaron que la cepa era un exitoso colonizador del ser humano y un agente de gran utilidad para el tratamiento de diversos trastornos intestinales. Desde los años treinta, la cepa ha sido desarrollada en comprimidos a la venta en las farmacias alemanas sin receta, con el nombre comercial de Mutaflor. El genoma de esta cepa de *E. coli* fue secuenciado en 2004 y su cromosoma parece tener un gran número de *islas genómicas* que codifican un gran repertorio de funciones conocidas y desconocidas. Ninguna autoridad sanitaria habría concedido el permiso hoy para la comercialización de bacterias como un remedio natural para problemas intestinales. El caso del Mutaflor es un buen ejemplo de los beneficios que un simple enfoque de ensayo-y-error con microorganismos naturales pueden llegar a darse incluso antes de cualquier conocimiento genómico.

► Hacia los organismos no naturales

En un primer paso en la dirección de la biología sintética (fig. 1) nos encontramos con mutantes, espontáneos o inducidos, derivados de aislados naturales. Estas mutaciones pueden aparecer de forma natural o se pueden incrementar artificialmente con tratamientos que causan lesiones en el DNA. En un proceso más elaborado, pueden aparecer como resultado de las inserciones de transposones o como reordenamientos genómicos deliberados. Muchos mutantes con propiedades extraordinarias fueron aislados de esta manera mucho antes de la era de la biología molecular, incluso antes de cualquier conocimiento sobre el DNA. Ya en 1942, los científicos trataron de aumentar la cantidad de penicilina producida por *Penicillium chrysogenum*, irradiándola con rayos X y con luz ultravioleta a fin de inducir mutaciones en esta especie. Esto condujo a un mutante que producía 1000 veces más cantidad de penicilina que el cultivo original de Fleming. Tal mutagénesis en la era pre-DNA fue fundamental para producir suficiente cantidad de antibiótico para salvar muchas vidas en la Segunda Guerra Mundial. La mutagénesis de transposición fue empleada de forma masiva en los años setenta, antes de la aparición de la tecnología del DNA recombinante, para generar variantes de cepas (por ejemplo, las cepas atenuadas) para muchas aplicaciones relacionadas con la biotecnología y la salud. Hay que

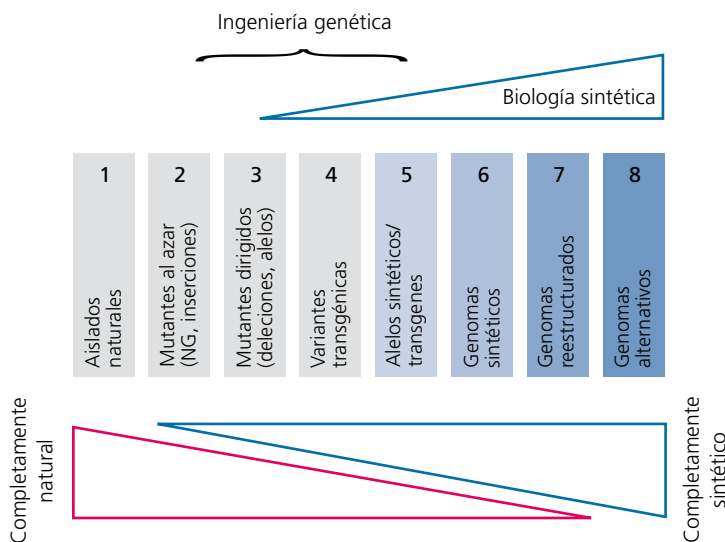


Figura 1. Las ocho etapas de la transición entre los organismos de origen natural y los microbios completamente sintéticos

Es destacable el considerable solapamiento entre la tradicional ingeniería genética y la biología sintética. Las siglas SEM (por Synthetic and/or Engineered Microorganisms) designan la totalidad de microorganismos manipulados genéticamente (etapas 5-7). El paso 8 está relacionado con los sistemas vivos artificiales y las formas de vida ortogonales.

NG: nitrosoguanidina.

Fuente: Figura recreada de *Bioessays* 2010; 32: 926-31.

tener en cuenta que, hasta el momento, la seguridad del uso de estos microorganismos estaba en absoluto en cuestión, aunque hacia mediados de los setenta hubo un buen número de cepas mutantes que aunque podrían haber emergido por sí mismas, podrían calificarse como *menos naturales* debido a la intervención humana.

El desarrollo de la tecnología de clonación de genes por Cohen y Boyer a comienzos de la década de 1970 constituyó una revolución para todas las ciencias biológicas, desarrolló nuevas industrias basadas en estas ciencias, y marcó el comienzo de la biotecnología moderna. Los métodos del DNA recombinante crecieron como una práctica habitual durante la siguiente década logrando dos avances importantes y simultáneos en la síntesis de materiales biológicos. Uno de ellos fue la clonación de segmentos del DNA y la implantación transgénica, lo que permitió transferir fácilmente genes individuales de unos organismos a otros y expresar su contenido en hospedadores heterólogos. El segundo fue la mutagénesis dirigida de genes, bien por delección o por sustitución alélica. Este período fue testigo de la archifamosa Conferencia de Asilomar (1975) y sus, al final, fracasados intentos de autorregulación. ¿Por qué las

recomendaciones de Asilomar no tuvieron éxito? Aunque la reunión puso una considerable atención en materia de seguridad, los años siguientes experimentaron una creciente indiferencia sobre el tema. Una razón probable fue la falta de cualquier accidente con esta tecnología que pudiera dar fuelle a la tremenda hostilidad que apareció durante ese tiempo por parte de algunos grupos que ganaron cierta audiencia pública.

Personas como Jeremy Rifkin se convirtieron en verdaderas celebridades durante ese período debido a su demagógica oposición a cualquier cosa que implicara ingeniería genética. Sin embargo, no ha habido ningún accidente grave que pudiera estar directamente vinculado a la liberación accidental o deliberada de microorganismos modificados. Esto atenúa las amenazas de peligros inmediatos, mientras se plantea las cuestiones sobre lo que hay que hacer para evitarlos en el futuro, en caso de que tales peligros desconocidos llegaran a materializarse. La investigación sobre la implantación y aceptación de las nuevas tecnologías transformativas con un riesgo potencial (por ejemplo, el automóvil o la aviación, por no mencionar la medicina) nos muestran sin lugar a dudas que los accidentes ayudan más que cualquier otra circuns-

tancia a mejorar la seguridad en la siguiente etapa de la misma tecnología (fig. 2).

En realidad, después de 40 años de ingeniería genética y de la masiva producción de bacterias recombinantes sería ingenuo pensar que nunca hayan escapado del laboratorio. Esto ha ocurrido a menudo, y de forma masiva. Incluso con métodos eficientes como el autoclave u otros procedimientos seguros al 99,999 %, una buena cantidad de materiales recombinante (es decir, DNA de bacterias vivas y funcionales) han encontrado su camino en el medio ambiente a través de los sumideros y los residuos no tratados de numerosos laboratorios en todo el mundo. Que ninguno de esos microbios modificados haya sido relacionado con alguna enfermedad o haya causado algún problema detectable es un indicador del insignificante riesgo que supone. Mientras tanto, el mundo ha sido testigo de la aparición de numerosas nuevas enfermedades, plagas y desastres ambientales, pero ninguno de ellos ha tenido relación alguna con la ingeniería genética. Incluso un episodio muy publicitado de uso de patógenos bacterianos (*Bacillus anthracis*) con fines perversos, se llevó a cabo con cepas de origen natural. Tengamos en cuenta que hasta este momento ningún aspecto sintético formó parte del debate sobre riesgo / seguridad / protección en relación con la modificación de los genomas bacterianos.

La dependencia de la ingeniería genética de los ácidos nucleicos sintéticos se inició en 1978 con la creación de procedimientos de mutagénesis dirigida, basada en oligonucleótidos cuyo creador, Michael Smith,⁹ ganó el premio Nobel. El problema de seleccionar mutantes silenciosos fenotípicamente desde una población de secuencias silvestres fue brillantemente resuelto más tarde por Thomas Kunkel,⁵ lo cual creó una demanda considerable de oligonucleótidos producidos químicamente. Pero, en esa época, su síntesis suponía un complicado y costoso esfuerzo que tuvo que esperar hasta 1988 (el año de la publicación del método de reacción en cadena de la polimerasa, PCR) para empezar a ser un material estándar y asequible en los laboratorios de biología molecular y de biotecnología. La mutagénesis dirigida y la PCR no solo permitieron el cambio deliberado de los codones específicos de las proteínas y de las regiones reguladoras, sino que también aumentaron la necesidad de oligonucleótidos sintéticos para la modificación de

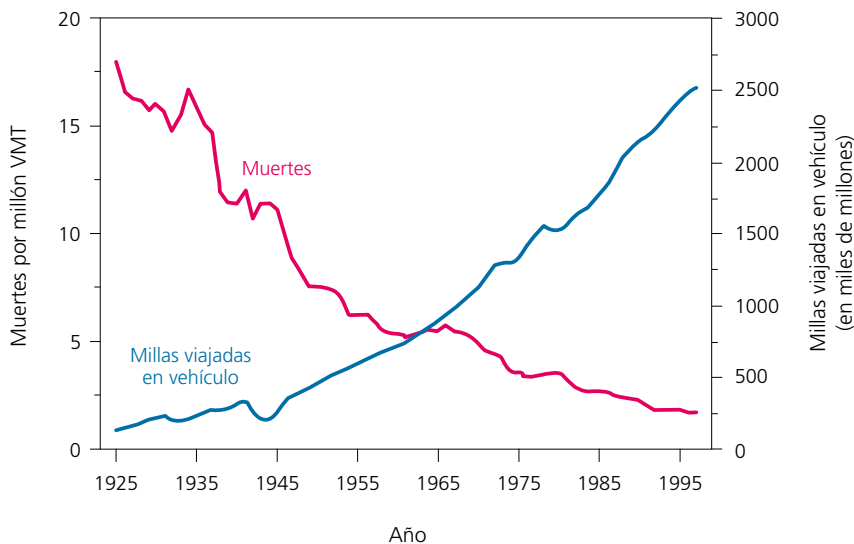


Figura 2. La seguridad aumenta como consecuencia de las lecciones aprendidas de los accidentes

El gráfico muestra la evolución de las muertes por vehículos, por cada millón de millas recorridas por vehículo (VMT) y por año durante el período 1925-1997 en Estados Unidos. Los datos sugieren que cada accidente es seguido por la aplicación de medidas de seguridad para evitar que vuelva a ocurrir.

VMT: millas viajadas en vehículo, por sus siglas en inglés.

Fuente: Datos obtenidos de *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1999; 48: 369-74.

Cortesía de Markus Schmidt.

genes seleccionados a voluntad. La figura 1 resume el resto de los pasos, con una gran continuidad, que van desde ese momento hasta los genomas sintéticos que han recibido tanta atención pública en tiempos recientes.

► De la vida natural a la vida artificial

Cualquier tecnología innovadora con un potencial de tener un gran impacto en la sociedad produce de manera sistemática una constelación de reacciones y alarmas que combinan la fascinación por las posibles aplicaciones con el miedo de las consecuencias de alterar el curso normal de la naturaleza. El término sintético —por no hablar de *genoma sintético*— declara abiertamente la búsqueda de una agenda científica y tecnológica que trata de superar el estado *natural* de las cosas. Pero a pesar del nuevo lenguaje y de las nuevas metáforas que rodean la biología sintética, parece que la mayoría de las preguntas sobre la seguridad de los microorganismos con genomas creados en el laboratorio se han planteado antes en relación con la ingeniería genética. Esto proporciona una base sólida para enmarcar los análisis de riesgos en las preguntas auténticamente nuevas y dejar atrás a otras que se abordaron a fondo y se respondieron en el pasado. El principal argumento de este artículo es que las novedades de riesgo comienzan solo con microorganismos sintéticos/modificados (SEM) tipo 7 y tipo 8 (fig. 1). Los microbios previamente diseñados mantienen la genética básica y la bioquímica de las bacterias naturales y por tanto cumplen con los requisitos y criterios que ya se aplican a los organismos genéticamente modificados (GMO y GEM). El hecho de que algunas partes de su genoma, o incluso la totalidad hayan sido producidos y editados por medio del DNA sintético no constituye ninguna diferencia en este aspecto. Pero las cosas cambian cuando entramos en SEM tipo 7 (fig. 1), donde el DNA sintético permite una completa reorganización de las funciones básicas que sustentan la vida celular como nosotros la conocemos.

El programa específico de todos los organismos implica una jerarquía de necesidades: *a*) a vivir aquí y ahora, *b*) perpetuar, es decir, continuar la vida y *c*) crecer y proliferar.⁶ Este programa se refleja en la división del trabajo del genoma funcional en el *paleoma* y en el *cenoma* que

Vidas sintéticas

Intentemos realizar un ejercicio de anticipación a los posibles riesgos asociados a los sistemas vivos radicalmente distintos a lo conocido y a las formas de vida ortogonales. Se ha especulado sobre algunos de ellos (células portadoras de ácidos nucleicos alternativos y dispositivos de expresión ortogonales, vesículas sin DNA pero capaces de transmitir la información sobre su composición), pero ninguno se ha traducido aún en un sistema autosuficiente que pueda calificarse propiamente como vida artificial u ortogonal. Sin embargo, es cuestión de tiempo que estos sistemas de *vida sintética* lleguen a producirse. A diferencia de los casos anteriores, ampliamente comentados en el texto central, en los que es posible encontrar precedentes a las cuestiones de riesgo y prever posibles respuestas, la incertidumbre planteada por la vida artificial/ortogonal constituye un territorio totalmente desconocido.

Intuitivamente uno podría pensar que tales sistemas biológicos sintéticos deberían ser seguros, porque no pueden interactuar o interferir con el mundo biológico existente. Sin embargo, también se podrían visualizar posibles amenazas. Quizá la ficción se anticipa a los científicos en la conciencia de lo que puede salir mal. En la novela de Michael Crichton *La amenaza de Andrómeda*, el microbio que provoca el caos carece de DNA, RNA, proteínas y aminoácidos. Sin embargo,

es capaz de transformar directamente la materia en energía y viceversa. Por otra parte, la cepa puede mutar para degradar polímeros (plástico, neopreno) e incluso se beneficia de una explosión atómica.¹ Aunque se trata de fantasías fabricadas en beneficio de la narración, la historia resalta nuestra ignorancia sobre cómo las formas de vida artificial podrían actuar si alguna vez se materializaran.

Por ejemplo, un tipo de sistemas no naturales podría derivarse de componentes biológicos que sean una imagen especular de los naturales. En este ejemplo, la idea es explorar la posibilidad de vida con una estereoquímica que sea la contraria a lo que encontramos en el mundo biológico natural. D-aminoácidos, L-azúcares y un DNA zurdo podrían ser los ingredientes básicos de tales células especulares. Es imposible predecir en estos momentos la forma en la que tales células, si fueran posible, podrían comportarse cuando interaccionaran con organismos *normales*. Antes o después este tipo de preguntas se tendrán que abordar en cualquier programa de evaluación de riesgos de la biotecnología del futuro.

Nota

¹ La novela se publicó por primera vez en 1969, mucho antes de la aparición de la tecnología del DNA recombinante, pero bajo los ecos de los experimentos de Stanley Miller sobre el origen de la vida a partir de precursores químicos.

ajusta en el primer caso el metabolismo para el mantenimiento, limpieza y reparación de funciones y, solo en segunda instancia, para la división y crecimiento celular. Tan simple como parece, este programa universal de tres pasos dota a las células con una considerable previsibilidad. Pero la síntesis de genomas a la carta puede, de hecho, alterar este esce-

nario familiar. Es imaginable que las células puedan ser programadas para expresar una alta actividad metabólica o enzimática en una forma disociada de cualquier crecimiento. Como se mencionó anteriormente, también es posible programar a las células para que lleguen a ser muy activas para un determinado propósito, pero sin ningún tipo de DNA.

Por último, es concebible que los bloques metabólicos centrales, que son compartidos por todos los sistemas biológicos, puedan ser sustituidos por redes enzimáticas artificiales para el catabolismo o biotransformaciones de compuestos xenobióticos. Pero entonces, si construimos por ejemplo, un microbio artificial que puede convertir celulosa en hidrógeno... ¿existe la posibilidad de que pueda escapar a los bosques y, eventualmente, provocar una explosión incontrolable? Este tipo de preguntas extravagantes se plantearon una y otra vez durante las discusiones sobre el DNA recombinante de los años ochenta y noventa. La respuesta evidente es que –aunque no imposible– estas situaciones accidentales y catastróficas son sistemáticamente empujadas por la robusta homeostasis, tanto global como local, del mundo microbiano. Los intentos de combatir las células cancerígenas con patógenos y los esfuerzos para capturar CO₂ atmosférico por medio de microorganismos marinos que crecen en exceso al añadir hierro al mar han tenido un éxito muy limitado.^{7,10} Esto ilustra la dificultad de introducir cambios deliberados en los ecosistemas una vez que han alcanzado un grado de equilibrio. Estas consideraciones permiten una visión razonablemente optimista sobre los riesgos asociados a los microbios que lleven genomas sintéticos y rediseñados por el hombre.

En cualquier caso, los materiales biológicos de este tipo estarán dotados de unas características que tendrán que ser exa-

minadas caso por caso. Cuando nuevas sustancias químicas van a ser comercializadas (más aún si se espera que sean liberados al medio ambiente como pesticidas, etc.), las empresas productoras están legalmente obligadas a someterse a un estudio de evaluación de riesgos, en el que debe medirse un conjunto de parámetros de persistencia, toxicidad, etc. Por la misma razón, podría ser factible que los microorganismos con genomas sintéticos deban ser sometidos a pruebas estandarizadas, cuyos resultados puedan orientar a las autoridades competentes a conceder o no permiso para su uso biotecnológico.

► Conclusión

La figura 3 muestra lo que algunos han llamado *el ciclo del subidón (the hype cycle)* en el que cualquier nueva tecnología potencialmente transformadora pasa por fases consecutivas que van desde un primer entusiasmo y grandes expectativas a la decepción y desilusión de lo que ha fallado y el análisis de lo que fue mal para eventualmente entrar en una fase productiva.

Si consideramos los genomas sintéticos como algo que seguirá el mismo camino que la corriente de la ingeniería genética que comenzó a finales de los años setenta, pronto veremos entrar en la fase productiva este campo. Si, por contrario, gana terreno el concepto de que la genómica sintética constituye un dominio comple-

tamente nuevo de la biología y la biotecnología, entonces el campo tiene por delante un largo camino antes de traducirse en posibles aplicaciones productivas. Lo mismo puede decirse de la evaluación de riesgos. Este artículo aboga por colocar el campo de los genomas sintéticos en el marco más amplio posible del uso de la ingeniería genética. Al hacerlo así, no solo somos más rigurosos científicamente, sino también más prácticos para acercar la tecnología del genoma sintético a la utilización y la aceptación del público.

► Agradecimientos

El autor está en deuda con Markus Schmidt, del *International Dialogue and Conflict Management Organization* (Viena, Austria) por proveer información para este artículo. La ayuda secretarial de Inés Merino ha sido esencial para la composición de este texto. #

.....

Víctor de Lorenzo

PROGRAMA DE BIOLOGÍA SINTÉTICA

Y DE SISTEMAS

CENTRO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA

CSIC, MADRID

► Bibliografía

- 1 Church G.M.: «From systems biology to synthetic biology». *Mol Syst Biol* 2005; 1: 32.
- 2 Lorenzo V. de: «Beware of metaphors: chasses and orthogonality in synthetic biology». *Bioeng Bugs* 2011; 2: 3-7.
- 3 Lorenzo V. de, Serrano L., Valencia A.: «Synthetic biology: challenges ahead». *Bioinformatics* 2006; 22: 127-8.
- 4 Endy D.: «Foundations for engineering biology». *Nature* 2005; 438: 449-53.
- 5 Kunkel T.A.: «Mutational specificity of depurination». *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 1494-8.
- 6 Luisi P.L.: *The emergence of Life. From chemical origins to Synthetic Biology*. Cambridge: Cambridge University Press, 2006.
- 7 Pollard R.T. et al.: «Southern Ocean deep-water carbon export enhanced by natural iron fertilization». *Nature* 2009; 457: 577-80.
- 8 Schultz M.: «Clinical use of *E. coli* Nissle 1917 in inflammatory bowel disease». *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1012-8.
- 9 Smith M.: «Nobel Lecture. Synthetic DNA and biology». *Biosci Rep* 1994; 14: 51-66.
- 10 Tollefson J.: «UN decision puts brakes on ocean fertilization». *Nature* 2008; 453: 704.

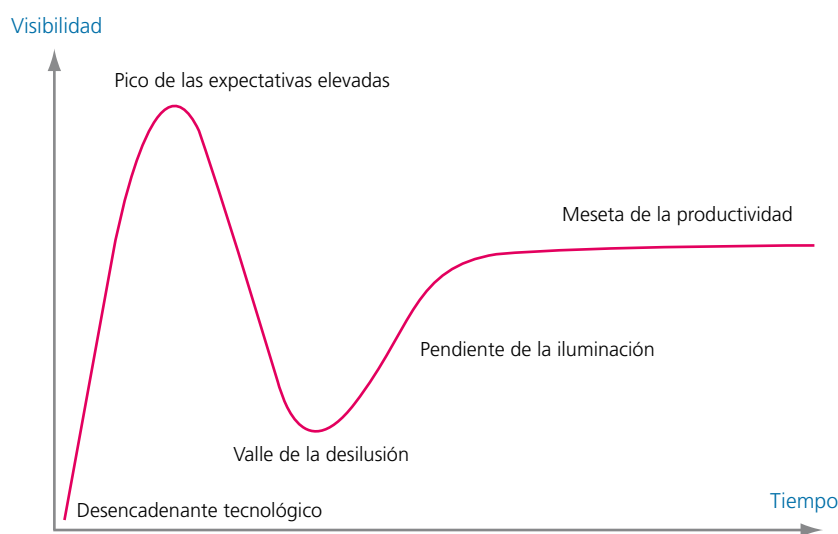


Figura 3. El ciclo del subidón (hype cycle) de las nuevas tecnologías

El gráfico representa el patrón del camino hacia la madurez, la adopción y aplicación de tecnologías específicas.