Verscheidenheid aan subdisciplines

Hoewel synthetische biologie een jonge wetenschap is, kunnen we nu al diverse subdisciplines onderscheiden met elk hun eigen doelstellingen en specificiteit: bioblokken (biobricks), synthetische metabole reactieketens, minimale genomen en protocellen, en niet-natuurlijke biocomponenten, synthetische ecosystemen en bionanotechnologie. [i]

BIOBLOKKEN OF BIOBRICKS

Als geen ander draagt dit subdomein de ingenieursmentaliteit van synthetische biologie in zich. Het uitgangspunt is dat elk biologisch systeem of elk biologisch proces kan teruggebracht worden tot een reeks geschakelde, modulaire componenten. In omgekeerde richting kunnen deze systemen en processen opnieuw worden geassembleerd uitgaande van een reeks gestandaardiseerde basisbouwstenen en componenten. De analogie met de ICT-wereld ligt voor de hand: eender welke mp3-speler, 'smartphone', computer of 'tablet' is opgebouwd uit een hiërarchische structuur van transistors, chips en modules. Deze componenten zijn uitwisselbaar. Een gelijkaardige benadering kan ook worden toegepast in de biologie.

In dit perspectief is het interessant om gebruik te maken van lijsten of bibliotheken met standaardcomponenten. In 2003 nam het Massachusetts Institute of Technology (MIT) in Boston (VS) het initiatief voor een dergelijke bibliotheek. In het jargon van de synthetisch bioloog worden deze componenten 'biobricks' of 'bioblokken' genoemd. Ze bestaan uit DNA-sequenties en zijn ontworpen om met elkaar gekoppeld te worden in levende cellen zodat nieuwe biologische systemen, processen of functies ontstaan. Verder verwijst de term biobrick expliciet naar een 'open source' genetisch onderdeel waarvan de structuur deels wordt vastgelegd via een technische standaard opgelegd door de BioBricks Foundation.[ii]

- ### PARTS, DEVICES EN SYSTEMS

Inmiddels telt het register vele duizenden biobricks en worden ze onderverdeeld in drie niveaus: 'parts', 'devices' en 'systems'. 'Parts' zijn de bouwblokken die coderen voor een welbepaalde functie (bv. de aanmaak van een bepaald eiwit of een bindingsplaats voor een regulerend eiwit of een polymerase-eiwit). 'Devices' zijn samengesteld uit 'parts'. Ze voeren een door de ontwerper gekozen functie uit (bijvoorbeeld een fluorescent eiwit aanmaken van zodra een bepaalde chemische stof in het milieu aanwezig is). Een 'system' voert dan weer een taak uit op een hoger niveau (bv. met een vastgelegde frequentie oscilleren tussen de productie van twee kleurstoffen).

Gekoppeld aan de biobricks is er de spraakmakende iGEM-competitie. iGEM, wat staat voor 'International Genetically Engineered Machine', wordt jaarlijks door het MIT georganiseerd en geeft aan studenten de kans om met behulp van bestaande biobricks, eventueel aangevuld met eigen ontworpen componenten, een nieuw biologisch systeem te bouwen dat functioneert in een levende cel. Een voorbeeld van zo'n systeem, ED Frosti, ontworpen door studenten van de KU Leuven, vindt u terug op pagina XXX.

- ### TOEPASSING

Er zijn diverse potentiële toepassingsgebieden voor dit domein. Een van de mogelijkheden is de ontwikkeling van biosensoren om signalen uit het milieu op te vangen en te vertalen in een cellulaire respons. Dit kan zijn het uitzenden van een signaal (bv. een kleurreactie) of zelf actie ondernemen (bv. het vrijzetten van een geneesmiddel in het lichaam van een patiënt).

Synthetische biochemische reactieketens

De biochemische en genetische eigenschappen van natuurlijk levende organismen hebben zich onder de selectieve druk van hun natuurlijke omgeving ontwikkeld tot wat ze vandaag zijn. Een evolutionair proces dat overigens ook nu nog doorgaat. Synthetisch biologen hopen om in de toekomst in

organismen hele nieuwe biosynthetische reactieketens in te planten die in de natuur niet voorkomen. Het prototype van deze soort van metabole engineering is de synthese van het antimalariamiddel artemisinine door bacteriën en gisten.

- ***Artemisinine***

Van artemisinine ontdekte men in 1972 dat het werkt als geneesmiddel tegen malaria. De stof wordt gewonnen uit de plant zomeralsem (*Artemisia annua*), een kruid dat in de traditionele Chinese kruidengeneeskunde al honderden jaren in gebruik is. Helaas is de opbrengst van artemisinine uit de natuurlijke plant beperkt. Een malariabehandeling op basis van artemisinine is daardoor tien keer duurder dan een behandeling op basis van conventionele geneesmiddelen.

Dankzij steun van de 'Bill en Linda Gates Foundation' slaagde de Amerikaanse wetenschapper Jay D. Keasling en zijn bedrijf Amyris Biotechnologies erin om een reeks genen van de zomeralsem over te planten in *Saccharomyces cerevisiae* of bakkersgist. De genetisch aangepaste gistcel produceert een voorlopermolecule van artemisinine in relatief hoge concentraties – tot 100 mg per liter gistcultuur. Dit voorlopermolecule kan via een chemische stap gemakkelijk worden omgezet naar artemisinine.

De productie-efficiëntie is ondertussen verder opgevoerd waardoor de kostprijs van het malariageneesmiddel met een factor tien kon dalen. Om de technologie verder op te schalen, verleende Amyris Biotechnologies een royalty-vrije licentie aan OneWorld Health en Sanofi-Aventis, die het 'synthetisch biologisch'-geneesmiddel op de markt hebben gebracht.[iii]

- ***Van spindraad over biodiesel tot plastic***

Andere voorbeelden van biochemische engineering zijn de productie van het antikankermiddel taxol door de gist *Saccharomyces cerevisiae,* het maken van een voorloper voor spinzijdedraad in de bacterie *Salmonella typhimurium*, de aanmaak van biobrandstoffen in gist en algen, en de synthese van het hormonale geneesmiddel hydrocortison uit suiker.

MINIMALE GENOMEN EN PROTOCELLEN

Wij mensen stellen het in elk van onze cellen met ongeveer 20 000 genen. Dat is niet zo verschillend van de doorsnee-vlieg, -muis of -aap en zelfs behoorlijk minder dan de meeste planten. Micro-organismen slagen erin om te leven op basis van slechts een paar duizend genen. Het kan echter met nog veel minder. Dat toonde de Amerikaanse genoompionier Craig Venter al aan in 1995. Zijn team ontdekte dat de kampioen van het minimale natuurlijke genoom *Mycoplasma genitalium* was met amper 482 genen.[iv] Het micro-organisme leeft als een parasiet in zoogdieren, en krijgt daarom veel bouwstoffen kant-en-klaar aangeleverd van zijn gastheer.

- EERSTE SYNTHETISCH LEVEN?

Deze minimale genomen gebruikte Venter als basis voor de constructie van de eerste 'synthetische bacterie', of wat daarvoor moet doorgaan. Het team van Venter haalde in mei 2010 de krantenkoppen met deze bacterie. De Amerikaanse onderzoekers hadden kleine stukjes DNA chemisch aangemaakt. Vervolgens hadden ze die DNA-fragmenten aan elkaar geplakt tot een compleet bacterieel genoom wat ze hadden ingebracht in een 'lege' bacterie, d.i. een bacterie waarvan ze eerst het eigen genetisch materiaal hadden verwijderd. Het resultaat was een levende en zich vermenigvuldigende bacterie, die het synthetisch aangemaakte genoom gebruikte om te overleven en te delen.

Venters critici – en die zijn er nogal wat – minimaliseren de doorbraak. Ze stellen dat Venter een levende bacterie nodig had om zijn synthetisch genoom tot leven te wekken. Zonder dat bacteriële 'chassis' was het synthetische genoom nooit vertaald geraakt en had het zich niet kunnen vermenigvuldigen. 'Alsof je beweert een nieuwe auto te bouwen, maar wel een oud koetswerk gebruikt en alleen de motor vervangt', luidde hun kritiek. Bovendien heette Venters kunstmatige bacterie nog ver verwijderd te zijn van het synthetische leven dat andere onderzoekers voor ogen hadden. Het gesynthetiseerde DNA was immers quasi volledig gelijk aan het DNA van een al

bestaande bacteriesoort, *Mycoplasma mycoides*, een halfbroertje van het eerder genoemde *Mycoplasma genitalium*. De onderzoekers hebben het kunstmatige genoom dus niet zelf ontworpen, maar bijna letterlijk overgenomen uit de natuur. Dit is dus 'nog' geen 'echte' synthetische biologie. Niettemin is iedereen het erover eens dat het team van Venter een huzarenstukje voor elkaar heeft gebracht dat geboekstaafd zal blijven als een mijlpaal in de geschiedenis van de synthetische biologie.

- TOEPASSING

Met de kennis vergaard over minimale genomen hopen synthetisch biologen celfabrieken te bouwen. De output van de fabrieken zal afhangen van welke genen er worden toegevoegd aan een basisbacterie met een minimaal genoom.

- PROTOCELLEN

In tegenstelling tot de minimale genomen, die in wezen een top-down benadering is, trachten andere onderzoekers *de novo* synthetische cellen te bouwen op basis van geprogrammeerd chemisch design. Dit betekent dat ze eenvoudige, 'levende eenheden' willen vervaardigen uit een combinatie van organische en niet-organische uitgangsmaterialen. In deze pure bottom-up benadering worden biomoleculen als vetten, DNA en eiwitten samengebracht waardoor niet alleen moleculaire processen als transcriptie, translatie en replicatie plaatsgrijpen, maar de bio-aggregaten ook autonoom aangroeien en delen. Kortom dat deze aggregaten kenmerken van 'leven' vertonen. Leven wordt dan omschreven met eigenschappen als zichzelf herstellend, opbouwend, reproducerend en handhavend onder evolutionaire druk'. [v]

Deze fundamentele levenseenheden kunnen gezien worden als een soort voorlopers van natuurlijke cellen, vandaar de naam 'protocellen'. In tegenstelling met de 'minimale genoom'-benadering, die grotendeels bevolkt wordt door moleculair biologen, wordt de 'protocelgemeenschap' sterk gedomineerd door chemici, fysici en bio-informatici.

Een grote uitdaging voor de protocelbenadering vormt het creëren van een semidoorlaatbare barrière tussen de binnen- en de buitenzijde van hun bio-aggregaten. Immers de membranen van natuurlijke cellen, die uit gelijkaardige vetmantels zijn opgebouwd als de liposomen die protocelbouwers voor ogen hebben om te gebruiken, zitten tjokvol poorten en sluizen waarlangs kleine moleculen (bv. voedingsstoffen, afvalstoffen) naar binnen of buiten worden gebracht. Zonder deze uitwisseling met de buitenwereld valt het systeem onherroepelijk stil. Maar ook hierin wordt steeds meer succes geboekt: sommige wetenschappers creëerden kunstmatige membranen met poriën die door licht werden gecontroleerd [vi], anderen bouwden liposomen waarin ze de productie van eiwitten gedurende meerdere dagen aan de gang konden houden. [vii]

- TOEPASSINGSGEBIED

Het protocelmodel wordt door sommigen gezien als een miniatuurlaboratorium voor het bestuderen en/of gecontroleerd uitvoeren van complexe chemische reacties. De natuur dient hierbij als leidraad. De discipline vraagt een integratie van lipidenmetabolisme (de 'vetdruppeltjes' vormen de fysieke basis van het laboratorium), het opslaan en vertalen van genetische informatie (dit staat voor het zelfbouwend en zelfreproducerend karakter), het op gang brengen en in de hand houden van een evenwichtig reductie-/oxidatiemetabolisme (dit vormt de basis van de energievoorziening) enzovoort. Het doel is op methodologisch vlak de complexiteit van chemische processing en engineering op hetzelfde niveau te brengen als waarop deze zich afspelen in de natuurlijke cel. Een natuurlijk laboratorium, vormgegeven door miljoenen jaren evolutie, waarvan chemische en andere wetenschappers nog heel wat kunnen leren.

NIET-NATUURLIJK DNA EN EIWITTEN

Het ontwerp en de productie van biologische componenten en systemen die niet bestaan in de natuur, is een van de belangrijkste kenmerken van synthetische biologie. Sommige synthetisch

biologen nemen dit kenmerk zelfs heel letterlijk: ze trachten biomoleculen te bouwen – waaronder DNA, RNA en eiwitten – die bestaan uit niet-natuurlijke basiscomponenten. Vandaag zijn die basiscomponenten voor alle levende wezens op aarde gelijk. DNA is steevast opgebouwd uit een alfabet van vier bouwstenen (A, G, C, T), evenzo bestaat elk natuurlijk eiwit uit een aaneenrijging van maximaal 20 verschillende aminozuren. [viii]

Maar onderzoekers hebben op allerlei manieren geëxperimenteerd om het natuurlijke systeem zodanig te veranderen dat ook aminozuren in eiwitten kunnen worden ingebouwd, die niet in de natuur voorkomen. Tot nu toe hebben ze al meer dan zeventig van dergelijke 'onnatuurlijke' aminozuren ingepast in een scala aan eiwitten. [ix] [x] Een gelijkaardige benadering bestaat erin om ook aan het DNA-alfabet enkele exotische, niet-natuurlijke letters toe te voegen. Hierdoor ontstaan chromosomen met een ruggengraatstructuur die verschillend is van natuurlijk DNA, maar die toch dezelfde informatiecapaciteit behoudt. We spreken in dit verband van XNA, van xeno-nucleïnezuur.

KUL-onderzoekers Piet Herdewijn [xi] [xii] [xiii] en Johan Robben [xiv] leggen zich toe op deze tak van de synthetische biologie. Recent nog publiceerde Piet Herdewijn samen met Engelse collega's een spraakmakend artikel in het prestigieuze tijdschrift Science.[xv]

- TOEPASSINGSGEBIED

De Weense onderzoeker Markus Schmidt noemt XNA de ultieme 'biosafety' barrière. [xvi] Organismen waarvan het genetisch materiaal een reeks structurele chemische wijzigingen heeft ondergaan, kunnen geen genetisch materiaal uitwisselen met natuurlijke organismen. Deze natuurlijke organismen zouden het vreemde genetisch materiaal immers niet kunnen kopiëren of vertalen in eiwitten. Dit gebrek aan 'match' wordt gezien als een technische oplossing om een genetische veiligheidsmuur op te trekken tussen de natuurlijke wereld en de synthetisch biologische wereld (Zie ook 'De *E. coli* van de toekomst', pag. XXX).

SYNTHETISCHE ECOSYSTEMEN – SAMEN STA JE STERKER

Micro-organismen die in staat zijn om samenlevingsgemeenschappen of consortia te vormen met andere stammen en species, hebben een grotere overlevingskans, slagen erin om een breed scala aan suikers en andere voedingsstoffen efficiënter te verbranden en weten zich beter aan te passen aan veranderende omgevingscondities.[xvii] [xviii] Blijkbaar vormt de specialisatie van elke soort, gecombineerd met een vorm van onderlinge uitwisseling van signalen en metabole tussenproducten, een meerwaarde voor de hele kolonie. Het is een fenomeen dat bijvoorbeeld bij waterzuivering of het opruimen van toxische stoffen, waaronder verontreiniging met olie, maar al te goed gekend is. Consortia van micro-organismen vervullen deze taken veel efficiënter dan monoculturen.

- SYNTHETISCHE COMMUNICATIE

Carolyn Lam en Victor Martins dos Santos van de 'Systems and Synthetic Biology Group' aan het 'Helmholtz Centre for Infection Research' in Duitsland zien in deze samenwerkende vennootschappen van micro-organismen een opkomend veld in de synthetische biologie. [i] Volgens hen kan technologisch ingrijpen in dergelijke consortia leiden tot synthetische ecosystemen met een veel hogere efficiëntie dan natuurlijke consortia.

Het onderzoek in dit domein spitst zich in hoofdzaak toe op de ontrafeling van de natuurlijke communicatiemechanismen tussen cellen en op het kunstmatig ingrijpen in die systemen. Vandaag al leidde dit tot op maat ontworpen communicatiesystemen tussen twee of meer micro-organismen die elkaar hierdoor in een groei-evenwicht houden. [xix] Ook werden al natuurlijke ecosystemen nagebootst waaronder symbiose, parasitisme of oscillerende rover-prooi relaties.[xx] [xxi]

- TOEPASSINGSGEBIEDEN

Hoewel dit domein nog in de kinderschoenen staat, zit er volgens sommigen flink wat toekomst in synthetische microbiële consortia. Vooral als het gaat om complexe biologische processen waar elke stap een specifieke micro-omgeving vraagt of een hoge mate van specificiteit. Voorbeelden van

mogelijke toepassingen liggen bij de afbraak van toxische polluenten (bv. olievervuiling) die met bestaande natuurlijke organismen moeilijk op te ruimen zijn. [xxii]

Hoewel voor vrijwel alle toepassingsgebieden van synthetische biologie geldt dat ze speculatief van aard zijn, menen sommige experts dat dit zeker het geval is voor synthetische ecosystemen. Vooral omdat het zeer lastig te voorspellen is hoe dergelijke synthetische ecosystemen zich zullen gedragen in een groot natuurlijk ecosysteem.

BIONANOTECHNOLOGIE

Nanotechnologie, het maken van systemen op moleculair of zelfs atomair niveau, is een nieuwe wetenschappelijke discipline, maar is weliswaar al ouder dan de synthetische biologie. De European Academies Science Advisory Council (EASAC) geeft bionanowetenschap een prominente plaats binnen de synthetische biologie. Als argument haalt EASAC aan dat de biologische moleculaire motoren[xxiii] [xxiv] [xxv] ontworpen door nanotechnologen een vanzelfsprekende betekenis hebben voor elke wetenschapper die zich bezighoudt met het synthetiseren van levende systemen. Bovendien zal de bionanotechnologie nog tal van andere moleculaire instrumenten kunnen aanleveren voor toepassingen in biosensing en biokatalyse.

- ### ZINLOZE DEMARCATIE

EASAC maakt in haar rapport echter wel de bedenking dat het lastig en wellicht zelfs zinloos is om een precieze demarcatie aan te brengen tussen welke benaderingen toehoren aan het domein van de synthetische biologie en welke aan bionanotechnologie. De overlap tussen beiden is zo groot dat een afbakening onmogelijk is en wellicht zullen beide domeinen in de toekomst nog verder met elkaar verweven raken.

Of bionanotechnologie dan wel boven- of ondergeschikt is aan synthetische biologie lijkt eveneens een zinloze semantische discussie. Enerzijds kunnen nanotechnologen moleculaire motoren en andere instrumenten leveren om in te bouwen in het cellulaire chassis ontworpen door synthetisch biologen (zie sectie ‘minimale genomen’ en ‘protocellen’), anderzijds is het de algemene opvatting dat synthetische biologie de kennis en instrumenten kan leveren die nodig zijn voor een meer systematische ontwikkeling van de bionanotechnologie. Of zoals MIT-ingenieur Tom Knight, bedenker van het BioBrick-concept, ooit stelde: “Biologie is een vorm van nanotechnologie die werkt”, waarbij hij aangeeft dat het wijzigen van organismen de snelste weg is naar de productie van materialen en systemen op moleculaire schaal.

---

[i] Lam CMC, Godinho M, Martins dos Santos VAP. An introduction to synthetic biology. In Schmidt M et al. (eds.), Synthetic Biology, Springer Science+Business Media, 2009. 26.
[ii] BioBricks Foundation, http://biobricks.org/
[iii] Sanofi-aventis website. Press Release. OneWorld Health, Amyris Biotechnologies and Sanofi-aventis announce development agreement for semisynthetic artemisinin. 3 maart 2008.
[iv] Fraser CM, et al. The minimal gene complement of Mycoplasma genitalium. Science. 20 October 1995;270(5235):397-403.
[v] Rasmussen S, Chen L, Deamer D, Krakauer DC, Packard NH, Stadler PF, Bedau MA. Evolution. Transitions from nonliving to living matter. Science. 12 februari 2004;303(5660):963-5.
[vi] Koçer A, Walko M, Feringa BL. Synthesis and utilization of reversible and irreversible light-activated nanovalves derived from the channel protein MscL. Nat Protoc. 2007;2(6):1426-37.
[vii] Mansy SS, Schrum JP, Krishnamurthy M, Tobé S, Treco DA, Szostak JW. Template-directed synthesis of a genetic polymer in a model protocell. Nature. 3 juli 2008;454(7200):122-5.
[viii] Zie voor basisinformatie de webpagina’s: DNA (http://nl.wikipedia.org/wiki/Desoxyribonucle%C3%AFnezuur) en Aminozuren (http://nl.wikipedia.org/wiki/Aminozuur).
[ix] Hartman MC, Josephson K, Lin CW, Szostak JW. An expanded set of amino acid analogs for the ribosomal translation of unnatural peptides. PLoS One. 3 oktober 2007;2(10):e972.
[x] Liu CC, Schultz PG. Adding new chemistries to the genetic code. Annu Rev Biochem. 2010;79:413-44.
[xi] Herdewijn P, Marlière P. Toward safe genetically modified organisms through the chemical diversification of nucleic acids. Chem Biodivers. Juni 2009;6(6):791-808.
[xii] Herdewijn P. Nucleic acids with a six-membered 'carbohydrate' mimic in the backbone. Chem Biodivers. 7 januari 2010;7(1):1-59.

[xiii] Herdewijn P. TNA as a Potential Alternative to Natural Nucleic Acids. Angew Chem Int Ed Engl. 18 juni 2001;40(12):2249-2251.
[xiv] Doctoraatsproject Wouter Delespaul, hoofdpromotor Johan Robben, Xeno-nucleïnezuurpolymerasen door gerichte evolutie.
[xv] Pinheiro VB, et al. Synthetic genetic polymers capable of heredity and evolution. Science. 20 april 2012; 336: 341-344.
[xvi] Schmidt M. Xenobiology: a new form of life as the ultimate biosafety tool. Bioessays. April 2010;32(4):322-31.
[xvii] Zwolinski, Harris RF, Hickey WJ. Microbial consortia involved in the anaerobic degradation of hydrocarbons. Biodegradation. 2000;11(2-3):141-58.
[xviii] Eiteman MA, Lee SA, Altman E. A co-fermentation strategy to consume sugar mixtures effectively. J Biol Eng. 27 februari 2008;2:3.
[xix] Balagaddé FK, Song H, Ozaki J, Collins CH, Barnet M, Arnold FH, Quake SR, You L. A synthetic Escherichia coli predator-prey ecosystem. Mol Syst Biol. 2008;4:187.
[xx] Weber W, Daoud-El Baba M, Fussenegger M. Synthetic ecosystems based on airborne inter- and intrakingdom communication. Proc Natl Acad Sci U S A. 19 juni 2007;104(25):10435-40.
[xxi] Weber W, Fussenegger M. Design of synthetic mammalian quorum-sensing systems. Methods Mol Biol. 2011;692:235-49.
[xxii] Brenner K, You L, Arnold FH. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. Trends Biotechnol. 2 september 2008;26(9):483-9.
[xxiii] Goel A, Vogel V. Harnessing biological motors to engineer systems for nanoscale transport and assembly. Nat Nanotechnol. augustus 2008;3(8):465-75.
[xxiv] van den Heuvel MG, Dekker C. Motor proteins at work for nanotechnology. Science. 20 juli 2007;317(5836):333-6. Review.
[xxv] Browne WR, Feringa BL. Making molecular machines work. Nat Nanotechnol. Oktober 2006;1(1):25-35. Review.