

Įvadas į sintetinę biologiją ir biotechnologijas

Pamokos planas

Pamokos dalyviai	9 – 12 klasės mokiniai
Pamokos tikslai	<ol style="list-style-type: none">1. Susipažinti su sintetine biologija, kaip mokslo sritimi, ir jos potencialu, šiuolaikinėmis biotechnologijomis.2. Ugdyti gamtamokslines kompetencijas: gyvybės mokslų dėsnių suvokimą, mokslinių atradimų reikšmės vertinimą, biologinės informacijos apibendrinimą.3. Atskleidžiant sintetinės biologijos tarpdiscipliniškumą, skatinti biologijos dalyko integraciją į skirtingas gamtos ir tikslųjų mokslų disciplinas: genetiką, molekulinę biologiją, informacines technologijas, matematiką, bioinformatiką.4. Ugdyti kritinį ir kūrybinį mąstymą sprendžiant šiuolaikines gamtos mokslų problemas.5. Skatinti kritiškai vertinti gamtamokslinio pobūdžio informaciją, mokslo bei technologijų poveikį biologinei įvairovei ir visuomenės raidos procesams.
Ugdomi gebėjimai	<ol style="list-style-type: none">1. Iliustracijose (piešiniuose ir nuotraukose), schemose, grafikuose ir diagramose pateiktos informacijos analizavimas, išvadų formulavimas.2. Įgytų žinių (sintetinės biologijos sistemų kūrimo principų) taikymas sprendžiant uždavinius ar biologines problemas.3. Gamtamokslinės informacijos paieška internete bei literatūros šaltiniuose.4. Kritiškas sintetinės biologijos atradimų reikšmės vertinimas sprendžiant socialines, ekonomines ir aplinkosaugines problemas.

Žinios ir supratimas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Apibūdina organizmų klonavimo procedūrą ir įvertina šio metodo naudą bei galimą žalą gamtai ir žmogui. 2. Atsižvelgia į mikroorganizmų įvairovę biosferoje, geba paaiškinti jų pritaikymo biotechnologijose galimybes. 3. Remiantis supratimu apie viduląstelinio kvėpavimo procesą, aptaria jo taikymą biotechnologijose (pvz. giros, biodegalų gamyboje). 4. Nagrinėdami praktinius pavyzdžius, apibūdina veiksnius, turinčius įtakos auginant mikroorganizmų kultūras. 5. Apibūdina mikroorganizmų panaudojimą biotechnologijose. 6. Supranta ir geba vartoti sąvokas: klonavimas, genų inžinerija, biotechnologijos, sintetinė biologija, gyvybės mokslai, genetiškai modifikuoti organizmai.
Preliminari trukmė	2 pamokos
Veiklos tipas	Interaktyvus pristatymas, moksleivių įsitraukimo skatinimas naudojant papildytos realybės platformą ir užduodant klausimus. Informacija užtvirtinama praktine užduotimi.
Priemonės	Edukacinė papildytos realybės platforma „6-asis SinBio pojūtis“, prieiga per internetą: https://igem-vilnius-ar.com/ . Žymekliai su QR kodais, telefonas su kamera arba kompiuteris 3D modeliams analizuoti. Iliustracijos, pateiktos prie pamokos plano. Toliau dokumente pateikti pamokos konspektas ir praktinė užduotis, yra paruoštos planą ir konspektą atitinkančios skaidrės (prieiga per internetą: https://igem-vilnius-ar.com/assets/skaidres.pptx). iGEM komandos narių vesta pamoka ta pačia tema, prieiga per internetą: https://youtu.be/i9lnzVc1UT8) gali būti ir kaip mokymo priemonė, ir kaip informacijos šaltinis. Sąsiuviniai, rašymo priemonės, vadovėliai. Praktinei užduočiai įgyvendinti galima naudoti konferencijų bloknotus ir žymeklius.
Pagrindinė informacija mokytojui	<ul style="list-style-type: none"> • Pamokos konspektas • Informacinis paketas apie papildytos realybės modelius bei kaip naudotis platforma „6-asis SinBio pojūtis“. Prieiga per internetą: https://igem-vilnius-ar.com/assets/informacija.pdf.

	<ul style="list-style-type: none"> • Rekomenduojama praktinė užduotis, <p>Rekomenduojami informacijos šaltiniai:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vilnius-Lithuania iGEM komandos vestos pamokos apie sintetinę biologiją įrašas: https://youtu.be/i9lnzVc1UT8. • Šioje knygoje galima rasti daug teorinės informacijos paprasta kalba bei praktinių sintetinės biologijos darbų pavyzdžių. Bernstein, R., Ingram, K., & Hart, K. M. (2015). <i>BioBuilder: Synthetic biology in the lab.</i> " O'Reilly Media, Inc.". Prieiga per internetą: https://biobuilder.org/education/for-teachers/ • Informacija apie jau prieinamus sintetinės biologijos būdais pagamintus produktus. Viena jų – augalinius mėsainius „Impossible“ (prieiga per internetą: https://impossiblefoods.com/) siūlome aptarti ir pamokų metu. Voigt, C. A. (2020). Synthetic biology 2020–2030: six commercially-available products that are changing our world. <i>Nature Communications</i>. Published. Prieiga per internetą: https://www.nature.com/articles/s41467-020-20122-2 • Insulinas yra plačiai aptiriamas baltymas bendrojoje ugdymo programoje. Pasitelkiant jį kaip pavyzdį galima puikiai atskleisti biotechnologijas ir sintetinę biologiją. „National Library of Medicine“ edukacinė priemonė vaizduoja sintetino insulino gamybą mikroorganizmuose, prieiga per internetą: https://www.nlm.nih.gov/exhibition/fromdnatobeer/exhibition-interactive/recombinant-DNA/recombinant-dna-technology.html. Tokiu būdu dabar yra gaminamas insulinas cukrinio diabeto gydymui.
<p>Probleminiai klausimai</p>	<p>Kur yra riba tarp etiško ir netinkamo genų redagavimo panaudojimo? Ką galima laikyti sintetine gyvybe – ar užtenka tik vieno naujo, nebūdingo natūraliai geno, ar būtina sukurti naują ląstelę su natūraliai nebūdingais baltymais, genais, lipidais? Kuo skiriasi genų inžinerija ir sintetinė biologija? Kaip neapibrėžtose ir ne iki galo pažįstamose sistemose (ląstelėse) kurti universalius, nuolat veikiančius įrankius?</p>

Galima eiga

1. Trumpai primenami procesai iš ankstesnių temų, kuriuos svarbu žinoti, norint gerai suprasti šios pamokos turinį:
 - a. **DNR, RNR sandara;**
 - b. **Baltymų sintezė;**

Pav. 1 Baltymų sintezės ir pyrago gamybos palyginimas

- c. **Bakterijų morfologija.**
2. Kas yra sintetinė biologija? Nagrinėjamas jos apibrėžimas.
3. **Sintetinės biologijos taikymams** paaiškinti, pristatoma problematika, kurios sumažinimui galima pasitelkti mikroorganizmus ir biotechnologijas, sintetinę biologiją. Kiekvienai problemai analogiškai pateikiamas konkretus sprendimo, panaudojant sintetinę biologiją, pavyzdys.
 - a. **Maisto** pramonė:

- i. kurti veganišką pieną su naudingais organizmui gyvūniniais baltymais;

*Pav. 2 veganiško sūrio kūrimo etapai. Šaltinis:
<https://www.realvegancheese.org/>*

- ii. ryžiai, kurie praturtinti β -karotenu ir gali padėti spręsti sveikatos problemas, kylančias dėl vitamino A trūkumo. Šioje vietoje rekomenduojama parodyti papildytos realybės modelį apie genetiškai modifikuotus organizmus. Prieiga per internetą: <https://igem-vilnius-ar.com/models/gmo>.

Pav. 3 Auksinių ryžių kūrimo procesas, šaltinis <https://www.isaaa.org/>.

- b. **Medicina:** žmogaus insulino gavyba, pasitelkiant mikroorganizmų genų inžineriją.

*Pav. 4 insulino gamybos bakterinėje ląstelėje procesas, šaltinis:
<https://cutt.ly/zRwkPb8>.*

- c. **Aplinkosauga:** aptiktas genas, kuris lemia augalų šaknų augimo gylį. Mokslininkai siekia pasitelkti šį geną ir giliai įsišaknijusiose

augalų šaknyse fiksuoti anglies dioksidą. Šaltinis:

<https://www.salk.edu/harnessing-plants-initiative/research/>

Pav. 5 idėjos vizualizacija, šaltinis www.salk.edu.

Lietuvoje taip pat plėtojamos biotechnologijos ir sintetinė biologija. Veikia startuoliai, mokslininkai atlieka pasaulinės reikšmės tyrimus, o Vilniaus biotechnologijų sektorius yra vienas sparčiausiai augančių visoje Europoje.

4. Paaiškinamas **keturių lygių sintetinės biologijos sistemų kūrimas**, taip pagrindžiant charakterizacijos ir standartizacijos reikšmę.

Vizualizacijos – pridedamose skaidrėse

5. Keturių lygių sintetinės biologijos sistema dar kartą pristatoma per insulino išgavimo genetinės grandinės pavyzdį. *Vizualizacijos – pridedamose skaidrėse*

6. **Standartizacijos** ir **charakterizacijos** apibrėžimas ir jo reikšmė.

Tarpdiscipliniškumo svarba, tam atskleisti galima pasitelkti papildytos realybės modelį „Bioinformatika“, prieiga per internetą: <https://igem-vilnius-ar.com/models/bioit>.

7. **Bioetinių** aspektų aptarimas – kaip sintetinės biologijos ir apskritai biotechnologijų progresavimas veikia gamtą, visuomenę, jos raidos procesus bei atskirą žmogų.

8. Pristatomi du metodai, kurie reikšmingi praktiškai redaguojant DNR – klonavimas ir CRISPR-Cas9 sistema:

- a. **klonavimą** rekomenduojame aiškinti išsikėlus tikslą – sukurti mikroorganizmą, kuris gamintų insuliną. Insulinas ir jo reikšmė dažnam moksleiviui yra žinoma, tai galėtų padėti pateikti proceso aktualumą ir kartu padaryti jį labiau suprantamu. Klonavimui reikalingi žinomi genai, specialūs fermentai, plazmidės ir mikroorganizmai. Rekomenduojame demonstruoti animuotą skaidrių prezentaciją.

Pav. 6. pagrindinių klonavimo etapų apžvalga

- b. **CRISPR-Cas9** sistemos pristatymas bei supažindinimas su lietuvių mokslininkų pasiekimais šioje tyrimų srityje. Šio aspekto

	<p>atskleidimui rekomenduojame peržiūrėti papildytos realybės modelį „Genų žirklys“, prieiga per internetą: https://igem-vilnius-ar.com/models/crispr.</p> <p><u>Praktinė užduotis plačiau paaiškinta žemiau, esminės dalys yra šios:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Mokiniai paskirstomi į grupes po 4 – 5 ir grupėse turi išspręsti aktualią visuomenei problemą pasiremdami keturių lygių sistema. 2. Grupės pristato savo parengtus planus viena kitai, diskutuoja tarpusavyje.
Vertinimas	<p>Vertinimas (jam skiriama iki 10 minučių) sudarytas iš trijų dalių:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● mokytojo įvertinimo: <ul style="list-style-type: none"> ○ grįžtamojo ryšio suteikimas mokiniams, remiantis šiais kriterijais: ar pateikti atsakymai buvo aiškūs bei suprantami? Ar atsakymai buvo kūrybiški, unikalūs? Mokytojas atsižvelgdamas į mokinių nuomonę apie užduočių sudėtingumą gali keisti vertinimo sistemą mokiniui palankiu būdu. ○ savirefleksija apie tai, kaip pavyko įgyvendinti išsikeltą tikslą ir uždavinius, ką būtų galima patobulinti kitąkart dėstant tą pačią temą. ● mokinių įvertinimo: <ul style="list-style-type: none"> ○ mokinių grįžtamojo ryšio mokytojui: kas buvo itin suprantamai paaiškinta? Kuri pamokos dalis sukėlė daugiausiai neaiškumų, buvo neįdomiausia? Kuris metodas (ne)patiko labiausiai? ○ savirefleksijos, atsakant į šiuos klausimus: ko išmokau šioje pamokoje? Kas buvo įdomu? Kas buvo sunkiau suprantama, kaip tai bandei spręsti? ● kviečiame suteikti grįžtamąjį ryšį ir šio turinio kūrėjams, užpildant anketą. Prieiga per internetą: https://forms.gle/XJGZoCYgvjYffQzo7.
Veiklos plėtotė	Dalyvavimas DNR dienos konkurse, papildomos literatūros skaitymas (pavyzdžiui, apie genų raišką), dalyvavimas olimpiadose. Lankymasis

	<p>mokslinėse laboratorijose, kurios tiria transkripciją bei transliaciją, kvietinių lektorių, pavyzdžiui, mokslininkų pamoka. Dalyvavimas Vilnius-Lithuania iGEM organizuojamose veiklose, mokyklos iGEM komandos subūrimas.</p>
Patarimai mokytojui	<p>Stengtis naudoti kuo daugiau paveikslų bei animacijų bei kurti įsimintinas asociacijas vengiant pateikti temą tik per standartizuotus apibrėžimus. Nebijoti kalbėti apie ne iki galo išaiškintas temas, atskleisti temą visapusiškai, aptariant tiek biotechnologijų privalumus, tiek trūkumus ir keliamus klausimus. Pati sritis yra labai greitai kintanti, tad natūralu, jei į kažkuriuos mokinių klausimus mokytojas neturi atsakymo – visada galima pasikonsultuoti su kolegomis, šio turinio rengėjais, papildomai pasidomėti internetiniais šaltiniais. Rekomenduojami šaltiniai pateikti prie pagrindinės informacijos mokytojui.</p>

Konspektas pamokos tema

Dalys:

1. DNR – gyvybės pagrindas. Molekulinės biologijos pagrindai.
2. Kas yra sintetinė biologija?
3. Kur sintetinė biologija gali būti pritaikoma?
4. Kaip sugalvoti sintetinės biologijos sistemą?
5. Kaip sukurti sintetinės biologijos sistemą?

DNR – gyvybės pagrindas

DNR yra gyvybiškai svarbi molekulė, kurioje įrašyta informacija apie tai, kaip turi atrodyti ir veikti organizmas. DNR yra sudaryta iš 4 smulkesnių dalelių – nukleotidų. Tarpusavyje jos skiriasi tik azotinėmis bazėmis, kurios gali būti Adeninas, Citozinas, Guaninas, Timinas. Azotinės bazės jungiasi tarpusavyje **komplementarumo** principu – adeninas ir timinas, guaninas ir citozinas sudaro jungtis tik tarpusavyje. Nukleotidai taip pat jungiasi per fosforo rūgšties liekaną ir cukrų (deoksiribozę) ir rezultate turime susisukusią dvigrandę molekulę, primenančią kopėčias. Ši struktūra yra padalinta į daug atskirų atkarpų, kurias vadiname **genais**. Nuo to, kiek ir kokie nukleotidai bei kaip jie yra išsidėstę šiose atkarpose – genuose, – priklauso visi žmogaus ar bet kurio kito organizmo požymiai, pavyzdžiui: plaukų spalva, kraujo grupė ir panašiai.

DNR įtaką organizmo veikimui ir išvaizdai daro pasireiškia per baltymus. Tam, kad informacija, esanti genuose, būtų perduodama ir nulemtų tam tikrą požymį, yra reikalinga **baltymų sintezė**. Fermentai išvynioja DNR spiralę ir atskiria jos grandines, o tada nuo vienos iš jų formuojama informacinė RNR grandinė. Ji taip pat formuojama ne atsitiktinai, o pagal **komplementarumo** principą: prie DNR A nukleotido jungiasi U (iRNR skiriasi nuo DNR tuo, kad vietoje Timino turi Uracilą), prie DNR G nukleotido – C, prie DNR T nukleotido – A ir taip toliau. Kitame etape, kuris vyksta ribosomose, šioje informacinėje RNR esanti informacija yra nuskaitoma ir paverčiama į aminorūgščių seką. Transportinės RNR nuskaito informacinės RNR informaciją ir atneša reikalingą aminorūgštį.

Galime įsivaizduoti, jog **DNR – močiutės firminio pyrago atidžiai saugomas receptas**. Panorėjus pyragą pagaminti namie, jums reiks receptą persirašyti į nuosavą lapelį. **Jūsų lapelis su informacija apie firminį pyragą ir bus informacinė RNR**. Tuomet reikės įvairių ingredientų –

aminorūgščių – ir įrankių – transportinės RNR, ribosominės RNR, – pyrago tešlos maišymui. Kai jau visa iRNR nuskaityta, turime aminorūgščių seką – pagamintą tešlą. Ta seka gali lankstytis klostės forma, susisukti į spiralę ar jungtis su kitomis sekomis – tai būtų analogija pyrago kepimui bei dekoravimui. Po šio etapo mes turime galutinį produktą – baltymą – pyragą.

Įvairūs baltymai yra gyvybės struktūrų ir funkcijų pagrindas. Baltymų būna įvairių rūšių. Keletas pavyzdžių:

- **Hormonas** insulinas yra reikalingas pastoviam gliukozės kiekiui kraujyje palaikyti. Jis yra sintetinamas kasoje ir išskiriamas į kraują, kai gliukozės kiekis kraujyje padidėja.
- Visi **fermentai** yra baltymai, kurie greitina daugumą organizme vykstančių reakcijų. Fermentai prisideda ir prie įvairiausių požymių atsiradimo: pavyzdžiui, mūsų akių spalvą nulemia pigmentai, kuriems pagaminti yra reikalingi fermentai. Dar kiti fermentai yra mūsų virškinimo trakte (pepsinas, tripsinas, lipazė, amilazė ir kiti) jie suskaido mūsų suvartotas maistines medžiagas, kad jos būtų įsisavinamos.
- Dalis baltymų yra organizmo **statybinės** medžiagos. Pavyzdžiui, kolagenas, elastinas įeina į odos, plaukų sudėtį, palaiko organų, audinių struktūrą, sandarą.
- Baltymai veikia kaip kitų medžiagų **nešikliai**. Pavyzdžiui, baltymas hemoglobinas prisijungia deguonį iš plaučių ir nuneša į audinius, taip pat surenka anglies dioksidą ir nuneša į plaučius pašalinimui iškvepiant. Kiti baltymai nešikliai įsitvirtina ląstelių membranose ir leidžia stambesnėms medžiagoms patekti į ląstelę arba iš jos pašalinti.
- Kai kurie baltymai (antikūnai) atlieka **imuniteto** palaikymo funkciją. Pavyzdžiui, antikūnai prieš koronavirusą jungiasi prie viruso dalelių, tokį kompleksą atpažįsta kitos imuninės ląstelės ir jis yra pašalinamas iš organizmo

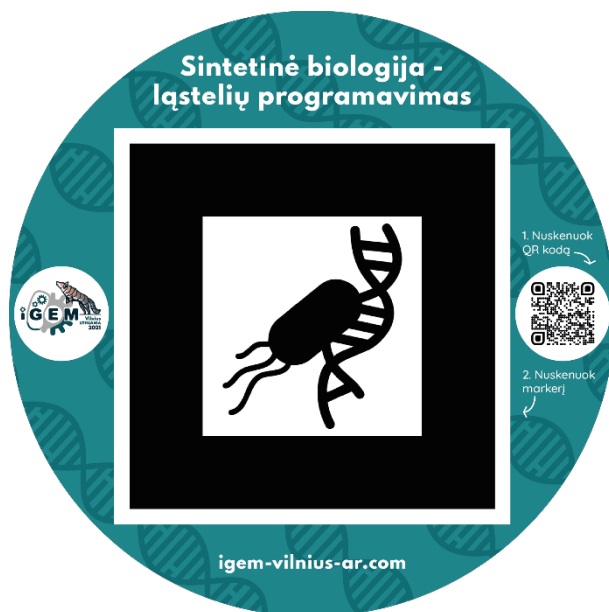
Kas yra sintetinė biologija?

Sintetinė biologija yra **tarpdisciplininė** mokslo sritis, apjungianti **tiksluosius** mokslus (matematiką, inžineriją, informacines technologijas) ir **gyvybės** mokslus (biologiją, mikrobiologiją, ekologiją, molekulinę biologiją). Tad prie sintetinės biologijos projektų dirba įvairų išsilavinimą turintys žmonės: biologai, biotechnologai, mikrobiologai, matematikai,

programuotojai, modeliuotojai, inžinieriai, socialinių mokslų atstovai. Pagrindinė šios mokslo srities veikla yra **gyvų organizmų tyrinėjimas ir įvairių sistemų, naujų funkcijų kūrimas** remiantis tyrinėjimų rezultatais.

Pagrindinė sintetinės biologijos idėja: **tobulinti procesus** (chemines ir medžiagų apykaitos reakcijas) organizmuose, tobulinti arba **sukurti** visiškai naujus, gamtoje neegzistuojančius procesus bei **organizmus**. Pakeistos ląstelės gali atlikti naujas, jiems nebūdingas funkcijas, kurias galima panaudoti įvairių visuomenei aktualių problemų sprendimui. Problemų spektras yra labai įvairus – nuo aplinkosaugos iki medicinos ar mitybos.

Kuo sintetinė biologija pranašesnė už kitus sprendimus? Tokie organizmai sugeba reaguoti į aplinką. Sintetinės biologijos metodais pakeistas organizmas (biologinė sistema) **gauna signalą** iš aplinkos, kad turi **veikti**. Signalai gali būti įvairūs, pavyzdžiui, pH, gliukozė, pasikeitęs apšvietimas. Tuomet **ląstelė aktyvuoja** vidinius **procesus**, kuriuos koduoja DNR, kuri į ląstelę buvo patalpinta mokslininkų. Mikroorganizmo reakcijos į aplinkos dirgiklius rezultatas yra medžiaga, kuri gamtoje nėra būdinga tam organizmui, arba apskritai gamtoje nėra aptinkama. Todėl ir sakoma, kad sintetinė biologija programuoja organizmus – sukuriama **nauja funkcija**, kuri ląstelei nėra būdinga, ir funkcija **paleidžiama** tik tada, kai aplinkoje yra turimas **konkretus signalas** (pH, gliukozė, šviesa ar kita). Apibendrinant, biologinėmis priemonėmis parašoma programa ir yra parenkamas ją paleidžiantis aplinkos mygtukas. Informacijai įtvirtinti galima peržiūrėti papildytos realybės modelį „Sintetinė biologija – ląstelių programavimas“.



Kur sintetinė biologija gali būti pritaikoma?

Sintetinės biologijos pritaikymo galimybės yra itin plačios, nes įvairius procesus ir pasitelkus DNR **galima** efektyviai **pagaminti bet kokią** kito gyvo organizmo **molekulę**. Medicinoje sintetinę biologiją galima pritaikyti kuriant naujus **vaistus**, pavyzdžiui, antibiotikus. Maisto pramonėje galima pagaminti **didesnius** maisto kiekius ar **praturtinti maistą** naudingomis medžiagomis. Kalbant apie **informacijos saugojimą**, DNR yra pranašesnė už kompiuteriuose

naudojamus silicio lustus tuo, kad DNR spiralė yra labai kompaktiška ir mažame tūryje gali saugoti didelį informacijos kiekį – batų dėžės tūrio DNR galėtų saugoti visą internete esančią informaciją (daugiau informacijos čia: <https://cutt.ly/fReOKSM>), taip pat DNR yra tokia patvari, kad išsilaiko nepažeista šimtus tūkstančių metų. **Baltymų dizainas** – galima patobulinti esamus ar sukurti naujus baltymus. Toliau pateikiama keletas įvairiuose vystymo etapuose esančių projektų.

Kompanija „**Real vegan cheese**“ (internete <https://www.realvegancheese.org/>) kuria **augalinį sūrį**, kuriame būtų naudingosios gyvūninio sūrio medžiagos. Viena tokių medžiagų yra baltymas **kazeinas**. Kaip atrodo šios idėjos įgyvendinimas sintetinės biologijos metodais? Visų pirma, reikia susirasti, kokia **DNR seka** koduoja kazeino gamybą (kazeino geną). Tuomet ši DNR seka yra **perkeliamą į mieles**. Mielėse vyksta **baltymų sintezė**, naujai įterpta DNR seka nurašoma ir panaudojama taip pat kaip ir mielėje natūraliai esančios DNR sekos. Mielės paauginus palankiomis sąlygomis, po tam tikro laiko iš mielių gyvenamos terpės reikia surinkti kazeino baltymus. Tuomet belieka gautą kazeiną sumaišyti su augaliniu pienu, o iš jo pagaminti sūrį. Tokiu būdu galima valgyti sūrį, kuris turi naudingąsias gyvulinės kilmės pieno medžiagas, tačiau yra veganiškas ir nealergizuojantis bei tausojantis aplinką.

Kompanija „**Impossible**“ (internete <https://impossiblefoods.com/>) kuria **augalinę mėsą**, kuri turi gyvūninės mėsos naudingąsias savybes. Idėjos esmė yra tai, kad sintetinės biologijos metodais galima pagaminti hemo molekulę. **Hemas** įeina į hemoglobino sudėtį, turi svarbų vaidmenį medžiagų apykaitos procesuose. Kalbant apie mitybą, hemas suteikia mėsai būdingą, unikalų skonį. Tad buvo ieškota augalinių hemą gaminančių alternatyvų ir tam tikslui atrinktos ankštinės daržovės. Jų hemą koduojantis genas buvo įterptas į mielių ląstelę. Toliau vėl buvo augintos mielės, surinktas hemas ir sumaišytas su kitais augaliniais mėsos komponentais. Tokiu būdu turime mėsiško skonio produktą, kuris tausoja aplinką, išlaiko gerą skonį ir yra sveikesnė alternatyva, lyginant su jautiena.

Dėl nepakankamo vitamino A kiekio mityboje, gali sutrikti regėjimas, pasireikšti nuovargis, odos pakitimai, burnos gleivinės opelės. Tai itin aktualu Pietryčių Azijoje ir Afrikoje, kur paplitusi skurdi vitamino A atžvilgiu mityba – čia tūkstančiai vaikų kasmet netenka regėjimo. Šiai problemai spręsti pasitelkta sintetinė biologija, apie tai daugiau sužinoti galima peržiūrėjus papildytos realybės modelį „GMO“.



„E. chromi“ dalyvavimo iGEM konkurse sėkmės istorija – 2009 m. Kembridžo komanda sukūrė bakteriją – **biojutiklį**. Ši bakterija reaguoja į įvairius aplinkos dirgiklius, yra jų aktyvuojama ir to rezultate pakeičia spalvą. Vienas iš idėjos taikymo pavyzdžių yra ligų stebėjimas ir diagnozavimas. Kartu su jogurtu vartotojas gali suvalgyti bakterijų – biojutiklių. Bakterijos žarnyne sureaguoja su konkrečios infekcijos sukėlėju, įvyksta atitinkama spalvinė reakcija ir, praėjus tam tikram laikui, ją galima įvertinti išmatose. Pavyzdžiui, tamsiai mėlyna spalva galėtų reikšti opas, violetinė – salmoneliozę, raudona – rotovirusą.

Sintetinė biologija yra vystoma ir Lietuvoje. „**Biomatter designs**“ tai dalies 2018 metų Vilnius-Lithuania iGEM komandos įkurtas startuolis. Įmonės veikla apjungia sintetinę biologiją ir dirbtinį intelektą naujų baltymų kūrimui ar esamų baltymų savybių tobulinimui. Vilniaus biotechnologijų sektorius yra vienas **sparčiausiai augančių** visoje Europoje. Vilniuje įsikūrę mokslo centrai sudaro puikias sąlygas moksliniams išradimams vystyti – Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro (GMC) prof. V. Šikšnio komanda reikšmingai prisidėjo prie Nobelio premija apdovanotų **genų žirklių**; VU GMC taip pat kuriasi Europos molekulinės biologijos laboratorija – viena prestižiškiausių mokslo institucijų pasaulyje. Lietuvoje kuriasi vis daugiau startuolių, dirbančių gyvybės mokslų srityje ir savo produktus siūlančių ne tik Lietuvos, bet ir Europos rinkai. Tad gyvybės mokslų sektorius Lietuvoje turi itin didelį potencialą.

Kaip sugalvoti sintetinės biologijos sistemą?

Toliau aptariama, kaip mokslininkai prieina prie aukščiau įvardintų sprendimų. Visų pirma, kaip jau minėta, sintetinė biologija yra gyvybės ir tikslųjų mokslų, inžinerijos derinys. Tad kai galvojama apie gyvas **ląsteles** ir jų keitimą, galima jas **palyginti su kompiuteriais**. Elektroniniuose įrenginiuose yra įvairių elementų – baterijos, tranzistoriai, diodai, grandinės, kurios stiprina ar silpnina srovę, atlieka kitas funkcijas. Jie visi sujungti kartu sudaro konkrečių funkcijų atliekančią sistemą, pavyzdžiui, įjungia lemputę patalpos apšvietimui. Galima taip galvoti ir apie ląstelę – ji irgi turi įvairių komponentų – membraną, branduolį ar nukleoidą, ribosomas ir kitokias struktūras. Tačiau yra du esminiai skirtumai:

- 1) **ne viską žinome** apie ląstelę. Dalis jos procesų vis dar yra neišaiškinti, ir tik dalį jau žinome ir galime nuspėti, kaip viena ar kita ląstelė elgsis, kokios sąlygos jai tinkamiausios.
- 2) gyvybės moksluose, tiriant gyvus mikroorganizmus dažniausiai negaunami vienareikšmiai ir dvinariai rezultatai kaip 'taip' ar 'ne', 0 ar 1. **Gaunama aibė įvairaus pobūdžio duomenų.**

Kad būtų galima sugalvoti naujas sistemas, dažnai yra naudojama **keturių lygių abstrakcija** – pirmame lygyje, pagrindą sudaranti dalis yra tiesiog **DNR molekulė**. Antrame lygyje turima **DNR dalis**, trečiame – **mechanizmas**, o galiausiai ketvirtame – **sistema**, sudaryta iš žemesnių lygių komponentų.

DNR dalis yra **DNR atkarpa**, kuri gali būti priskiriama vienai iš keturių grupių: genams, promotoriams, ribosomos prisijungimo vieta ar terminatoriams. Iš esmės genas yra ta dalis, kuri nurodo, kaip atrodys mūsų baltymas, o likusios dalys reguliuoja geno raišką – kada tas baltymas bus ar nebus gaminamas, kiek jo bus gaminama.

- **Promotorius** yra DNR nukleotidų seka, prie kurios jungiasi fermentai RNR polimerazės. Šie fermentai pradeda gaminti **informacinę RNR** ir tokiu būdu pradedamas pirmas baltymų sintezės etapas – **transkripcija**. Sintetinėje biologijoje yra ypač aktualu, tai kad promotorių **aktyvumą galima reguliuoti**. Skirtingus promotorius galima skirtingai aktyvuoti arba slopinti: keičiant pH, pridėdant cukraus ar kitokių molekulių, apšviečiant ląstelę. Tai itin pravartu, kuomet yra kuriamos sistemos, kurias reikia reguliuoti. Tačiau yra promotorių, kurie nėra reguliuojami ir nuolat būna aktyvūs.

- **RBS** (angl. *ribosome-binding site*) yra DNR seka, prie kurios jungiasi ribosomos. Tai reiškia, kad po informacinės RNR nurašymo, prasidėjus translacijai, **ribosomos** jungiasi būtent **šioje informacinės RNR vietoje**, kur yra nurašyta ribosomas prijungianti seka.
- **Genas** turbūt geriausiai žinomas iš visų genetinių dalių. Genas yra DNR atkarpa, kuri koduoja baltymus, jų aminorūgščių sekos išsidėstymą. Genai yra paveldimi ir perduodami iš vienos kartos į kitą.
- **Terminatorius** DNR seka geno pabaigoje. Šioje vietoje yra **sustabdoma transkripcija** – informacinės RNR nurašymo procesas.

Svarbu suprasti, kad kiekviena iš šių genetinių dalių rūšių apima **daug įvairių** genetinių dalių, kurios gali būti naudingos skirtingose situacijose. iGEM konkursas taip pat prisideda prie genetinių dalių įvairovės didėjimo. Kasmet komandos sukuria naujas arba patobulina esamas genetines dalis – tai vienas esminių konkurso aspektų, o šiai dienai yra sukurta didesnė nei 20 000 genetinių dalių biblioteka. Kuo didesnė genetinių dalių įvairovė, tuo daugiau skirtingų molekulių, funkcijų, organizmų galima sukurti.

Kiekviena genetinė dalis turi atskirą **simbolį**. Jie yra universalūs visame pasaulyje ir nurodo, kokio tipo genetinė dalis vaizduojama – tai labai pravartu kuriant ir planuojant biologines sistemas. Visų **keturių tipų genetinės dalys** sujungtos kartu paeiliui tvarkingai (promotorius → terminatorius kryptimi) ir atliekančios kokią nors funkciją, vadinamos **mechanizmu** (angl. *device*). Galime prisiminti papildytos realybės modelyje matytą pavyzdį apie insuliną. Viena iš genetinių grandinių insulino gamyboje gali būti insulino kiekio aplinkoje fiksavimas. Apjungus keletą tarpusavyje susijusių grandinių – mechanizmų – galima gauti sudėtingą sistemą, įvairių procesų visumą, kurių rezultatas – mūsų pageidauta funkcija, molekulė, organizmas.

Pasitelkiant insulino gamybos pavyzdį, tokia **sistema** galėtų susidėti iš kelių mechanizmų. Pirmiausia, vienas mechanizmas turėtų **fiksuoti**, koks insulino kiekis yra **aplinkoje**. Insulino kiekiui sumažėjus – pirmasis mechanizmas aktyvina antrąjį, kurio funkcija **gaminti insuliną**. Tačiau insulinas pačiai ląstelei nėra reikalingas – jį reikia išskirti į aplinką, kur jis galėtų būti surinktas ir apdorotas kaip vaistinė medžiaga, arba, jei tokia sistema veiktų pačiame žmogaus organizme, nukeliautų į audinius taikinius, kuriems reikalingas insulinas gliukozei iš kraujo pasisavinti. Iš to išplaukia tai, kad trečiojo mechanizmo tikslas turėtų būti **insulino išskyrimas** iš ląstelės. Tokia ląstelė yra programuojama, nes ji turi insulino gamybos sistemos s paleidimo mygtuką – insulino kiekį aplinkoje. Kitaip tariant, sistema ląstelėje pradeda veikti tik tada, kai insulino trūksta. Organizmas „sintetinis“, nes gamtoje taip išsidėsčiusių DNR sekų tokiame organizme nėra.

Nors procesas gali atrodyti nesudėtingas ir įgyvendinamas, tačiau iš tikrųjų susiduriama su keliomis esminėmis problemomis.

Visų pirma, jau daug žinoma apie gyvus organizmus, tačiau dar ne visi natūraliai būdingi procesai, mechanizmai yra išaiškinti, pažįstami. Taip pat gyvi organizmai nuolat nors šiek tiek **kinta** ir yra sunkiai apibrėžiami, todėl ne visada tomis pačiomis sąlygomis gausime tą patį rezultatą. Signalai, reguliuojantys ląstelinius procesus, nėra diskretūs – jie negali būti interpretuojami tik kaip „taip“ arba „ne“ atvejai, o gali turėti **daug tarpinių reikšmių**, kurių, kaip jau minėta, ne visas žinome. Tad čia ir pasireiškia sintetinės biologijos tarpdiscipliniškumas – kad būtų galima išspręsti šias problemas, kartu dirba biologai, biochemikai, matematikai, bioinformatikai, programuotojai ir analizuoja jau esamas biologines sistemas, organizmus, simuliuoja biologinių organizmų (sistemų) modelius, bando nuspėti, kada ir kokioms sąlygoms esant viena ar kita sistema veiks efektyviausiai. Gerai neišanalizavus biologinių sistemų, jų neįmanoma atkurti. Tiek bioinformatikoje, tiek sintetinėje biologijoje gyvų sistemų simuliacijai naudojamos matematinės lygtys, algoritmai. Daugiau informacijos papildytos realybės modelyje „Bioinformatika“.

Taip pat dirbama su ta organizmų dalimi, kuri yra gerai išanalizuota ir pažįstama, tam svarbu standartizacija ir charakterizacija.

Standartizacija reiškia, kad keturių tipų genetinės dalys atitinka tam tikrus **kriterijus**. Tai mums leidžia greičiau jas suprasti ir panaudoti praktiškai – yra universalus supratimas, kaip genetinės dalis galima įterpti ar išimti iš genetinio mechanizmo (grandinės), ir kokiomis savybėmis jos turėtų pasižymėti. Įsivaizduokime, kad turime kaladėlių krūvą – jos visos turi šešis iškilimus viršuje, o pagrinde tiems iškilimams įsistatyti tinkamus išgaubimus. Tokiu būdu mes savo kaladėlėmis galime įvairiai manipuluoti. Lygiai taip pat ir su genetinėmis dalimis – jei jos atitinka standartą, jas galima paprastai įterpti ir išimti.

Charakterizacija nurodo, kokiomis **sąlygomis** mūsų genetinė dalis ar mechanizmas atlieka savo darbą. Tai gali būti pH, konkretus organizmas (pavyzdžiui, koks nors promotorius veikia *E. coli* bakterijoje, tačiau neveikia *Lactobacillus paracasei*). Tai irgi labai svarbu, kad būtų galima atkartoti jau sukurtas sistemas, ar kokybiškiau sukurti naujas.



Taip pat kyla daug **etinių klausimų**, kuriems atsakyti vis dar nėra sutarimo. Biotechnologijos daro įtaką visuomenei socialiniu, ekonominiu, ekologiniu aspektais, apima gyvų organizmų modifikacijas, tad priėti kompromisų itin sudėtinga. Kokiais kriterijais turėtume remtis, kad nustatytume ribą tarp to, kokios genų modifikacijos yra saugios ir kokios nesaugios, kas gera ir negera pasauliui? Ar mes pakankamai žinome apie mikroorganizmus, kad galėtume juos patikimai modifikuoti? Jei ne, ar tikrai turėtume stengtis? Ar galime tokiomis sistemomis papildyti žmogų, jei tai gydytų ligas? Ar visi moksliniai tyrimai turėtų būti publikuojami ir viešai prieinami, net jei jų rezultatas – pavojingas? Yra daug pagrįstų baimių ir rūpesčių dėl sintetinės biologijos plėtros. Pavyzdžiui, dėl evoliucijos gali mutuoti ta DNR dalis, kuri buvo kruopščiai užprogramuota mokslininkų ir tai sunaikintų naują ląstelės funkciją. Sintetinės biologijos metodais pakeistų ląstelių dauginimasis aplinkoje gali kelti pavojų, jei jos sąveikautų su ekosistemoje esančiais organizmais.

Kaip sukurti sintetinės biologijos sistemą?

Kai jau sugalvojame, kaip mūsų sistema turėtų atrodyti, reikia ją praktiškai įgyvendinti. Tam galima pasitelkti įvairių būdų, čia pristatomi – klonavimas ir genomo redagavimas CRISPR-Cas9 sistema.

Klonavimas. Įsivaizduokime, kad turime tikslą sukurti organizmą, kuris gamintų insuliną. Tam pasitelkiama bakterinė ląstelė, kurioje yra randamos plazmidės. **Plazmidė** yra žiedo formos DNR molekulė. Ji gali lengvai **judėti** iš vienos ląstelės į kitą, taip pat į ją nesunku **įterpti naujus genus**, todėl plazmidės dažnai pasitelkiamos biotechnologijose.

1. Plazmidėje padaroma vietos naujam reikalingam genui. Fermentų pagalba **iškerpamas DNR fragmentas**.
2. **Ieškomi** organizmai, kurie gamintų insuliną, ir analizuojama jų genetinė medžiaga. Insulino atveju tai nesudėtinga – reikiamas genas yra žmogaus 11 chromosomoje.
3. Insulino geno DNR seka **nukopijuojama**.
4. Žmogaus insulino geno DNR seka fermentų pagalba **įterpiama** į jau minėtą **plazmidę**.
5. **Plazmidė** su nauju genu įterpiama į **ląstelę**.
6. Ląstelėje nuolat vyksta **baltymų sintezė**, ji lygiai taip pat vyksta ir nuo naujai įterptos genetinės medžiagos, tad po kurio laiko galima nustatyti, jog bakterija gamina baltymą insuliną.

Genomo redagavimas. Naujas ir jau Nobelio premiją pelnęs metodas genomo redagavimui – CRISPR-Cas9 sistema. Su ja plačiau susipažinti galima nuskaičius žymeklį ir peržiūrėjus papildytos realybės modelį „Genų žirklys“.



Praktinis užsiėmimas

Šis užsiėmimas yra pasiūlymas, kaip būtų galima įtvirtinti išgirstą informaciją praktiškai. Veiklos esmė – sukurti keturių lygių sintetinės biologijos sistemą. Suprantama, kad moksleivių žinios ribotos, tad nereikalinga pateikti labai konkrečių idėjų su genų sekomis ir reikalingais fermentais, svarbiau pasistengti įsijausti į patį mąstymo procesą.

Eiga:

1. Pirma dalis – **problemos išsikėlimas:**
 - a. Moksleiviai pasiskirsto grupėmis po 5 – 6 asmenis.
 - b. Grupės išsikelia aktualias problemas. Mokytojas gali nurodyti, iš kokios srities ši problema turėtų būti, pavyzdžiui, jei kaip tik nagrinėjote imuniteto temą, galite nurodyti, kad problemos turėtų būti susijusios su imunine sistema, infekcinėmis ligomis.

- c. Kiekviena grupė pristato savo išsikeltą problemą. Tai turėtų būti iki minutės trunkanti įtikinanti prezentacija, kodėl problema yra aktuali visuomenei ir jos sprendimas būtų reikšmingas .
2. Antra dalis – išsikeltos problemos **sprendimas**, remiantis **4 lygių sintetinės biologijos sistema**. Grupės gali tęsti išsikeltos problemos sprendimą arba pasikeisti problemomis tarpusavyje. Šiame etape reiktų pabandyti išgryninti keturis aspektus:
- a. Sistemos lygmuo. Moksleiviai sugalvoja naują funkciją mikroorganizmui ar mikroorganizmą, kuris išspręstų išsikeltą problemą.
- b. Mechanizmo (angl. *device*) lygmuo. Moksleiviai sistemos lygmenį suskaido į smulkesnes užduotis, kurių kiekviena įgyvendina funkciją, reikalingą sistemos veikimui.
- c. Dalių lygmuo. Moksleiviai sugalvoja, iš kokių dalių turėtų susidėti atitinkamas mechanizmas (genetinė grandinė). Kiekviena genetinė grandinė turi susidėti iš promotoriaus, ribosomas prijungiančios vietos (RBS), geno ir terminatoriaus. RBS ir genų gali būti daugiau, tačiau kiekviena grandinė prasideda promotoriumi ir baigiasi terminatoriumi. Tad iš esmės šioje dalyje galima patikrinti, ar moksleiviai įsisavino dalių grandinėje išsidėstymą, o toliau pačių dalių savybės lieka kūrybine dalimi – kokios aplinkos sąlygos turėtų aktyvinti promotorių (o gal jis aktyvus visada), kokio baltymo ar fermento reikės problemai išspręsti, kiek skirtingų genų tam bus reikalinga, kiek skirtingų baltymų. Užduotį galima padaryti sudėtingesnę paprašant nurodyti tikslas genų sekas, reikalingas norimam baltymui sukurti. Genų sekų galima ieškoti tinklalapiuose <https://www.uniprot.org/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
3. **Papildomas** aspektas: galima pasiūlyti grupėms **analizuoti** savo problemą ir sprendimą **socialiniu, etiniu, ekologijos aspektais**. Ar siūlomas sprendimas yra teisingas, etiškas? Kokios grupės gautų naudos, o kokios grupės patirtų žalą, jei būtų įgyvendinta idėja? Koks projekto ilgalaikis teigiamas ir neigiamas poveikiai visuomenei?
4. Grupės pristato viena kitos iškeltus sprendimo kelius, diskutuoja, viena kitą papildo.