

LA CÉLULA SINTÉTICA

¿UN PASO HACIA LA VIDA ARTIFICIAL?*

Aurora de la Paz Orozco

Maestría en Ciencias con Orientación Genómica. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo envolvente del PRONAF y Estocolmo s/n. Ciudad Juárez; Chih. CP 32300. Correo E: dlapazdra@yahoo.com.mx

RESUMEN

Actualmente el surgimiento de la Biología sintética ha permitido la síntesis de secuencias genómicas y la creación de la primera célula artificial. La secuenciación del genoma de *Mycoplasma genitalium* y la determinación de los genes mínimos indispensables para la duplicación bacteriana, logró la creación de un cromosoma artificial coincidente con esta bacteria, el cual contenía todos los genes silvestres excepto MG408 que fue interrumpido para bloquear su patogenicidad, por consiguiente, *M. genitalium* creció lentamente, por su rápida tasa de crecimiento, se secuenció el genoma de *Mycoplasma mycoides*, un preámbulo para el diseño, síntesis y montaje del genoma de *M. mycoides* a partir de información digitalizada de su secuencia genómica, y el posterior trasplante a la célula receptora *Mycoplasma capricolum*, creando una célula controlada por un genoma artificial ensamblado en el laboratorio.

ABSTRACT

Currently, the emergence of synthetic biology has allowed the synthesis of genomic sequences and the creation of the first artificial cell. The sequencing of the genome of *Mycoplasma genitalium*, and determination of minimum genes essential for bacterial replication, managed the creation of an artificial chromosome coincident with this bacterium, which contained all wild genes except MG408, which was interrupted for blocking its pathogenicity, therefore, *M. genitalium* grew slowly, by its rapid rate of growth, they sequenced the genome of *Mycoplasma mycoides*, a prelude to the design, synthesis and assembly of the genome of *M. mycoides* from digitized information of genomic sequence, and subsequent transplantation into the host cell *Mycoplasma capricolum*, creating a cell controlled by an artificial genome assembled in the laboratory.

PALABRAS

CLAVE:

Célula sintética, mycoplasma, genoma sintético.

KEY WORDS:

Synthetic cell, mycoplasma, synthetic genome.

"La ciencia es el alma de la prosperidad de las naciones y la fuente de vida de todo progreso"

Louis Pasteur

A través del tiempo la humanidad ha tratado de manipular la naturaleza y comprender como funciona la vida, esto ha motivado a la comunidad científica a la realización de innumerables trabajos en la búsqueda del conocimiento. Los avances en la ciencia han sido determinados por el surgimiento de momentos que han revolucionado al mundo. Hoy en día la comunidad científica opera bajo el predominio de paradigmas, una vía de percepción e incógnitas, que surgen con la observación de

nuestro entorno, proporcionando un modelo explicativo y una solución. El surgimiento de nuevos paradigmas demanda mayor apertura, capacidad crítica y proactividad. Una de las situaciones más álgidas en la ciencia, es el momento en que la comunidad científica confronta el conocimiento previo con innovaciones revolucionarias, por tanto los cambios paradigmáticos conllevan a una transformación en la visión de la ciencia, provocando una revolución científica.

Desde el nacimiento de la Biología Molecular, el mundo científico ha tenido numerosos logros y avances, de tal modo, que en la era posmoderna ha surgido una nueva especialidad: "la biología sintética", que se concibe como la disciplina que se

aboca a la transformación de sistemas biológicos creándolos desde cero. La ciencia avanza a ritmo vertiginoso, hace apenas dos decenios fueron secuenciados los primeros genomas, actualmente empiezan a sintetizarse. El sobre disponer y sintetizar estas secuencias genómicas nos conduce a replantearnos qué es la vida y debatir cuántos genes son esenciales para la fabricación de la vida celular.

Basado en esta reflexión, el Biólogo John Craig Venter -considerado uno de los padres del genoma humano- inició en colaboración con otros veinte científicos más, lo que hasta hoy se considera uno de los mayores hitos en la ciencia: crear "vida artificial". Este trabajo fue llevado a cabo en la empresa *Synthetic Genomics* y se destinaron quince años de investigación y una erogación de más de cuarenta millones de dólares. Previo al inicio del trabajo experimental, el grupo de investigación de Venter se planteó y pidió un estudio sobre las implicaciones éticas del mismo, publicado en la revista *Science* y titulado "*Ethical Considerations in Synthesizing a Minimal Genome*" (1) analizando los pros y contras del proyecto de investigación.

EL ORIGEN DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA

Desde luego, para poder tener una visión clara y entender los avances de la ciencia, inspeccionaremos brevemente el pasado, daremos una mirada hacia el futuro y los nuevos paradigmas que surgirán de la Biología Sintética: ¿es posible crear vida artificial?, ¿qué uso tendrán estos productos sintéticos?, ¿estamos ante una nueva herramienta de la eugenesia moderna?, ¿es el descubrimiento del siglo? y ¿cuáles son las implicaciones éticas?

Las bases teóricas de nuestra concepción del mundo fueron revolucionadas por Copérnico, al situar al Sol como centro del universo. Por una parte, René Descartes e Isaac Newton en los siglos XVI y XVII, desarrollaron el método cartesiano que influyó en todas las ramas de la ciencia moderna, seguido por las leyes de la mecánica del modelo Newtoniano que hoy en día, constituyen la base de la ingeniería moderna (2). Puntualizando los hitos científicos relevantes a través del tiempo, destacan Darwin y Wallace con la teoría de la evolución por selección natural, Mendel con las leyes de la herencia, Avery y MacLeod con el descubrimiento de la molécula del DNA, Watson y Crick con la descripción de la estructura de doble hélice, Sanger al lograr la secuenciación de la insulina bovina, Paul Berg al marcar el inicio de la ingeniería genética creando la primera molécula de DNA recombinante, Southern al localizar secuencias específicas de DNA. En este

punto damos un salto para abordar la creación de los primeros animales clónicos, desde Briggs y King al clonar la rana americana común, y Gurdon con la clonación de la rana africana *Xenopus laevis* hasta llegar a la clonación del primer mamífero, la oveja Dolly, por Steen Willadsen (3).

EL DESARROLLO DE LA CÉLULA SINTÉTICA

Estos avances permitieron crear los primeros animales transgénicos, así como el cultivo de células madre para el desarrollo de tejidos humanos aptos para trasplantes; grandes logros que dieron la pauta para concretar la creación de la primera célula sintética por J.C. Venter, publicado en *Science* 2010, "*Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome*", con la combinación de la ingeniería y la genética, de tal manera que surge la biología sintética.

Los esfuerzos encomiables de este grupo científico, en la búsqueda de herramientas para poder manipular y utilizar "la vida", iniciaron con la publicación en 1999 (4), de la secuenciación del genoma celular bacteriano más pequeño, *Mycoplasma genitalium*, constituido por sólo 517 genes, hecho que suscitó una saga de experimentos que culminaron en la creación de la primera célula sintética (Fig. 1).

Si bien la culminación de estos experimentos necesitó un lapso de quince años, el compendio del esfuerzo de Venter y su grupo, según lo acotado anteriormente, se inició con la secuenciación del genoma de *M. genitalium* (4), un parásito obligado que requiere poca capacidad de adaptación. Se consideró que este microorganismo sería una buena aproximación para buscar el mínimo de genes necesarios para mantener la vida bacteriana. Mediante mutagénesis global de transposones, determinaron los genes no esenciales y los genes mínimos indispensables para la duplicación de la bacteria, el análisis de la secuencia reveló 480 genes codificantes para proteínas, sugiriendo que cerca de 350 genes son esenciales en condiciones de crecimiento en el laboratorio, incluyendo entre éstos a cien genes con función desconocida, sin embargo, no se sabe cuál de estos cien genes son a la vez prescindibles. La presencia de genes con función desconocida entre los genes esenciales, sugiere que todos los mecanismos básicos moleculares que subyacen a la función celular aún no se han descrito. La interrogante planteada los llevó al siguiente experimento: crear y probar un cromosoma artificial, durante esta ruta consiguieron en 2002, sintetizar de *novo*, el poliovirus infeccioso, siguiendo la secuencia viral ya conocida (5).

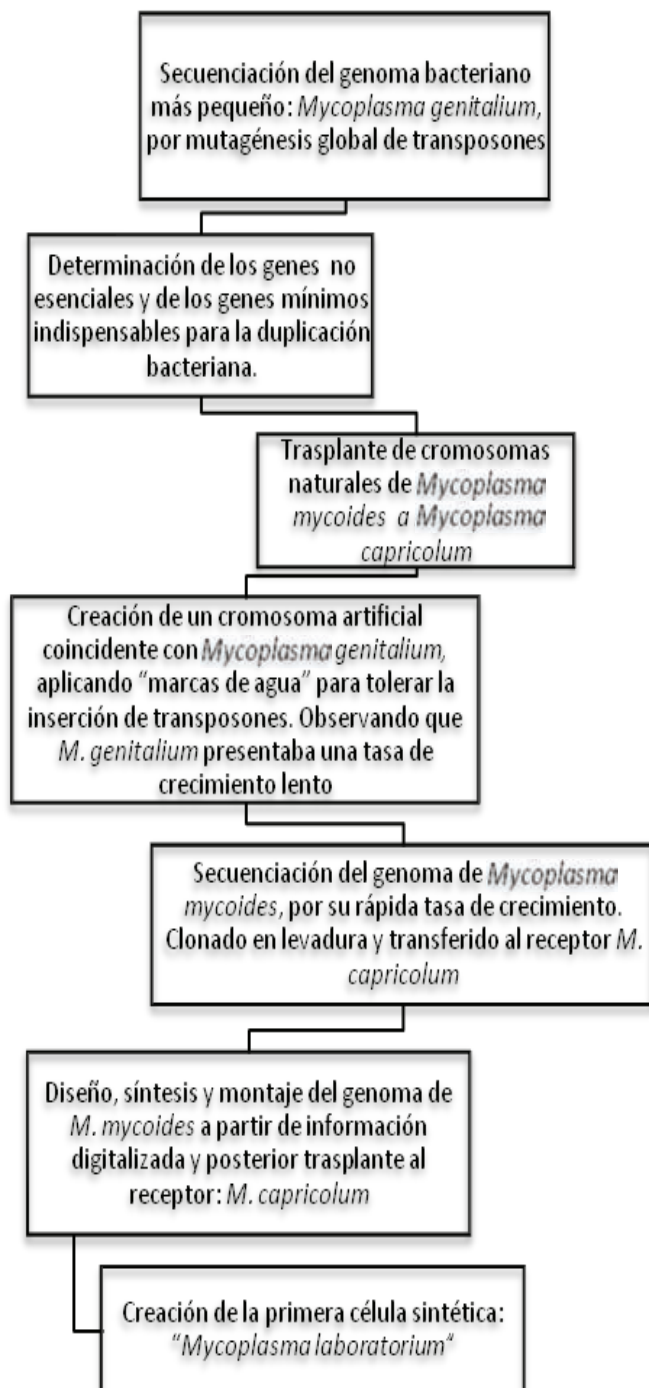


Figura 1. Cronología de los experimentos realizados para la creación de la primera célula sintética. Abarcando la secuenciación del genoma más pequeño, el trasplante de un genoma natural a otra célula, la generación de un cromosoma artificial, hasta el diseño, síntesis y montaje de la célula sintética "*Mycoplasma laboratorium*".

En 2007 demostraron que podía realizarse un "trasplante" de cromosomas naturales de una especie microbiana a otra, trabajo publicado con el título "*Genome Transplantation in Bacteria: Changing One Species to Another*" trasplantando el DNA de *M. mycoides*, a *M. capricolum*, las células resultantes fueron fenotípicamente idénticas a la cepa de *M. mycoides*, realizado como un paso previo para la fabricación de la célula sintética puesto que se requiere de la introducción del genoma sintético a un citoplasma receptivo (6).

En 2008 crearon un cromosoma artificial coincidente con *M. genitalium*, sintetizando 582.970 pares de bases. Este genoma sintético contenía todos los genes silvestres excepto el MG408 que fue interrumpido para bloquear su patogenicidad, además se aplicaron "marcas de agua" en sitios intergénicos conocidos para tolerar la inserción de transposones (7). El genoma fue clonado en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, teniendo un primer tropiezo al observar que *M. genitalium* crecía lentamente y el experimento podría tardar meses en completarse. De tal manera que en 2009 procedieron a secuenciar el genoma de *M. mycoides*, debido a su rápida tasa de crecimiento. Los cromosomas nativos de *M. mycoides*, fueron clonados en la levadura y luego transferidos al receptor, *M. capricolum*, un pariente microbiano cercano, modificando el genoma de esta última bacteria (8). El siguiente paso fue mostrar que la copia de síntesis del DNA bacteriano podría ser manejada de la misma manera.

En mayo de 2010 vieron coronados sus esfuerzos, reportando el diseño, síntesis y montaje del genoma de *M. mycoides* a partir de información digitalizada de la secuencia del genoma, y su posterior trasplante a la célula receptora *M. capricolum* para crear una célula controlada sólo por el cromosoma sintético, que llamaron "*Mycoplasma laboratorium*". Se trataba de una célula controlada por un genoma ensamblado por piezas de síntesis química del DNA (Fig. 2). Los casetes fueron diseñados con 1,080 pb, para facilitar el correcto ensamblaje, la terminación de cada secuencia tenía 80 pb que se superponía a los casetes adyacentes. La totalidad del genoma sintético (582,970 pb) se cultivó como un plásmido de levadura centromérica. Inicialmente hubo dificultad para extraer el genoma de *M. mycoides* de la levadura y trasplantarlo en *M. capricolum* debido a la presencia de un sistema de restricción común, que fue superado por la metilación de DNA de los donantes con metilasas. Como en el trabajo predecesor (7), también se aplicaron "marcas de agua" para distinguirlo del DNA nativo. Cuando el genoma sintético se puso inicialmente en *M.*

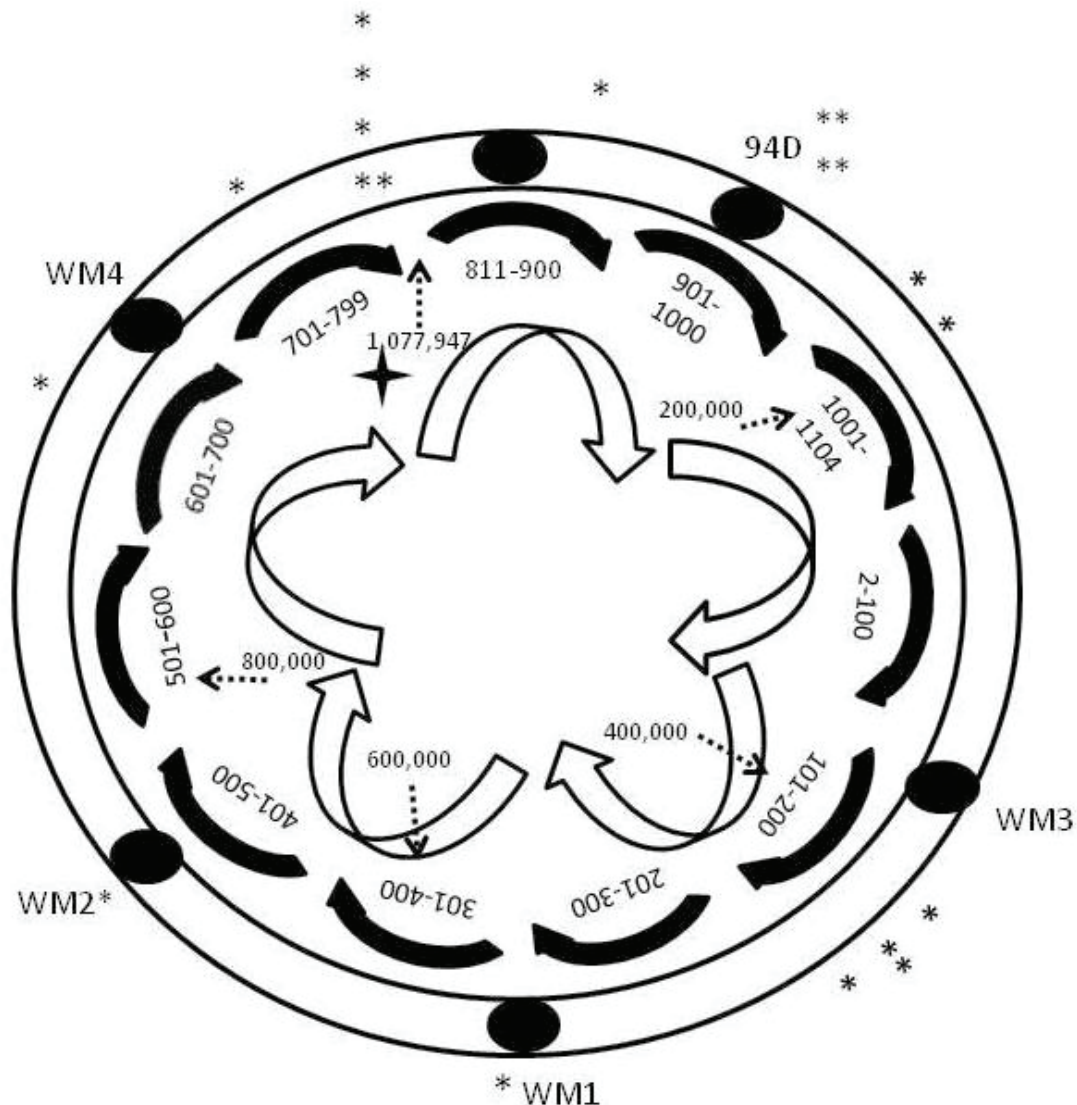


Figura 1. Modificado de Gibson et al (2010). Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome (9). Montaje del genoma sintético de *Mycoplasma mycoides*. El montaje se realizó en 3 pasos a partir de casetes de ADN de 1,078 pb (flechas discontinuas). Casetes de 1,080 pb producidos a partir de superposición de oligonucleótidos sintéticos, se recombinaron en series de 10 para producir 109 ensamblados (~10kb) (flechas blancas) que posteriormente se recombinaron en series de 10 para obtener 11 ensamblados de ~100kb (flechas negras). En la etapa final del ensamblaje los 11 fragmentos fueron recombinados en el genoma completo (círculo mayor, en claro), el ensamblaje se llevó a cabo en vivo por recombinación homóloga en levadura. Variaciones en el genoma natural incluyen marcas de agua (WM1-WM4) (círculos negro) y 20 regiones con polimorfismos de nucleótidos para monitorear el ensamblaje (asteriscos). Las coordenadas del genoma están en relación con el primer nucleótido de la secuencia natural de *M. mycoides*, los casetes 1 y 800-810 eran innecesarios y se retiraron del ensamblaje, el casete 2 fue superpuestos con el 1104 y el casete 799 superpuesto con el 811.

capricolum, no sucedió nada, encontrando en el genoma sintético una delección de pares de bases individuales en el gen esencial *dnaA*, que retrasó el proyecto 3 meses; mientras que las inserciones y delecciones en el genoma de las partes no esenciales no tuvo un impacto en la viabilidad celular (9).

IMPLICACIONES DE LA CÉLULA SINTÉTICA

Evidentemente se ha logrado avanzar en la secuenciación y análisis del genoma, pero queda aún muchísimo camino por recorrer para lograr entender cómo interactúan entre sí los genes que controlan el funcionamiento de la vida. Argumentar que se ha

creado vida artificial es demasiado arrogante. Sin duda se ha logrado sintetizar el contenido genético de una célula receptora, e insertándole el genoma conocido de otra célula, que previamente fue ensamblando en el laboratorio. Dicho de manera llana, la información solamente ha sido copiada, se ha creado un genoma sintético, introducido en una célula huésped para aprovechar su maquinaria y lograr su autoreplicación. De ninguna manera se ha creado de la nada la información genética, y llamarla "célula sintética" podría no ser adecuado, puesto que el citoplasma de la célula receptora no es sintético, no obstante, reconocemos la encomiable labor de Venter en crear un genoma sintético, un hito que marca la pauta hacia un largo viaje para intentar crear vida artificial, que culmine en la creación de organismos completos.

Sin duda podría considerarse el inicio de una nueva revolución científica que tendrá connotaciones éticas y religiosas, es menester enfatizar que el científico moderno, suprime las explicaciones prenaturales, tornándose un acérrimo buscador de las causas inherentes a un fenómeno. Aunque la religión y la ciencia han estado en conflicto, generando debates sobre los límites en las ciencias de la vida, la opinión predominante vertida en "*Ethical Considerations in Synthesizing a Minimal Genome*", es avanzar con precaución, ya que no existe prohibición por consideraciones religiosas válidas, pero se insta a mantener a la sociedad informada para abordar las consideraciones éticas y religiosas, permaneciendo hasta ahora a la expectativa, considerando que la célula sintética es "un buen motor, pero no es la vida".


La culminación del proyecto Genoma Humano ha puesto en debate nuevos y viejos temas, uno de ellos es la eugenesia. Dicho término fue acuñado en 1883 por Francis Galton, y es definida como "la ciencia que trata todos los factores que mejoran las cualidades genéticas propias de la raza" (10). El diagnóstico genético preimplantación es procedimiento sustentado en el paradigma de la eugenesia ya que busca detectar si en el genoma de un embrión producido por fertilización in vitro está presente una determinada alteración de secuencia génica o cromosómica, para así tratar de corregir los defectos genéticos o eliminar los genes defectuosos, evitando el desarrollo de los embriones

portadores. Esto último estrictamente es un acto de eugenesia (11). Con la manipulación de genes, mediante clonación e ingeniería genética, surge el riesgo de una eugenesia moderna. La neoeugenesia, busca forzar un criterio de selección, para mejorar las cualidades de la raza, sin embargo, aún es inasequible porque se desconoce la totalidad de los genes humanos (12).

A futuro, el grupo científico encabezado por Venter, pretende sintetizar una célula que contenga sólo los genes necesarios para mantener vivo a un organismo en su forma más simple, argumentando que este logro ayudaría a aumentar la comprensión básica de la vida, proporcionando una idea de sus orígenes, la evolución bacteriana, o el control del metabolismo bacteriano. Dentro de los usos ulteriores de las especies sintéticas y de ingeniería, se pretende sustituir la industria petroquímica, diseñando un nuevo tipo de algas que atrapen al dióxido de carbono para transformarlas en hidrocarburos, una importante fuente de energía a gran escala, además podrían acelerar el desarrollo de antibióticos y vacunas acortando el tiempo en el proceso de la producción (13).

La creación de la primera célula sintética implica un giro copernicano a la comunidad científica, creando un nuevo paradigma sobre la vida artificial, que abre las puertas a un horizonte que está aún por definirse. Manipular el genoma completo de un patógeno implicaría un gran peligro para la salud, quizás superando el riesgo al beneficio. Los alcances de esta nueva era en la ingeniería genética podrían ser tanto una fuente útil, o una forma de crear organismos para ser utilizados como armas biológicas. No debemos perder de vista el enorme potencial de uso de las células de laboratorio, este avance científico representa un gran desafío, y se debe abogar en la regulación y supervisión de los diseños de genomas, para asegurar que la creación de la verdadera vida sintética se haga con ética y responsabilidad (1).

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Alberto Pérez-León por haberme impulsado a tomar retos en el desarrollo profesional, a los revisores de esta publicación por sus comentarios vertidos, y al Dr. Samuel Flores-Flores por su apoyo incondicional. 

REFERENCIAS

1. Cho MK, Magnus D, Caplan AL, McGee D and the Ethics of Genomics Group (1999). Ethical Considerations in Synthesizing a Minimal Genome. *Science* 286 (5447):2087-2090.
2. Bowler P, Morus IR (2007). Panorama general de la ciencia moderna. Editorial crítica, Barcelona España. p 662.
3. Mato de la Paz JM (2003). Acontecimientos científicos con especial impacto en el desarrollo en la biología contemporánea. En: Metodología de la investigación clínica. Editor Javier García-Conde. Ars Medica Barcelona, España. pp 1-8.
4. Hutchison CA 3rd, Peterson SN, Gill SR, Cline RT, White O, Fraser CM, Smith HO, Venter JC (1999). Global Transposon Mutagenesis and a Minimal Mycoplasma Genome. *Science* 286 (5447):2165-2169.
5. Cello J, Paul AV, Wimmer E. (2002) Chemical Synthesis of Poliovirus cDNA: Generation of Infectious Virus in the Absence of Natural Template. *Science* 297(5583):1016-8.
6. Lartigue C, Glass JI, Alperovich N, Pieper R, Parmar PP, Hutchison CA 3rd, Smith HO, Venter JC (2007). Genome transplantation in bacteria: changing one species to another. *Science* 317 (5938):632-8.
7. Gibson DG, Benders GA, Andrews-Pfannkoch C, Denisova EA, Baden-Tillson H, Zaveri J, Stokwell TB, Brownley A, Thomas DW, Alguire MA, Merryman C, Young L, Noskov VN, Glass JI, Venter JC, Hutchison CA 3rd, Smith HO (2008) Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. *Science* 319(5867):1215-20.
8. Lartigue C, Vashee S, Algire MA, Chuang RY, Benders GA, Ma L, Noskov VN, Denisova EA, Gibson DG, Assad-Garcia N, Alperovich N, Thomas DW, Merryman C, Hutchison CA 3rd, Smith HO, Venter JC, Glass JI (2009). Creating bacterial strains from genomes that have been cloned and engineered in yeast. *Science* 325(5948):1693-6.
9. Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov VN, Chuang RY, Algire MA, Benders GA, Montague MG, Ma L, Moodie MM, Merryman C, Vashee S, Krinhnakumar R, Assad-Garcia N, Andrews-Pfannkoch C, Denisova EA, Young L, Qi ZQ, Segall-Shapiro TH, Calvey CH, Parmar PP, Hutchison CA 3rd, Smith HO, Venter JC. (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329(5987):52-6.
10. Wilkins S. "Eugenics talk" and the language of bioethics. (2008) *J Med Ethics*; 34:467-471.
11. Santos y Vargas L. (2002). Valuación bioética del proyecto "Genoma Humano". *Acta Bioética* 13(1):111-23.
12. Romeo Casabona C.M. (2002). La genética y la biotecnología en las fronteras del derecho. *Acta Bioethica* 13 (2):283-97.
13. TED in the Field, Craig Venter unveils "synthetic life". Disponible en: <http://www.ted.com/talks/craig_venter_unveils_synthetic_life.html> (con acceso el 28 de mayo del 2011).