

Xenobiología: una nueva forma de vida o la última trinchera en bioseguridad

Markus Schmidt

The best way to predict the future is to create it. (La mejor manera de predecir el futuro es crearlo)

Peter Drucker

It is when we all play safe that we create a world of utmost insecurity. (Es cuando jugamos de forma segura que creamos un mundo con la mayor de las inseguridades)

Dag Hammarskjöld

INTRODUCCIÓN

En las escuelas de todo el mundo los estudiantes aprenden que los secretos de la vida están codificados en la molécula de ADN. La ortodoxia científica es una gran creyente en el ADN como almacén estable de información genética. Y es que el objetivo último de la investigación en biología contemporánea ha sido comprender y modificar este binomio monolítico. Sin embargo, algunos científicos han empezado a buscar alternativas al mismo. Pertenecientes a áreas científicas aparentemente muy diversas, su búsqueda de la diversidad bioquímica obedece a diferentes motivos.¹⁻³ Las áreas de conocimiento en cuestión incluyen: origen de la vida, exobiología, química de sistemas y biología sintética.

Los antiguos griegos, incluyendo Aristóteles, creían en la *generatio spontanea*: la creencia de que la vida podía aparecer abruptamente a partir de la materia inanimada y de que esto podía ocurrir continuamente, a diario. La generación espontánea, sin embargo, fue descartada finalmente por los experimentos de Pasteur, cuyos resultados empíricos demostraron que los organismos modernos no emergen espontáneamente en la naturaleza a partir de la materia inerte. Sin embargo, la abiogénesis ha debido tener lugar al menos una vez sobre la Tierra

hace 4.000 millones de años, dando lugar al último ancestro común universal (LUCA, por sus siglas en inglés). El perfil genético de este LUCA debe haber estado basado en ADN de cuatro bases que formarían tripletes, codones codificantes para 20 aminoácidos.^{4,5} La comunidad científica que se ocupa del origen de la vida intenta comprender los procesos de la abiogénesis que hicieron que LUCA (y todas las formas de vida sobre el planeta) usara esta química y estos códigos en particular para almacenar la información genética. ¿Por qué sucedió así y no de otro modo? Algunos investigadores han llegado a proponer la idea de que podrían existir formas de vida más exóticas. Esta hipotética «vida extraña» podría ser un vestigio de una abiogénesis distinta (más temprana o más tardía). En caso de existir, se la podría distinguir por su dependencia de procesos químicos, bloques de construcción bioquímicos, códigos o metabolismo diferentes de los actuales. Los astrobiólogos, a diferencia de la comunidad de estudiosos del origen de la vida que se ocupa del estudio de la de nuestro planeta, buscan formas de vida (inusuales) más allá de la Tierra. Son bien conocidas las noticias sobre la búsqueda de inteligencia extraterrestre en el Universo (proyecto SETI): el rastreo de señales de formas de vida extraterrestres capaces de enviar dichas señales a través del espacio. Mientras tanto, hay un aspecto menos conocido de la astrobiología. Esta segunda área de estudio, denominada exobiología, tiene como objetivo identificar, en el sistema solar, evidencias de vida no inteligente (como microorganismos). Es posible que en algunos cuerpos celestes se hayan desarrollado formas de vida «alienígenas», gracias a, pongamos por caso, la utilización de un solvente distinto al agua, o al uso de elementos químicos muy distintos a los habituales –por ejemplo, silicio en lugar de carbono.⁶ Hay otras opciones a tener en cuenta, por supuesto, como las variaciones en la tríada ADN-ARN-proteína que se encuentra en la arquitectura de todas las formas de vida terrestres.⁷ Otro de los campos de investigación que exploran los sistemas bioquímicos o subsistemas biológicos no-naturales es la química de sistemas, la cual incluye la investigación en química autorganizativa, y sistemas químicos autorreplicativos y autorreproductivos.^{8,9} Mientras que la química de sistemas se ocupa de la investigación a nivel químico, la biología sintética (BS) se define como el diseño y construcción de nuevos sistemas biológicos no presentes en la naturaleza. La BS aspira a crear nuevos organismos con aplicaciones prácticas, pero también a profundizar el conocimiento de los sistemas vivos reconstruyéndolos. La BS se está desarrollando rápidamente como un nuevo campo interdisciplinario, que incluye la microbiología, la ingeniería genética, las tecnologías de la información, la nanotecnología y la bioquímica. La BS, como campo científico y de ingeniería, incluye de hecho diferentes sub-campos.^{3,10-12}

Hasta la fecha, la mayor parte de artículos y congresos científicos en BS se centran en la ingeniería de circuitos biológicos y en la búsqueda del genoma mínimo. Menos atención se dedica, sin embargo, a protocélulas y sistemas ortogonales, con unos pocos equipos que realizan un trabajo excelente en este campo.¹³⁻¹⁸

La investigación en protocélulas busca identificar maneras de producir vida a partir de materia inanimada, en un intento de entender el origen de la vida y de identificar nuevos sistemas de producción biotecnológicos. Los investigadores que trabajan en sistemas biológicos ortogonales, por otro lado, intentan alterar los bloques bioquímicos básicos de la vida, como por ejemplo los ácidos nucleicos o las bases usadas para codificar información genética.

Pero lo que la comunidad de investigadores en origen de la vida, exobiólogos y biólogos sintéticos tienen en común es la percepción de que formas de vida inusuales –en otras palabras, xenobiológicas– podrían encontrarse sobre o más allá de nuestro planeta, o bien ser creadas deliberadamente en el laboratorio. La diferencia más obvia entre estas ramas, sin embargo, es que la comunidad de estudiosos del origen de la vida así como los astrobiólogos están más interesados en entender por qué la vida ha evolucionado hasta ser lo que es, mientras que la mayoría de los biólogos sintéticos se interesan en aplicar los principios propios de la ingeniería a la creación de formas de vida no naturales para usos prácticos. Aquí nos ocupamos de la biología sintética y su intento de crear sistemas biológicos ortogonales basándose en una bioquímica que no se encuentra en la naturaleza.

VIDA ORTOGONAL

Desde que la industria (como la de computación o la ingeniería mecánica) abrazó el concepto de modularidad, éste ha experimentado unos niveles de innovación y crecimiento nunca vistos anteriormente. La modularidad es la construcción de productos complejos a partir de subsistemas menores, que se pueden diseñar independientemente pero que funcionan juntos como un todo. La modularidad da libertad a los diseñadores para que experimenten con diferentes estrategias, siempre y cuando obedezcan las reglas básicas del diseño.¹⁹ Uno de los requisitos clave de la modularidad, sin embargo, es la ortogonalidad. Este término proviene del griego *orthos*, «recto», y de *gonia*, «ángulo». Originalmente, se usaba para describir la situación matemática en la cual dos vectores son perpendiculares entre sí, es decir, forman un ángulo recto. Los cambios en la magnitud de un vector no afectan la magnitud del otro. En ingeniería, la ortogonalidad es una propiedad del diseño de sistemas que posibilita la factibilidad y una mayor simplicidad de diseños complejos: el principio de ortogonalidad garantiza que la modificación de un componente de un sistema no produce efectos colaterales en otros componentes del sistema. Con el claro beneficio de la ortogonalidad en sistemas complejos en mente, los biólogos sintéticos están ahora intentando aplicar estos principios de la ingeniería a la biología. Sin embargo, mientras los ingenieros han tenido un éxito considerable aplicando los principios de ortogonalidad al mundo inanimado, los biólogos aún tienen que salvar desafíos de gran calibre,

dado que no se puede encontrar en los organismos vivos un auténtico diseño ortogonal.^{20,21} Los esfuerzos llevados a cabo por biólogos sintéticos para construir sistemas biológicos ortogonales son ahora dobles; se centran bien en el metabolismo o en los bloques de construcción biológicos.

ORTOGONALIDAD METABÓLICA

En ingeniería genética, el término «ingeniería» se puede entender solamente como una metáfora. Por ejemplo, cualquier proteína recombinante sintetizada en un citoplasma bacteriano puede interactuar potencialmente con cualquier otra proteína citoplasmática, catalizar reacciones con cualquiera de los varios cientos de metabolitos presentes, o interactuar con procesos fisiológicos importantes.²⁰ Por ello, es casi imposible diseñar y predecir el efecto de una nueva proteína en la célula hospedadora. En biología sintética, una posible aproximación es el ensamblaje de una plataforma modular que permita una gran eficacia en la síntesis de compuestos químicos. El objetivo es «desenredar» la red metabólica de una célula (por ejemplo, las interacciones proteína-proteína) y simplificarlo en módulos sintéticos concretos que no interactúen los unos con los otros. Por ejemplo, un módulo energético y un módulo de producción de sacáridos se pueden diseñar sin que haya «cross-talk», interferencia, entre ellos. La separación de los dos módulos metabólicos permitiría adaptar la productividad individual de cada módulo mediante re-ingeniería de sus enzimas claves, de forma que no afectara al otro módulo.

ORTOGONALIDAD BIOQUÍMICA

Al añadir otro grado de ortogonalidad, los investigadores han empezado a modificar e intercambiar algunos de los bloques constructivos bioquímicos básicos de la vida. Este esfuerzo se ha centrado en la producción de biomoléculas alternativas que sustenten los procesos vivos. Las áreas de investigación en este campo incluyen la modificación química de aminoácidos, proteínas o ADN. Una de las áreas más activas es la identificación de secuencias aminoacídicas (proteínas) con una arquitectura estable pero que no se dan, sin embargo, en la naturaleza. En realidad, solo una diminuta fracción de todas las proteínas teóricamente posibles se dan en la naturaleza, frente a muchas más también posibles en teoría, pero que no se han sintetizado nunca.^{16,22,23} Se han hecho intentos por generar «vida especular», consistente en vida que utiliza moléculas de quiralidad opuesta a las de las formas de vida naturales.²⁴ Otro foco de interés es el cambio del mecanismo traduccional desde el ARN mensajero a proteínas, vía ARN de transferencia y ribosomas. Por ejemplo, en la bacteria *Escherichia coli*, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y en células de mamífero se ha logrado la incorporación *in vivo* de aminoácidos heterodoxos en proteínas, como resultado del uso de un codón artificial.²⁵⁻²⁷ Los tripletes podrían por tanto teóricamente codificar hasta 64 ami-

noácidos diferentes. Pero ¿por qué limitarse a 64? Los primeros experimentos han demostrado que los aminoácidos pueden también codificarse en tétradas, lo que en teoría permitiría 256 asignaciones diferentes.²⁸ La capacidad de incorporar más aminoácidos de los 20 habituales llevará a la síntesis de proteínas nuevas y no naturales, lo que representará un significativo aumento en la diversidad de la interpretación del código genético.²⁹

XENOBIOLOGÍA

AMPLIANDO EL ALFABETO GENÉTICO

Para aquellos que creen en la belleza del ADN, resultado último de la evolución natural, pueden resultar sorprendentes los recientes esfuerzos para liberar la vida (tal y como la conocemos) de sus restricciones evolutivas. Si observamos la diversidad biológica en nuestro planeta, no podemos dejar de sorprendernos por la uniformidad química de la vida actual. Biólogos y químicos forman parte de la comunidad en biología sintética que está intentando producir moléculas y arquitecturas no naturales³ con el objetivo, finalmente, de crear sistemas xenobiológicos. Hay que destacar que para acabar teniendo un cromosoma ortogonal es necesario centrarse en los nucleótidos. El código genético de todos los organismos vivos no conoce más que 8 de ellos: 4 en el ARN y 4 en el ADN. Los biólogos sintéticos han alterado ahora estos nucleótidos ortodoxos con lo cual los organismos y sistemas biológicos naturales ya no los pueden leer ni interpretar. Por ejemplo, se han llevado a cabo experimentos de reemplazamiento o incremento de ADN con bases no naturales con el resultado de un código genético de 6 bases, ATGCPZ, en lugar de las 4 bases habituales, ATGC.^{17,30,31} Se han llegado a probar, en un estudio reciente, hasta 60 bases candidatas para su posible incorporación en el ADN¹⁸ (lo que significa 3600 nuevos apareamientos de bases).

ES HORA DE UNA NUEVA ESTRUCTURA: LOS ÁCIDOS XENONUCLEICOS (AXN)

Otro intento de generar nucleótidos no naturales se centra en la estructura del ADN. En un principio, esta investigación pretendía responder a las clásicas preguntas de cómo la vida evolucionó en la Tierra y por qué el ARN y ADN se seleccionaron mediante evolución química en detrimento de otras estructuras de ácidos nucleicos.¹ Se han realizado estudios empíricos sistemáticos con el objetivo de diversificar la estructura de los ácidos nucleicos, lo que ha dado origen a unos biopolímeros de información totalmente nuevos (ver la figura 1).

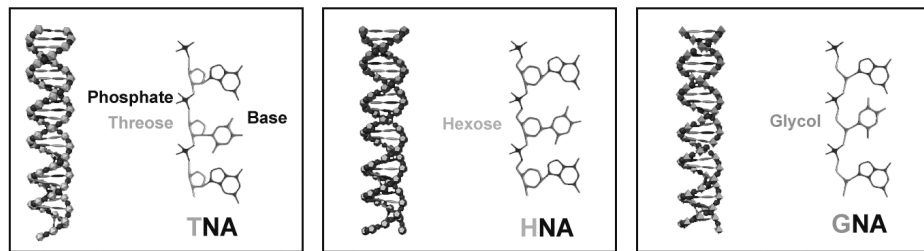


Fig. 1. Diversos xenonucleótidos pueden formar dobles hélices del tipo descrito por Watson y Crick. Estos AXNs se pueden usar como biopolímeros alternativos de almacenamiento de información. TNA: Ácido treosa-nucleico; HNA: ácido exosa-nucleico; GNA: ácido glico-nucleico (Ilustraciones de Simone Fuchs).

La información genética está aún almacenada en las cuatro bases «canónicas» y las ADN polimerasa naturales no pueden leer y duplicar sino esta información. En otras palabras, la información genética almacenada en el AXN es invisible y por tanto inútil para los organismos cuyo genoma esté basado en el ADN. En la actualidad, no existen organismos basados en ácidos nucleicos no naturales como los aquí descritos, y no hay pruebas de que puedan existir en un futuro próximo. Sin embargo, la combinación de un código genético extendido y una nueva polimerasa adecuada para el mismo podría suponer un paso de gigante hacia la puesta a punto de un sistema genético artificial *in vivo*.^{2,30}

LA ÚLTIMA TRINCHERA EN BIOSEGURIDAD: UN CORTAFUEGOS GENÉTICO

El camino hacia el primer organismo basado en el AXN ayudará a los filósofos a mejorar los razonamientos deductivos e inductivos en relación con la pregunta fundamental: ¿qué es la vida? Cuando nos demos cuenta de que la vida no tiene por qué estar basada –y no siempre lo está– en un determinado abanico de compuestos bioquímicos, estaremos más cerca de tener un concepto mejorado de qué es la vida.

Los beneficios potenciales de un sistema xenobiológico ortogonal solo se verán con claridad a largo plazo. A corto plazo, es mucho más simple continuar trabajando con el ADN de manera clásica que decidirse a llevar al extremo la tecnología del ADN recombinante, aún imprecisa comparada con la ingeniería mecánica.

Sean cuales sean los mecanismos de contención física que se desarrollen, hay un problema clave sin solución: toda la biotecnología (y la nanobiotecnología) utiliza el mismo software: el ADN. El ADN se da en todos los microorganismos naturales y domesticados; en plantas y animales. En lugar de conformarnos con arreglar problemas, con ajustes pobres a la legislación de bioseguridad, llevar a

cabo una investigación burocratizada y esforzarse en luchar contra la resistencia de la opinión pública, ¿por qué no cambiar a un programa genético diferente? ¿Por qué no fundar bases sólidas para los miles de millones de futuros experimentos biotecnológicos y sus aplicaciones? ¿Por qué no cambiar a otro hardware compatible con todo lo que la naturaleza ha creado? ¿Por qué no, en suma, construir un cortafuegos genético que resuelva el problema de una vez por todas?

La xenobiología podría convertirse en un dispositivo de seguridad fundamental capaz de limitar cualquier tipo de interacción genética con el mundo natural. Lo que la xenobiología podría aportar es, ni más ni menos, un enclave, un refugio genético dentro del mundo natural.³⁹ En este escenario, los xeno-organismos serían capaces de mantener todas sus funciones vitales básicas tales como la compartimentación, metabolismo, replicación, reproducción, interacción con el ambiente, crecimiento, etc. Hay sin embargo diferencias clave entre el xeno-mundo y el mundo natural, y son estas diferencias lo que hacen del cortafuegos genético algo tan interesante en términos de bioseguridad:

1. Los xeno-organismos no deben, ni pueden, producir ciertos bloques de construcción biológica esenciales, en concreto sus propios nucleótidos. Estos compuestos deberán suministrarse externamente. Al crear los xeno-organismos como formas de vida estrictamente auxotróficas (es decir, dependientes del aporte externo de una determinada sustancia), se limita su dispersión ambiental por parte de su creador-diseñador humano, lo cual representa una línea de defensa en bioseguridad extremadamente fuerte. Con el objetivo de evitar un suministro natural de xeno-nucleótidos, los bloques de construcción del AXN deberían estar separados por un mínimo de dos pasos en la ruta biosintética desde cualquier compuesto natural.
2. Dado que los organismos naturales y los xeno-organismos usan una gama distinta de proteínas de unión a nucleótidos para la replicación y la transcripción, no puede darse flujo genético –horizontal o vía reproducción sexual– entre estos dos reinos de la vida. La maquinaria replicativa del AXN no puede interpretar el ADN y viceversa. Por tanto, un fragmento de AXN no puede escapar hasta organismos salvajes y acabar incrustándose en sus genomas convencionales de ADN. Al mismo tiempo, un organismo de AXN no puede beneficiarse de genes «descubiertos» por la evolución (natural) a través de flujo genético horizontal (tal cosa sólo podría ocurrir a través de una ingeniería deliberada y una evolución interna en el AXN).

A pesar de que el intercambio de información genética no es posible, otros tipos de interacción si serían posibles. Por ejemplo, los xeno-organismos podrían producir, detectar o degradar sustancias químicas tanto en el laboratorio como en el ambiente. Por otro lado, teóricamente sería posible dejar que los xeno-organismos interaccionaran entre ellos formando su propio ecosistema. Estos eco-

sistemas, sin embargo, estarían bastante limitados en tamaño, dado que todos los organismos necesitan que se les suministre sus moléculas esenciales. El AXN supone un cortafuegos genético, pero no un cortafuegos biológico. Esto significa que los xeno-organismos podrían interactuar con los basados en ADN a nivel ecológico, pero nunca a nivel genético.

ESPECIFICACIONES DEL AXN

En el pasado, se han inventado y probado mecanismos de bioseguridad. Por ejemplo, desde principios de los años 90 del pasado siglo se han ensayado sistemas auxotróficos, ninguno de los cuales, sin embargo, ha demostrado ser lo suficientemente bueno para ser puesto a punto en la práctica y liberado al ambiente.^{40,41} Para que sea considerado útil, el cortafuegos genético debe ser más, mucho más seguro que los circuitos de seguridad de ADN. Con el fin de asegurar las mejoras en seguridad que se les atribuyen, se deben cumplir las siguientes especificaciones biológicas y técnicas:

1. Los xeno-organismos no deben perder su carácter auxotrófico.
2. Igualmente, los organismos naturales no deben ser capaces de producir los compuestos esenciales, con el fin de evitar una relación simbiótica con el AXN.
3. La ADN polimerasa natural no debería poder transcribir AXN a ADN.
4. La RNA polimerasa natural no debería poder transcribir AXN a ARN.
5. Una polimerasa artificial no debería transcribir ADN a AXN ya que, de otro modo, el AXN tendría acceso a 4000 millones de años de experiencia evolutiva.
6. Los genes de AXN incorporados por organismos de ADN no deberían ser reconocidos por los factores de transcripción nativos.
7. Preferiblemente, el AXN de cadena simple no debería interferir con la transcripción en células naturales (como hace el ARN de interferencia, por ejemplo).
8. No debería tener lugar simbiogénesis (fusión de dos organismos independientes para formar un nuevo y único organismo) entre organismos con AXN y con ADN.
9. El AXN no debería ser una molécula recalcitrante y de difícil degradación, sino convertirse en fuente de alimento para los organismos naturales tras su muerte/destrucción.
10. Preferiblemente, deberían ponerse a punto capas adicionales de ortogonalidad, como por ejemplo pares de bases heterodoxas, reordenación en la asignación de codones, etc. Todo esto llevaría aún más allá la seguridad del sistema.

DESPEGUE DE LOS SISTEMAS DE AXN

Si queremos implementar un sistema biológico basado en el AXN, debemos antes sintetizar químicamente AXN y una polimerasa dependiente de AXN para una primera replicación. La necesidad de polimerasas específicas es un punto crítico ya que las polimerasas naturales incorporan nucleótidos no naturales de manera bastante pobre en comparación con los naturales.^{42, 43} Una vez conseguido esto, se necesitaría una ARN polimerasa dependiente de AXN para transcribir y más tarde traducir información genética a proteínas, usando ribosomas naturales. Sólo después podrían ponerse a punto xeno-ribosomas, lo que daría un grado de ortogonalidad aún mayor.

¿CÓMO SE TOMARÁ LA SOCIEDAD UNA SEGUNDA NATURALEZA?

Cuando, en la década de los setenta del pasado siglo, la tecnología del ADN recombinante estuvo disponible para los científicos de todo el mundo, se extendió entre ellos la preocupación por su impacto potencial, lo que cristalizó en la ya famosa conferencia de Asilomar, en 1975, en la que se discutieron los riesgos de la ingeniería genética. No todas las recomendaciones de Asilomar se han llevado a la práctica, pero la conferencia fue sin duda muy útil para evitar consecuencias negativas potenciales de esta tecnología.^{49, 51} En la actualidad, a la hora de discutir los aspectos sociales de la xenobiología, se necesita tener en cuenta los siguientes aspectos:^{47, 52}

- Bioseguridad (Biosafety): ¿Cuál es la probabilidad real de que la vida de AXN no cumpla alguna de las diez especificaciones antes descritas? ¿Cuáles serían las consecuencias?
- Bioseguridad (Biosecurity): ¿Hay alguna forma en que el AXN pudiera ser utilizado con intenciones perniciosas o criminales? ¿Cómo podría evitarse esto?
- Derechos de propiedad intelectual. ¿Serán individuos, personas concretas los propietarios que controlarán el mundo AXN o bien debería éste estar a la libre disposición de cualquiera que quisiera usar este dispositivo de seguridad? ¿Serán, quizá, algunos AXNs patentables (el ATN, por ejemplo) mientras que otros (el APN, por ejemplo) serán libres?
- Legislación. ¿Qué nuevas reglas, guías o tratados internacionales serán necesarios para asegurarse de que los sistemas de AXN se mantienen tan útiles como sea posible? Por ejemplo, ¿es necesario prohibir cualquier actividad que persiga activamente sortear las especificaciones antes mencionadas, según el mismo criterio que prohíbe la I+D orientada al diseño de nuevas armas biológicas ofensivas?

En contraste con estos aspectos bien tangibles, es de esperar que nos veamos confrontados a otras implicaciones más intangibles. En la historia de la ciencia se han dado varios cambios en nuestra visión del mundo, modificando nuestro imaginario colectivo hasta llegar a aproximaciones de inspiración científica o semi-racionales. En este contexto, la ciencia ha causado importantes desilusiones en la opinión pública respecto a las creencias populares, como en las demostraciones de que la Tierra no es el centro del Universo, que hombres y simios comparten ancestros comunes, o que las emociones y el pensamiento están ligados a un sustrato fisiológico. La xenobiología podría fácilmente desencadenar el próximo cambio de paradigma en la forma en que entendemos la naturaleza y la vida. De la misma manera que la Tierra perdió su lugar como el centro del Universo, o el Hombre perdió su estatus único en el reino animal, nuestro mundo natural bien podría perder su status exclusivo como sinónimo de «la vida».

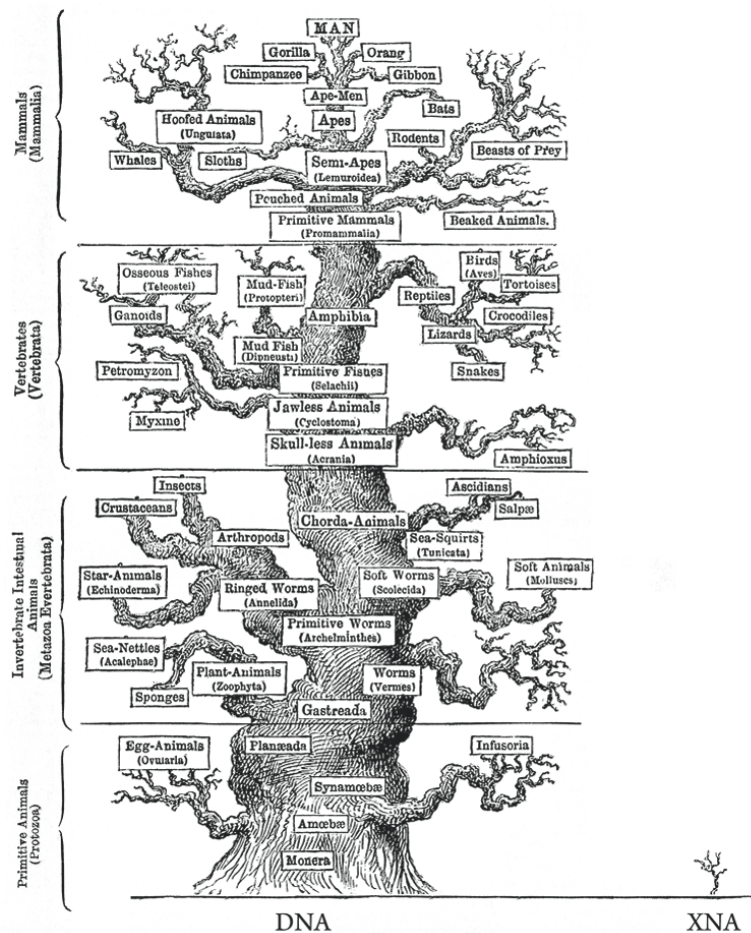


Fig. 2. Tras cuatro mil millones de años, brotará un nuevo árbol en el «Jardín del Edén». Los sistemas biológicos no basados en el ADN serán un lugar más seguro en que llevar a cabo investigación en biología sintética.³⁸

CONCLUSIONES

La creación de vida «extraña» en el laboratorio o, en otras palabras, los avances de la investigación en xenobiología, no solamente contribuirán a una mejor comprensión del origen de la vida, sino que expandirán de manera definitiva nuestras capacidades para proporcionar herramientas de producción biotecnológica más seguras, tanto para las necesidades humanas inmediatas como para usos ambientales. Las formas de vida futuras, como las basadas en los ácidos xeno-nucleiicos y que son ortogonales a las naturales, podrían representar la última trinchera en bioseguridad. A mayor número de capas de ortogonalidad, mayor seguridad. Un uso combinado del AXN, pares de bases y aminoácidos heterodoxos, asignación de codones alterada, codones en tétradas en lugar de en tripletes, xenomas o sistemas distintos al clásico trío ADN-ARN-proteínas, podrán definitivamente originar sistemas xenobiológicos que actúen como cortafuegos genéticos frente a las formas de vida naturales. No deberíamos temer a estas nuevas y por tanto poco familiares formas de vida sino intentar evaluar racionalmente sus riesgos y beneficios y adoptarlas de manera responsable en beneficio de la Humanidad.

Traducción de Manuel Porcar

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por una beca del FWF (Austrian Science Fund) asociada al proyecto «Investigating the biosafety and risk assessment needs of synthetic biology in Austria (Europe) and China», con número I215-B17; así como por el proyecto TARPOL (Targeting environmental pollution with engineered microbial systems á la carte) EC-FP7 KBBE-2009 (Grant agreement no.: 212894).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ESCHENMOSER A. (1999): «Chemical etiology of nucleic acid structure», *Science* 284 (5423): 2118-24.
2. HERDEWIJN P, MARLIERE P. (2009): «Toward safe genetically modified organisms through the chemical diversification of nucleic acids», *Chem Biodivers* 6 (6): 791-808.
3. BENNER SA, SISMOUR AM. (2005): Synthetic biology, *Nat Rev Genet* 6 (7): 533-43.
4. WOESE C. (1998): «The universal ancestor», *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (12): 6854-9.
5. PACE NR. (2001): «The universal nature of biochemistry», *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (3): 805-8.
6. BENNER SA, RICARDO A, CARRIGAN MA. (2004): «Is there a common chemical model for life in the universe?», *Curr Opin Chem Biol* 8 (6): 672-89.
7. SULLIVAN WT, BAROSS JA. (2007): *Planets and life: the emerging science of astrobiology*, Cambridge, Mass., Cambridge University Press

8. LUDLOW RE, OTTO S. (2008): «Systems chemistry», *Chem Soc Rev* 37 (1): 101-8.
9. SZOSTAK JW. (2009): «Origins of life: Systems chemistry on early Earth», *Nature* 459 (7244): 171-2.
10. O'MALLEY MA, POWELL A, DAVIES JF, CALVERT J. (2008): «Knowledge-making distinctions in synthetic biology», *Bioessays* 30 (1): 57-65.
11. DEPLAZES A. (2009): «Piecing together a puzzle. An exposition of synthetic biology», *EMBO Rep* 10 (5): 428-32.
12. SCHMIDT M, GANGULI-MITRA A, TORGENSEN H, KELLE A, DEPLAZES A, BILLER-ANDORNO N. (2009): «A priority paper for the societal and ethical aspects of synthetic biology», *Syst Synth Biol* 3 (1-4): 3-7.
13. SZOSTAK JW, BARTEL DP, LUISI PL. (2001): «Synthesizing life», *Nature* 409 (6818): 387-90.
14. RASMUSSEN S, CHEN L, DEAMER D, KRAKALIER DC, PACKARD NH, STADLER PF, BEDAU MA. (2004): «Evolution. Transitions from nonliving to living matter», *Science* 303 (5660): 963-5.
15. MANSY SS, SCHRUM JP, KRISHNAMURTHY M, TOBE S, TRECO DA, SZOSTAK JW. (2008): «Template-directed synthesis of a genetic polymer in a model protocell», *Nature* 454 (7200): 122-5.
16. LUISI PL. (2007): «Chemical aspects of synthetic biology», *Chem Biodivers* 4 (4): 603-21.
17. YANG Z, SISMOUR AM, SHENG P, PUSKAR NL, BENNER SA. (2007): «Enzymatic incorporation of a third nucleobase pair», *Nucleic Acids Res* 35 (13): 4238-49.
18. LECONTE AM, HWANG GT, MATSUDA S, CAPEK P, HARI Y, ROMESBERG FE. (2008): «Discovery, characterization, and optimization of an unnatural base pair for expansion of the genetic alphabet», *J Am Chem Soc* 130 (7): 2336-43.
19. BALDWIN CY, CLARK KB. (2000): *Design rules*, Cambridge, Mass., MIT Press.
20. HOLD C, PANKE S. (2009): «Towards the engineering of in vitro systems», *J R Soc Interface* 6 Suppl 4: S507-21.
21. DE LAS HERAS A, CARRENO CA, DE LORENZO V. (2008): «Stable implantation of orthogonal sensor circuits in Gram-negative bacteria for environmental release», *Environ Microbiol* 10 (12): 3305-16.
22. LUISI PL, CHIARABELLI C, STANO P. (2006): «From Never Born Proteins to Minimal Living Cells: two projects in synthetic biology», *Orig Life Evol Biosph* 36 (5-6): 605-16.
23. SEELIG B, SZOSTAK JW. (2007): «Selection and evolution of enzymes from a partially randomized non-catalytic scaffold», *Nature* 448 (7155): 828-31.
24. CHURCH G. (2009): A short course on synthetic genomics. Presentation at EDGE Masterclass http://www.edge.org/3rd_culture/church_venter09/church_venter09_index.html
25. WANG L, BROCK A, HERBERICH B, SCHULTZ PG. (2001): «Expanding the genetic code of *Escherichia coli*», *Science* 292 (5516): 498-500.
26. CHIN JW, CROPP TA, ANDERSON JC, MUKHERJI M, ZHANG Z, SCHULTZ PG. (2003): «An expanded eukaryotic genetic code», *Science* 301 (5635): 964-7.
27. LIU W, BROCK A, CHEN S, SCHULTZ PG. (2007): «Genetic incorporation of unnatural amino acids into proteins in mammalian cells», *Nat Methods* 4 (3): 239-44.
28. ANDERSON JC, WU N, SANTORO SW, LAKSHMAN V, KING DS, SCHULTZ PG. (2004): «An expanded genetic code with a functional quadruplet codon», *Proc Natl Acad Sci USA* 101 (20): 7566-71.
29. CHIN JW. (2006): «Modular approaches to expanding the functions of living matter», *Nat Chem Biol* 2 (6): 304-11.

30. SISMOUR AM, LUTZ S, PARK JH, LUTZ MJ, BOYER PL, HUGHES SH, BENNER SA. (2004): «PCR amplification of DNA containing non-standard base pairs by variants of reverse transcriptase from Human Immunodeficiency Virus-1», *Nucleic Acids Res* 32 (2): 728-35.
31. YANG Z, HUTTER D, SHENG P, SISMOUR AM, BENNER SA. (2006): «Artificially expanded genetic information system: a new base pair with an alternative hydrogen bonding pattern», *Nucleic Acids Res* 34 (21): 6095-101.
32. SISMOUR AM, BENNER SA. (2005): «The use of thymidine analogs to improve the replication of an extra DNA base pair: a synthetic biological system», *Nucleic Acids Res* 33 (17): 5640-6.
33. HAVEMANN SA, HOSHIKA S, HUTTER D, BENNER SA. (2008): «Incorporation of multiple sequential pseudothymidines by DNA polymerases and their impact on DNA duplex structures», *Nucleic Acids* 27(3): 261-78.
34. CARLSON R. (2003): «The pace and proliferation of biological technologies», *Bio Secur Bioterror* 1 (3): 203-14.
35. SCHMIDT M. (2008): «Diffusion of synthetic biology: a challenge to biosafety», *Syst Synth Biol* 2 (1-2): 1-6.
36. RAN T, KAPLAN S, SHAPIRO E. (2009): «Molecular implementation of simple logic programs», *Nature Nanotechnology* 4: 6.
37. KERSHNER RJ, BOZANO LD, MICHEEL CM, HUNG AM, FORNOF AR, CHA JN, RETTNER CT, BERSANI M, FROMMER J, ROTHEMUND PW and others (2009): «Placement and orientation of individual DNA shapes on lithographically patterned surfaces», *Nat Nanotechnol* 4 (9): 557-61.
38. HAECKEL EHPA. (1883): *The evolution of man; a popular exposition of the principal points of human ontogeny and phylogeny*, Nueva York, D. Appleton and Company.
39. MARLIERE P. (2009): «The farther, the safer: a manifesto for securely navigating synthetic species away from the old living world», *Syst Synth Biol* 3 (1-4): 77-84.
40. DE LORENZO V. (2009): «Environmental Risks of Synthetic Genomes and Non-natural Microorganisms», *BioEssays*.
41. TORRES B, JAENECKE S, TIMMIS KN, GARCIA JL, DIAZ E. (2003): «A dual lethal system to enhance containment of recombinant micro-organisms», *Microbiology* 149(Pt 12): 3595-601.
42. VASTMANS K, FROEYEN M, KERREMANS L, POCHET S, HERDEWIJN P. (2001): «Reverse transcriptase incorporation of 1,5-anhydrohexitol nucleotides», *Nucleic Acids Res* 29 (15): 3154-63.
43. ICHIDA JK, HORHOTA A, ZOU K, MCLAUGHLIN LW, SZOSTAK JW. (2005): «High fidelity TNA synthesis by Therminator polymerase», *Nucleic Acids Res* 33(16): 5219-25.
44. KEMPENEERS V, RENDERS M, FROEYEN M, HERDEWIJN P. (2005): «Investigation of the DNA-dependent cyclohexenyl nucleic acid polymerization and the cyclohexenyl nucleic acid-dependent DNA polymerization», *Nucleic Acids Res* 33 (12): 3828-36.
45. LOAKES D, GALLEGO J, PINHEIRO VB, KOOL ET, HOLLIGER P. (2009): «Evolving a Polymerase for Hydrophobic Base Analogues», *J Am Chem Soc*.
46. 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 (5838): 632-8.
47. LARTIGUE C, VASHEE S, ALGIRE MA, CHUANG RY, BENDERS GA, MA L, NOSKOV VN, DENISOVA EA, GIBSON DG, ASSAD-GARCIA N and others. (2009): «Creating bacterial strains from genomes that have been cloned and engineered in yeast», *Science* 325 (5948): 1693-6.

48. RASMUSSEN S. (2009): *Protocells: bridging nonliving and living matter*, Cambridge, Mass., MIT Press.
49. BERG P. (2008): «Meetings that changed the world: Asilomar 1975: DNA modification secured», *Nature* 455 (7211): 290-1.
50. BERG P, BALTIMORE D, BRENNER S, ROBLIN RO, 3rd, SINGER MF. (1975): «Asilomar conference on recombinant DNA molecules», *Science* 188 (4192): 991-4.
51. BERG P, BALTIMORE D, BRENNER S, ROBLIN RO, SINGER MF. (1975): «Summary statement of the Asilomar conference on recombinant DNA molecules», *Proc Natl Acad Sci USA* 72 (6): 1981-4.
52. SCHMIDT M, KELLE A, GANGULI-MITRA A, DeVRIEND H. (2009): *Synthetic biology: the technology and its societal consequences*, Nueva York, Springer.

.....

MARKUS SCHMIDT es fundador y directivo de Biofaction, una empresa de investigación y comunicación científica. A partir de una formación en ingeniería electrónica, biología y evaluación de riesgos ambientales, se ha dedicado durante unos 10 años a los estudios de impacto ambiental, seguridad y percepción pública en una amplia gama de campos de ciencia y tecnología, como los transgénicos, la terapia génica y la biología sintética. Ha sido consejero del Grupo de Ética Europeo (EGE) de la Comisión Europea y miembro de la Comité Asesor del Presidente de EEUU para el estudio de cuestiones de bioética. En Biofaction su tarea consiste en promover la interacción entre científicos y sociedad a través de acontecimientos públicos, la producción de documentales científicos y la organización del Festival Artístico y Cinematográfico sobre biología sintética («Bio: Fiction»). Recientemente ha publicado el libro *Synthetic Biology: Industrial and Environmental Applications* que ofrece una amplia panorámica sobre las prometedoras aplicaciones industriales y ambientales de la biología sintética.