

Illustration by Sam Falconer

ЖИВЫЕ КОМПЬЮ- ТЕРЫ

Скоро специалисты в области синтетической биологии научат живые клетки диагностировать заболевания человека и бороться с загрязнениями окружающей среды

Тимоти Лу и Оливер Перселл



Первые компьютеры были биологическими: у них было две руки, две ноги и по пять пальцев на каждой руке. «Компьютер» — это была должность, а не название механизма. Профессия исчезла, когда в конце 1940-х гг. появились программируемые электрические счетные машины. И до недавнего времени мы называли компьютерами именно электронные приборы.

Однако в последние примерно 15 лет биологи возрождают другие значения слова «компьютер». Ученые в университетах и биотехнологических компаниях надеются, что скоро им удастся создать биокомпьютеры, причем это будут не только интересные объекты для исследований, но и полезный рабочий инструмент. У этих систем, состоящих из генов, белков и клеток, есть основные элементы, используемые в компьютерной логике: условный оператор *IF/THEN*, операции *AND* и *OR* и даже простые арифметические действия. Некоторые системы содержат примитивное цифровое запоминающее устройство. Получая соответствующие биологические сигналы, эти живые компьютеры дают (как правило) определенные ответные реакции.

ОБ АВТОРАХ

Тимоти Лу (Timothy K. Lu) — профессор, возглавляет группу синтетической биологии в Массачусетском технологическом институте. Они добавляют в живые клетки запоминающие фрагменты и вычислительные схемы и используют синтетическую биологию для создания биоматериалов и решения важных медицинских и производственных задач. Тимоти Лу — один из лауреатов стипендии Национальных институтов здравоохранения для поощрения исследований в новых областях. В 2014 г. он стал одним из основателей компании *Synlogic*.



Оливер Перселл (Oliver Purcell) — научный сотрудник группы синтетической биологии в Массачусетском технологическом институте, проводит исследования в разных областях синтетической биологии, начиная от создания частей биоинженерных организмов и заканчивая новейшими вычислительными методами для конструкции биологических систем.



Уже в ближайшие пять лет может начаться использование первых биологических компьютеров в качестве чувствительных и точных средств диагностики и лечения заболеваний человека, в том числе рака, различных воспалений и редко встречающихся нарушений обмена веществ. Мы и другие ученые, создающие эти клеточные вычислительные устройства, предвидим, что в недалеком будущем они будут достаточно безопасными и умными, чтобы диагностировать и лечить болезни. Благодаря этим технологиям появятся более дешевые и быстрые способы получения сложных химических соединений, например лекарств или биотоплива. С загрязнением окружающей среды можно будет бороться с помощью организмов, которые находят и разрушают ядовитые вещества. Пока биокомпьютерные технологии еще слабо развиты. Они находятся в зачаточном состоянии. Это не то что не уровень *iPhone*, но даже не *Colossus*.

Colossus был одним из первых программируемых электронно-вычислительных устройств. Если бы вы проникли в Блетчли-парк, сверхсекретный шифровальный центр, расположенный к северу от Лондона, где *Colossus* начал работать в 1944 г., вы бы увидели шумно движущуюся перфоленту и 1,6 тыс. гудящих ламп. По сегодняшним меркам *Colossus* был до смешного примитивен. Свое название он получил потому, что занимал всю комнату. Он мог выполнять всего несколько типов расчетов и не хранил своей собственной программы. Требовалось несколько дней или недель, чтобы сделать,

загрузить и проверить новую программу. Операторы каждый раз вынуждены были физически переставлять монтажные схемы.

Несмотря на все свои ограничения, *Colossus* мог взламывать шифр, который нацисты использовали для передачи наиболее важных сообщений. Это огромное компьютерное дитя помогло выиграть Вторую мировую войну. А его потомки спустя несколько десятилетий подтолкнули переход цивилизации из индустриального века в информационный.

Наиболее продвинутые клеточные компьютеры пока еще гораздо проще, медленнее и менее способные, чем *Colossus*. Подобно первым цифровым компьютерам, они не всегда работают, выполняют только простейшие программы и их нельзя перепрограммировать за пределами лаборатории. Однако мы убеждены, что эта технология будет развиваться на благо общества так же, как развивалась цифровая электроника. При умелом использовании даже устройство с небольшими способностями сможет произвести почти волшебные изменения в живом организме.

Скорее всего, клеточные компьютеры никогда не заменят электронные или оптические устройства. Биология не сможет победить в конкуренции с физикой твердых тел. Но химическая организация живой материи обладает собственными уникальными способностями и способна взаимодействовать с биологическими объектами так, как этого не могут делать электронные системы.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- Биоинженеры создали живые клетки, которые умеют подсчитывать, суммировать, запоминать данные и выполнять основные логические операции.
- Эти биокомпьютеры передают сообщения с помощью химических сигналов, при передаче которых неизбежно возникает шум. Кроме того, при создании биокомпьютеров не всегда удается предсказать заранее, как они будут себя вести: мы просто недостаточно знаем о работе клеток.
- В научно-исследовательских лабораториях и компаниях изучают возможность использовать специальные устройства, в том числе клетки, которые надо заглатывать, для лечения заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ.

Включить, выключить

Каждая клетка в нашем теле — в некотором роде маленький компьютер. Клетка получает сигналы, обычно в виде прикрепления к ее поверхности определенных молекул, и обрабатывает их с помощью сложной последовательности химических реакций. Иногда они влияют на уровень активности одного или нескольких генов в клеточной ДНК — изменяют экспрессию гена, т.е. интенсивность создания РНК-копий (транскрипции) и синтеза большого числа молекул белка, который закодирован этим геном (трансляции). В результате этих аналоговых химических вычислений формируется ответная реакция: высвобождение гормона клеткой железы, электрический сигнал в нервной клетке, выработка антител иммунной клеткой и т.д.

Занимаясь синтетической биологией, мы стремимся сделать так, чтобы за счет своих естественных способностей к переработке информации клетки начали бы выполнять созданные нами программы. То, что мы пытаемся сделать, далеко выходит за рамки обычной генетической инженерии, когда ген просто «выключают» или усиливают его экспрессию, или вводят один-два гена в клетки организма другого вида. Наша задача — быстро и надежно поменять поведение сразу многих типов клеток (или популяций клеток), примерно так, как это делает инженер-электрик в монтажной схеме: выбирая определенные детали из имеющегося списка и соединяя их друг с другом. К сожалению, биология отличается от электроники, что значительно затрудняет задачу, но об этом позже.

Развитие направления идет медленно, но верно. Первые большие достижения были получены в 2000 г. Тогда Джеймс Коллинз (James Collins) из Бостонского университета вместе с коллегами соединили два взаимно выключающих гена, сделав генетический переключатель, который может находиться в одном из двух стабильных положений, — один бит памяти. В том же году исследователи под руководством Майкла Эловица (Michael Elowitz), работавшего тогда в Принстонском университете, встроили примитивный генетический осциллятор в геном кишечной палочки (*Escherichia coli*). Генетически модифицированные микробы мерцали, как рождественские огоньки, поскольку ген, кодирующий флуоресцентный белок, то включался, то выключался.

К 2003 г. Рон Уэйсс (Ron Weiss), работавший тогда в Принстонском университете, создал «Златовласку» — систему генов, благодаря которой клетка

светится, если концентрация веществ в среде оптимальна: не слишком велика и не снижена. В этой системе соединены вместе четыре инвертирующих элемента, меняющих сигнал на противоположный.

Спустя несколько лет Адам Аркин (Adam Arkin) из Калифорнийского университета в Беркли вместе с коллегами создал память, которая может передаваться по наследству. Когда система запускается, фермент рекомбиназа вырезает маленькие фрагменты ДНК, переворачивает их и вставляет обратно. Когда клетка делится, измененная ДНК передается дочерним клеткам. Это очень полезное свойство, поскольку многие бактерии делятся каждый час или два.

Изготовление частей, выполняющих одну из операций, — это хорошо, но мало; гораздо сложнее и полезнее собрать большое количество фрагментов в единую систему. Специалисты в области

Скорее всего, клеточные компьютеры никогда не заменят электронные устройства. Но химическая организация живой материи обладает собственными уникальными способностями и может взаимодействовать с биологическими объектами так, как этого не могут делать электронные системы

синтетической биологии создали генетические фрагменты для выполнения всех операций булевского типа (*AND*, *OR*, *NOT*, *XOR* и т.д.). К 2011 г. две группы исследователей вставили отдельные логические элементы в бактериальные клетки и запрограммировали клетки так, что они передавали друг другу сигналы с помощью химических веществ, фактически образуя многоклеточные компьютеры.

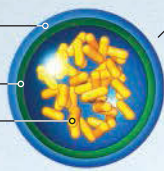
Позже Мартин Фуссенеггер (Martin Fussenegger), Симон Ауслендер (Simon Ausl nder) и другие исследователи из Швейцарской высшей технической школы Цюриха собрали из таких фрагментов более сложную систему, которая могла выполнять простые арифметические действия. Один из нас (Тимоти Лу), работая вместе с Коллинзом, с Джорджем Черчем (George Church) из Гарвардской медицинской школы и другими коллегами, объединил несколько блоков передающейся по наследству памяти, создав штамм кишечной палочки, который умеет считать до трех. Состояние памяти в этой системе не меняется от одного поколения

Биокомпьютерная диагностика

Биокомпьютеры могут применяться для решения множества задач в сельском хозяйстве, производстве лекарств и медицине. Если добавить даже совсем чуть-чуть компьютерной логики в живую клетку, у нее может появиться чрезвычайно полезное поведение.

В научно-исследовательских лабораториях уже идет работа по созданию генетически модифицированных бактерий, которые можно безопасно проглатывать в виде пилюли, — они пройдут по пищеварительной системе и проверят, нет ли там специфических признаков определенных заболеваний. Врачи смогут быстро поставить точный диагноз, поместив мазок фекалий в считывающий аппарат. Такая технология позволит избежать большого количества неопределенностей, задержек и неверных диагнозов, которые часто случаются в гастроэнтерологии.

Кислотоустойчивая оболочка
Защитный слой
Бактерии-биокомпьютеры



1 Для биокомпьютерной диагностики воспалительного заболевания кишечника (ВЗК) будет использоваться маленькая пилюля, содержащая миллионы бактерий, возможно, штамм *Bacteroides thetaiotaomicron*, который в норме живет в кишечнике человека. В каждой бактерии содержится несколько встроенных вычислительных элементов (описаны справа).

2 В тонком кишечнике внешний защитный слой пилюли растворяется и бактерии высвобождаются. По мере того как бактерии проходят сквозь кишечник, встроенные в них датчики могут уловить одновременно присутствие двух и более разных биологических сигналов — тех сигналов, которые появляются вместе, только если у пациента ВЗК.

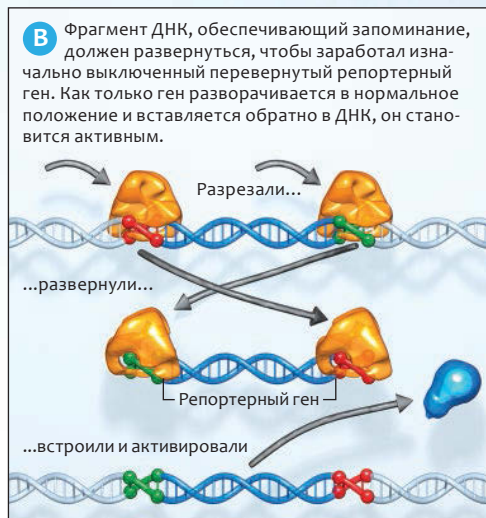
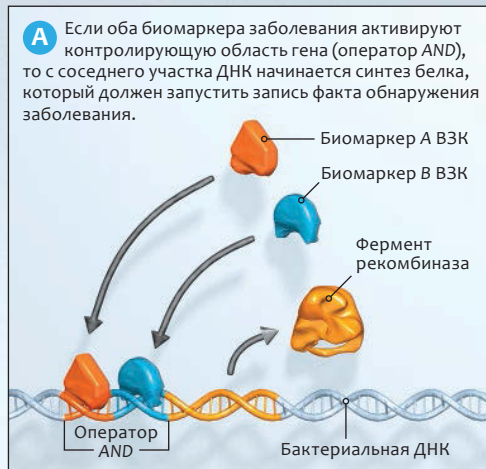
3 При переходе из толстой кишки в прямую сигналы, характерные для заболевания, больше не обнаруживаются, но элемент памяти, встроенный в бактерию, сохраняет эту информацию.

4 В процессе дефекации бактерия выходит из организма. Каждая генетически модифицированная клетка, которая повстречала сигнал во время своего пути, вырабатывает большое количество люминесцентного белка, который обеспечивает слабое свечение и может быть обнаружен с помощью считывающего устройства. Получив информацию, врач и пациент принимают решение о лечении.

Тонкая кишка
Толстая кишка
Прямая кишка

Как это устроено

Добавив всего несколько элементов в геном бактерии, специалисты в области биоинженерии смогли превратить живой микроорганизм в средство диагностики воспалительного заболевания кишечника. В этой вставке находятся два датчика, работающих вместе, как оператор AND, фрагмент, обеспечивающий запоминание, и ген, благодаря которому создается исходящий люминесцентный сигнал.



к другому. Это очень важная особенность, поскольку она позволяет сохранять информацию о прошлых биохимических событиях, которую можно будет извлечь в будущем. Счетчик, который мы сделали, можно улучшить, чтобы он запоминал большие числа и записывал важные биологические события, такие как деление клетки или клеточное самоубийство.

Возможности использования микрошпионов

После того как было показано, что такие устройства в принципе возможны, встал вопрос о перспективах их практического применения. За последние несколько лет мы и другие исследователи нашли много способов создания сенсорных элементов, логических операторов и компонентов памяти для выполнения полезных задач в живых клетках.

Например, в 2011 г. Уэйсс, сейчас сотрудник Массачусетского технологического института, Чжень Се (Zhen Xie), на сегодня работающий в Университете Цинхуа в Китае, и Яков Бененсон (Yaakov Benenson) из Швейцарской высшей технической школы Цюриха создали значительно более сложную генетическую логическую систему, которая может запустить самоуничтожение клеток, если у них есть характерные раковые признаки. Эта система проверяет наличие шести различных биологических сигналов, в данном случае коротких фрагментов РНК, которые называются микроРНК и регулируют экспрессию гена. Эти шесть микроРНК характерны для человеческой раковой клетки линии *HeLa*. Когда система попадает в такие клетки, она переключается на программу уничтожения и вырабатывает белок, который вынуждает клетку совершить самоубийство. В других клетках система не активна и клетка не погибает.

Другая группа исследователей, куда вошли и мы, предложила биоконструкции, умеющие выполнять основные арифметические действия (сложение или вычитание), вычислять коэффициенты и логарифмы, превращать двухразрядные цифровые сигналы в аналоговые, выраженные в количестве белка, и для всех этих логических элементов записывать и передавать состояние «включен/выключен» от родительской клетки к дочерним.

В прошлом году две исследовательские группы из Массачусетского технологического института, наша и Кристофера Войта (Christopher Voigt), создали микроорганизм — биоконструктор, который работает в кишечнике млекопитающих. Мы проверяли его работу в кишечнике мышей, но бактерия, геном которой мы модифицировали, *Bacteroides thetaiotaomicron*, в норме обнаруживается в очень больших количествах в кишечнике примерно половины взрослых людей. Ранее Памела Сильвер

(Pamela Silver) из Гарвардской медицинской школы вместе с коллегами изменила геном кишечной палочки и запустила этих бактерий работать в мышном кишечнике.

Система, вставленная в геном бактерии, превращает ее в шпиона. Пока микроб находится внутри кишечника, в специальном участке его ДНК, как в записной книжке, отмечается, столкнулся ли он с определенным химическим веществом. В качестве этого вещества использовались безвредные соединения, которые мы могли добавлять мышам в пищу, но систему можно легко настроить на выявление ядовитых веществ или же соединений, которые появляются в организме только при наличии определенного заболевания.

Бактерии-детекторы выделяются с мышинным пометом. У тех микробов, которые сталкивались с определенным веществом, запускается синтез фермента люциферазы, которая вызывает свечение в темноте. Это сигнальное свечение довольно слабое, но мы можем увидеть его под микроскопом.

Маловероятно, что биокомпьютеры когда-нибудь будут производить математические вычисления или обработку данных быстрее, чем это делают обычные компьютеры

Легко представить, каким образом такие системы помогут людям с заболеваниями пищеварительной системы, например воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК). Скоро у нас появится возможность так программировать безвредные, обычно обитающие в кишечнике бактерии, что они будут наблюдать и сообщать о появлении первых признаков рака или ВЗК. Бактерии будут сигнализировать об этом, меняя цвет фекалий или вырабатывая определенное вещество, которое можно будет выявить с помощью недорогих средств, похожих на те, что используются при домашнем тесте на беременность.

Сложности при создании биокомпьютеров

Клеточным шпионам вроде тех, которых мы только что описали, не нужно обладать большой вычислительной мощностью, чтобы кардинально улучшить имеющиеся возможности диагностики. Нужны элемент *IF/THEN*, несколько элементов *AND* и *OR* и один-два бита передающейся по наследству памяти. Хорошо, что этого достаточно, поскольку биоинженеры встречаются с большим количеством трудностей, с которыми никогда не сталкивается инженер-разработчик электронных вычислительных устройств.

По сравнению с гигагерцевыми частотами электронных устройств биологические приборы работают с черепашной скоростью. Когда наша генетическая система получает входной сигнал, обычно проходят часы, прежде чем появится сигнал на выходе. К счастью, многие биологические события, которые мы хотим зарегистрировать, появляются не на короткое время. Тем не менее исследователи продолжают искать способы ускорить процесс вычисления в живых клетках.

Еще одна проблема — обеспечение взаимодействия между компонентами системы. В обычных компьютерах это решается просто: отдельные части соединяются с помощью проводов. Если один провод идет от нескольких компонентов сразу, можно дать каждому свой определенный небольшой промежуток времени для передачи сообщений и таким образом синхронизировать работу всех частей системы и получить общий четкий сигнал.

Но в биологических объектах нет проводов и генератора синхроимпульсов. Передача сигналов внутри и между клетками изначально осложнена

шумами, как у радио. Одна из причин возникновения шумов следующая: биологические объекты при коммуникации передают сигнал химическим способом, а не по проводам. Все части системы, использующие какой-то конкретный химический канал передачи, могут говорить одновременно. Что еще хуже, химические реакции, лежащие

в основе передачи и восприятия сигналов, сами по себе создают шум. Биохимия — это во многом случайные процессы. Поэтому важной проблемой остается создание таких систем, которые работали бы надежно, несмотря на наличие шума.

Эти проблемы особенно актуальны для тех систем, где используются аналоговые вычисления, потому что, подобно логарифмической линейке, они зависят от значений (уровень содержания белков или РНК), которые могут меняться почти непрерывно. И наоборот, цифровые системы обрабатывают сигналы, которые могут иметь только значения «высокий/низкий» или «истина/ложь». И если цифровые системы не страдают от шума, в биокомпьютерах очень мало деталей могут работать подобным образом.

Самая большая проблема, с которой мы сталкиваемся, — не предсказуемость, а, честно говоря, наше невежество. При создании электронного вычислительного прибора можно почти с идеальной точностью предсказать, как будет вести себя новый прибор, еще до того, как он будет сделан. Биологи сейчас не понимают до конца, как именно работают клетки, даже такие простые, как бактериальные, поэтому не удается делать надежных

предсказаний. Мы движемся вперед в основном методом проб и ошибок и часто обнаруживаем, что созданные нами системы работают только некоторое время, а затем разваливаются. Очень часто мы не понимаем, почему так происходит.

Но мы учимся, и одна из важных причин, почему надо делать клеточные компьютеры, — потому что в процессе их создания, тестирования и отладки мы выясняем те аспекты клеточной биологии и генетики, которые не были известны ранее.

Рождение нового компьютера

Могут потребоваться десятилетия на то, чтобы решить все эти проблемы. Некоторые из них, связанные с низкой скоростью биологических процессов, возможно, останутся нерешенными навсегда. Поэтому кажется маловероятным, что производительность биокомпьютеров будет расти так же стремительно, как это произошло с цифровыми вычислительными устройствами. Мы не рассчитываем, что биокомпьютеры когда-нибудь будут производить математические вычисления или обработку данных быстрее, чем это делают обычные компьютеры. Но создание биокомпьютеров будет ускоряться по мере того, как растет скорость, с которой мы можем расшифровывать и синтезировать ДНК. По аналогии с законом Мура эта тенденция ежегодно снижает количество времени, необходимого для разработки, создания, тестирования и совершенствования наших генетических систем.

Пока это только первые шаги, но потом начнется и коммерческое применение биокомпьютеров. Клетки могут перемещаться среди живых тканей, распознавать сложные химические сигналы, стимулировать рост и исцеление так, как никогда не сможет ни один микрочип. Когда будет хорошо работать биокомпьютерная диагностика, можно будет научить биокомпьютеры сразу лечить заболевание прямо там, где они его обнаружили.

Рак крови уже пытаются лечить таким способом: у больного берут иммунные клетки Т-лимфоциты, встраивают в них гены, обучающие лимфоцит убивать раковые клетки, и вводят эти клетки обратно в организм. Сейчас исследователи работают над тем, чтобы добавить логический элемент в генетическую схему, чтобы Т-лимфоциты могли распознавать разные признаки раковой клетки. Кроме того, туда будет добавлен выключатель, чтобы врачи могли контролировать работу этих клеток. Таким способом можно будет лечить многие формы рака.

В 2013 г. Коллинз и Лу, объединившись с другими биологами, основали фармацевтическую компанию *Synlogic* для разработки генетически модифицированных бактерий — пробиотиков, которые можно просто проглатывать. Сейчас они совершенствуют биокомпьютеры, предназначенные для

лечения фенилкетонурии и нарушений цикла мочевины, двух редких, но серьезных нарушений обмена веществ, от которых люди страдают с самого рождения. Начались испытания на животных, и их результаты обнадеживают.

Когда мы лучше разберемся в том, как микрофлора человека влияет на его здоровье, мы сможем сделать генетически модифицированных бактерий для лечения более широкого спектра заболеваний, не только раковых, но и воспалительных, нарушений обмена веществ и заболеваний сердечно-сосудистой системы. По мере накопления опыта и постоянного увеличения разнообразия фрагментов, которые можно использовать для вставки в геном, «умная» медицина окрепнет и распространится гораздо шире. По-видимому, в дальнейшем эта технология перейдет из медицины и в другие области. Так, модифицированные бактерии могут стать эффективными производителями биотоплива. В химии и производстве материалов биокомпьютеры могут использоваться для получения веществ, которые сейчас сложно получить, или там, где необходим точный контроль над процессом биопроизводства. В области охраны природы биокомпьютеры можно использовать в труднодоступных местах для оценки длительности воздействия ядовитых веществ и для проведения обезвреживания.

В этой сфере происходят стремительные изменения. Почти наверняка самые удивительные направления использования биокомпьютеров еще не обнаружены. ■

Перевод: М.С. Багоцкая

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Гиббс У. Синтетическая жизнь // ВМН, № 8, 2004.
- Multi-input RNAi-Based Logic Circuit for Identification of Specific Cancer Cells. Zhen Xie et al. in *Science*, Vol. 333, pages 1307–1322; September 2, 2011.
- Synthetic Analog and Digital Circuits for Cellular Computation and Memory. Oliver Purcell and Timothy K. Lu in *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 29, pages 146–155; October 2014.
- Programming a Human Commensal Bacterium, *Bacteroides thetaiotaomicron*, to Sense and Respond to Stimuli in the Murine Gut Microbiota. Mark Mimee et al. in *Cell Systems*, Vol. 1, No. 1, pages 62–71; July 29, 2015.
- Список основных достижений в процессе развития биокомпьютеров см. по адресу: ScientificAmerican.com/apr2016/biocomputing