ISEGORÍA. Revista de Filosofía Moral y Política
N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

La biología sintética como desafío para comprender la autonomía de lo vivo

Synthetic biology as a challenge to understand the autonomy of the living

SARA MURILLO-SÁNCHEZ Y KEPA RUIZ-MIRAZO*
Universidad del País Vasco (UPV/EHU)

RESUMEN. En este artículo se ofrece una visión de la biología sintética alternativa a los planteamientos ingenieriles que marcan gran parte de la agenda de investigación del campo. Nuestro análisis se centra en enfoques, teóricos y experimentales, cuyo objetivo fundamental es la comprensión del fenómeno de la vida *per se*. Una revisión detallada de varios casos de implementación artificial, *in vitro*, de sistemas químicos 'auto-productivos' nos ayudará a reflexionar sobre el enorme reto que supone transformar una disciplina científica eminentemente descriptiva, como la biología, en un proyecto que incluya y potencie líneas de investigación basadas en la idea de síntesis o fabricación. El reto es mayúsculo debido al carácter intrínsecamente *metabólico* de los sistemas biológicos, lo cual hace que nuestro empeño en controlarlos o en construirlos *de novo* sea mucho más dificultoso, forzándonos a desarrollar plataformas de intervención/implementación a nivel molecular que no pongan en compromiso esa inherente dimensión autónoma de lo vivo.

Palabras clave: Auto-organización, autocatálisis, metabolismo, célula mínima, autonomía biológica, origen de vida, fabricación.

ABSTRACT . We here offer an alternative view of synthetic biology, quite distant from the engineering approaches that currently set the main research agenda of the field. Our analysis centres on those lines of work, both theoretical and experimental, whose primary objective is understanding the living phenomenon *per se*. A detailed review of several cases of artificial *in vitro* implementation of 'self-productive' chemical systems will help us reflect on the enormous challenge of transforming a descriptive scientific discipline, like biology, into an enterprise that comprises and fosters investigations articulated around the notion of synthesis or fabrication. The challenge is huge because of the intrinsic *metabolic* nature of biological systems, what makes our efforts to control or build them *de novo* much harder, forcing us to develop intervention/implementation platforms at the molecular level that do not threaten that inherent autonomous dimension of the living.

Key words: Self-organization, autocatalysis, metabolism, minimal cell, biological autonomy, origins of life, fabrication.

* Autor responsable del artículo.

Copyright: © 2016 CSIC. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia de uso y distribución *Creative Commons Attributio*n (CC-by) España 3.0

[Recibido: febrero 2016 / Aceptado: septiembre 2016]

1. INTRODUCCIÓN

La biología sintética, aunque en ciertos aspectos pueda ser considerada heredera de campos como la vida artificial y la investigación en origen de vida, tiene a la ingeniería genética como principal precursor [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013]. Esto queda bien reflejado en el panorama actual de la disciplina, ampliamente dominado por los enfoques biotecnológicos [Endy 2005; Adrianantoandro et al. 2006; Vinson & Pennisi 2011; Wang et al. 2013; Cameron et al. 2014]. Prima la intervención y el desarrollo de herramientas de control humano sobre lo biológico frente al estudio de sus principios de organización dinámica y transformación temporal. No obstante, sin un conocimiento más profundo de lo que implica todo el engranaje molecular y funcional de un ser vivo en su conjunto, la biología sintética va a seguir encontrando muchas dificultades para la consecución de sus objetivos fundamentales (como las ya puestas en evidencia con anterioridad: [Serrano 2007; Kwok 2010; Kittleson et al. 2012]).

En este contexto, una de las prioridades debe pasar a ser el diseño de sistemas que ilustren principios organizativos básicos que caracterizan al dominio biológico, más allá de la combinación de 'motivos' o 'circuitos' elementales (módulos con propiedades dinámicas y estructurales bien definidas individualmente —también llamados 'biobricks' [Shetty et al. 2008; Canton et al. 2008]), en redes de interacción de creciente complejidad, al servicio de fines externos al sistema. La investigación en este tipo de arquitecturas de control cada vez más sofisticadas (involucrando, por ejemplo, combinaciones de diversos módulos de expresión génica con retro-alimentación negativa y positiva [Rao et al. 2002]) puede ser de gran interés, al generar patrones de comportamiento dinámico colectivo emergente (especialmente en presencia de ruido o distintas fuentes de estocasticidad [Rosenfeld et al. 2005]). Sin embargo, con ese planteamiento se está obviando un aspecto clave y primario en el asunto: precisamente, la *síntesis* de los módulos. Uno de los principios organizativos fundamentales que opera en todo sistema biológico [Varela 1979; Rosen 1991] es que buena parte de las relaciones de interdependencia entre procesos y componentes que tienen lugar en el mismo son relaciones de *producción*. Esto ya lo intuyó Kant en su crítica al juicio, en donde explicaba por qué la profunda interdependencia entre el todo y las partes de un ser vivo, en contraste a los artefactos de diseño y construcción humanos, hacía imposible su tratamiento científico (ver: [Fry 2000]). Actualmente, en cambio, la ciencia ha avanzado tanto que está en disposición de generar dinámicas auto-constructivas (a partir de conjuntos de componentes moleculares bien escogidos, como veremos) y cuenta con herramientas adecuadas para estudiar dichas dinámicas en detalle.

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

De todos modos, el camino no está exento de dificultades. Una de las más importantes estriba en que aquello que se sintetiza (bio-)químicamente debe jugar un papel *funcional* inmediato (o cuasi-inmediato) en la red procesos de producción y transformación de componentes a partir de la cual se ha generado. Por funcional entendemos, en este marco [Mossio et al. 2009], toda contribución al mantenimiento de un sistema realizada por algún tipo de componente molecular o agregado supramolecular bien caracterizado (es decir, distinguible de otros componentes) actuando como una *constricción* sobre los procesos físico-quimicos básicos del sistema, y *que haya sido generado por el propio sistema*. Es este último requisito lo que más le cuesta encarar a la biología sintética. Kauffman [1986] planteó que, para la emergencia de sistemas biológicos, la naturaleza de las relaciones funcionales autogeneradas podía circunscribirse a acciones de tipo catalítico (es decir, de control cinético) de unos componentes sobre los procesos de síntesis de otros. Sin embargo, la falta de evidencia experimental que soporte esta hipótesis después de 30 años hace que haya que buscar alternativas: de hecho, es muy probable que ya desde el comienzo del proceso de orígenes de vida se requiera un conjunto de componentes y acciones de control sistémico más diverso (que incluya, en particular, compartimentos con permeabilidad selectiva mediante los cuales se pueda marcar diferencias en cuanto a la difusión espacial de las distintas especies químicas involucradas [de la Escosura et al. 2015]).

Volveremos sobre este punto en lo que sigue, pero la idea a remarcar aquí es que *síntesis* y *acoplamiento funcional* de componentes moleculares, de diverso tipo, deben ir de la mano. Esto se dice pronto y fácil, pero otra cuestión es llevarlo a la práctica en un sistema químico o bioquímico concreto. En la sección a continuación revisamos algunos modelos empíricos y teóricos que se han enfrentado al problema de un modo directo y esclarecedor. Más adelante utilizaremos esta labor de revisión para tratar de identificar cuáles son las mayores dificultades que persisten y que condicionan el planteamiento de la biología sintética desde esta perspectiva 'bottom-up' (es decir, que incluya la síntesis de los módulos funcionales básicos a partir de ingredientes moleculares más elementales). Por último, realizaremos una reflexión más general sobre el cambio que supone para la biología tradicional el paso de un modo de trabajo esencialmente *descriptivo* a otro *sintético* (es decir, fundado sobre la idea de fabricación —en vez de la de descripción o representación). Por motivos de limitación de espacio, en este artículo nos centraremos en aspectos de orden, digamos, fisiológico —al nivel de ser vivo mínimo, individual. Las dimensiones ecológica y evolutiva del problema (es decir, los mecanismos de estabilidad y transformación a escalas espaciales y temporales más amplias), que también consideramos fundamentales para llegar a una comprensión completa del

fenómeno biológico [Ruiz-Mirazo & Moreno 2012; 2013], quedarán aparcadas para otra ocasión.

2. LA AUTO-PRODUCCIÓN QUÍMICA COMO CONDICIÓN DE POSIBILIDAD PARA EL DESPLIEGUE DE UN DOMINIO BIOLÓGICO: ENSAYOS IN VITRO

Aunque no sea una posición predominante en biología, ni siquiera en biología teórica o filosofía de la biología, un buen número de autores ha defendido a lo largo de los años que el problema fundamental de esta disciplina es caracterizar la organización básica de los seres vivos, y que el común denominador de esta organización es alguna forma de cierre, ciclicidad o recursividad de procesos químicos [Maturana & Varela 1973; Varela 1979; Rosen 1991; Ganti 1987; Kauffman 1986; Fontana & Buss 1994]. Efectivamente, cuando uno piensa en la implementación de un sistema cuyo núcleo constitutivo y *modus operandi* están basados en una red de transformación continua de componentes, como es el caso de los organismos vivos y su metabolismo, resulta muy difícil pensar cómo un sistema material puede establecer, mantener e incluso complejizar una organización de ese tipo si no es creando alguna forma de circularidad en el ámbito químico (algo que comúnmente se expresa mediante el prefijo 'auto': auto-producción, auto-mantenimiento, auto-reparación,…).

Esto se debe en especial a que los sistemas biológicos no son fruto solamente de la auto-organización de componentes preexistentes, sintetizados en otras condiciones, o en otro contexto físico-químico, sino que son sus propias fábricas de componentes: es decir, se auto-construyen en un sentido fuerte, si bien nunca estrictamente completo (ver discusión más adelante). Para lograr esa propiedad de auto-construcción (o 'autonomía básica' [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004]) los ingredientes materiales iniciales y los tipos de interacción implicados deben ser lo suficientemente diversos, al tiempo que moldeables entre sí, de modo que se pueda conseguir un acoplamiento funcional efectivo entre ellos. Por ejemplo, existen sistemas de moléculas que, dentro de ciertas condiciones físicas (no linealidad, alejamiento del equilibrio termodinámico, viscosidad apropiada, gradiente térmico por encima de un valor umbral…) pueden comenzar a moverse espontáneamente de acuerdo a patrones colectivos muy complejos, que involucran la coordinación espacial de millones y millones de componentes (pensemos en patrones de convección macroscópicos, de tipo 'celdas de Bénard'). Estos fenómenos de auto-organización física [Nicolis 1989] llegan a mostrar propiedades muy interesantes de auto-mantenimiento (siempre y cuando las condiciones de contorno críticas no salgan de un determinado rango — ver análisis en [Bishop 2012]), pero la variedad de comportamientos a los que pueden dar lugar es muy limitada.

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

En cambio, la química proporciona un mundo de posibilidades dinámicas e interactivas mucho más rico. Al movimiento más o menos controlado/constreñido de los componentes moleculares se añade la capacidad de combinación y transformación de los mismos en otros componentes, con propiedades nuevas, que pueden ejercer influencia sobre los primeros. Estas dinámicas reactivas, de producción e inter-conversión de especies químicas diversas, tampoco llevan muy lejos si el sistema se encuentra en condiciones cercanas al equilibrio; pero el espectro de comportamientos emergentes se amplía enormemente en condiciones alejadas del equilibrio, en las que (manteniendo un flujo de materia y energía adecuado a las características del sistema) se propicia el establecimiento de patrones de transformación recursivos, de ciclos de reacciones acopladas [Morowitz 1968; 1992; King 1982]. En particular, la consecución de ciclos autocatalíticos es especialmente relevante, como veremos a continuación, ya que éstos conducen a formas elementales de auto-producción, con efectos de amplificación no lineales que resultan claves para su crecimiento y potencial re-producción (es decir, multiplicación y proliferación).

2.1. Redes auto-productivas in vitro: sistemas autocatalíticos mínimos y combinados

A pesar de que la autocatálisis (ya sea molecular o de red — ver Fig. 1) no se asume aquí como condición estrictamente necesaria para la auto-producción biológica,[1] la mayor parte de los ensayos experimentales dirigidos a desarrollar sistemas químicos prebióticos se han realizado buscando 'modulos replicativos mínimos' basados en dicha propiedad [Ruiz-Mirazo et al. 2014]. De hecho, parece lógico pensar que, tratándose de un mecanismo químico tan general y efectivo, la naturaleza no lo haya utilizado (eso sí, en combinación con otros —de retroalimentación negativa, por ejemplo— que confieran estabilidad al sistema). Además, de ese modo, en la práctica se pueden "matar varios pájaros de un tiro": por un lado, la autocatálisis proporciona un motor de producción material, molecular, al nivel reactivo más básico; por otro, si lo que se pretende es la implementación de sistemas con capacidad de crecimiento y reproducción (propiedades también tradicionalmente asociadas a lo vivo, en especial desde una perspectiva evolutiva), algún tipo de mecanismo autocatalítico sí se antoja imperativo.

Por ello, se han buscado fenómenos de autocatálisis mediante un gran número de experimentos *in vitro* con sistemas moleculares minimalistas, desde los

[1] Según explicaremos mejor en la sección 3, la idea de ciclo de reacciones sí es fundamental para hablar de autoproducción, pero el ciclo podría no ser autocatalítico, *sensu stricto*. Más evidente es el hecho de que la autocatálisis no es condición suficiente para la autoproducción de un sistema biológico (ya que ni siquiera lo es para el establecimiento de patrones de auto-organización estables).

clásicos de von Kiedrowski [1986] utilizando oligonucleótidos replicativos, a otros posteriores haciendo uso de componentes lipídicos (por ejemplo: [Bachmann et al. 1991; Walde et al. 1994]) o de cadenas peptídicas sorprendentemente cortas ([Lee *et al.* 1996; Issac & Chmielewski 2002]). Bissettte y Fletcher [2013], en una revisión muy interesante y exhaustiva de este tipo de sistemas, distinguen entre autocatálisis puramente química (relativa a la *mejora exponencial de la eficiencia de una reacción —o red de reacciones— inducida por un producto de la misma*) (como se ilustra en la Fig. 1 A y 1 B) y autocatálisis física (cuando dicha *mejora exponencial viene dada por la presencia de estructuras físicas nuevas en el sistema* —como resultado, por ejemplo, de procesos de autoensamblaje de los productos de la reacción— ver Fig. *1.D*).

Los sistemas autocatalícos químicos que más atención han suscitado en el campo de origen de vida, además del clásico ciclo de la formosa (uno de los más plausibles desde un punto de vista prebiótico [Szathmáry et al. 2005]), han sido aquellos en los que se ponen en juego biopolímeros replicativos en condiciones *in vitro* (como ácidos nucleicos [von Kiedrowski 1986] o péptidos diseñados a tal efecto [Lee *et al.* 1996]). Típicamente (ver Fig. 1), se trata de sistemas en los que la unión de dos pedazos de un oligómero (A y B) es catalizada por el oligómero completo, que actúa como plantilla o 'template' (T). Este tipo de sistema alcanza la autocatálisis (crecimiento exponencial del producto, T) siempre que se construya de tal manera que la unión (A+B—>T) sea un proceso irreversible y que el complejo resultante (una vez efectuada la acción catalítica) se disocie fácilmente (2T—>T+T). El verdadero reto, en cualquier caso, es explorar lo que pueden dar de sí estos sistemas, desde su expresión mínima, que ha sido la más estudiada, hacia otros escenarios de mayor complejidad (ver, por ejemplo: [Vaidya *et al.* 2012]). De hecho, mediante combinaciones de diversos bucles, tanto de retro-alimentación positiva como negativa, y tanto de autocatálisis —propiamente dicha— como de catálisis cruzada, se está trabajando activamente en el desarrollo de redes de complejidad creciente, en estructura, organización y comportamiento dinámico [Dadon *et al.* 2008; Ruiz-Mirazo *et al.* 2014].

En cuanto a los experimentos de autocatálisis física (o físico-química, para ser más precisos), en los cuales se da un acoplamiento entre reacciones químicas y procesos de autoensamblaje de estructuras supramoleculares (por ejemplo, dominios lipídicos suspendidos en la solución acuosa, con objeto de incrementar el rendimiento de las primeras), el grupo pionero fue el de Luisi, en la década de los noventa. Este grupo consiguió un sistema en el cual la formación de estructuras supramoleculares compuestas de ácidos grasos, tanto para el caso de micelas [Bachmann *et al.* 1991] como de vesículas [Walde *et al.* 1994], favorecía la reacción de hidrólisis de un precursor que daba lugar al ácido graso (por ejemplo, anhídrido oleico en el caso del ácido oleico). Así, una vez alcanzada

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

la 'concentración crítica de agregación',[2] la formación de las micelas/vesículas se retro-alimenta positivamente con la síntesis del ácido, exhibiendo la curva sigmoidea característica de todo fenómeno autocatalítico.

Algunos grupos de química orgánica y bioquímica están retomando esta línea de trabajo en los últimos años y logrando resultados de gran interés, utilizando ingredientes sintéticos, alternativos a los de la biología conocida. Por ejemplo, el grupo de Fletcher [Bissette et al. 2014], ha dado con un sistema reactivo (enmarcado en la química de los tioles) que conduce a la producción autocatalítica de micelas y vesículas mediante la formación de un enlace (no a través de un proceso de hidrólisis, como en el caso de Luisi anteriormente descrito). De nuevo, pasado un tiempo en fase *lag* (fase estacionaria) y coincidiendo con el alcance de la *cac* (concentración crítica de agregación) del surfactante producido, se observa un incremento exponencial del rendimiento de la reacción. La formación de micelas y vesículas tiene un efecto concentrador de los reactivos facilitando la transformación química y, por ende, la propia producción de la estructura supramolecular.

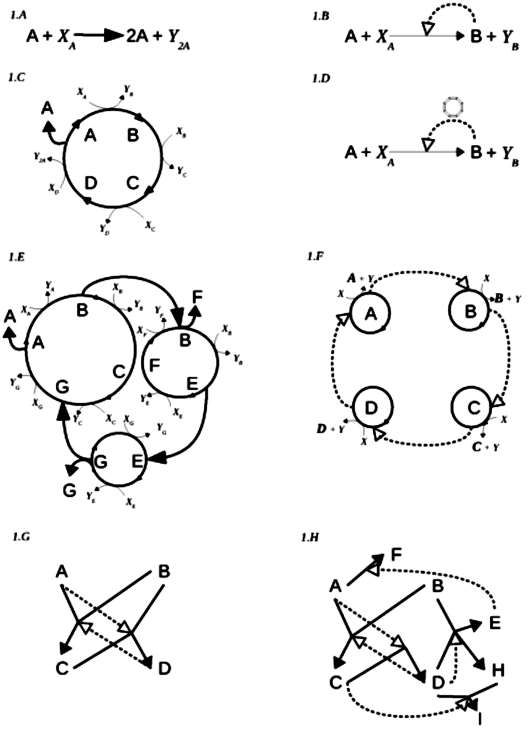

Fig. 1: Tipos de autocatálisis. (1.A) Autocatálisis química en la que un tipo de molécula reacciona para dar lugar a más moléculas del mismo tipo (p. ej., el ión Mn^{2+} en la reducción del permanganato por el ácido oxálico). (1.B) Autocatálisis química en la que el producto de la reacción es el catalizador de la reacción (p. ej., un oligómero auto-replicativo de ADN — von Kiedrowski 1986). (1.C) Autocatálisis cíclica en la que varias reacciones en ciclo acaban con la producción de una de las moléculas del ciclo asegurando su continuación (p. ej., reacción de la formosa – ver también: (Virgo & Ikegami 2013)). (1.D) Autocatálisis 'físico-química' en la que el producto de la reacción es una estructura supramolecular que cataliza la propia reacción (Walde et al. 1994; Bissette et al. 2014). (1.F) Autocatálisis hipercíclica por acoplamiento de ciclos autocatalíticos elementales (1.A ó 1.B) *a la* Eigen & Schuster (1979) y por acopla-

[2] Es decir, superada una fase inicial de acumulación del monómero en solución, hasta que éste satura el medio acuoso y comienza a formar agregados supramoleculares.

miento estequiométrico de ciclos (1.E), *a la* Ganti (2002). Autocatálisis reflexivas o 'RAF's *a la* Kauffman (1986), de mayor o menor complejidad (1.G y 1.H) — ver: (Hordijk & Steel, 2004).
Copyleft 2015 Sara Murillo & Kepa Ruiz-Mirazo— http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.es

En todos estos trabajos, tanto de autocatálisis 'química' como 'físico-química', se incrementa la eficiencia de la reacción como resultado del producto de la misma, sea éste un compuesto químico o una estructura supramolecular derivada. Sin embargo, pasado un tiempo, el sistema satura (de ahí la forma sigmoidea de la curva, en principio exponencial pero luego terminando en meseta), puesto que no es capaz de producir algunos de los reactivos de partida y, por tanto, depende de la adición externa de los mismos. No obstante, hace unos meses se publicaron unos resultados [Hardy et al. 2015] que suponen un avance significativo en dos sentidos: por un lado, su sistema combina los dos tipos de autocatálisis a los que nos hemos referido previamente; y, por otro, se da un paso importante en la búsqueda de una auténtica producción química auto-sostenida, indefinida, sin necesidad de 'cebar' externamente al sistema. En este caso, un complejo catalítico de oligotriazol-cobre es capaz de catalizar su propia síntesis y la síntesis de un triazol fosfolípido a partir de una azida y dos diferentes alquinos. La presencia de vesículas del fosfolípido sintetizado ayuda a aumentar la concentración de precursores del complejo catalizador, incrementando la producción del mismo y la del fosfolípido, lo cual a su vez refuerza la composición y estabilidad del compartimento, que demuestra capacidad de crecimiento —e incluso de división— en esas condiciones [Hardy et al. 2015]. Este ejemplo, sobre el que volveremos más tarde (ver sección 3.1), es novedoso y relevante porque, aunque siga siendo necesario el aporte externo de los tres precursores, el sistema combinado consigue producir los dos componentes clave (es decir, los ingredientes *funcionales*), responsables últimos de su auto-(re-)producción como tal sistema.

3. HACIA UNA BIOLOGÍA SINTÉTICA DE VERDAD: EL NECESARIO IMPULSO 'BOTTOM-UP'

En cualquier caso, este tipo de enfoques empíricos que parten de un conjunto de componentes (bio-)químicos relativamente sencillos son minoritarios en el campo de la biología sintética, como ya adelantábamos en la introducción. De hecho, son las estrategias 'top-down' (de arriba abajo)[3] las que imperan. Por

[3] La terminología 'top-down' y 'bottom-up' ('de arriba abajo' o 'de abajo arriba') se refiere a dos tipos generales de planteamiento de la investigación muy diferentes: el primero parte de sistemas vivos conocidos y los modifica para estudiar sus límites de viabilidad (por ejemplo, el proyecto de determinar cuál es la 'célula mínima' más simple posible), mientras que el segundo parte de los componentes básicos de un sistema y busca la generación de comportamientos dinámicos emergentes

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

ejemplo, Craig Venter y su grupo anunciaron en 2010 la creación de la primera célula artificial controlada por un genoma sintetizado químicamente [Gibson et al 2010]. En efecto, nunca hasta entonces se había conseguido producir el genoma completo de un organismo (*Mycoplasma mycoides*) a partir de nucleótidos artificiales, e implantarlo en otro organismo unicelular similar (*Mycoplasma capricolum*, al que previamente se le había extraído su genoma) logrando que los procesos metabólicos de este último se acoplaran funcionalmente al genoma copiado del primero. El mérito tecnológico de esta empresa es indudable (incluyendo ahí a todas las células de levadura que, de facto, contribuyeron a la copia fidedigna de la secuencia completa, del orden de un millón de pares de bases); y hay que reconocer el interés teórico, además de práctico, que un híbrido de estas características tiene *per se*. Se trata de la primera vez que un sistema molecular digitalizado, resultado de la ingeniería humana aplicada sobre un conjunto de ingredientes químicos sintéticos elementales, toma el control de un sistema biológico.

En la actualidad se está llevando a cabo un proyecto similar de síntesis artificial de un genoma, pero mucho más complejo: el de un organismo eucariota unicelular, *Saccharomyces cerevisiae*, compuesto por 16 cromosomas [Annaluru et al. 2014]. La dimensión de este nuevo reto y sus aplicaciones biotecnológicas son todavía más impresionantes. Pero ¿qué hay realmente de nuevo, desde un punto de vista empírico y conceptual, en la realización de estos planteamientos 'top-down'? Es evidente que desde los albores de la ingeniería genética, el siglo pasado, nos hemos hecho verdaderos especialistas en técnicas de intervención sobre lo biológico utilizando un tipo de interfaz muy poderosa y eficaz: los genes (ahora genomas completos). Sin embargo, la arquitectura que subyace a los sistemas que acabamos de describir no es en realidad muy novedosa: se trata de un calco —de altísima precisión, eso sí— de algo que ya había inventado la naturaleza (ver los comentarios críticos en Nature al artículo de Venter y colegas, semanas más tarde de su publicación [varios autores, 2010]).

Comparados con estos enfoques, la mayor parte de las líneas de investigación abiertas en biología sintética (que trabajan con circuitos genéticos a una escala mucho menor que la genómica [Purnick & Weiss 2009; Wang et al. 2013]) podrían ser interpretados como 'bottom-up' (como se hace, de hecho, frecuentemente — ver, por ejemplo: [Schwille 2011; Cameron et al. 2014]), ya que persiguen la generación de un comportamiento o efecto nuevo a partir de la integración/inserción de un conjunto de módulos funcionales y otros ingredientes básicos que, por separado, o en otras condiciones, tendrían comporta-

similares a los biológicos (por ejemplo, la autoorganización espacio-temporal de dichos componentes, procesos de sincronización, oscilaciones, compartimentación, reproducción…).

mientos/efectos muy diferentes. Sin embargo, el diseño e implementación de circuitos genéticos con propiedades predecibles, ajustables a nuestras necesidades (bien sea a través de sistemas *in vitro* o intervenciones/modificaciones *in vivo*), lleva consigo el uso de componentes bien caracterizados, estandarizados y previamente sintetizados — en la mayor parte de los casos, por otros organismos vivos. Debido a ello, desde nuestra perspectiva, estos planteamientos deben concebirse como 'semi-sintéticos', ya que en parte buscan la emergencia de dinámicas genuinamente nuevas, pero sobre la base de ingredientes moleculares copiados o extraídos de otras formas de vida. Y dentro de esta misma clasificación deberían incluirse las numerosas implementaciones de sistemas 'protocelulares' que utilizan complejos extractos o compuestos biológicos purificados como parte central de la dinámica reactiva que tiene lugar en un contexto de compartimentos lipídicos autoensamblados (entre otros: [Kurihara et al. 2011; 2015; Terasawa et al. 2012; Ichihashi et al. 2015]).

Las líneas de investigación que denominaremos aquí 'bottom-up' son las que se enfrentan directamente al problema de la autoproducción, como veíamos en la sección anterior. A pesar de su dificultad, se trata de encarar el nudo central de la cuestión: la síntesis *autónoma* de componentes con potencial funcional en un sistema. Esto implica una estrategia radicalmente distinta a la clásica ingenieril: en vez de diseñar sistemas susceptibles a control externo en todo momento, hay que buscar *condiciones de posibilidad*, condiciones iniciales y de contorno adecuadas para que un sistema se autoconstruya y auto-modifique a sí mismo [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013]. Son estas líneas de trabajo, todavía marginales, las que deben tomar mayor impulso para que la biología sintética verdaderamente avance en un sentido más revolucionario.

Como destacaremos en la próxima sección (Sec. 4), esto no significa que se deban abandonar el resto de líneas de trabajo, que también realizan aportaciones de gran interés, conducen a un enorme número de aplicaciones tecnológicas, y son fundamentales para la transformación y el desarrollo de la propia biología, una ciencia que hasta la fecha ha sido —y aún sigue siendo— eminentemente analítica y restringida a la forma específica y contingente de la vida terrestre. Pero la estrategia de tomar como punto de partida la biología conocida, que además es fruto de un largo proceso evolutivo, para tratar de reconstruirla no parece lo más apropiado. Es casi intuitivo que se requiere dar 'un paso atrás', en el sentido de 'bajar a la química', al ámbito de las moléculas orgánicas potencialmente precursoras del fenómeno biológico, para poder afrontar esa tarea de reconstrucción (y generalización). El problema es que eso nos enfrenta a una cuestión muy peliaguda: el origen del metabolismo. Pero ahí está la clave. Lo que propicia la emergencia de sistemas autónomos, con una identidad propia, auto-constituida. Sistemas físico-químicos que comienzan a des-

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

plegar una dinámica que sigue sus propias reglas, entendidas como constricciones locales auto-generadas, adicionales a las leyes de interacción básicas [Ruiz-Mirazo & Moreno 2012]. En palabras de Hans Jonas [1966; 2000], el metabolismo trabaja para organizar la vida, para distinguir, en cada momento, su propia identidad de la del material que lo compone — en virtud del cual, sin embargo, forma parte del mundo físico común. Para él, un organismo vivo es una «sorpresa ontológica de la naturaleza», un sistema para el cual su *ser* es su *hacer* (su actividad de continua síntesis de componentes a partir de los recursos del entorno) y su existencia, duración e identidad son su propia función.

Ante una problemática de semejante dimensión, ¿qué podemos hacer? ¿Es de veras factible encararla, en la práctica, desde la química? ¿Qué lecciones podemos extraer de trabajos como los que hemos analizado en la sección anterior, para afrontar el reto? Se nos ocurren, al menos, tres aspectos en los que se puede avanzar significativamente.

3.1. Ampliación del estudio de sistemas autocatalíticos

Una primera consigna apunta a la necesidad de fomentar la investigación sobre redes de transformación de componentes que muestren propiedades autocatalíticas. Según vimos, y según puede apreciarse con más detalle en la Fig. 1, hay diversas maneras de concebir y poner en práctica la autocatálisis química (o físico-química): autocatálisis molecular, autocatálisis cíclica o hipercíclica, autocatálisis reflexiva… Necesitamos conocer un mayor número de sistemas que, partiendo de ingredientes moleculares sencillos, desarrollen comportamientos colectivos con potencial autocatalítico. Este potencial puede realizarse luego en mayor o menor grado, dependiendo del resto de componentes y mecanismos reactivos/autorganizativos implicados, pero parece un aspecto clave en la constitución y el mantenimiento de sistemas cuyo comportamiento emergente se da en condiciones alejadas del equilibrio termodinámico.

De manera más específica, sería preciso explorar redes de complejidad creciente, en las que, partiendo de un conjunto relativamente pequeño de sustancias químicas iniciales (o 'food sets') se va generando, espontánea y progresivamente, una librería de componentes y agregados moleculares nuevos. Los vínculos reactivos y de catálisis retro-alimentada y cruzada que se fueran estableciendo en el proceso deberían dar lugar a un sistema con alta robustez dinámica pero, al mismo tiempo, que mantenga el potencial para la producción de nuevos componentes y comportamientos emergentes. De hecho, se ha comprobado que cuanto mayor sea el tamaño de las redes replicativas o de catálisis reflexiva (ver, por ejemplo: [Yao et al. 1998; Ashkenasy et al. 2004; Vaidya et al. 2012]), más difícil se torna la predicción de sus propiedades y mayor va-

riabilidad de comportamiento demuestran ante cambios en las condiciones de contorno (como el pH o la fuerza iónica de la solución). Si además se indaga en la combinación de estas formas complejas de autocatálisis con mecanismos de tipo físico-químico, en la línea marcada por [Hardy et al. 2015], es probable que se logren dinámicas autoproductivas con mayor facilidad.

3.2. Apuesta por la diversidad y heterogeneidad: hacia áreas de confluencia con la 'química de sistemas'

Otro aspecto que sería conveniente impulsar es el empleo de sistemas de composición mixta y distribución heterogénea de fases. Esto hace más dificultoso el análisis cuantitativo de las muestras experimentales, pero es muy probable que depare sorpresas de gran interés. A fin de cuentas, la vida, incluso en sus expresiones mínimas, es un fenómeno que resulta de la interacción de múltiples tipos de moléculas y combina fases acuosas con otras hidrofóbicas (membranas lipídicas) o de tipo gel. En este sentido, en el contexto de la investigación sobre origen de vida, hace muy poco se ha descubierto [Patel et al. 2015] que una gran variedad de precursores, tanto de aminoácidos como de nucleótidos y de lípidos, son sintetizables a partir de un escenario geo-químico común (se trata, en esencia, de derivados del ácido cianhídrico —cuya síntesis, a su vez, se daría en el contexto de un bombardeo continuo de meteoritos en la Tierra primigenia). El reto ahora es ver en qué manera la presencia de dicha diversidad orgánica podría ser favorable para la constitución de sistemas relativamente estables durante esas primeras etapas prebióticas. Una de las claves consistiría en explorar si estos compuestos son capaces de generar dinámicas autoorganizativas (patrones de orden espacio-temporal alejados del equilibrio) y de autoensamblaje (formación de estructuras supramoleculares de cuasi-equilibrio) combinadas. Así se podrían implementar formas de control espacial (difusión constreñida) sobre las especies propiamente reactivas, lo cual posibilita el despliegue de comportamientos dinámicos muy diferentes a los que se obtienen en condiciones de homogeneidad —algo muy evidente desde el trabajo seminal de Turing [1952] sobre procesos de reacción-difusión, y corroborado por los enfoques más recientes en el estudio de la complejidad físico-química [Epstein 2014].

Lo que todo esto sugiere, de alguna manera, es que para potenciar fenómenos de autoproducción se debe partir desde abajo, o desde un estadio previo, desde la química, pero en condiciones que hasta ahora no han sido probadas, ya que su análisis era muy dificultoso. No obstante, hace unos pocos años, se propuso la 'química de sistemas' [von Kiedrowski 2005; Ludlow & Otto 2008] como un nuevo enfoque y un nuevo conjunto de técnicas de análisis experi-

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

mental precisamente para el estudio de mezclas químicas complejas, y especialmente en condiciones de alejamiento del equilibrio [Ruiz-Mirazo et al. 2014]. Así pues, la biología sintética, sin dejar de hacer lo que está haciendo con componentes y módulos de origen/inspiración biológica, debería asimismo trabajar con todos sus posibles precursores, ampliando el abanico de especies moleculares de relevancia biológica tanto al campo de la química prebiótica como al de posibles químicas sintéticas alternativas. Según se argumenta con más detalle en [Escosura et al. 2015], la interfaz entre la química de sistemas y la biología sintética es, de hecho, el ámbito de investigación más prometedor para avanzar en el problema del origen de vida en términos generales (no sólo sobre el modo en que este proceso ocurrió sobre la Tierra hace 3.800 millones de años).

3.3. La cuestión de la frontera: ventajas de la autoproducción compartimentada

En línea con lo que acabamos de decir sobre la conveniencia de combinar procesos de autoensamblaje y autoorganización para lograr químicas más ricas (aunque sean más "turbias" y difíciles de cuantificar), surge de manera natural la cuestión de la compartimentación. En principio parece que la presencia de compartimentos añade trabas al ya complicado problema de la autoproducción, puesto que impone restricciones añadidas en cuanto a la accesibilidad de precursores y nutrientes al dominio de reacción, así como a la salida de productos de desecho que no tuvieran ningún rol funcional. Esta ha sido la postura mantenida tradicionalmente, por ejemplo, en el campo de orígenes, donde se ha tendido a relegar la emergencia de la celularidad a etapas relativamente tardías del proceso, una vez formados los biopolímeros y mecanismos macromoleculares clave [Joyce 2002; Orgel 2004]. Sin embargo, en los últimos tiempos se ha revertido parcialmente la situación, gracias a la proliferación de modelos, teóricos y experimentales, sobre sistemas protocelulares [Walde 2010; de la Escosura et al. 2015]. Esto puede responder a motivaciones prácticas (como dice Szostak [2012], es mejor encarar el problema de la compartimentación celular pronto, «antes de que se haga totalmente inabordable»), pero también al hecho de que la compartimentación proporciona ventajas reales: por un lado, establece la escala fenomenológica adecuada, a la cual se organizan, de hecho, los procesos y sistemas biológicos fundamentales; por otro, permite la realización de transformaciones químicas que no son favorables termodinámicamente en solución acuosa libre. Además, y en ese aspecto nos centraremos aquí, la compartimentación hace posible un sentido de autoproducción diferente, más plausible o susceptible a implementación 'desde abajo'.

Si uno plantea la autoproducción en el contexto de redes químicas reactivas en un medio acuoso (más o menos homogéneo), el establecimiento de ciclos acoplados de producción de componentes (sean éstos autocatalíticos, estrictamente hablando, o no) resulta primordial, *conditio sine qua non*. Ahora bien, un conjunto de ciclos acoplados no es suficiente, por sí mismo, para especificar la idea de autoproducción biológica, de metabolismo.[4] Por ello, clásicamente, se ha apelado al concepto, notablemente abstracto, matemático, de 'cierre'. Kauffman [2000], por ejemplo, invoca un cierre en el 'espacio de tareas catalíticas' y Rosen [1991] un cierre 'causal eficiente', en el sentido de que todos los componentes funcionales de un sistema biológico son producidos y reparados internamente. Los impulsores de la teoría autopoiética [Maturana & Varela 1973; Varela et al. 1974], por su parte, que incluyen el compartimento de manera central en su concepción de la autoproducción, tampoco se quedan cortos en su nivel de abstracción: ellos hablan de cierre 'operacional' en el contexto de una organización metabólica acoplada intrínsecamente a su frontera topológica, espacial. Todos estos diversos planteamientos teóricos (probablemente más unificables de lo que en principio aparentan [Letelier et al. 2003]), conllevan una exigencia muy alta en términos de los componentes y las relaciones de interdependencia que deben establecer entre ellos para conseguir una autoproducción efectiva —equiparable a estructuras hipercíclicas fuertemente vinculadas entre sí por medio de relaciones de catálisis cruzada o reflexiva (Fig. 1 E y 1 F).

En contraste, cuando se contempla la cuestión desde un punto de vista más cercano a la implementación física, material, de un sistema reactivo encapsulado por una vesícula lipídica, es posible hablar de dinámicas autoproductivas en un sentido mucho más elemental, menos exigente, aunque —aún así— significativo *a nivel sistémico*: es suficiente con que una reacción interna produzca un ingrediente (por ejemplo, un tipo de componente lipídico algo más complejo) que sea lo suficientemente hidrofóbico o surfactante como para que, una vez sintetizado, se una espontáneamente a la membrana y contribuya a su estabilidad o a su crecimiento/división [Mavelli & Ruiz-Mirazo 2013]. Este vínculo, sencillo y directo, ya constituye un acoplamiento fun-

[4] Se observan muchos casos de ciclos reactivos acoplados (entre otros, la reacción Belousov-Zhabotinskii, donde dos ciclos autocatalíticos se acoplan entre sí, y también a un ciclo de retroalimentación negativa [Ganti 2002], o más recientes implementaciones de sistemas oscilatorios similares haciendo uso de componentes orgánicos prebióticos [Semenov et al. 2016]) los cuales están muy por debajo del umbral mínimo para considerar un sistema propiamente *metabólico*. Según lo definíamos en la sección 2.2, el metabolismo implica una gestión autónoma del flujo de materia y energía a través de un sistema, lo cual es inviable sin una dinámica auto-productiva más fuerte, que incluya la frontera del sistema, además de una diversidad composicional y funcional más amplia [Moreno & Ruiz-Mirazo 1999].

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

cional entre química y frontera física, lo cual, unido al hecho de que la vesícula es un compartimento dinámico espacialmente confinado (que marca, de manera natural, una asimetría 'dentro/fuera') hace que el sistema se configure con identidad propia. Una identidad que, por supuesto, tenderá a reforzarse en la medida en que la química interna y el compartimento se desarrollen en complejidad, estableciendo una distinción 'dentro/fuera' más patente y robusta. Este escenario, en el que se concibe la autoproducción como un proceso intrínsecamente (proto-)celular, no está exento de dificultades [Piedrafita et al. 2013; Shirt-Ediss et al. 2015]; sin embargo, tiene la ventaja de proporcionar un marco realista para el despliegue progresivo de las capacidades autoproductivas [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008; Mavelli & Ruiz-Mirazo 2013], con solución de continuidad desde las vesículas más sencillas hasta las células vivas (Fig. 2).

4. FABRICACIÓN VS. DESCRIPCIÓN: EL PROYECTO DE UNA NUEVA BIOLOGÍA

En su interesante artículo de revisión sobre los primeros años de la disciplina, si se puede considerar la biología sintética como tal, Benner y Sismour [2005] destacan que la 'síntesis' guía los descubrimientos científicos de manera muy diferente al 'análisis'. Ponen el ejemplo de cómo los esfuerzos por sintetizar la compleja vitamina B12 fueron claves para entender mejor el enlace químico (más específicamente, los principios de simetría orbital que subyacen a las estructuras moleculares) y para impulsar desarrollos tecnológicos de largo alcance (como la técnica de análisis llamada HPLC —del inglés: 'High-Performance Liquid Chromatography'). Efectivamente, cuando el tipo de reto al que se enfrenta un investigador cambia tanto como lo que supone pasar de llevar a cabo una *descripción* del sistema bajo estudio a su *fabricación* (más o menos completa/integral), es normal que surjan aspectos nuevos, o complementarios, a tener en cuenta y eso permite plantear cuestiones —y comprometerse a dar una serie de respuestas— adicionales. En el caso de los sistemas físicos y químicos, aunque puede haber diversos procedimientos de fabricación o diseños de un mismo tipo de objeto/estructura molecular, se asume que sus propiedades vienen determinadas, de manera general, por los componentes materiales involucrados en el proceso y las interacciones que estos mantienen entre sí. En el caso de la vida, aunque en buena medida también sea así, la cuestión de la materialidad se contempla de un modo más amplio, o abierto: todavía no está claro hasta qué punto es posible construir sistemas biológicos (o partes fundamentales de los mismos) utilizando componentes materiales alternativos. Aunque la discusión sobre

este punto se puede llevar muy lejos (como hizo el campo de la Vida Artificial en sus inicios [Langton 1989]), aquí asumiremos que la cuestión debe plantearse en un escenario de químicas basadas en el carbono y con el agua como solvente universal.

La escala (espacial y temporal) del sistema o fenómeno en cuestión también es un factor determinante: una planetóloga, por ejemplo, no puede pretender construir, de facto, su objeto de estudio; se debe contentar con hacer modelos y, si tiene suerte, recoger observaciones (más o menos indirectas) de la formación de otros planetas similares en distintos sistemas solares, cubriendo las diferentes etapas de un proceso cuya extensión temporal va también más allá de sus posibilidades de implementación como investigadora. En el caso de la biología tenemos la ventaja de que la tarea de síntesis de un organismo es físicamente abordable — al menos, desde el punto de vista de su dimensión espacial. Además, el grado de conocimiento y los métodos de manipulación que hemos desarrollado sobre los mecanismos moleculares subyacentes al fenómeno biológico es enorme. Esto hace que, a pesar de que la variable temporal sea todavía una incógnita (no sabemos si la receta final para la síntesis de vida incluirá procesos evolutivos mediados por selección natural), en principio contemos con herramientas suficientes para poder articular ese cambio radical de perspectiva: desde el enfoque analítico-descriptivo que ha caracterizado a la biología hasta la fecha hacia el reto de la fabricación.

Como se trata de reflejar en la Fig. 2, la ciencia se encuentra todavía muy lejos de poder implementar en el laboratorio algo que se parezca a un ser vivo mínimo, alternativo pero de complejidad similar a la vida más sencilla conocida. De todas formas, aunque informativo sobre el estado de la cuestión, este aspecto probablemente no sea ahora mismo lo más importante: lo fundamental es el cambio de actitud y de planteamiento general que conlleva la biología sintética. Con independencia del grado en el que se consiga ese objetivo final, y con independencia de la metodología y de las metas más concretas que se persigan en cada caso (enfoques 'top-down', 'bottom-up' o 'semi-sintéticos' particulares), el potencial de retorno de este tipo de investigación es enorme. Y nos referimos aquí, en especial, al conocimiento básico — dejando de lado las aplicaciones biotecnológicas derivadas del control [Keasling 2008] o la extensión [Pinheiro & Holliger 2012] de la biología conocida (que son muchas, pero sobre las que en este artículo no nos hemos detenido). En otras palabras, nos interesa lo que nos va a enseñar sobre la propia biología el ejercicio de pretender reconstruirla o rediseñarla. Un ejercicio que, consideramos, merecerá la pena incluso aunque la mayor parte de los intentos sean fallidos. Aunque lo vivo ponga en evidencia, una vez más, nuestras limitaciones, o nos demuestre cuán erróneas eran nuestras premisas de partida.

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

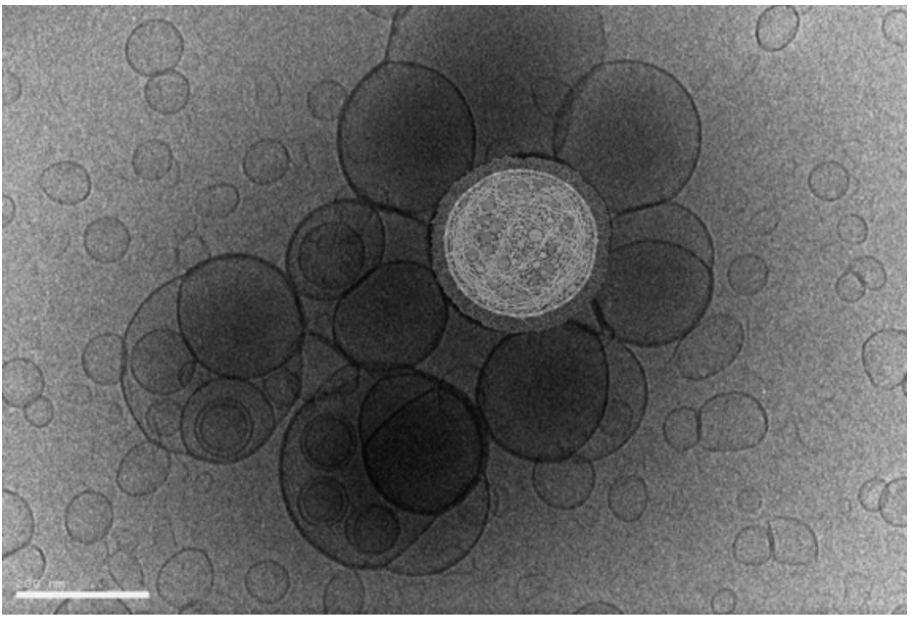

Fig. 2. Contraste entre una imagen de microscopía electrónica (en blanco y negro — tomada en el CIC-Biogune) de vesículas lipídicas sencillas, prebióticamente plausibles, y la representación artística de uno de los procariontes más simples que conocemos (*Mycoplasma mycoides* –por cortesía de D. Goodsell). Las escalas no son necesariamente congruentes, pero tampoco distan mucho de la realidad (existen especies de mycoplasma de tan sólo 0.3μm de diámetro). Destacamos así el enorme hiato que todavía existe entre nuestros intentos de síntesis artificial de un sistema biológico partiendo de dinámicas autoorganizativas o de autoensamblaje y el extraordinario despliegue de capacidades autoproductivas y de integración funcional que demuestran los seres vivos, incluso los más elementales. *Copyleft 2015 Sara Murillo & Kepa Ruiz-Mirazo— http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.es*

Una de las razones por las que el esfuerzo sintético merece la pena, independientemente del enfoque concreto y de su relativo éxito, concierne a lo poco que realmente sabemos acerca de en qué medida la biología terrestre es fruto de la contingencia histórica y en qué medida de la necesidad. A pesar de la enorme diversidad de seres vivos que existen y han existido sobre el planeta, hemos descubierto que las bases moleculares sobre las que se apoya toda la vida conocida son comunes: mismo material genético (DNA), mismo tipo de catalizadores (enzimas proteicas), mismo código genético, mismos intermediarios metabólicos (en un gran número de rutas centrales), mismos principios bioenergéticos, mismo tipo de compartimento celular (bicapa lipídica integrada y rodeada por proteínas). Por tanto, probar experimentalmente que las diversas funciones que requiere un ser vivo se pueden llevar a cabo con otros ingre-

dientes o mecanismos moleculares sería como establecer las condiciones de posibilidad para la generalización de la biología. La comparativa entre las estructuras materiales con funciones biológicas conocidas y las nuevas con las que se lograran efectos análogos nos daría idea de la amplitud de opciones que hay para la emergencia del fenómeno de la vida, ya sea en un planeta como éste o en otro entorno cualquiera.

El objetivo más ambicioso, por supuesto, es el de la fabricación completa (partiendo de compuestos orgánicos relativamente sencillos, como destacábamos en las secciones previas) de sistemas cuyo comportamiento y propiedades dinámicas sean similares a las de un organismo vivo. Eso, en caso de que se pruebe factible (de acuerdo al tipo de planteamiento 'auto-constructivo' que hemos defendido en este artículo — no vemos otra manera), nos llevaría a una versión de la biología 2.0, a través y a partir de la cual se podrían extraer innumerables consecuencias, teóricas y prácticas. Pero el camino hasta esa revolución científica parece todavía muy largo. Mientras, encarar el problema sintético, aunque sea de la manera más extravagante (por ejemplo, forzando que el ADN se inserte en una membrana y se comporte como una pseudo-enzima que cataliza la producción de lípido, induciendo la reproducción del compartimento — según se ha publicado recientemente [Kurihara et al. 2015]), será informativo y constructivo para la biología.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Ningún sistema conocido es auto-productivo en un sentido pleno. Los seres vivos, en sus diversas versiones, son los que más se acercan a realizar ese ideal auto-constructivo y sobre todo lo consiguen a nivel celular. La célula es el centro básico de las operaciones metabólicas, responsable último del resto de la fenomenología biológica, a distintos niveles de complejidad. No obstante, a pesar de constituirse como portentosas fábricas de componentes moleculares, ningún organismo celular sintetiza *todo* lo que necesita. Si a alguien le quedara alguna duda al respecto, no tiene más que pensar en el caso del agua, componente inorgánico fundamental para toda la vida conocida. Y es que los seres vivos son sistemas abiertos, sistemas *indigentes*, dependientes del mundo que los rodea, tanto en un sentido energético como material: su dinámica se sustenta constantemente sobre una diversa colección de recursos que están forzados a captar del entorno. Por muy intrincado que sea el conjunto de bucles de interacciones y procesos de transformación que consiguen realizar internamente, se trata de un continuo flujo de materia y energía, desde sus fuentes a sus sumideros — en ambos casos *externos*. Así, lo ajeno es potencialmente propio y lo propio está condicionado por lo ajeno, o se convierte finalmente en ajeno.

ISEGORÍA, N.º 55, julio-diciembre, 2016, 551-575, ISSN: 1130-2097
doi: 10.3989/isegoria.2016.055.08

Sin embargo, al mismo tiempo, ¿cómo explicar la existencia en el mundo de estructuras moleculares tan sofisticadas como una ATP-sintasa, por ejemplo? ¿Cómo dar cuenta de este hecho sin pasar por la dinámica auto-productiva implicada en un metabolismo celular? Siendo por tanto cautos sobre la noción de auto-producción (el problema no consiste en lograr la síntesis completa de todo aquello que es vital para la célula), resulta a su vez prioritario reivindicarla como concepto central para la biología (ya que sí ha de sintetizarse todo aquello que es vital *y no se encuentra accesible en el entorno*). En definitiva, se trata de flujos de materia y energía, como acabamos de recalcar; pero la gestión que cada organismo celular hace de dichos flujos es *autónoma* en un sentido fuerte, auto-constituyente [Moreno & Ruiz-Mirazo 1999; Ruiz-Mirazo & Moreno 2012]. Es por ello que la autoproducción debe jugar un papel mucho más prominente del que la comunidad científica le ha asignado hasta la fecha, tanto en el plano teórico como experimental.

En este contexto, la biología sintética se erige actualmente como un perfecto banco de pruebas, un marco ideal para explorar e impulsar los enfoques más comprometidos en ese sentido. Aquí hemos defendido una postura de acuerdo a la cual lograr tal objetivo implica sumergirse en las bases químicas del fenómeno biológico. Y hemos insistido en que sumergirse en la química no significa pensar solamente en reacciones, en procesos de transformación material que tengan lugar en condiciones más o menos prebióticas, o más o menos alejadas del equilibrio. Para avanzar desde la química más compleja hacia la biología más simple es fundamental tomar en consideración el contexto espacial y organizativo en el que dichas reacciones tienen lugar. En especial, hay que incluir procesos de difusión (auto-)constreñida, de transporte molecular (a través de barreras de producción propia), a los que esas reacciones de transformación están típicamente acopladas en el dominio de una célula viva [Harold 2001]. En otras palabras, debemos pasar de enfoques que han tratado de explicar cómo se pudo originar y desarrollar en la naturaleza el control *cinético* (ése que realizan las enzimas de un modo tan efectivo en cada célula) a partir de moléculas sencillas (por ejemplo, catalizadores orgánicos), hacia el estudio de dinámicas autoproductivas en las que el control *espacial* (en particular, la compartimentación a través de membranas con permeabilidad selectiva) pasa a ser igualmente crucial, como defendíamos al final de la sección 3.

Esta tarea se puede acometer con sistemas materiales más o menos cercanos o químicamente emparentados con las biomoléculas conocidas, como también hemos visto a lo largo del artículo, pero lo importante es darse cuenta de que para generar sistemas con identidad propia dichos mecanismos de 'control' (cinético y espacial) deben operar sobre dinámicas productivas endógenas, siendo, al tiempo, *resultado* de dichas dinámicas. Es así como los organismos biológicos se constituyen a sí mismos, distinguiéndose de su entorno

y gestionando de manera autónoma los condicionantes materiales que éste en principio les impone. Y es así como adquieren su carácter de *agente*: es decir, la capacidad de actuar "por sí mismos" en dicho entorno — lo cual es una cualidad atribuible a toda forma de vida, incluso a la más simple. De ahí que Jonas [1966 (2000)] describa el metabolismo como el estrato básico de toda existencia orgánica en el que se da la primera forma de libertad dentro de la necesidad material del universo físico.

Sin embargo, existe una curiosa tensión entre la necesidad y la libertad en el organismo vivo. El ejercicio del metabolismo es *ser* el metabolismo, constituirse continuamente como tal. Su posibilidad es hacer (funcionar) y su obligación es precisamente ser (mantener su estructura y organización dinámica). La vida, en la medida en que si no hace no es, tiene la libertad de hacer pero no de omitir (no puede elegir no hacer). Por tanto, para comprender el estrato básico de lo que la vida es/hace hemos de afrontar el desafío (con el cambio de mentalidad que esto supone) de *dejarla hacer.* En tanto en cuanto la vida transcurre en una ejecución productiva de su propia identidad, es preciso reivindicar una investigación centrada en la fabricación, pero tal que, independientemente del *mecano* de componentes moleculares que se ponga en juego, éste gire en torno a la síntesis de esos componentes y su integración funcional emergente. Creemos que un cambio de paradigma en este sentido, aplicado sobre una disciplina que tiende por lo demás hacia los enfoques heterónomos característicos de la ingeniería, ayudaría a dilucidar el problema de la naturalización de la autonomía (y con ello de la libertad del ser), una propiedad básica e imprescindible para todo sistema biológico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Álvaro Moreno su lectura crítica del manuscrito y las observaciones realizadas para su mejora. También quieren reconocer el apoyo a su labor de investigación por parte del Gobierno Vasco (IT 590-13) y del Ministerio de Economía y Competitividad (FFI2014-52173-P). Sara Murillo es además beneficiaria de un contrato pre-doctoral de la Universidad del País Vasco (UPV-EHU). Por otra parte, ambos autores han recibido ayudas en el marco de las Acciones Europeas COST CM1304 ('Emergence and Evolution of Complex Chemical Systems') y TD1308 ('Origins and evolution of life on Earth and in the Universe').

NOTA

Durante revisión de galeradas: Debemos reconocer, no obstante, un avance significativo llevado a cabo recientemente por el mismo grupo de investigación.

BIBLIOGRAFIA

Adrianantoandro, E. ,Basu, S., Karig, D.K., Weiss, R., "Synthetic biology: new engineering rules for an emerging discipline", *Mol.Syst.Biol.* 2006, 2, doi:10.1038/msb4100073

Annaluru, N. et al., "Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome", 2014, *Science,* 344, pp. 55-58

Ashkenasy, G., Jagasia, R., Yadav, M., Ghadiri, M.R., "Design of a directed molecular network", 2004, *PNAS,* 101, pp. 10872-10877

Bachmann, P. A., Luisi, P. L. & Lang, J., "Autocatalytic self-replicating micelles as models for prebiotic structures", 1992, *Nature* 357, pp. 57-59

Benner, S.A., Sismour, A.M., "Synthetic biology", 2005, *Nat Rev Genet,* 6, pp. 533–543

Bishop, R. C., "Fluid convection, constraint and causation", *Interface Focus,* 2012, 2, pp. 4-12

Bissette, A. J. & Fletcher, S. P., "Mechanisms of autocatalysis", 2013, *Angew. Chem, Int. Ed,* 52, pp. 12800–12826

Bissette, A. J., Odell, B., Fletcher, S. P., "Physical autocatalysis driven by a bond-forming thiol-ene reaction", 2014, Nature Communications, 5, pp. 4607

Cameron, D. E., Bashor, C. J., Collins, J.J., "A brief history of synthetic biology", 2014, *Nature Reviews Microbiology,* 12, pp. 381-390

Canton, B., Labno, A. & Endy, D., "Refinement and standardization of synthetic biological parts and devices", 2008, *Nature Biotech.,* 26, pp. 787–793

Dadon, Z., Wagner, N., Ashkenasy, G., "The Road to Non-Enzymatic Molecular Networks", 2008, *Angew. Chem. Int. Ed.,* 47, pp. 6128-6136

de la Escosura, A., Briones, C. & Ruiz-Mirazo, K., "The *systems* perspective at the crossroads between chemistry and biology", 2015, *Journal of Theoretical Biology,* 381, pp. 11-22

Endy, D., "Foundations for engineering biology", 2005, *Nature,* 438, pp. 449–453

Epstein, I.R., "Coupled Chemical Oscillators and Emergent System Properties", 2014, *Chem. Commun.,* 50, pp. 10758-10767

Fontana, W. & Buss, L. W., "The arrival of the fittest: Toward a theory of biological organization", 1994, *Bull. Math. Biol,* 56, pp. 1-64

Fry, I., "The emergence of life on Earth: A historical and scientific overview", 2000, Rutgers Univ. Press, London

Ganti, T., "The Principle of Life", 1987, *OMIKK*, Budapest

Ganti, T., "On the early evolutionary origin of biological periodicity", 2002, Cell Biol. Int., 26, pp. 729–735

Gibson, D.G., Glass, J.I., Lartigue, C., Noskov, V.N., Chuang, R-Y et al., "Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome", 2010, *Science,* 329, pp. 52–56

Hardy, M. D., Yang, J., Selimkhanov, J., Cole, C. M., Tsimring, L. S., Devara, N. K., "Self-reproducing catalyst drives repeated phospholipid synthesis and membrane growth", 2015, *PNAS,* 112, pp. 8187-8192

Harold, F., "The way of the cell", 2001, *Oxford University Press*, Oxford

Hordijk, W., & Steel, M,. "Detecting autocatalytic, self-sustaining sets in chemical reaction systems", 2004, *J Theor Biol*, 227(4), pp. 451–461

Hutchison, C.A. et al., "Design and synthesis of a minimal bacterial genome", 2016, Science, 351, aad6253

Ichihashi, N., Aita, T., Motooka, D., Nakamura, S., Yomo, T., "Periodic pattern of genetic and fitness diversity during evolution of an artificial cell-like system", 2015, *Molecular Biology and Evolution* (publicado 'online' — doi:10.1093/molbev/msv189)

Issac, R., Chmielewski, J., "Approaching Exponential Growth with a Self Replicating Peptide", 2002, *J. Am. Chem. Soc*, 124, pp. 6808-6809

Jonas, H., "The phenomenon of life. Toward a philosophical biology", 1966 (2000), *Harper and Row*, New York. (El principio vida. Hacia una biología filosófica. *Editorial Trotta*)

Joyce, G., "The antiquity of RNA-based evolution", *Nature*, 2002, 418, pp. 214–221

Kauffman, S., "Autocatalytic Sets of Proteins", 1986, *Journal of Theoretical Biology,* 119, pp. 1-24

Kauffman, S., "Investigations", 2000, *Oxford University Press*, Oxford

Keasling, J. D., "Synthetic biology for synthetic chemistry", 2008, *ACS Chem. Biol.,* 3(1), pp. 64-76

Kiedrowski, G. von, "A self-replicating hexadeoxy nucleotide", 1986, A*ngew. Chem. Int. Ed. Engl,* 25, pp. 932-935

Kiedrowski,G. von,. "Public Communication in Systems Chemistry Workshop", 2005, *Venice International University*, pp. 3–4

King, G. A. M., "Recycling, reproduction and life's origins", 1982, *BioSystems*, 15, pp. 89–97

Kittleson, J. T., Wu, G.C., Anderson, J.C., "Successes and failures in modular genetic engineering", 2012, *Current Opinion in Chemical Biology,* 16, pp. 329-336

Kurihara, K. et al., "Self-reproduction of supramolecular giant vesicles combined with the amplification of encapsulated DNA", 2011, *Nat. Chem*., 3, pp. 775–781

Kurihara, K. et al. (2015) A recursive, vesicle-based model protocell with a primitive model cell cycle. *Nature Communications* 6, pp. 8352.

Kwok, R., "Five hard truths for synthetic biology", 2010, *Nature,* 463, pp. 288-290

Langton, C. G., "Artificial Life", 1989, *Artificial Life I (Proceedings of the First Conference on Artificial Life, Los Alamos, September, 1987),* pp. 1-47

Lee, D. H., Granja, J. R., Martínez, J. A., Severin, K. & Ghadiri, M. R., "A self-replicating peptide", 1996, *Nature,* 382, pp. 525-528

Letelier, J. C., Marín, G., Mpodozis, J., "Autopoietic and (M,R) Systems", 2003, *Journal of Theoretical Biology*, 222(2), pp. 261-72

Ludlow, R.F., Otto,S., "Systems chemistry", 2008, *Chem. Soc. Rev.,* 37, pp. 101–108

Maturana, H. & Varela, F. J., "De Máquinas y Seres Vivos: Una teoría sobre la organización biológica"*,* 1973, *Editorial Universitaria S.A.,* Santiago de Chile

Mavelli, F. & Ruiz-Mirazo, K., "Theoretical conditions for the stationary reproduction of model protocells", 2013, *Integrative Biology,* 5, pp. 324-341

Moreno, A. & Ruiz-Mirazo, K., "Metabolism and the problem of its universalization", 1999, *BioSystems,* 49(1), pp. 45-61

Morowitz, H. J., "Energy flow in Biology"*,* 1968, *Academic Press*, New York

Morowitz, H. J., "Beginnings of Cellular Life"*,* 1992, *Yale University Press*, Binghamton, New York

Mossio, M., Saborido, C., Moreno, A., "An organisational account of biological functions", 2009, *Brit J Philo Sci.*, 60, pp. 813–841

Nicolis, G., "Physics of far-from-equilibrium systems and self-organisation", 1989, *The new physics*, *Cambridge Univ. Press*, Cambridge, pp. 316-347

Orgel, L. E., "Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world", 2004, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 39, pp. 99–123

Patel, B. H., Percivalle, C., Ritson, D.J., Duffy, C.D. & Sutherland, J. D., "Common origins of RNA, protein and lipid precursors in a cyanosulfidic protometabolism", 2015, *Nature Chemistry,* 7, pp. 301-307

Piedrafita, G., Ruiz-Mirazo, K., Monnard, P.-A., Cornish-Bowden, A. & Montero, F., "Viability conditions for a compartmentalized proto-metabolic system: a semi-empirical approach", 2012, *PLoS ONE,* 7(6), e39480

Pinheiro, V.B., Holliger, P., "The XNA world: progress towards replication and evolution of synthetic genetic polymers", 2012, *Current opinion in chemical biology,* 16 (3), pp. 245-252

Purnick, P. E. & Weiss, R., "The second wave of synthetic biology: from modules to systems", 2009, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.,* 10, pp. 410–422

Rao, C.V., Wolf, D.N., Arkin, A.P., "Control, exploitation and tolerance of intracellular noise", 2002, *Nature,* 420, pp. 231–237

Rosen, R., "Life itself: A comprehensive inquiry into the nature, origin and fabrication of life", 1991, *Columbia Univ. Press*, New York

Rosenfeld, N., Young, J. W., Alon, U., Swain, P. S. & Elowitz, M. B., "Gene regulation at the single-cell level", 2005, *Science,* 307, pp. 1962–1965

Ruiz-Mirazo,K., Briones,C., de la Escosura, A., "Prebiotic systems chemistry: New perspectives for the origins of life", 2014, *Chem.Rev.,* 114, pp. 285–366

Ruiz-Mirazo, K. & Mavelli, F., "On the way towards 'basic autonomous agents': stochastic simulations of minimal lipid-peptide cells", 2008, *BioSystems,* 91(2), pp. 374-387

Ruiz-Mirazo, K. & Moreno, A., "Basic autonomy as a fundamental step in the synthesis of life", 2004, *Artificial Life*, 10(3), pp. 235-259

Ruiz-Mirazo, K. & Moreno, A., "Autonomy in evolution: from minimal to complex life", 2012, *Synthese,* 185 (1), pp. 21-52

Ruiz-Mirazo, K., Moreno, A., "Synthetic biology: challenging life in order to grasp, use or extend it", 2013, *Biol.Theor.,* 8, pp. 376–382

Schwille, P., "Bottom-up synthetic biology: engineering in a tinkerer's world", 2011, *Science,* 333(6047), pp. 1252-4

Semenov, S. N. et al. "Autocatalytic, bistable, oscillatory networks of biologically relevant organic reactions", 2016, Nature, 537, pp. 656-660

Serrano, L., "Synthetic biology: promises and challenges", 2007, *Mol Syst Biol,* 3, pp. 158

Shirt-Ediss, B., Solé, R.V. & Ruiz-Mirazo, K., "Emergent chemical behavior in variable-volume protocells", 2015, *Life,* 5(1), pp. 181-211

Shetty, R. P., Endy, D. & Knight, T. F. Jr., "Engineering BioBrick vectors from BioBrick parts", 2008, *J. Biol. Eng.,* 2, pp. 5

Szathmáry, E., Santos, M., Fernando, C., "Evolutionary potential and requirements for minimal protocells", 2005, *Top. Curr. Chem.,* 259, pp. 167-211

Szostak, J.W., "The eightfold path to non-enzymatic RNA replication", 2012, *J.Syst. Chem.,* 3, pp. 2

Terasawa, H., Nishimura, K., Suzuki, H., Matsuura, T.,Yomo, T., "Coupling of the fusion and budding of giant phospholipid vesicles containing macromolecules", 2012, *PNAS*, 109, pp. 5942-5947

Turing, A. M., "The chemical basis of morphogenesis", 1952, *Philos. Trans. R. Soc. London*. *Ser. B.,* 237, pp. 37-72

Varela, F. J., "Principles of Biological Autonomy", 1979, *Elsevier*, New York

Vaidya, N., Manapat, M.L., Chen, I.A., Xulvi-Brunet, R., Hayden, E.J., Lehman, N., "Spontaneous network formation among cooperative RNA replicators", 2012 *Nature,* 491, pp. 72–77

Varios autores, "Life after the synthetic cell", 2010, *Nature,* doi:10.1038/465422a

Vinson, V., Pennisi, E., "The allure of synthetic biology", 2011, *Science,* 333, pp. 1235

Virgo, N., Ikegami, T., "Autocatalysis before enzymes: the emergence of prebiotic chain reactions", 2013, *Proceedings of the Twelfth European Conference on Artificial Life*, *MIT Press,* pp. 240-247

Walde, P., "Building artificial cells and protocell models: Experimental approaches with lipid vesicles", 2010, *Bioessays,* 32, pp. 296–303

Walde, P., Wick, R., Luisi. P.L., "Autopoietic self-reproduction of fatty acid vesicles" 1994, *J. Am. Chem. Soc.,* 116, pp. 11649–11654

Wang, H.-S., Wei, K. Y. & Smolke, C.D., "Synthetic biology: advancing the design of diverse genetic systems", 2013, *Ann. Rev. Chem. Biomolec. Engineering,* 4, pp. 69-102

Yao, S., Ghosh, I., Zutshi, R., Chmielewski, J., "Selective amplification by auto- and cross-catalysis in a replicating peptide system", 1998, *Nature*, 396, pp. 447-450