
Содержание

От авторов	7
Часть I. ОСНОВЫ СИНТЕТИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ	14
Глава 1. Что такое синтетическая биология?	15
Синтетическая биология: возможности и опасения.....	16
Синтетическая биология как научно-техническая дисциплина	18
Несколько предварительных слов о конструировании инженерных систем.....	20
Инструменты синтетической биологии.....	22
Подведем итоги	30
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	31
Глава 2. Основы биологического конструирования	32
Иллюстрация поэтапного конструирования	32
От планирования отдыха к биологическому конструированию.....	34
Общее представление о биологическом конструировании	37
Подведем итоги	55
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	57
Глава 3. Стандартизация и методы конструирования ДНК	58
С чего начинать?.....	58
Стандартизация формы и размеров	60
Конструирование ДНК на практике	66
Подведем итоги	84
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	85
Глава 4. Основы биоэтики	86
Что значит «благое дело»?.....	86
Регламентирование этических исследований.....	89
Примеры спорных синтетических биоразработок	96
Деятельность в области биоэтики	102
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	109

Часть II. ЗНАКОМСТВО С РАБОТАМИ ЛАБОРАТОРИЙ	
ВIOBUILDER	111
Глава 5. Три этапа создания биосистемы	112
Глава 6. Улавливаете, чем пахнет?	115
Вдохновение от проекта Eau d'coli команды iGEM.....	116
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	126
«EAU THAT SMELL» (лабораторный практикум)	127
Глава 7. Как организовано биоустройство iTune	139
Модульный принцип конструирования.....	141
Технология изолирования	143
Основы системы измерений.....	145
Основные замыслы лабораторного практикума «iTunes Device»	149
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	152
iTune device (лабораторный практикум).....	154
Глава 8. Вы только вообразите это!	165
Введение в моделирование.....	166
Вдохновение от проекта «Coliroid» команды iGEM.....	172
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	178
«Picture This» (лабораторный практикум)	179
Глава 9. Какой красочный мир!	190
Клетка-хозяин, она же – тело-носитель	191
Справочная информация о проекте «E. Chromi» команды iGEM.....	197
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	201
«What a Colorful World» (лабораторный практикум).....	202
Глава 10. Хлеб цвета золота	209
Обеспечение технической надежности	210
История проекта «VitaYeast» команды iGEM.....	219
Дополнительная литература и интернет-ресурсы	224
«Golden bread» (лабораторный практикум)	225
Приложение А. Лабораторные реагенты и материалы	233
Словарь терминов	237
Об авторах	241
Колофон	243
Предметный указатель	244
Именной указатель	249

От авторов

Поначалу цель этой книги была относительно скромна – поддержать растущее сообщество BioBuilder, учителей и студентов по всему миру, овладевающих программами проектирования в рамках биологии. Биологическое проектирование является непростой задачей, и мы все чаще слышали, что такая книга очень помогла бы. Так вот она. Мы надеемся, что она станет полезной для каждого. Также мы надеемся, что она вам понравится.

Мы написали эту книгу не для ученых и инженеров-проектировщиков, но для простых любознательных и инициативных людей. Однако тот факт, что вопросы, которые мотивируют содержание книги и с которыми ежедневно сталкиваются биотехнологи в своей работе, являются очень непростыми. Как рационально спроектировать клетки? Можно ли обеспечить надежное поведение системы? Что мы можем узнать о биологии с помощью инструментария биоинженера?

Для кого предназначена эта книга

Мы надеемся, что эта книга будет полезной для широкого круга читателей. Сначала мы писали книгу для учителей, так как именно они в основном вовлечены в программу BioBuilder. Они с энтузиазмом привносят данные этой программы в свои занятия по биологии и биотехнологии. Благодаря первым отзывам о книге мы поняли, что учителя с радостью поделились бы ею со своими учениками, и поэтому небольшое биоруководство для учителей вскоре превратилось в ресурс, который студенты и преподаватели могут использовать вместе.

Теперь мы можем смело сказать, что книга отвечает потребностям многих любопытных читателей и «исследователей» всех видов. Наша целевая аудитория включает в себя старшеклассников и преподавателей, студентов, увлекающихся биопроектированием, специалистов, работающих в лабораториях, и художников в дизайнерских студиях. Мы надеемся, что в этой книге есть что-то полезное для каждого, кто хочет больше узнать о теоретических и практических аспектах синтетической биологии.

Почему мы написали эту книгу

Данное издание позволяет преодолеть непонимание между выполнением научных действий и их изучением. Представленные здесь идеи и лабораторные практикумы основаны на текущих исследованиях в данной области. Достоверность фактов вызывает у студентов интерес, а это, как мы поняли, может побуждать и расширять возможности учащихся на всех уровнях. Но трудно рабо-

тать на грани уже известного, поэтому мы написали эту книгу для поддержки преподавателей и студентов, желающих в своем обучении начать с еще неизвестного и чего-то нового.

Мы также написали эту книгу, потому что нам нравится сочетание синтетической биологии с конструированием, и мы решили показать, как это работает на практике. Наши основополагающие главы делают акцент на применении в синтетической биологии некоторых успешных инструментов из более зрелых инженерных дисциплин. Главы, ориентированные на лабораторные исследования, начинаются с подлинного исследовательского вопроса, а затем описывают алгоритм действий с технической точки зрения.

Благодаря сочетанию базового содержания, лабораторных исследований и биопроектирования эта книга стала нашей лучшей попыткой вызвать интерес в данной области. Мы применяем подход к синтетической биологии и образованию в общих чертах, что по своей сути напоминает Антуана де Сент-Экзюпери, вдохновлявшего читателей «Маленького принца» заняться судостроением: «Если ты хочешь построить корабль, не надо созывать людей, планировать, делить работу, доставать инструменты. Надо заразить людей стремлением к бесконечному морю. Тогда они сами построят корабль...»

Синтетическая биология сегодня

Целью синтетической биологии является надежное проектирование живых синтетических систем. Некоторые из тех, кто работает в этой области, применяют синтетическую биологию, чтобы удовлетворить потребность нашей планеты в устойчивом производстве продуктов питания и топлива. Другие разрабатывают такие биотехнологии, как медицинская диагностика или лечение. Меньшая, но жизненно важная подгруппа людей рассматривает синтетическую биологию с точки зрения проектирования, чтобы применять ее в искусстве, архитектуре или инновационных проектах. Независимо от области применения вы увидите, что нужно еще многому научиться и преодолеть немалый путь, прежде чем мы сможем легко сделать задуманное.

Даже на первых шагах синтетическая биология может нас многому научить. Новое научное понимание, усовершенствованные инженерные подходы и новые технологии «естественно» вытекают из этого «синтетического» подхода. «Строительная» биология проверяет наше нынешнее понимание мира и служит мощным толчком для открытия новой науки. Она также мотивирует разработку новых инструментов и процессов, ускоряющих цикл «проектирование – конструирование – испытание». Рассматриваемое поле исследования, как подлинно междисциплинарное усилие, привносит свою аргументацию в научно-техническое и инженерно-математическое образование уникальным для нас образом. Поэтому, хотя эта область биологии еще совсем молода, мы считаем, что она является важнейшим подходом в обучении и познании нового. Поскольку учебная программа BioBuilder основана на реальных и еще

не решенных вопросах в области синтетической биологии, в ней применяются знания, которые позволяют классному и лабораторному образованию отойти от банального заучивания и запоминания, направив вместо этого процесс обучения на применение технических навыков. Предлагаемая книга представляет синтетическую биологию как серию исследований, которые объединяют научное понимание с инженерными подходами и позволяют разработать решения, отвечающие реальным задачам.

Навигация по книге

Эта книга намеренно состоит из модулей, соответственно, ее можно реорганизовать в соответствии с вашими потребностями. В цифровом формате главы можно легко переделать и поделиться новым форматом через нашу лицензию Creative Commons. Печатный формат книги требовал последовательности глав, и поэтому мы организовали их следующим образом.

В части I «Основы синтетической биологии» (главы 1–4) представлены некоторые основополагающие подходы синтетической биологии:

- глава 1 «Что такое синтетическая биология?» обеспечивает базовое введение в науку, выделяя междисциплинарный характер синтетической биологии и некоторые из ее основополагающих инструментов, взятых из инженерной и молекулярной биологии;
- глава 2 «Основы биологического конструирования» излагает основы биопроектирования, включая иерархию представлений об организации уровней сложности, а также ряд примеров, которые раскрывают смысл живых систем в биоустройствах и фрагментах, кодирующих их;
- глава 3 «Стандартизация и методы конструирования ДНК» рассказывает о роли стандартизации в разработке, а также дает несколько примеров стандартизированных методов сборки ДНК;
- глава 4 «Основы биоэтики» поднимает вопросы о значении «благого дела», основываясь на современных и исторических примерах, чтобы обозначить сложные задачи, а затем предоставить основу для обучения в рамках рассмотренных примеров.

В части II «Знакомство с работами лабораторий BioBuilder» (главы 5–10) подробно описываются лабораторные исследования BioBuilder. Каждое исследование начинается с рассмотрения текущей проблемы или разработки идеи в этой области, далее предлагается какой-либо организационный принцип или вопрос, который можно исследовать в ходе эксперимента. Каждая глава также дает краткий протокол для проведения соответствующего исследования и ряд полезных иллюстрированных руководств. Иллюстрации и краткие руководства для этой книги можно загрузить из репозитория Git-Hub:

- глава 5 «Три этапа создания биосистемы» представляет собой обзор лабораторных практиков, определяющих различные точки входа в цикл «проектирование – сборка – тестирование»;

- глава 6 «Улавливаете, чем пахнет?» моделирует структуру биологического проектирования, подробно описанную в главе 2, чтобы в конечном итоге задать вопрос: какой генетический проект позволит экспоненциально растущим бактериальным клеткам генерировать запах банана более эффективно?
- глава 7 «Как организовано биоустройство iTune» сфокусирована на принципах измерения и роли измерения в ожидаемом результате проектирования. Лабораторный практикум в заключение главы сравнивает ожидаемые и оцениваемые показатели при помощи комбинаций генетических фрагментов, регулирующих производство ферментов;
- глава 8 «Вы только вообразите это!» основана на применении методов моделирования, позволяющих понять и описать «систему фотосъемки бактерий», в которой бактерии играют роль пикселей на живой фотографии;
- глава 9 «Какой красочный мир!» рассказывает о роли тела-носителя в биологическом проектировании, сначала основываясь на нескольких дополнительных структурах для проектирования тела-носителя, а затем путем сравнения функций идентичных генетических программ в разных штаммах бактерии кишечной палочки *E. Coli*;
- глава 10 «Хлеб цвета золота» описывает ненадежную работу синтетической живой системы, а именно дрожжей, которые могут продуцировать прототип витамина А. Научные и инженерные эксперименты исследуют избыточность как способ понимания и совершенствования поведения клеток.

В конце книги представлены краткие инструкции по подготовке общих лабораторных реагентов, далее следует словарь терминов, используемых в книге.

Интернет-ресурсы

Настоящая книга лишь слегка приоткрывает завесу основного материала, который вы можете найти на веб-сайте BioBuilder. Если вам понравится книга, настоятельно рекомендуем посетить наш сайт biobuilder.org. Информация на сайте находится в открытом доступе и предоставляет следующее:

- динамические изображения, которые объясняют некоторые основополагающие концепции, представленные в этой книге;
- доступные для скачивания учебные слайды к лабораторным исследованиям и материалам, описанным в главах 5–10;
- видеоролики со снимками содержимого мониторов на наших конференциях по профессиональному развитию;
- практические советы по проведению экспериментов, включая краткие руководства и изображения, доступные для печати;
- портал для обмена и сравнения данных, собранных во время экспериментов, с другими пользователями;
- оценочные идеи и рубрики;

- информационные рассылки, позволяющие идти в ногу с постоянным обновлением контента и развитием сообщества BioBuilder.

Если вы хотите принять непосредственное участие в жизни проекта BioBuilder, на нашем сайте также есть следующая информация:

- ссылки на заказ наборов для проведения самих экспериментов;
- ссылки для регистрации на семинары BioBuilder;
- ресурсный сайт для педагогов «Biobuilder for Teachers» с дополнительными материалами контента BioBuilder для занятий;
- информация о клубе BioBuilder «BioDesign Club» – внеклассном варианте занятий, позволяющем донести материал до студентов.

Учебная программа и подготовка преподавателей от BioBuilder разрабатываются и поддерживаются некоммерческой организацией. Более подробная информация о BioBuilder Education Foundation, 501с (3), доступна на сайте biobuilder.org.

Выражаем благодарность

Написав эту книгу, мы попросили многих наших друзей и коллег дать рекомендации и отзывы. Они ответили с невероятной щедростью, и мы полагались на то, чему они нас учили. Мы признательны всем, а также выражаем особую благодарность Майклу Лукидесу (Michael Loukides) и Брайану Макдональду (Brian MacDonald) из О’Рейли (O’Reilly), благодаря идеологии и поддержке которых эта книга вышла в свет. Мы также хотим поблагодарить SynBERC за щедрую поддержку на ранних этапах работы, а профессора Сьюзан Маркузи (Prof. Susan Marqusee) и г-на Даниэля Грушкина (Mr. Daniel Grushkin) за то, что они познакомили нас с коллегами. Многие коллеги читали главы книги на самых ранних этапах, в том числе профессор Криштала Пратер (Kristala Prather) из Массачусетского технологического института и д-р Решма Шетти (Reshma Shetty) из Ginkgo Bio-works. Их взгляды были критически важны, поскольку мы успешно положили начало, а Решма на первых этапах вошла в команду O’Reilly, поэтому мы также благодарим ее за это. Доктор Меган Палмер (Dr. Megan Palmer) сформулировала наши мысли и помогла объяснить словами, что значит «благое дело» (данный материал доступен в главе по биоэтике). В ходе своей работы мы также задавали более целенаправленные вопросы некоторым экспертам. Д-р Джейсон Келли (Dr. Jason Kelly) и г-н Билл Бернс (Mr. Bill Burns) помогли в вопросах истории трансатлантического кабеля; д-р Барри Кантон (Dr. Barry Canton) направил наше обсуждение на проектирование тела-носителя; г-жа Сара Тиндаль (Sarah Tyndall) ответила на наши вопросы, связанные с измерением; а г-н Крис Браун (Mr. Chris Brown) ответил на ряд вопросов, связанных с использованием моделей в архитектуре.

Содержание BioBuilder было разработано в сотрудничестве с учителями старших классов и высших учебных заведений по всей стране. Все началось с преподавания на кафедре биологической инженерии в Массачусетском

технологическом институте (the Department of Biological Engineering at MIT), которая была основана в 2004 году, включая некоторые проектные и лабораторные занятия, совместно проводимые с профессором Дрю Энди (Prof. Drew Endy). Первоначальное распространение этой учебной программы в старших классах началось в сотрудничестве с г-ном Джимом Диксоном (Mr. Jim Dixon). Поскольку эта книга должна была стать полезной для учителей, мы получили много информации именно от педагогов. В частности, мы хотим поблагодарить доктора Веронику Зепеду (Dr. Veronica Zepeda), доктора Эллен Йоргенсен (Dr. Ellen Jorgensen) и доктора Оливера Медвика (Dr. Oliver Medvick) за анализ и проверку содержимого от начала до конца. Мы также благодарим г-жу Шерри Энни (Ms. Sherry Annee), доктора Мелиссу Ву (Dr. Melissa Wu), доктора Ревекки Равьяла (Dr. Rebekah Ravgiala), г-на Джорджа Качианеса (Mr. George Cachianes), г-на Аарона Матье (Mr. Aaron Mathieu), профессора Стефани Стоквелл (Prof. Stephanie Stockwell), доктора Дэвида Мангуса (Dr. David Mangus), доктора Сару Биссоннетт (Dr. Sarah Bissonnette), доктора Эдди Кима (Dr. Eddy Kim), профессора Сару Мур (Prof. Sarah Moore), г-жу Тэмми Дью Фей (Ms. Tammy Due Fay), доктора Стивена Нэгла (Dr. Steven Nagle), г-жу Самию Салем (Ms. Samia Saleem), доктора Джастина Пахара (Dr. Justin Pahara), г-на Уайта Маршалла (Mr. Wythe Marschall) и г-на Кевина Маккормика (Mr. Kevin McCormick).

Помимо наших замечательных семей, друзей и коллег, мы вчетвером благодарны друг другу. Эта книга – наша коллективная работа, и друг без друга у нас бы ничего не получилось.

Отзывы и пожелания

Мы всегда рады отзывам наших читателей. Расскажите нам, что вы думаете об этой книге – что понравилось или, может быть, не понравилось. Отзывы важны для нас, чтобы выпускать книги, которые будут для вас максимально полезны.

Вы можете написать отзыв прямо на нашем сайте www.dmkpress.com, зайдя на страницу книги, и оставить комментарий в разделе «Отзывы и рецензии». Также можно послать письмо главному редактору по адресу dmkpress@gmail.com, при этом напишите название книги в теме письма.

Если есть тема, в которой вы квалифицированы, и вы заинтересованы в написании новой книги, заполните форму на нашем сайте по адресу http://dmkpress.com/authors/publish_book/ или напишите в издательство по адресу dmkpress@gmail.com.

Скачивание исходного кода примеров

Скачать файлы с дополнительной информацией для книг издательства «ДМК Пресс» можно на сайте www.dmkpress.com или www.дмк.рф на странице с описанием соответствующей книги.

Список опечаток

Хотя мы приняли все возможные меры для того, чтобы удостовериться в качестве наших текстов, ошибки все равно случаются. Если вы найдете ошибку в одной из наших книг — возможно, ошибку в тексте или в коде, — мы будем очень благодарны, если вы сообщите нам о ней. Сделав это, вы избавите других читателей от расстройств и поможете нам улучшить последующие версии этой книги.

Если вы найдете какие-либо ошибки в коде, пожалуйста, сообщите о них главному редактору по адресу dmkpress@gmail.com, и мы исправим это в следующих тиражах.

Нарушение авторских прав

Пиратство в Интернете по-прежнему остается насущной проблемой. Издательства «ДМК Пресс» и O'Reilly очень серьезно относятся к вопросам защиты авторских прав и лицензирования. Если вы столкнетесь в Интернете с незаконно выполненной копией любой нашей книги, пожалуйста, сообщите нам адрес копии или веб-сайта, чтобы мы могли применить санкции.

Пожалуйста, свяжитесь с нами по адресу электронной почты dmkpress@gmail.com со ссылкой на подозрительные материалы.

Мы высоко ценим любую помощь по защите наших авторов, помогающую нам предоставлять вам качественные материалы.

ОСНОВЫ СИНТЕТИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ

Добро пожаловать в программу BioBuilder! Прекрасно, что вы хотите включить изучение методов синтетической биологии в учебный процесс. В Интернете можно найти множество методических материалов для начинающих: видеозаписи лабораторных занятий, слайды, учебники и рабочие тетради. В предлагаемом пособии изложены основополагающие идеи, составляющие каркас синтетической биологии, ее ключевые положения, которые необходимо знать при работе с программой BioBuilder, и некоторые полезные сведения, которые пригодятся вам при выполнении экспериментов.

В первой части пособия (главы 1–4) к рассмотрению предлагаются основные принципы синтетической биологии, ее отличия от «традиционной» биохимии и геномной инженерии, а также базовые технологические приемы, используемые при решении поставленных задач.

Что такое синтетическая биология?

В самом общем смысле специалисты в области синтетической биологии, или *биоинженеры-разработчики (биотехнологи)*, стремятся «доработать» живые клетки таким образом, чтобы они приобретали какие-нибудь новые полезные функции, например лечили болезни, реагировали на токсичные соединения в окружающей среде или производили нужные лекарства. Биоинженеры достигают этих результатов, изменяя ДНК организма таким образом, чтобы этот модернизированный организм вел себя, как говорится, «в соответствии со спецификацией», то есть делал именно то, что задумал разработчик (рис. 1.1).

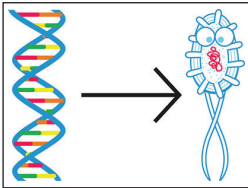


РИС. 1.1 Цели синтетической биологии. Биоинженеры редактируют молекулу ДНК (слева), чтобы заставить клетку или организм (справа) вести себя в соответствии с заданной спецификацией

Клетки похожи на сложные миниатюрные фабрики. ДНК обеспечивает «фабрику» инструкциями по изготовлению всех «станков», включая белки, другие нуклеиновые кислоты, многокомпонентные макромолекулярные комплексы и многое другое. Эти «станки» впоследствии обеспечивают функционирование клеток. Изначально присущая организму молекула ДНК гарантирует клетке возможность жить и размножаться. Специалисты в области синтетической биологии могут изменить молекулу ДНК таким образом, чтобы клетка обрела новые полезные функции. О том, как биотехнологи изменяют молекулу ДНК, более подробно рассказано далее в этой главе.

В идеале биоинженеры хотели бы создавать живые организмы «с нуля», используя специально подготовленную молекулу ДНК. Пока такой возможности нет. Сегодня большинство усилий направлено на изменение уже существующих организмов, а не на создание абсолютно новых, которые и вели бы себя по-новому. Современные биоинженеры научились редактировать отдельные фрагменты молекул ДНК и объединять их с ДНК существующей клетки или

организма. Такая новая клетка или организм начинает функционировать в соответствии с заданной спецификацией (рис. 1.2).

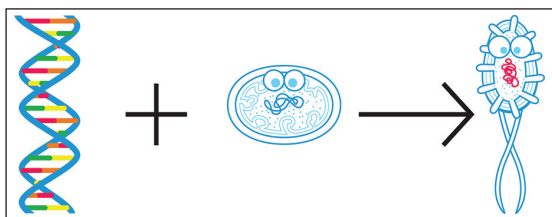


РИС. 1.2 Синтетическая биология сегодня. Отредактированный биоинженерами фрагмент ДНК (слева) объединяют с ДНК существующей клетки (в центре). В результате получают новую клетку, выполняющую заданную спецификацию (справа)

Синтетическая биология: возможности и опасения

Многие задачи, которыми занимается синтетическая биология, могут быть решены с помощью других инженерных дисциплин, например электротехнических и химических технологий или машиностроения, однако привлечение синтетической биологии дает ряд уникальных преимуществ.

Во-первых (и это самое удивительное), **клетки могут делать копии самих себя**. Автомобили не могут копировать себя – для их сборки нужен завод. Более того, некоторые организмы могут копировать себя невероятно быстро даже при минимуме питательных веществ. Например, в лабораторных условиях бактерия *E. coli* (кишечная палочка) способна размножаться и делиться примерно каждые 30 минут. Таким образом, использование синтетической биологии – это привлекательный подход для производства больших объемов конкретного продукта, поскольку можно вырастить запрограммированную клетку относительно легко даже при необходимости крупномасштабного производства. Клетки работают как «фабрики» и одновременно обеспечивают большую часть «производственной» инфраструктуры, которая потребовалась бы при других технологиях. Наконец, использование быстро делящихся клеток облегчает макетирование и тестирование, которые очень важны в биоинженерии на этапе проектирования, о чем более подробно разговор состоится чуть позже.

Во-вторых, **клетки обладают биологическим механизмом, способным решать многие сложные задачи**, например выполнять конкретные химические реакции, которые было бы непросто, если вообще возможно, реализовать иным способом. Клетки делают это с высочайшей точностью, которую трудно обеспечить средствами традиционного производства. Клетки на случай «поломки» обладают механизмами самовосстановления, по крайней мере до некоторой степени, что является невероятным преимуществом по сравнению с типичными производственными процессами в промышленности. Конечно же, с клетками сложно работать, и это необходимо учитывать, но потенциальная польза методов синтетической биологии огромна.

В-третьих, **синтетическая биология позволяет находить экологически чистые решения** многих сложных проблем. Побочные продукты биоинжене-

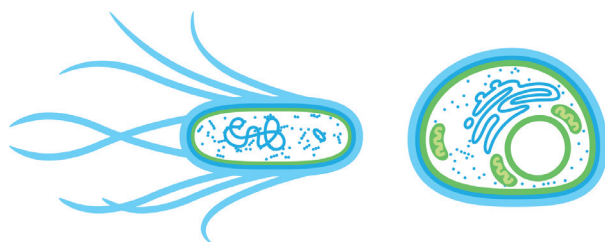
рии, как правило, нетоксичны, поскольку большинство токсичных соединений просто убило бы те самые клетки, которые выполняют нужную работу.

Использование естественных клеточных систем влияет также и на экономику производства. Современная промышленность потребляет много энергии, требует высоких температур и высокого давления и создает при этом значительные объемы экологически вредных отходов.

Помимо решения реально существующих проблем, **синтетическая биология предлагает фантастические возможности для изучения природных систем.** Анализируя все более сложные функции клеток, исследователи имеют возможность использовать синтетическую биологию для проверки множества гипотез. Например, если результаты биохимических исследований подводят к мысли, что определенный белок действует как своего рода включатель/выключатель, можно проверить это предположение, заменив этот белок другим, для которого такое поведение уже доказано. Если новая синтетическая система будет вести себя аналогично исходной системе, результат исследования послужит дополнительным доказательством справедливости выдвинутого предположения.

Возникает вопрос: достаточно ли наших знаний о клетках для того, чтобы их правильно проектировать, а если нет, **должны ли мы пытаться делать это? Синтетическая биология действительно порождает много проблем и справедливых опасений.** Да, электрическая лампочка и телеграф были спроектированы без полного понимания законов электричества, однако биоинженерия несет особые моральные и этические проблемы, выходящие за рамки тех, которые встречаются в традиционных областях техники. Например, молекула ДНК, которая была скрупулезно запрограммирована, может мутировать в результате эволюции и разрушить функцию клетки. Появление «синтетических» клеток в окружающей среде может представлять опасность, если они начнут взаимодействовать с существующими организмами в экосистеме не так, как ожидалось. Синтетическая биология порождает философские вопросы, если воспринимать клетки как крошечные живые машины, построенные для выполнения наших распоряжений. К любой технологии, требующей пересмотра нашего взаимодействия с миром природы, следует подходить осторожно. Разработчики биосистем, специалисты в области биоэтики и правительственные организации активно обсуждают эти проблемы и стремятся к тому, чтобы синтетическая биология делала наш мир лучше. Более подробно эти проблемы рассмотрены в главе «Основы биоэтики».

Синтетическая биология находится на начальной стадии развития. Сегодня ученые еще не способны конструировать организмы «с нуля», они работают главным образом в рамках существующих организмов. Исследования до сих пор проводились в основном на относительно простых одноклеточных организмах, таких как бактерии (*E. coli*) и дрожжи (*S. cerevisiae*), хотя уже достигнуты успехи и на более сложных системах, например на клетках растений и млекопитающих. Будем надеяться, что результаты применения синтетической биологии для проектирования сложных систем превзойдут наши ожидания по мере развития этой науки.



БАКТЕРИЯ

2–20 мкм

ДРОЖЖИ

1–100 мкм

Синтетическая биология как научно-техническая дисциплина

Подход к решению задач, используемый в синтетической биологии, близок к методам генной инженерии, когда исследователи вносят небольшие изменения в геном организма, например удаляют ген лабораторной мыши или добавляют ген человека дрозофиле, чтобы затем изучить поведение системы. Специалисты в области синтетической биологии используют многие инструменты генной инженерии, о чем более подробно будет сказано далее, но **синтетическая биология и генная инженерия одна от другой отличаются масштабами вносимых изменений**. Генные инженеры обычно вносят одно-два небольших изменения для исследования конкретной системы, тогда как специалисты синтетической биологии стремятся разработать новый геном или в значительной степени изменить существующий. Необычным, но наглядным примером масштаба воздействия синтетической биологии могло бы быть генетическое перепрограммирование генома дерева с целью вы-



ращивания полноценного жилого дома с помощью генетических инструкций, разработанных биоинженером. Такая система использовала бы естественную природу дерева (рост за счет питательных веществ, получаемых из окружающей среды) для нужд общества. Генное программирование дерева для превращения его в дом выходит далеко за пределы

масштабов традиционной генной инженерии, а также современных возможностей синтетической биологии.

Для реализации масштабных проектов биоинженеры создают инженерную дисциплину структурного проектирования, принципы которой изложены в следующем разделе. При этом они используют огромный объем знаний об устройстве и функционировании биологических систем, накопленный в биохимии, молекулярной биологии и генетике на протяжении многих лет. В частности, для синтетической биологии представляют интерес следующие научные результаты:

- достаточно хорошо описанные модельные системы (кишечной палочки, дрожжей, водорослей и различных типов клеток млекопитающих), которые обеспечивают обширную основу для исследований в рамках синтетической биологии;
- имеющиеся в наличии данные о секвенировании множества организмов, включающих бактерии, людей, комаров, кур, львов, мышей и многих-многих других существ, а также инструменты для их анализа и сравнения;
- инструменты для перемещения, изменения порядка и синтеза ДНК на молекулярном уровне с целью создания новых специфических последовательностей в составе ДНК.

Специалисты в области синтетической биологии используют эти открытия и наработки в качестве основы для своих методов решения реальных проблем. (Междисциплинарный характер синтетической биологии показан на рис. 1.3.)

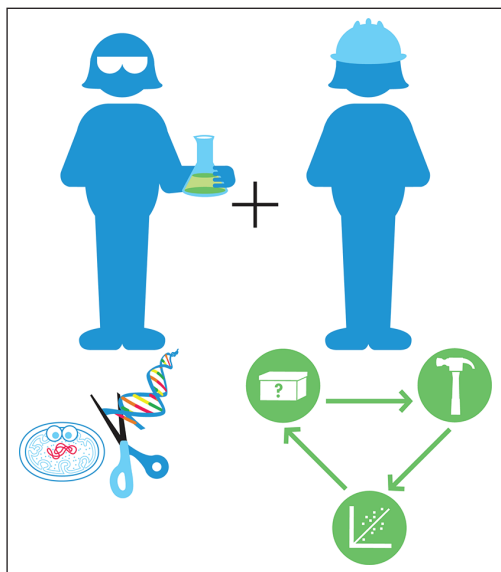


РИС. 1.3 Междисциплинарный характер синтетической биологии. Специалисты объединяют знания и обилие технологий молекулярной биологии (слева) с инженерными методами, включающими цикл проектирования – сборки – тестирования (справа), что является признаком инженерной дисциплины

Несколько предварительных слов о конструировании инженерных систем

Инженеры-конструкторы строят сложные системы, которые должны работать согласно проектной спецификации. Для достижения этой цели используется цикл, включающий три фазы: проектирование – сборка – тестирование, что позволяет быстро создавать прототипы и находить наиболее перспективное направление реализации проекта. Эта процедура напоминает труд ученого, при котором он циклически проходит через стадии гипотезы, эксперимента и анализа. Основное отличие инженера от ученого заключено в том, что научный метод направлен на понимание того, как в точности устроен и работает исследуемый объект, а при техническом подходе не важно, почему прототип работает, – важно, чтобы он работал в соответствии со спецификацией. Более подробно эти различия рассмотрены в главе «Основы биологического конструирования».

Но сначала очень простой пример наглядно покажет, как с помощью разных технических подходов можно решить проблему полива комнатных растений. Это поможет сформулировать ряд принципов проектирования и показать, как подобные концепции и методы работают в синтетической биологии.

«Традиционные» инженерные решения

Конечно, не все люди являются прирожденными цветоводами, иным нужна определенная поддержка, иначе их растения станут сухими и сморщенными. Инженер может предложить различные решения проблемы полива растений в зависимости от имеющегося производственного опыта. Например, инженер-механик может спроектировать горшок с округлым дном, вес которого распределен не симметрично. Когда резервуар на дне горшка наполнен водой, он действует как противовес грунта, и горшок стоит прямо. Когда растение поглощает воду, действие противовеса ослабевает, и горшок наклоняется в сторону. Этот визуальный индикатор мог бы напоминать владельцу о том, что растение нуждается в поливе. Возможно, наклоненный горшок сможет даже самостоятельно открыть водопроводный кран. За счет добавления обратной связи горшок будет возвращаться в прямое положение после полива, то есть создается система управления с замкнутым контуром.

Одно из возможных осложнений такого решения заключается в том, что



некоторым растениям требуется больше воды, чем другим, поэтому такому инженеру придется изготовить множество горшков с разными емкостями для воды в нижней части, а цветоводам необходимо будет предварительно убедиться, что они покупают «правильный» горшок для своих растений. Подобный анализ является неотъемлемой

частью процесса проектирования. Ни один проект не идеален, и важно понимать сильные стороны, а также ограничения предлагаемого варианта, чтобы для реализации найти наилучший.

Инженер-электрик может придумать совершенно другое решение, например использовать электрические датчики влажности и автоматический полив. Эта система может состоять из множества электронных компонентов: проводов, резисторов, конденсаторов, датчиков влажности, печатных плат и прочих компонентов. Они будут работать как единое целое и, отслеживая состояние грунта, определять, когда растения нуждаются в воде, включая полив при необходимости.

Такое электротехническое решение требует стандартизации, как это принято при инженерном подходе, и в следующей главе этот вопрос будет обсужден. В рассматриваемом же проекте каждый электронный компонент имеет свое назначение и соответствует отраслевому стандарту, что позволяет легко и надежно соединять компоненты между собой, не нарушая их функциональных возможностей. Стандартизация упрощает проектирование, поскольку инженеру известно, как работают отдельные компоненты и как их соединить, чтобы получить желаемый результат. Производство тоже становится проще, поскольку фабрики могут выпускать миллионы одинаковых резисторов для сборки миллионов всевозможных устройств. Такого уровня стандартизации синтетическая биология еще не достигла, однако стремится развиваться в этом направлении.



Инструменты традиционных проектов

Два примера «традиционных» технических решений полива растений показывают, что даже для относительно простых задач могут быть предложены разные проекты. Выбор подхода в значительной степени продиктован набором инструментов, доступных в рамках каждой инженерной дисциплины. В любом проекте задействовано некоторое количество исходных компонентов из имеющегося набора, например гайки и болты, которые нужно соединить, а также ряд приспособлений для используемых способов сборки, например молотки и отвертки. Идеи и концепции, присущие данному полю деятельности, также включают в набор инструментов. В рамках одной дисциплины элементы используемого набора инструментов отличаются, но совсем немного. Например,

инженер-механик работает с материалами, которые обладают различными свойствами (металл, пластик, бетон и т. д.), и применяет к ним соответствующие инструменты и способы обработки (пилу, электросварку и пр.). Теоретической основой в этой конструкции является гравитация.

У инженера-электрика совершенно другой набор инструментов. Исходными компонентами в этом случае будут провода, резисторы, конденсаторы и печатные платы. Для того чтобы создавать эти компоненты и собирать из них готовые изделия, разработаны особые технологические процессы. В таком варианте теоретическим основанием является современное знание явлений природы и умение обращаться с электрическими сигналами.

Чтобы синтетическая биология стала полноценной инженерной дисциплиной, ученые должны определить набор используемых инструментов. Подобно ситуации в машиностроении и электротехнике, этот набор будет включать исходные компоненты, которые необходимо собрать вместе, и методы их сборки. Естественно, элементы этого набора будут иметь прямое отношение к биологии. Многие инструменты синтетическая биология заимствовала из молекулярной биологии. В следующем разделе будут рассмотрены некоторые элементы из ранее сформированных наборов, а также их реализация в наборе инструментов синтетической биологии.

Инструменты синтетической биологии

Для знакомства с набором инструментов синтетической биологии представим, как к проблеме полива растений могут подойти биологи. Вообще говоря, они могли бы использовать генетику для изменения самих растений. Этот подход может принимать разные формы. Например, известен ген хамелеона, который отвечает за изменение цвета в ответ на проявление стрессового состояния. Этот ген мог бы быть вставлен в растение, и тогда оно меняло бы цвет, извещая о необходимости полива. Подобный визуальный индикатор аналогичен решению инженера-механика с опрокидыванием горшка, напоминая владельцу, что растение нуждается в воде.

Можно, к примеру, придумать биологическое решение, похожее на электротехническое тем, что полностью освобождает цветовода от забот о поливе. Что, если выделить один или два гена кактуса или, что еще забавнее, верблюда, помогающие этим организмам противостоять дефициту воды в пустыне? Такие гены, вставленные в растение, помогли бы ему выжить даже при очень малом количестве воды.

Для реализации этих решений можно применить методы современной молекулярной биологии, но подобные небольшие модификации не решают задачу синтетической биологии, которая состоит в масштабных геномных преобразованиях, результатом которых, например, может быть «выращивание» из семени жилого дома с мебелью. Такой грандиозный проект требует полного

комплекта инженерных инструментов, куда для начала можно включить и инструменты уже освоенных областей молекулярной биологии и геномной инженерии.

Инструменты молекулярной биологии

Специалисты в области молекулярной биологии уже много лет разрабатывают различные методы воздействия на молекулу ДНК. В синтетической биологии широко используются следующие три наиболее важных и хорошо зарекомендовавших себя метода:

- чтение кода ДНК;
- копирование существующих последовательностей ДНК;
- вставка определенных последовательностей ДНК в существующие цепочки ДНК.

Эти методы хорошо зарекомендовали себя в течение многих лет в молекулярной биологии, и исследователи продолжают разрабатывать новые технологии, обеспечивающие повышение качества результатов. Биохимики Фредерик Сенгер (Великобритания) и Вальтер Гилберт (США) предложили в 1977 году надежный метод *секвенирования* ДНК с помощью химической дегградации цепи, что позволило точно установить место гуанина (Г), аденина (А), тимина (Т) и цитозина (Ц) в длинных цепях ДНК. Копирование существующих последовательностей ДНК в лабораторных условиях началось в 1983 году, когда биохимик Кэри Муллис (США) разработал *полимеразную цепную реакцию* (ПЦР). ПЦР является важным методом исследования, суть которого заключается в использовании клеточного белка для копирования ДНК и генетического образца (биологического материала) для увеличения малых концентраций определенных фрагментов ДНК. И наконец, в 1970-х годах американские ученые Пол Берг, Стэнли Коэн и Герберт Бойер открыли метод получения *рекомбинантной ДНК* (рДНК), с помощью которого исследователи могут легко и точно комбинировать последовательности ДНК из разных источников и от различных организмов. Метод основан на использовании природных ферментов, называемых *рестриктазами*, которые «режут» ДНК на определенные последовательности. Источником идеи послужили природные клеточные процессы, что отражено в табл. 1.1.

Таблица 1.1. Инструменты молекулярной биологии и природные источники их происхождения

Инструмент	Метод молекулярной биологии	Естественный клеточный процесс
Чтение ДНК	Секвенирование	Репликация ДНК
Копирование цепочек генов ДНК	ПЦР	Репликация ДНК
Вставка цепочек генов в ДНК	рДНК с использованием рестрикционных ферментов и лигаз	Защита от инфекции, рекомбинация и восстановление ДНК

Конец ознакомительного фрагмента.

Приобрести книгу можно

в интернет-магазине

«Электронный универс»

e-Univers.ru