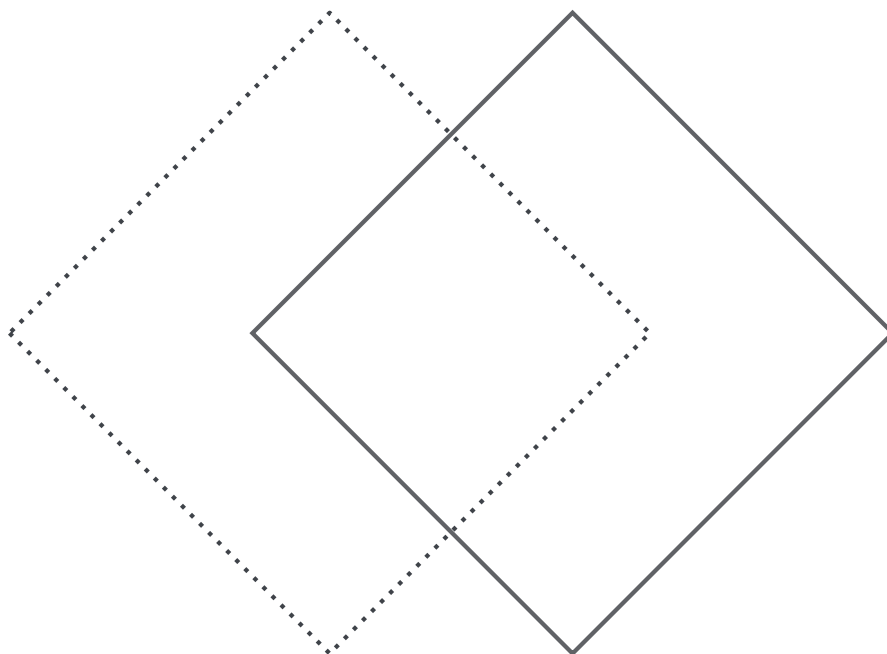


LOS ORÍGENES DE LA INDIVIDUALIDAD Y FUNCIÓN BIOLÓGICAS: UNA APROXIMACIÓN A TRAVÉS DE LA QUÍMICA DE SISTEMAS

Sara Murillo-Sánchez



Tesis Doctoral

2017

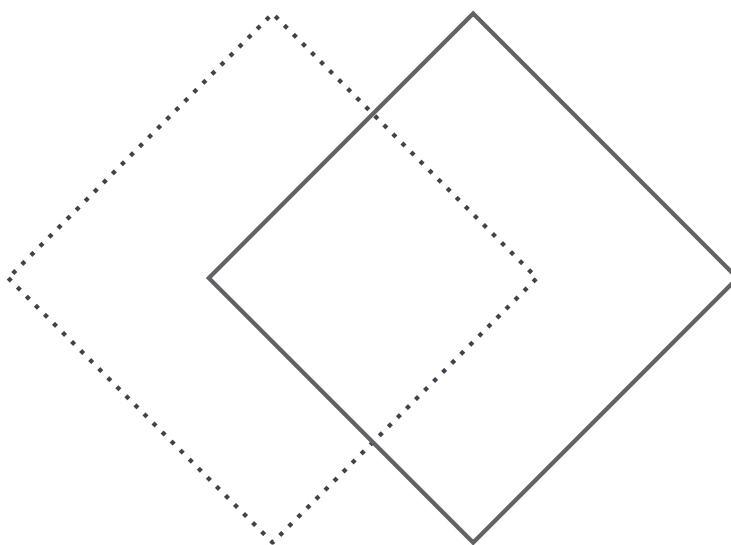
eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

LOS ORÍGENES DE LA INDIVIDUALIDAD Y FUNCIÓN BIOLÓGICAS: UNA APROXIMACIÓN A TRAVÉS DE LA QUÍMICA DE SISTEMAS



Tesis presentada por Sara Murillo Sánchez para optar al
grado de Doctora dentro del programa de Filosofía,
Ciencia y Valores

Septiembre 2017

Director de la Tesis

Kepa Ruiz-Mirazo

Co-Director

Juan Manuel González
Mañas

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

“Uno no puede pensar bien, amar bien, dormir bien, si no ha comido bien”.
Virginia Wolf.

Para Lucas. Para mamá.

Para mis abuelas.

*“Tiger got to hunt, bird got to fly;
Man got to sit and wonder 'why, why, why?'
Tiger got to sleep, bird got to land;
Man got to tell himself he understand”*

Kurt Vonnegut, Cat's Cradle

Este trabajo ha sido desarrollado entre los laboratorios del Instituto Biofisika (CSIC-UPV/EHU), el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencia y Tecnología (UPV/EHU), el Departamento de Lógica y Filosofía de la Ciencia (grupo IAS-Research, UPV/EHU), el Departamento de Dinámica de Sistemas Biomoleculares Complejos (CNRS/UM1/UM2) y el Instituto Konrad Lorenz, bajo la dirección de los Dres. Kepa Ruiz-Mirazo y Juan Manuel González Mañas, gracias a una Ayuda Predoctoral de la Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea (2011), financiación del programa europeo COST (STSM-COST, Acción CM1304 “Emergence and Evolution of Complex Systems”) y una beca “Writing-up” del Instituto Konrad Lorenz.

Agradecimientos

El desarrollo de esta tesis ha sido un eterno aprendizaje que, como a cualquier organización biológica, me ha situado muchas veces ante situaciones precarias, forzando a re-estructurarme con celeridad para poder continuar. No obstante, de nuevo dentro del paralelismo biológico, en ningún momento de este proceso he estado sola, y son muchísimos los actores de mi alrededor con los que he colaborado y que han contribuido a hacer de mí una entidad, académica y personalmente, más rica.

Para empezar, quiero darle las gracias a mi director de tesis, Kepa Ruiz-Mirazo, por acompañarme durante todos estos años de forma tan instructiva, "construyendo mi autonomía" y enseñándome a aprender. También quiero agradecer especialmente al profesor Robert Pascal por acogerme en su laboratorio de la Universidad de Montpellier y contagiarme con su entusiasmo por la química orgánica y la ciencia en general. *Merci Robert*. Igualmente, agradezco a Juanma por haberme abierto tan generosamente las puertas de su laboratorio.

Quiero agradecer a Johannes "Yogi" Jaeger la oportunidad brindada para acabar de escribir mi manuscrito en Viena en un ambiente tan evocador. Es indescriptible lo mucho que he disfrutado y aprendido durante estos últimos meses trabajando aquí. *Thanks to all my colleagues for lunch discussions, reading clubs and after-work beers: Celeste, Nadia, Wim, Stephanie, Yogi, Dan, Wes, James (special thanks for your comments and discussions), Berta, Riana, Gemma, Isabella and Eva.*

Gracias a todos mis compañeros de laboratorio, de aquí y de allá, por su ayuda y su eterno apoyo sin el cual cualquier problema complejo sería, simplemente, demasiado complejo. En Francia, gracias a Laurent, Jean-Christoph, Ziwei y, especialmente, a Damien: *merci pour apprendre à la pauvre biologiste qui ne savais même pas comme laver un ballon.*

Gracias a todos los antiguos laboratorios del departamento Biología Molecular y Bioquímica de la facultad de Ciencias de la universidad del País Vasco. Gracias por todos estos años en los que hicisteis del trabajo una familia. Gracias especialmente a Lide (por tu actitud científica siempre

constructiva y positiva) y a mis adorados compañeros del laboratorio de toxinas: Koldo (que me inició en las buenas prácticas), César, Rocío, Kepa, Asier, David, Aitor y Etxaniz (que se tragó todos mis quejidos por ser el de la poyata de al lado).

Gracias a todos los compañeros del IAS-Research: Álvaro, Arantxa, Jon, Ezequiel, Hanne, Antonio, Alba, Cristian, Eva, Susana, Laura por iniciarme (y continuarme) en la filosofía de la Biología y por todos los buenos ratos pasados en mis visitas a San Sebastian. Quiero dar las gracias especialmente a Ben y a Gabriel por su apoyo como grupo (el grupo!) y a Xabi Barandiaran, por sus grandes consejos en momentos de pequeñez.

Tengo que agradecer el continuo apoyo de todos los amigos que han sabido canalizar y amortiguar la energía potencial de una estudiante de doctorado embarcada en semejante viaje. *Merci a toute la famille adorée du Château du Bonheur, mes frères et sœurs Ellie, Vicente "Sombrero", Emilie, Gab, Matylde, Floppy, ex-petit Grégoire, Alex et mes rêveurs Yoann et Martin querido. « Doux cul », je vous aime.*

Mi más profundo amor y agradecimiento a los incondicionales, irracionales, irreparables, inenarrables amigos de no-Bilbao, la falsa cuadrilla reunida alrededor de un pan de Labeko y un aceite de arbequina: David, María, Cris (los tres molleteros), Oliver, Rodri (un café con leche y un americano), Ulfe, Inés, Marcos, Juan, Magui. Mis biolocos. Mis viejas Adela y June. Mis algo menos viejas la Roci y la Usu. Nos vemos un 2 de Mayo de cualquier día del año.

Y por último, gracias a los más robustos ante mi "efecto-gaseosa", por cercanía o por persistencia: mi familia, mis tíos, mi padre, mi hermano, mi madre y Lucas. Gracias por sobrevivirme en el intento y haber hecho esto posible. Os quiero.

Mayo 2017

Índice

1. RESUMEN Y OBJETIVOS PRINCIPALES	1
2. INTRODUCCIÓN Y METODOLOGÍA	
2.1. Definición del problema y marco teórico	5
2.1.1. Un programa de naturalización para clarificar nociones biológicas...	5
2.1.1.1. La autonomía como una herramienta heurística para la naturalización	7
2.1.2. Por qué “Individualidad” y “Función”	10
2.1.2.1. Individualidad e Identidad en la Biología	11
2.1.2.1.1. Corrientes evolutivas	12
2.1.2.1.2. Corrientes fisiológicas	13
2.1.2.2. Individualidad e Identidad en la Química	18
2.1.2.3. El concepto de función en la Biología	22
2.1.2.3.1. Las teorías etiológicas	24
2.1.2.3.2. Las teorías disposicionales	26
2.1.2.3.3. La perspectiva organizacional	28
2.1.2.4. El concepto de función en la Química	30
2.1.3. La química prebiótica: un contexto apropiado para la naturalización de conceptos de relevancia biológica	32
2.2. Metodología	
2.2.1. La aproximación genealógica como estrategia para abordar la complejidad biológica	33
2.2.1.1. La complejidad biológica puede ser digerida. La necesidad de trabajar con precursores	34
2.2.1.2. Construir para entender. El reto de generar y estudiar grados progresivos de complejidad	35
2.2.2. Una llamada a la transdisciplinariedad	37
3. HACIA UNA TEORÍA DE LA ORGANIZACIÓN BIOLÓGICA: EL RETO DE LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS	
3.1. La perspectiva evolutiva y sus limitaciones	39
3.2. La perspectiva fisiológica: más allá de la Biología Molecular	43
3.3. El reto actual: comprensión integrada y exhaustiva de células vivas	45
3.3.1. La Biología de Sistemas: historia y objetivos principales	45
3.3.2. Metodología y problemas conceptuales	46
3.3.3. El caso del metabolismo: el Análisis del Control Metabólico	48
3.4. Reconciliación de la perspectiva fisiológica y la perspectiva evolutiva	50
3.5. Búsqueda de conceptos y principios adicionales	55
3.5.1. La teoría de la autonomía y la perspectiva organizacional	55
3.5.2. Implementabilidad experimental de la teoría de la autonomía	59

4. LA ESTRATEGIA GENEALÓGICA: ESTUDIANDO EL DESPLIEGUE DE LA ORGANIZACIÓN BIOLÓGICA EN DIFERENTES CAPAS DE COMPLEJIDAD	
4.1. Modelos tradicionales de origen de vida	65
4.1.1. El mundo ARN	65
4.1.1.1. Las cuasi-especies, el 'hiperciclo' y otros modelos de un mundo ARN ..	66
4.1.2. El mundo proteico	69
4.1.3. El mundo lipídico	71
4.2. Una simplificación alternativa	72
4.2.1. Más allá de la auto-organización	74
4.2.2. La importancia clave de la auto-producción	75
4.2.3. Reflexión sobre las diferencias entre sistema y población molecular	76
4.3. El escenario protocelular	77
4.3.1. Desde el principio, la compartimentación	79
4.3.2. Compartimentos y autoproducción	81
4.3.3. Transiciones prebióticas en torno al modelo protocelular auto-productivo	83
4.3.4. Un grado de complejidad organizacional mínimo es necesario	85
4.4. La posible contribución de la Biología Sintética	88
4.4.1. La auto-fabricación: ventajas de los planteamientos 'bottom-up' (desde la química)	89
5. LA QUÍMICA DE SISTEMAS COMO LA PLATAFORMA IDEAL PARA ABORDAR EL PROBLEMA DE LOS ORIGENES DE LA VIDA	
5.1. En el núcleo del cambio de estrategia: las Químicas Dinámicas Combinatorias	92
5.1.1. Librerías moleculares	93
5.1.2. Librerías <i>versus</i> poblaciones moleculares	95
5.1.3. Mezclas heterogéneas y alejadas del equilibrio: retos y oportunidades	97
5.2. Una batería de técnicas analíticas en pleno desarrollo	100
5.2.1. Nueva generación de secuenciadores	100
5.2.2. "Microarrays" y "Biochips"	101
5.2.3. Estudios de selección 'in vitro'	102
5.2.4. Microfluídica	103
5.3. Una promesa para el campo del origen de la vida	104
5.3.1. La gran oportunidad de "biologizar" la química	104
5.3.2. Fabricando protocélulas (la importancia de las fases)	106
6. EXPLORANDO LOS SISTEMAS COMPLEJOS ENTRE LA QUÍMICA Y LA BIOLOGÍA: EN BUSCA DE FORMAS DE IDENTIDAD INFRA-BIOLÓGICAS	
6.1. ¿Qué significa la idea de identidad <i>infra</i> -biológica?	109
6.2. Condiciones para la emergencia de entidades químicas con identidad propia y su conexión con el problema del origen de la individualidad y la función	115
6.2.1. Potencial individual	116
6.2.2. Potencial funcional	118
6.2.3. El programa de fabricación de protocélulas. Funcionalización de vesículas ...	121
6.3. Tabla comparativa: sistemas químicos complejos	123
6.4. Perspectivas fenomenológicas de la individualidad	128
6.4.1. El principio de Individuación (Gilbert Simondon): los sistemas metaestables y el límite	129
6.4.2. Helmuth Plessner: la posicionalidad y la realización del límite	132

6.4.3. Hans Jonas: metabolismo y libertad. El Principio de Autonomía	134
6.5. La perspectiva biológica sobre los sistemas químicos complejos	137
6.5.1. Las transiciones fundamentales en el origen de la vida involucran distintos tipos de identidad	138
6.5.2. Implicaciones evolutivas del esquema organizativo infra-biológico	142
6.6. Sugerencias para operar un cambio y apoyar el establecimiento de un nuevo campo de investigación	146
7. CASO-ESTUDIO EXPERIMENTAL: EL MODELO PROTOCELULAR “LIPO-PEPTÍDICO” MÍNIMO	
7.1. Hacia la producción de compartimentos autónomos	154
7.1.1. Contribución de la membrana a la polimerización de un péptido	154
7.1.2. Posible contribución del péptido en las propiedades de la membrana	159
7.2. Acercando los modelos “in-silico” e “in-vitro”	164
8. IMPLICACIONES CONCEPTUALES, RECAPITULACIÓN Y PERSPECTIVA	
8.1. Interpretación en clave filosófica de los resultados empíricos	167
8.2. Prospectiva	175
8.3. Problemas abiertos	179
CONCLUSIONES	185
APÉNDICE (ARTÍCULOS PUBLICADOS)	187
BIBLIOGRAFÍA	235

Capítulo 1

RESUMEN Y OBJETIVOS PRINCIPALES

1.1 Resumen

La comprensión del fenómeno biológico ha sido, desde siempre, uno de los principales retos para la ciencia. Tradicionalmente, la teoría evolutiva se ha impuesto como la perspectiva más adecuada e idiosincrática de lo vivo, explicando las propiedades biológicas desde un punto de vista histórico y colectivo. No obstante, la visión organizacional - que busca definir los principios generales que subyacen a los organismos individuales - está ganando importancia en los últimos años. La tensión entre la perspectiva fisiológica-organizacional y la perspectiva histórico-evolutiva sobresale especialmente en el ámbito de Origen de la Vida, en el que el clásico escenario evolutivo no es suficiente a la hora de explicar la transición de un dominio químico (moléculas) a uno biológico (células). Los intentos de unificar ambas perspectivas en una teoría general de la organización biológica han sacado a relucir la necesidad de buscar algunos conceptos y principios adicionales que permitan avanzar en esta visión más integradora. Utilizando el marco conceptual de la teoría de la autonomía biológica [Ruiz-Mirazo & Moreno 2012; Moreno & Mossio 2015] este ensayo propone una *estrategia genealógica* como modelo para abordar la complejidad biológica. Esta estrategia consiste en explorar a lo largo de una evolución molecular prebiótica sistemas con una organización básica progresivamente más cercana a la de los seres vivos. En este contexto nos

encontramos ante un escenario *químico* que puede ser encarado empíricamente a través de la nueva disciplina llamada “química de sistemas”, cuyo objetivo es el estudio de mezclas moleculares y sus comportamientos colectivos emergentes (dinámicos y evolutivos).

A partir de una aproximación empírica basada en el desarrollo de un modelo protocelular lipopeptídico centrado en las dinámicas de auto-organización y de auto-ensamblaje de mezclas de especies moleculares sencillas y asumiendo la *auto-producción* como una característica necesaria para la definición de vida, en esta tesis se reflexiona sobre las raíces físico-químicas de conceptos fundamentales en biología como *función* o *individualidad*. La exploración del paso de la química a la biología es posible a través de la investigación del comportamiento dinámico de mezclas químicas complejas, unido a una reflexión teórica centrada en una "lectura en términos biológicos" de las propiedades organizativas emergentes.

Este trabajo pretende ser, por un lado, una contribución al reciente campo de investigación con protocélulas como terreno fértil para explorar las conexiones entre la química de sistemas y la biología sintética y, por el otro, una llamada a la transdisciplinariedad en la ciencia. El trabajo experimental desarrollado durante esta tesis fue diseñado en base a un modelo teórico previo, éste a su vez basado en una reflexión filosófica en torno al problema del origen de la vida. Con esto se pretende llamar la atención sobre el peso que la correcta canalización de un trabajo filosófico puede tener para reforzar la ciencia - y viceversa. En breve, esta tesis puede considerarse un ejemplo que ilustra una nueva concepción de la filosofía de la ciencia como ‘filosofía *para* la ciencia’ [Wimsatt 2007; Griesemer 2008], de acuerdo a la cual se demuestra que hay espacio para la fusión entre ambas y que esto puede ser una de las claves para el avance epistemológico en el futuro.

1.2 Objetivos generales

Los objetivos generales de esta tesis doctoral son los siguientes:

1. Búsqueda de principios generales para la construcción de una teoría de la organización biológica realizada a partir de una aproximación genealógica en torno a sistemas autónomos.

Este trabajo de tesis se suma al esfuerzo epistemológico general de construir una teoría de la organización biológica desde una comprensión de la vida como propiedad sistémica. Para ello, se propone una vía de investigación diferente a la actual -liderada principalmente por la Biología de Sistemas- que consiste en la simplificación del esquema biológico autónomo mediante el estudio de las diferentes capas de complejidad adquiridas durante el proceso de origen de la vida.

2. Naturalización de conceptos biológicos fundamentales (individualidad, función, agencia, identidad) desde un escenario químico prebiótico.

Desde un escenario prebiótico (químico) se quiere contribuir a la *naturalización* de algunos de los conceptos clave de la teoría biológica -como son la idea de función, individualidad, el carácter agencial de los seres vivos o su propia identidad- así como comprender el tipo de organización química que pudo dar origen al fenómeno de la vida.

3. Exploración un nuevo campo de investigación “entre la química y la biología”. Generación de lazos entre la biología de sistemas y la biología sintética a través de la química de sistemas.

Las nociones teóricas establecidas en torno a la química clásica y la bioquímica (biología) parecen insuficientes para explicar el escenario prebiótico y la emergencia de lo vivo. Por eso se propone la exploración de conceptos y principios adicionales aplicables a una “química-dirigida-hacia-la-biología” mediante la utilización de la Química de Sistemas y la fabricación de protocélulas auto-productivas.

4. Realización empírica de un modelo protocelular como “caso-estudio” de este tipo de aproximación y reflexión teórica de los resultados.

Se desarrolla un ejemplo concreto de la vía de investigación propuesta mediante i) la implementación en el laboratorio, “*in-vitro*”, de un modelo “*in-silico*” protocelular lípido-peptídico previo a través de la funcionalización de membranas vesiculares a partir de mezclas de ácidos grasos y aminoácidos y ii) el posterior análisis crítico, teórico-filosófico, del tipo de organización físico-química obtenida.

5. Apoyo a la transdisciplinariedad y fomento de la aproximación a los problemas científicos desde diferentes prismas

Esta tesis pretende ilustrar la utilidad de la investigación transdisciplinar en la ciencia destacadamente en la transición química-biología, -dada su gran complejidad- mediante la realización de un trabajo a caballo entre la reflexión filosófica, el modelado teórico y la realización empírica.

Capítulo 2

INTRODUCCIÓN Y METODOLOGÍA

2.1. Definición del problema y marco teórico

2.1.1. Un programa de naturalización para clarificar nociones biológicas

Palabras como autonomía, función, identidad, agencia o información tienen una raíz etimológica (un origen histórico) en el ámbito de las ciencias sociales y las humanidades para explicar nociones y características causales ligadas a la actividad y la intencionalidad humana (capacidades cognitivas, interactivas y tecnológicas). Sin embargo actualmente y a lo largo del mundo estas palabras han pasado a formar parte del lenguaje diario en la ciencia. Una bióloga de cualquier laboratorio de biología molecular o bioquímica se preguntará “¿qué *función* tendrá esta proteína?” o se dispondrá a “*identificar* un gen que *contiene información* para tal enzima”. También “*aislará centros activos*” o será capaz de “seleccionar y *re-organizar* secuencias *codificadoras*”.

Se puede interpretar que la utilización de estos conceptos, en la práctica, se hace en forma de metáfora o de 'atajo' para dar cuenta de un proceso biológico complejo. Sin embargo, la hipótesis de esta tesis se basa en pensar que estos no son únicamente metáforas sino conceptos que pueden ser *naturalizados* y fundamentados en sus raíces moleculares y explicarse a nivel (o al menos desde el

nivel) biológico, o incluso químico. Es decir, ya no utilizar (tomar prestados) estos conceptos para describir procesos naturales sino buscar las condiciones y procesos que justifiquen la necesidad o pertinencia de este tipo de nociones en las explicaciones científicas (químicas o biológicas).

Esta tesis se enmarca en un contexto teórico relativo a la teoría de la autonomía biológica [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004, 2012; Ruiz-Mirazo, Peretó & Moreno 2004; Moreno et al. 2008; Moreno & Mossio 2015]. El término autonomía significa, literalmente, 'norma propia'. Ha sido utilizado en muchos dominios (filosofía política, ética, biología, robótica...) sin conocerse del todo su origen y se entiende como la capacidad de actuar de acuerdo a principios auto-generados y como la habilidad de reconocer y respetar esa aptitud en alguien. De manera más general, también puede significar que cierto ámbito/nivel tiene relativa independencia respecto a otros debido a la posesión de normas propias. Sin embargo, en los años 70, se da un giro naturalizador de este concepto, que pasa de ser un concepto abstracto, consecuencia del razonamiento humano, a explicar este último (y en general la vida y la cognición) como consecuencia de la propia autonomía. El foco de las investigaciones deja entonces de estar en las acciones provocadas por la autonomía para centrarse en los procesos y condiciones de posibilidad necesarios para generarla [Moreno et al. 2008].

Ya en 1790, Kant propuso una teleología propia de los seres vivos muy relacionada con la noción de autonomía, al entender los seres vivos como “propósitos naturales provenientes de la auto-organización de la materia”. Los sistemas vivos se autoorganizan de acuerdo a unas normas, siendo esta autoorganización la que genera, a su vez, estas normas en relación a un propósito natural procedente de la estructura global. Hans Jonas, en su libro “The phenomenom of life” [1966], concreta esta intuición mediante la identificación del metabolismo como la esencia de la vida. El metabolismo es el encargado de mantener tanto los procesos internos como las interacciones con el ambiente y la continua interdependencia entre estos procesos internos y externos serán la clave de la constitución recursiva de la identidad del sistema (es decir, la vida).

Maturana y Varela, posteriormente, son los encargados de formular una teoría mucho más completa (aunque también mucho más abstracta) respecto al fenómeno vida: la teoría de la *autopoiesis*. La autopoiesis resalta la capacidad de *auto-producción* del sistema como característica definitoria de los seres vivos [Varela et al. 1974; Maturana & Varela 1980]. La autopoiesis se fundamenta en una red continua de producción de componentes (una abstracción del metabolismo) y en la formación de un borde y de unas condiciones de frontera que diferencien al sistema de su ambiente (la generación de individualidad). Un sistema autopoietico regenera constantemente su red de procesos y dinámicas responsables de su propia constitución y la de una frontera física con el ambiente, estableciendo, a su vez, las condiciones de intercambio necesarias para que el sistema

pueda seguir regenerándose. En los sistemas autopoieticos, la acción (lo que hace) y la constitución (lo que es) forman un todo: el sistema hace su propio ser, que a su vez no es otro que ese mismo hacer. El aspecto ‘activo-transformativo’ (la acción) y el material (la constitución) no pueden separarse ya que son, en realidad, dos caras de la misma moneda. Las normas para la obtención de su propósito (un comportamiento que asegure el auto-mantenimiento) no están decididas a priori sino que surgen espontáneamente de la propia (auto)organización de la materia y de las dinámicas resultantes en el sistema [Barandiaran & Egbert 2014].

2.1.1(1) La autonomía como una herramienta heurística para la naturalización

Tradicionalmente, ha habido dos vías conceptualmente diferentes para la caracterización de la vida y el estudio de su origen. En la concepción evolutiva de la vida, los seres vivos son sistemas que se auto-reproducen y tienen, potencialmente, una capacidad de cambio indefinidamente abierta, sin límite [Orgel & Joyce 1999]. Los trabajos en este ámbito se centran, principalmente, en entender cómo es capaz de crecer, replicarse y evolucionar un sistema y, por ello, están especialmente interesados en la abiogénesis de moléculas que puedan servir de plantilla informacional y en los mecanismos por los cuales estas moléculas mutan y distribuyen sus “adaptaciones” entre la población (comúnmente y como se presenta en el capítulo 4, se trata de moléculas de RNA). Recientemente Ben Shirt-Ediss [2016] ha llamado a esta concepción *diacrónica*, por caracterizar los sistemas vivos desde un punto de vista histórico (en términos de reproducción y capacidad de evolucionar).

No cabe duda de que la reproducción y la capacidad evolutiva son características que poseen todas las formas de seres vivos que podemos encontrar en la Tierra (al menos potencialmente o en algún momento de su ciclo vital: pensemos sino en los animales castrados como los bueyes, o estériles como las mulas o, ¡nuestros abuelos!) pero si queremos caracterizar a los seres vivos desde un punto de vista sincrónico, caracterizarlos por lo que realmente son, aquí y ahora, tendremos que hacerlo de otra manera. Todos los seres vivos que conocemos hacen cosas, y hacen cosas por algo; es decir, tienen un propósito. Desde una bacteria moviéndose hacia concentraciones más altas de glucosa, un caracol escapando de una cubeta con sal, un ave cazando o un humano haciendo la compra en el supermercado, todos tienen un propósito. El objetivo de este propósito, como vemos también en los anteriores ejemplos (ya sea comer, cazar, escapar de un peligro,...) está siempre enfocado a su propio mantenimiento, a auto-mantenerse como sistema en el ambiente. Los seres

vivos son sistemas autónomos que, además, manipulan el ambiente para conseguir estos objetivos (son sistemas *agente*). Kant ya anticipó la fundamentación de esta teleología característica de los seres vivos (en su terminología, propósitos naturales) en la propia auto-organización de la materia, sembrando las semillas de las ideas de auto-organización y de emergencia, al mismo tiempo [Weber & Varela, 2002]. Un agente autónomo puede ser definido como un sistema (i) con capacidad de (re)generar las normas que determinan su comportamiento y (ii) que dirige este comportamiento hacia una actividad continua y beneficiosa para la supervivencia del sistema a lo largo de un periodo suficientemente largo de tiempo. En principio, uno podría pensar que dentro de esta definición de agente autónomo es posible incluir no sólo a los organismos vivos sino también agentes autónomos artificiales creados por el hombre, como los robots autónomos con capacidades de aprendizaje Kephra, los coches auto-conducidos de Google o Tesla, el rover marciano Curiosity o algunos virus de ordenador. Y es que dentro de la clasificación general de agentes autónomos puede hacerse una subdivisión atendiendo a las dos dimensiones principales de la autonomía. La primera, la dimensión interactiva (o conductual), la poseen todos los agentes autónomos y es aquella que trata la agencialidad y la manipulación del entorno por parte del sistema. Esta agencialidad, en su último término, está ligada al ambiente y moldeada por funciones 'exteriorizadas', interactivas (que el sistema será capaz de aprovechar para sí). La segunda, la dimensión constitutiva (o fisiológica) es propiamente biológica. Los seres vivos no sólo interaccionan y responden a estímulos del ambiente sino que también se auto-definen en el ambiente, construyéndose recursivamente. No obstante, a diferencia de los robots autónomos, que interaccionan con su entorno de acuerdo a unas normas pre-programadas por su creador, los seres vivos *generan* estas normas (en forma de circularidad de componentes que producen constricciones). Esta dimensión constitutiva tan característica de los seres vivos resalta el carácter (activo-)transformativo de los seres vivos, como parte esencial de su ontogenia. En palabras de Hans Jonas: el ser es el hacer. La concepción evolutiva de los seres vivos, focalizada en la historia pasada de estos, no contempla este tipo de elementos sincrónicos, referentes a su funcionamiento actual y universal.

La dimensión constitutiva de los seres vivos está muy bien recogida por la teoría de la autopoiesis. En su libro 'De máquinas y seres vivos' [Maturana & Varela 1973; 1995] los autores definen los sistemas autopoieticos (máquinas autopoieticas) como “[...] máquinas organizadas (definidas como unidad) como una red de procesos de producción (transformación y destrucción) de los componentes que producen los componentes los cuales: (I) [...] continuamente regeneran y rehacen la propia red de procesos que los produjeron y (ii) constituyen el sistema como una unidad concreta en el espacio [...] especificando el dominio topológico de la realización de dicha red”. Un sistema autónomo (en sentido autopoietico) regenera sus procesos internos y sus condiciones de

contorno para seguir constituyéndose como sistema. A primera vista esto podría parecer una idea similar a la replicación contemplada por algunos modelos de la concepción evolutiva (por ejemplo, la máquina automática de Von Neumann) pero la diferencia es cualitativamente diferente: los sistemas replicativos fabrican una copia de sí mismos mientras que los sistemas autopoieticos regeneran recursivamente todo el sistema para mantener su unidad (su identidad, entendida como una forma de organización característica) y lo hacen a expensas de que se produzcan innumerables cambios moleculares en su interior.

Sin embargo, los seres vivos no son los únicos sistemas capaces de auto-realizarse. Dentro de esta descripción podemos encontrar también cualquier sistema químico autocatalítico que realice cierre organizacional. De hecho, la autopoiesis ha sido interpretada recientemente como un cierto tipo de cierre [Mossio 2013]. En un cierre organizacional puede ser un conjunto de moléculas y reacciones en donde cada molécula es creada por, al menos, una reacción del conjunto, y cada reacción es catalizada por, al menos, una molécula del conjunto [Kauffman 1986; Hordijk & Steel 2004]. Entender la autopoiesis mediante un esquema de su cierre organizacional resulta práctico. Las reacciones entre componentes se ponen en un contexto naturalizado y eso resuelve, en cierta manera, la abstracción del esquema autopoietico. Sin embargo, este esquema no es capaz de describir el resto de fenómenos físico-químicos que no son parte de un cierre catalítico pero que sí resultan esenciales para que se dé el cierre organizacional propio de los organismos vivos: acoplamiento energético, fenómenos de crowding molecular, la formación de estructuras supramoleculares o la creación de gradientes. De una manera más general, puede describirse el sistema autopoietico como un sistema de cierre de constricciones [Montévil & Mossio 2015] en el cual son una serie de procesos (de diferentes tipos y a diferentes escalas temporales) los que establecen una dependencia mutua, de tal manera que todos dependen y contribuyen al mantenimiento de los demás.

La *autonomía básica*, en un sentido naturalizado, ha sido definida [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004] como la “capacidad del sistema para gestionar los flujos de materia y energía de manera que el sistema pueda, a la vez, regular, modificar y controlar tanto los procesos internos auto-constitutivos como los procesos externos de interacción e intercambio con el ambiente”. El sistema tendrá que ser capaz de generar y regenerar todas las constricciones (incluyendo sus fronteras) que lo definen como sistema que interacciona con su ambiente. La interdependencia entre las constricciones internamente generadas que gestionan los flujos de energía y materia provenientes del exterior y la modulación de estos flujos (necesarios para la regeneración de las constricciones) serán, de hecho, las claves del asunto. Este panorama de entradas, salidas y gestiones internas de materia y energía se presentará tan complejo que el organismo necesitará algún tipo de

“infraestructura” [Bickhard 2004] que organice las dinámicas del sistema en sub-sistemas coordinados. La naturalización de una *organización funcional* aparece de forma evidente cuando el sistema físico-químico ha alcanzado determinado grado de complejidad material. La individualidad (como unidad generada como consecuencia de esta organización funcional) permitirá al sistema mantener unas fronteras y separarse del ambiente, conservando un sistema propio y contextualizando qué procesos son beneficiosos para su supervivencia como tal (funciones). El objetivo global del sistema como un todo será funcionar para mantener su individualidad; en palabras de Simondon, como veremos más adelante, los seres vivos son “individuos individuándose” continuamente [Simondon 1995; 2005].

2.1.2. Por qué "individualidad" y "función"

En la sección anterior hemos visto cómo la noción de autonomía resulta una herramienta conceptual adecuada para enmarcar el estudio de las propiedades esenciales de la vida. Más concretamente, es la dimensión constitutiva de la autonomía (concepto estrechamente relacionado con el de autopoiesis), la que es especialmente característica de los organismos vivos. Los sistemas biológicos producen la mayor parte de los componentes que los integran, incluyendo los necesarios para captar recursos del ambiente, estos que no sintetizan por sí mismos (como por ejemplo, el mismo agua). A partir de la producción de estos componentes, los seres vivos serán capaces de manejar los estímulos y los flujos de materia y energía provenientes del ambiente para continuar su mantenimiento como unidades diferenciadas. En definitiva, es la capacidad de autoproducción la que los diferencia de otros tipos de sistemas auto-organizados y auto-mantenidos (como, por ejemplo, las estructuras disipativas o los robots autómatas).

Los conceptos de individualidad y función se encuentran en el centro de la concepción de un sistema auto-producido y por ello pueden explicarse de manera recíproca. Los componentes generados por el sistema se organizarán en funciones (acciones distinguibles en virtud de la contribución a la continuación del sistema) [Mossio et al. 2009; Moreno & Ruiz-Mirazo 2009] una vez alcanzada cierta complejidad. El sistema tratará de mantenerse como tal, como unidad (individuo o identidad) alejada del equilibrio, ordenada y separada de su ambiente mediante la realización de estas funciones. Si falla, se desintegrará (es decir, perderá su integración, su individualidad). La desintegración del individuo por la detención de la realización de sus funciones (que, en última instancia, se concentran en sólo una, la función mantenimiento) hará de éste un sistema en equilibrio con su ambiente y, como consecuencia, formará a pasar parte de él: en otras

palabras, el sistema habrá muerto.

A continuación, se hará un repaso de las nociones de individualidad y función según se ha tratado históricamente en biología y en química. A lo largo de este capítulo se revisarán los enfoques realizados sobre estos dos conceptos y en qué manera encajan o no en la perspectiva autónoma tomada en esta tesis. Se tratará, además, de buscar paralelismos en torno a esta perspectiva, en la química y la biología, con el objeto de encontrar una continuidad y un posible origen común. En definitiva, en esta tesis exploro hasta qué punto estos conceptos son inseparables y pertenecientes al dominio de lo vivo o, tal y como sucede con otras características biológicas, pueden ser encontrados también en el campo de la química. El propósito de esto no es otro que el de estudiar las raíces de tales nociones en un ámbito físico-químico prebiótico para poder entender su origen y su importancia en la aparición de la vida y, como consecuencia, su importancia dentro de la biología actual.

2.1.2(1) Individualidad e Identidad en la Biología

Aunque el concepto de individualidad tiene un papel central en la biología, no existe un consenso generalizado sobre el criterio a seguir para definir un individuo (distinción espacial, integración fisiológica, homogeneidad genética, autonomía metabólica, desarrollo a partir de un cuello de botella unicelular... entre otros).

Idealmente, atendiendo a los principales papeles que el concepto de individualidad tiene en diferentes ciencias de la vida, recientemente se han diferenciado 9 objetivos que el concepto de *individuo biológico* debe poder cumplir [Di Frisco 2017]:

1. Contabilizar la descendencia para medidas de fitness reproductivo
2. Constituir unidades para medidas demográficas de tamaño poblacional
3. Ayudar a distinguir la reproducción del desarrollo y el crecimiento
4. Ser guía para la elección apropiada de modelos (por ejemplo, selección multinivel)
5. Organizar una teoría de transiciones evolutivas
6. Proveer de tipos biológicos que puedan ser usados para una clasificación y una generalización inductiva.
7. Determinar un sistema de referencia para poder caracterizar los rasgos evolutivos relevantes
8. Determinar un sistema de referencia para definir qué roles causales de sus partes son funciones biológicas

9. Determinar unidades de interacción ecológica

En términos muy generales, las diferentes explicaciones del concepto de individualidad en biología se han dado bien de manera evolutiva o bien de manera no-evolutiva, siendo la primera corriente la más común. Seguidamente hago un breve resumen de ambas.

2.1.2.(1/i) Corrientes evolutivas

La preocupación de las corriente evolutivas, mayoritariamente, estriba en articular un concepto que ayude en la búsqueda de la unidad de selección, sobre la cual tengan efecto los procesos evolutivos.

En buena parte gracias el trabajo del zoólogo y teórico evolutivo August Weismann (1834-1914), aunque previamente reivindicado por Darwin en ‘El origen de las especies’, el organismo se plantea, clásicamente, como unidad de selección. Weismann trabajó, principalmente, en el problema del desarrollo y resaltó que todos los organismos multicelulares provienen de una sola célula y son, por tanto, genéticamente homogéneos. El descubrimiento de la diferenciación celular dejaba a la gran mayoría de las células (las células somáticas) sin capacidad alguna de variación o de herencia; como no todas las células pueden heredar, la selección no puede operar aisladamente sobre ellas *ergo* la selección opera sobre todo el individuo. La teoría de la Síntesis Moderna, formulada de manera pionera por Fisher, Haldane y Wright en los años 20, explica el proceso evolutivo en dos tiempos: el primero es la generación aleatoria de variedad heredable encarnada en la diversidad de individuos en una población y el segundo es la retención de determinados organismos (determinados conjuntos genéticos homogéneos) por selección natural. Aunque más tarde se ha matizado, criticado y corregido detalladamente el trabajo de Weismann, es indudable la enorme influencia que éste tuvo sobre el resto de teóricos evolutivos hasta nuestros días (Ernst Mayr lo consideró el segundo teórico evolutivo más importante del siglo XIX después de Darwin). Esto, unido a la popularidad ganada en los siglos XIX y XX por la teoría de la Selección Natural y por la genética mendeliana, ha hecho de las corrientes evolutivas las más atractivas en el contexto de las teorías biológicas de la individualidad. Muchas de estas teorías están resumidas en [Clarke 2013] y sólo se mencionan algunas a continuación.

La capacidad de reproducción ha sido uno de los criterios más populares para establecer la unidad de selección. Al igual que en la teoría de Weismann, donde únicamente las células germinales podían heredar (y, por tanto, se excluía cualquier tipo de reproducción asexual o por injertos), esta manera de definir individuo deja fuera a la mayoría de organismos multicelulares

existentes. Sin embargo, al mismo carro se apuntan aquellos que definen el sexo como principio individuador (Huxley 1852, Janzen 1977, Cook 1979) o los partidarios del cuello de botella [Szathmary & Maynard Smith 1995; Godfrey-Smith 2009] los cuales consideran individuo al momento unicelular de un ciclo de vida (asociado directamente a la reproducción pero un poco más flexible con ciertas formas de reproducción asexual, como la partenogénesis). La homogeneidad genética determina como único individuo a cualquier clon reproducido por partenogénesis o injerto. Otras maneras de definir individuo serían los poseedores de un mecanismo de control (definido en último término como mejoras en el fitness; la segregación Mendeliana se consideraría aquí un mecanismo de control evolucionado para imponer justicia en la meiosis).

También existen propuestas no tan restrictivas que otorgan protagonismo al organismo como unidad de selección y que se abren a otras posibilidades. Este es el caso de la teoría de la cooperación y el conflicto de Queller y Strassmann [2009] en la que los individuos se definen como sub-unidades en cooperación que han alcanzado tal grado de integración que ya no podemos diferenciar sus límites. Su idea es la de desenfatar la indivisibilidad física de los individuos para poder incluir ejemplos tales como los insectos sociales (que comparten un objetivo de fitness común y serían, por tanto, considerados como un único individuo). En la misma línea estaría la definición codispersiva [Frank 1997, 2003] en el cual distintas entidades pueden pasar a ser partes de un mismo individuo si sus intereses reproductivos comparten un mismo destino evolutivo. Esto es lo que Folse y Roughgarden [2010] han llamado 'alineación de componentes de fitness' y en el cual podría incluirse el origen y evolución de la mitocondria. Ésta, a pesar de no reproducirse a la misma tasa de velocidad que el resto de la célula, mantiene constante su número gracias a mecanismos de autofagia controlados por los lisosomas de la célula hospedadora.

2.1.2.(1/ii) Corrientes fisiológicas

Las corrientes fisiológicas, más relacionadas con la búsqueda de una teoría del organismo (ver capítulo 3) buscan la individuación de entidades en términos de propiedades estructurales y composicionales no directamente definibles evolutivamente. Dentro de estas corrientes no-evolutivas podemos distinguir tres principales [Di Frisco 2017] : la individualidad fisiológica, la del desarrollo y la ecológica.

La individualidad ecológica individúa sus unidades vía nodos en una red trófica, *loci* densos en flujos de materia y energía ecosistémicos o roles causales como la descomposición o la producción primaria. Los individuos ecológicos pueden, incluso, incluir partes del sistema abiótico ambiental como extensiones del fenotipo [Dawkins 1982], por ejemplo, la araña y su tela de araña o

el pájaro y su nido (es decir, procesos de “construcción de nicho”). La individualidad ecológica es, a veces, relacionada con el concepto de interacto de David Hull [1980] según el cual “un interacto es una entidad que interactúa directamente con su ambiente, como un todo cohesivo, de manera que se puede diferenciar en él una replicación” (no especifica la replicación de “qué”). Por ejemplo, la asociación mutualística existente entre algunas plantas y las bacterias fijadoras de nitrógeno o la relación entre un humano y su microbiota intestinal podrían formar un solo interacto o individuo ecológico. Estos individuos, en la mayoría de casos, no coinciden con el individuo evolutivo, pues no son transmitidos verticalmente de la misma fuente y se reproducen independientemente. Sin embargo, pensar en términos de individualidad ecológica ha resultado muy práctico para definir procesos ecológicos, como ha demostrado la modelización de ecosistemas basada en los individuos [Grimm & Railsback 2005] donde pueden obtenerse generalizaciones a nivel de ecosistema a partir de sus individuos ecológicos en interacción.

Un individuo “del desarrollo” puede definirse como un subconjunto (o un superconjunto) de individuos ecológicos, fisiológicos y evolutivos producido tras una serie de divisiones celulares pasando por un evento de cuello de botella, de injerto o de fragmentación. Típicamente, se caracterizan por una transmisión vertical (y no horizontal) de sus rasgos, altos niveles de homogeneidad genética y una determinación endógena del destino celular mediante mecanismos regulatorios inter-celulares [Arnellos et al. 2014]. Por su conservadurismo se encuentra en un punto intermedio, superpuesto con la descripción de un individuo evolutivo y, por tanto, esta noción resulta muy práctica para describir la duración de la vida de sistemas multicelulares y, por supuesto, para realizar estudios comparativos y diferenciar homologías taxonómicas.

La perspectiva fisiológica a la hora de individuar entidades ha sido comúnmente descrita mediante una cohesión mecánica o causal entre partes. De esta forma, se ha determinado un individuo fisiológico cuando las interacciones entre las partes son más fuertes y/o más frecuentes entre ellas que con otras partes del ambiente [Collier 2000, 2004]. El criterio de cohesión resulta, sin embargo, demasiado general para tratar de explicar otros aspectos organizativos de la individualidad biológica. Para ello resulta mucho más adecuado un criterio funcional como el establecido por la medida del grado de cooperación y conflicto entre las partes [Queller & Strassmann 2009].

En esta tesis, se adopta un criterio de individualidad de tipo funcional algo más estricto que el definido por la mera colaboración entre partes, contextualizado en la teoría de la autonomía de los sistemas biológicos. La individualidad biológica estará caracterizada por un *cierre organizacional*, en el cual, cada elemento constringente de una dinámica metabólica es producido y mantenido por

la acción de otro elemento constringente endógenamente producido [Moreno & Mossio 2015]. La descripción del individuo de manera fisiológica, aludiendo a la integración funcional y la autonomía, ha sido explícitamente criticada por autores como Ellen Clarke [Clarke 2013], que considera estas definiciones demasiado vagas e incommensurables. Sin embargo, veremos que esta definición de individualidad sí puede ser adoptada por un contexto material, en forma de definición de funciones como elementos materiales diferenciados (y, por tanto, mensurables) pertenecientes a dicha organización (ver siguiente sección). Uno de los objetivos principales de esta tesis es, precisamente, el de *naturalizar* esta definición de individualidad a través de la búsqueda material, desde la química, de sus elementos funcionales.

Tras revisar brevemente las dos perspectivas generales más populares a la hora de definir individualidad biológica, incluidos los importantes matices que se encuentran dentro de cada una de ellas, nos encontramos con que el problema tiene una doble dimensión epistemológica. Cuando se trata de entender y comparar las cualidades de los sistemas vivos de hoy en día, podemos apelar a la visión evolutiva que, por supuesto, será de enorme utilidad para explicar las propiedades biológicas de la vida tal y como la conocemos ahora, tras ese proceso evolutivo. Sin embargo, si lo que se desea es indagar en su aspecto fisiológico y sincrónico, en la propia organización de la materia que lo define como un individuo, la dimensión histórica-evolutiva no ayuda tanto. Esto adquiere un sentido más radical cuando nos aproximamos, precisamente, al origen de este tipo de sistemas. Previo al origen de la vida, la historia evolutiva simplemente no existía. ¿Cómo puede, entonces, explicarse el origen de la individualidad en relación a un proceso que no existe? La pregunta demuestra que debe haber otra manera de darle una explicación.

Leo Buss, precisamente, realizó un importante trabajo en torno a esta problemática [Buss 1987]. Buss hizo una revisión al trabajo de August Weismann reivindicando lo limitado de su aplicación. Además, trató de darle una perspectiva fisiológica a la teoría de la evolución, en una investigación sobre cómo la evolución afecta al desarrollo de los individuos y viceversa. La crítica de Buss comienza mostrando que el modelo de individuo de Weismann es sólo aplicable a organismos que presentan un desarrollo de tipo preformacionista, en el cual el destino de las células embrionarias (cuáles son germinales y cuáles somáticas) se define de manera irreversible en un estadio muy temprano del desarrollo. No obstante, existen otros dos modelos de desarrollo embrionario que coinciden con los dos tipos de reproducción que Weismann deja fuera en su teoría (reproducción asexual y reproducción por injertos): la embriogénesis somática (en cualquier momento del ciclo se puede generar un organismo nuevo a partir de ciertos tejidos) y el desarrollo

epigenético (indiferenciación de algunos tejidos hasta estadios muy avanzados). Estos dos modelos de desarrollo engloban, sin embargo, a la mayoría de organismos multicelulares conocidos, entre ellos todas las plantas, los hongos y protistas multicelulares, ciertos tipos de esponjas, celenterados (medusas, corales,...) y gusanos. No obstante, la aportación más importante del trabajo de Leo Buss, además de dar cuenta de la insuficiencia de la noción de individuo evolutivo en la Síntesis Moderna para cubrir la diversidad multicelular, es el descubrimiento de la heredabilidad de la variación suborganísmica. Este hecho cambia por completo la visión de la dinámica evolutiva propia de los individuos de la Síntesis; la evolución se verá afectada por el patrón de desarrollo (preformacionista, epigenético o embriogénesis somática) que se convierte en el indicador y carácter de ciertas dinámicas evolutivas. De esta forma, Leo Buss, consigue llevar la dimensión evolutiva a la dimensión fisiológica (la ontogenia del individuo actual) indagando en los mecanismos subyacentes a los organismos y proponiendo una definición de individuo, de unidad de selección, no únicamente guiada por la evolución y la selección natural sino por el tipo de organización del sistema. Esta es la teoría desarrollada por la nueva visión evolutiva de la ‘Extended Synthesis’ (ver capítulo 3). A pesar de que ésta es una teoría también inscrita en la tradición de pensamiento evolutivo, la perspectiva es significativamente diferente: la concepción de individuo emana de su organización característica y, después, se inscribe dentro de un programa evolutivo; no es el programa evolutivo el que explica al individuo.

La aplicación de la evolución darwinista se vuelve confusa en algunos contextos. Véase el ejemplo previamente citado de los organismos incapaces de reproducirse (estériles, aislados o que han perdido la capacidad de reproducirse) o, como es el caso que aquí nos concierne, el origen de la vida. Aunque hay autores que definen el origen de la vida como el origen de una molécula auto-replicativa sometida a Selección Natural (ver capítulo 4), la hipótesis de esta tesis sugiere que, previo a la adquisición de moléculas tan complejas como las auto-replicativas, como el ADN o ARN, tuvo que integrarse un sistema suficientemente robusto como base sobre la cual construir en complejidad. Estos primeros sistemas funcionalmente integrados serían sistemas protocelulares (ver capítulos 4, 5, 6 y 7). Durante las transiciones prebióticas que sucedieran a partir de las primeras protocélulas, otro tipo de evolución (de carácter competitivo pero no estrictamente darwinista) seleccionó los sistemas químicos hasta incrementar su complejidad y dar lugar, finalmente, a la hipercomplejidad de la vida (ver figura 2.1). La noción de individualidad, bajo este contexto, tenía que existir previamente a la aparición de los genes y la evolución darwinista; las unidades de selección se explicarían así en términos de integración funcional e incremento de robustez y autonomía.

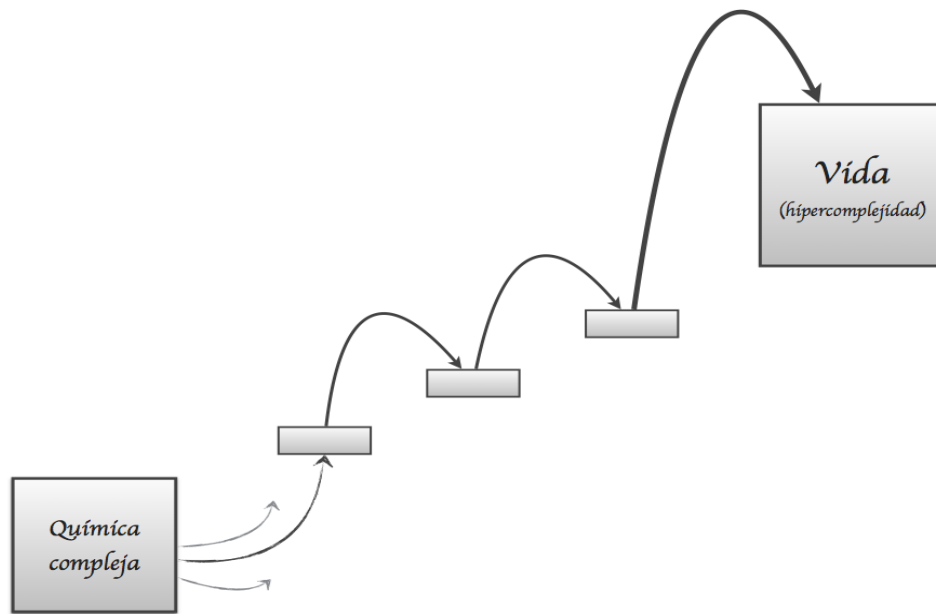


Figura 2.1. Etapas prebióticas a través de las cuales la química escaló en complejidad hasta alcanzar la hipercomplejidad de lo vivo.

En relación a la problemática de la definición de individuación, recientemente está reapareciendo una visión articulada en torno a la figura de Gilbert Simondon, un filósofo que, a principios del siglo XIX, trató la individualidad de una manera más orgánica, sistémica y fenomenológica. Según este autor, la individuación comienza en los objetos físicos y continúa después, en su verdadera forma, a partir de la producción de una membrana en los sistemas biológicos: “los procesos de individuación [...] se construyen [...] sobre un fondo de individuación *vital* que, a su vez, se construye sobre un fondo de individuación *física*” [Simondon, 1995; 2005]. La continuidad que este autor propone entre el mundo físico y el mundo biológico y la importancia de la auto-producción de una frontera física en su descripción de individualidad hace su perspectiva particularmente interesante para el tipo de propuesta que aquí es presentada. En el capítulo 6 veremos en mayor profundidad esta concepción fenomenológica de la individuación, junto con las de Helmuth Plessner, en torno a la noción de “posicionalidad” (“ser, estar y *tomar* el espacio”), y la “liberación de la forma” de Hans Jonas, según la cual los sistemas biológicos se auto-distinguen del entorno físico-químico.

2.1.2 (2) Individualidad e Identidad en la Química

La química clásica de los sistemas en equilibrio ha seguido tradicionalmente el esquema sustancialista del atomismo griego que considera al ser, los individuos, como consistentes en su unidad, dados a sí mismo e indivisibles.

Quizá el primer tipo de pensamiento formal sobre los individuos atómicos-moleculares como elementos indivisibles proviene de la teoría atomista de John Dalton. A partir de un estudio sobre los gases, en el cual intentaba explicar por qué un mismo volumen de agua no era capaz de admitir volúmenes iguales de diferentes gases, llegó a la conclusión de que la cantidad última de partículas constituyentes de los diferentes gases debía ser distinta en tamaño y peso. En su libro “Un nuevo sistema de filosofía química” (1808) los compuestos son enumerados como binarios, ternarios, cuaternarios, etc, en función del número de átomos que el compuesto tiene en su forma más simple, la forma empírica (ver Fig 2.2). Esto le llevó a formular la ley de las proporciones múltiples, según la cual, el producto de la mezcla de cualquiera de los elementos podría cuantificarse mediante un número entero.

En general, la teoría atómica se puede resumir en estos cinco puntos:

1. Los elementos están hecho de partículas muy pequeñas llamadas átomos.
2. Los átomos de un elemento dado son iguales en tamaño, masa y otras propiedades; los átomos de distintos elementos difieren en tamaño, masa y otras propiedades
3. Los átomos no pueden ser subdivididos, creados o destruidos.
4. Los átomos de distintos elementos se combinan en números enteros para formar componentes químicos.
5. En las reacciones químicas, los átomos son combinados, separados y re-organizados.

Otra de las contribuciones más importantes en la historia de la química en la búsqueda a de unidades irreducibles de la materia fue la hipótesis de Avogadro, desarrollada por Amadeo Avogadro en 1811 y que decía que:

“Volúmenes iguales de distintas sustancias gaseosas, medidos en las mismas condiciones de presión y temperatura, contienen el mismo número de partículas”.

Estas partículas son entendidas como átomos o moléculas (distinción indefinida en la época), partículas indivisibles, en definitiva. La hipótesis no fue aceptada hasta la celebración del famoso congreso de Karlsruhe (1860) en el cual, finalmente, se estableció la diferencia entre átomos y moléculas y comenzó la sistematización de la química y lo que hoy se conoce como la “Química

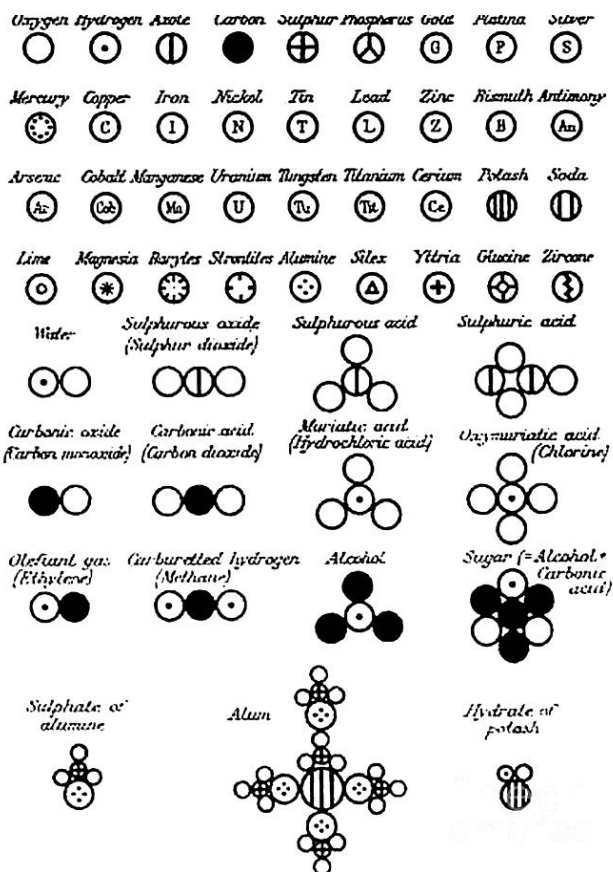


Figura 2.2. Gráfico del libro "Un nuevo sistema de filosofía química" (Dalton, 1808). La descripción de John Dalton de los últimos constituyentes de la naturaleza como elementos indivisibles le permitió formular la teoría atómica. La teoría atómica clasifica los átomos (partículas más pequeñas de cada elemento natural) según sus características. Las combinaciones (binarias, ternarias, cuaternarias, etc) de los átomos de distintos elementos producirá los diferentes sustancias químicas. Esta clasificación de las *sustancias* puede ser considerado una de las primeras contribuciones a la búsqueda de unidades o individuos en la naturaleza.

Moderna". De la hipótesis de Avogadro se desprende la definición de molécula, como el agregado más pequeño de átomos, iguales o diferentes, capaces de existir independientemente y poseer las propiedades de la sustancia que se encuentra constituida por un conjunto de moléculas. No obstante, el principio de Avogadro fue únicamente demostrado empíricamente un siglo más tarde, cuando las investigaciones del físico-químico francés Jean Perrin probaron, a través de hasta trece métodos diferentes y con una asombrosa coincidencia en los resultados de todos ellos, la existencia del Número de Avogadro: número de átomos que contiene un mol de un determinado compuesto. La exactitud de los valores (todos alrededor de 6 y 7×10^{23}) no podía ser una coincidencia y, la creencia en la existencia de las moléculas (y los átomos) dejó de ser una ficción [Diéguez 1995]. Perrin obtuvo el premio Nobel de física en 1926 por sus "treinta años de trabajo al servicio de las ideas atomistas" [Oseen 1926].

Las sustancias se juntan para, tras una transformación, dar lugar a otras sustancias (otros entes individuales). Este esquema, llevado a la química actual, supone enormes problemas a la hora de definir cuales son las unidades básicas de la materia, ¿son las moléculas, los átomos, las partículas subatómicas o agregados de todo lo anterior?

El ejemplo paradigmático de todo esto es el agua. El agua es H_2O , pero no siempre. O no únicamente. La microestructura de las moléculas depende radicalmente del contexto. Así, en el caso

sencillo del agua ésta será una *mezcla* con iones Na^+ y OH^- disueltos, además de otras 'impurezas' en forma de isótopos del agua (agua pesada y otros isótopos) que irán variando constantemente por la influencia de la dinámica del resto de moléculas adyacentes. Otro ejemplo muy evidente es el del carboncillo y el diamante, dos sustancias completamente distintas formadas por un único tipo de molécula alotrópica (mismo elemento que puede presentar diferentes estructuras, en este caso, el carbono). Para definir una sustancia *pura* se han intentado en química diferentes aproximaciones, todas de carácter instrumentalista (no podemos olvidar que la química, en su base, es una ciencia eminentemente experimental). Las dos definiciones de sustancia pura quizá más influyentes son (1) aquella que, bajo las mismas condiciones de presión y temperatura presenta igual comportamiento durante una transición de fase y (2) aquella que no puede ser dividida tras ser sometida a diferentes métodos de purificación. Sin embargo, existen muchos ejemplos que rebaten estas dos definiciones (ya de por sí bastante vagas). Dos enantiómeros de una misma molécula tienen exactas propiedades termodinámicas, comportamientos de fase y velocidades de reacción y, sin embargo, diferente quiralidad. Esta diferencia hace que los dos enantiómeros de una misma molécula encajen de manera diferente en un enzima bioquímico, cambiando por completo el resultado de la reacción ¿son entonces sustancias diferentes? Para sustancias más complejas (de más de un componente) la idea es aún más complicada: metales, sales, electrolitos, ácidos o bases no pueden ser clasificados únicamente por el tipo de sustancia (la molécula). Para su clasificación se utiliza el tipo de *actividad* que llevan a cabo y ésta es casi siempre compartida por muchos tipos de molécula diferentes (realizabilidad múltiple). En el caso de las estructuras moleculares más grandes (polímeros, enzimas, virus...), la situación se complica aún más. En definitiva, la enorme variedad de moléculas y combinaciones de las mismas que existen y pueden existir en la naturaleza presentan un panorama demasiado problemático a la hora de tratar a éstas como unidades básicas de la materia.

Ante este panorama de confusión conceptual (confusión también quizá lingüística, como apunta Joseph Earley sobre la polisemia de palabras como “elemento” o “sustancia” utilizadas con diferentes significados, según los contextos [Earley 2005]) algunos autores han propuesto el concepto más general de *stuff* químico (algo así como un *algo* químico). El *stuff* químico es una unidad química que no es lo mismo que las partes de las que está compuesto; el discurso en cuanto al *stuff* no habla sobre las sustancias sino sobre las propiedades de estas sustancias [van Brakel 2012]. La filosofía de Van Brakel encaja muy bien con el cambio conceptual que ha ocurrido en los últimos años en la filosofía de la química respecto a las nociones de sustancia, unidad básica e identidad química. Esta nueva corriente de filósofos de la química (ver [Scerri & McIntyre 2015]) afirma que, mientras que la filosofía europea y el lenguaje formal han presupuesto tradicionalmente una ontología de los individuos, la ontología propia de la química debería establecerse sobre una

visión alternativa: un mundo en el que una vaga masa de diferentes materiales (diferentes tipos de *algo*) están en constante cambio debido a su interacción con el ambiente (es decir, con otros *algo*).

Así, en los últimos años parece haberse dado un giro conceptual muy importante desde una química estática, dominada por la influencia de la mecánica cuántica y caracterizada por la búsqueda de entidades fijas y la jerarquización de la materia, hacia una química más 'dinámica', en interacción con el ambiente y sobre entidades en continuo cambio, formando redes y mostrando comportamientos emergentes y sistémicos, donde las clasificaciones no son jerárquicas y las explicaciones experimentales (al contrario que en la química anterior, basada en el descubrimiento, en la descripción) se basan en la síntesis, en el hacer (ver tabla 2.1).

static chemistry	"more dynamic" chemistry
quantum mechanics	networks
look for entities	look for processes
hierarchization	no hierarchization
experimental approach: discovery	experimental approach: synthesis
natural pure substance	artificial pure substances
substances defining relations	relations defining substances
properties are static	properties as potential dispositions

Tabla 2.1. Comparación entre las características de una química con un enfoque más clásico, estático y sustancialista y una química con un enfoque dinámico y procesual, propia cambio de paradigma observado recientemente en las ciencias químicas.

Joachim Schummer [Schummer 1998] es uno de los químicos pioneros en producir este cambio de paradigma, abriendo las puertas a nuevas e interesantes ideas. Este autor concibe la química como la ciencia de la transformación. Además, destaca la relación asimétrica dada en la reacción química entre las sustancias reactivas y las sustancias producto, diferentes estas últimas a la simple agregación de las primeras (reacción química como *cambio de identidad*). En el ejemplo previo del agua, la formación de la molécula de H₂O afecta a los elementos que la componen; las propiedades *químicas* de ese H y ese O van ser muy diferentes a las propiedades *físicas* que tenían en su forma libre. Esto, por otra parte, ha sido también defendido como prueba de la aparición de comportamientos emergentes e, incluso, de "causación hacia abajo" ("downward causation") sin necesidad de apelar a nada que no sean las leyes físicas (en contraposición a la crítica de McLaughlin a los procesos emergentes en química) [Luisi 2002].

Las sustancias químicas ya no son entendidas como objetos aislados. La concepción propuesta por Schummer tiene forma de red (con las sustancias químicas en los nodos y las reacciones como enlaces) y funciona mejor como aproximación a las entidades químicas existentes en la naturaleza. Las sustancias puras realmente no existen en el medio natural (y así se desenreda el problema de su búsqueda y reducción a átomos o moléculas), únicamente se fabrican artificialmente en los laboratorios de química por métodos de separación (curiosamente, en alemán la palabra “química” se traduce como *scheikunde* que significa, literalmente, el conocimiento y arte de la separación). La definición de sustancia pura, zanja Schummer, es una definición hipotética y únicamente de carácter pragmático para la química.

En esta nueva tradición, la identidad química, por tanto, no será discreta sino que se difuminará siempre en relación a otros y dentro del sistema. Las identidades químicas, por su naturaleza, están además en continuo cambio, lo que dificulta en gran medida su definición [Daza & Bernal 2010]. Al contrario que en el modelo corpuscular de Boyle, seguido en el esquema tradicional, donde las leyes (físicas) son simétricas y las relaciones entre sustancias dependen de las propiedades de la entidad, en la química las leyes son asimétricas (como ya apuntaba Schummer) y son las *relaciones* las que definen a las entidades (éstas no serían nada sin estar relacionadas). Joseph Earley propone entender los individuos químicos como entidades dinámicas o como *coherencias químicas* : reagrupaciones de estructuras o disposiciones reiterativas (él las llama 'closures') que son efecto y firma de su cierre [Earley 2005]. Esta nueva noción de individualidad es más flexible y dinámica, en torno a disposiciones potenciales, disponibilidad de propiedades y continuo cambio. Las sustancias son entendidas como 'disponibilidades', no como individuos con propiedades (disposicionales), son disponibilidades en el sentido de poder hacer factibles posibilidades [Harré & Llored 2013].

2.1.2 (3) El concepto de función en la Biología

Aunque algunos autores [Thompson 1987, Thompson & Lipton 1988] han defendido que la atribución de funciones tiene solamente relevancia descriptiva acerca de las propiedades y características en ciertos tipos de sistemas, hay un consenso bastante amplio en que las atribuciones funcionales, además de describir, tienen también capacidad explicativa. De hecho, las atribuciones funcionales constituyen una forma de explicación muy habitual en Biología, según la cual se adscribe una función determinada a un rasgo biológico con el fin de explicar aspectos y características relevantes a este rasgo.

Las explicaciones funcionales no sólo son importantes en Biología sino que también lo son en otras ciencias, paradigmáticamente en las ciencias tecnológicas y/o sociales. El paralelismo tantas veces utilizado para entender los organismos como máquinas [Nicholson 2012] está ampliamente extendido en Biología y, aunque esta forma de entender los organismos como “máquinas moleculares” [Behe 2001] puede ser útil y, quizá, necesaria, no puede hacernos olvidar las enormes diferencias que existen entre la biología y la tecnología. El papel de la intencionalidad y la fundamentación de la normatividad son completamente diferentes para cada ámbito y dejarnos llevar demasiado por la analogía artefactual supondría ignorar las propiedades únicas de los seres vivos, como su carácter intrínsecamente teleológico o su organización auto-producida [Saborido et al. 2010; 2011].

Lo que caracteriza principalmente a este tipo de explicación es que se sustenta en una idea de “propósito” o “finalidad”, inherente a los fenómenos que se abordan. Sin embargo, las explicaciones funcionales no son explicaciones causales “al uso”: el efecto viene dado por un rasgo del sistema pero una función es algo más que 'lo que hace' o 'lo que causa' ese rasgo.

Basado en distinciones previas como la de [Bock & von Wahlert 1965], algunos teóricos como Arno Wouters [Wouters 2003] han propuesto la siguiente clasificación:

- i) función como ‘actividad’ : todo lo que un rasgo biológico es capaz de hacer
- ii) función como ‘rol biológico’: la manera en la que un item o una actividad contribuye a la actividad o capacidad compleja total de un organismo.
- iii) función como ‘ventaja biológica’: ventajas conferidas a un organismo por cierto item o comportamiento teniendo determinado carácter.
- iv) función como ‘efecto seleccionado’: los efectos que explican por qué un determinado rasgo fue seleccionado en el pasado son precisamente los que explican su presencia actual en la población.

La función como ‘actividad’ es muy general y puede aplicarse a las otras tres. Las tres restantes tienen un carácter claramente teleológico ya que implican una ‘razón de ser’, un propósito relacionado con la entidad a la que pertenecen. Además, según la manera de entender la teleología de autores como Walsh (“teleología es el modo de explicación por el cual la presencia, ocurrencia o naturaleza de cierto fenómeno se explica apelando al propósito o finalidad al cual él mismo contribuye” [Walsh 2008]), las atribuciones funcionales también son claramente teleológicas, ya que tratan de explicar la existencia de un rasgo a través de efectos y consecuencias de su *propia* actividad. El 'para qué' de la existencia de un rasgo y el 'por qué' se convierten en equivalentes: el corazón existe *para* bombear sangre implica afirmar que el corazón existe *porque* bombea sangre.

Además de ser teleológico, el concepto de función es inherentemente 'normativo', en la medida en que se refiere a algún efecto que, se supone, ha de producirse [Price 2001, Hardcastle 2002]. Como apunta McLaughlin [2001, 2009], las funciones se refieren a una clase particular de relaciones entre determinados medios y fines dentro de un sistema, las cuales van más allá del concepto estándar de causalidad y tienen un fondo último normativo: para que se den unos fines que son característicos de los sistemas *deben* darse ciertos efectos en los rasgos de ese sistema; estos efectos se denominan funciones. Sin embargo, esta dimensión normativa necesita de una justificación teórica que indique, entre todas las relaciones causales, cuáles son funcionales y, por tanto, normas que deben satisfacerse: es decir qué relaciones causales *deben* cumplirse (funciones) y qué relaciones *simplemente ocurren*.

La relación entre la Biología y las explicaciones funcionales es muy estrecha. De hecho, se ha defendido muy a menudo que es imposible una ciencia de lo biológico que no hable de funciones. Sin embargo, cuando tratamos con sistemas que no han sido diseñados por seres humanos, como es el caso de los sistemas biológicos, ¿cómo explicar la teleología y la normatividad relativas a un *propósito* de las funciones sin apelar a una intención externa?

2.1.2.(3/i) Las teorías etiológicas

Las propuestas contemporáneas parten principalmente de los análisis en base al modelo nomológico-deductivo de Hempel [1959] y Nagel [1961]. En los años setenta, y con muy poca diferencia en el tiempo, se formularon dos tipos muy diferentes de caracterización del concepto de función. Por un lado, el artículo "Functions" de Larry Wright [1973] inaugura la *perspectiva etiológica*, que considera la función de una entidad en términos de causas eficientes (aquello que provoca o desencadena el que algo ocurra) como la razón por la que esa entidad existe en la actualidad. Es decir, las funciones de un rasgo son los efectos pasados de este rasgo que explican causalmente su presencia actual. En el ejemplo clásico, afirmar que la función del corazón es bombear sangre significa defender que el hecho de bombear sangre es lo que ha hecho que el corazón exista (su 'razón de ser'). Predominantemente, se apela a un proceso causal histórico-selectivo [Milikan 1989, Neander 1991, Kitcher 1993, Griffiths 1993, Godfrey-Smith 1994, etc] según el cual la existencia de los rasgos funcionales *actuales* son consecuencia de la presión ejercida por la selección natural sobre los efectos de estos rasgos en su pasado evolutivo. Estos rasgos habrían dotado de una ventaja selectiva a su portador, permitiendo a sus herederos sobrevivir hasta hoy. Lo que hace a un rasgo funcional no es el hecho de que contribuya de ninguna manera a la capacidad del sistema al que pertenece actualmente sino el hecho de que tenga una historia

selectiva determinada.

El enfoque etiológico-evolutivo enfrenta positivamente muchos de los conflictos atribuidos a las funciones, como por ejemplo la exclusión de atribuciones funcionales a otro tipo de sistemas físicos, la identificación de una función biológica entre procesos 'accidentales', o el enmarque dentro de una teoría científica bien establecida, como es la Teoría de la Evolución darwinista. Sin embargo, a pesar de estas notables virtudes, también presenta ciertas debilidades. Por ejemplo, en el caso de las exaptaciones, término adoptado por Gould y Vrba para dar cuenta de rasgos que pudieron ser seleccionados por alguna característica en un momento histórico y que han vuelto a ser seleccionados por otra característica en un momento posterior. Este es el ejemplo de las plumas; el *Archaeoptorix*, un ancestro de las aves, ya estaba cubierto de plumas aunque, en su caso, no tenían ninguna función relacionada con el vuelo sino que se cree que servían de aislante térmico. Fue únicamente más tarde cuando las plumas de las aves adoptaron su función aerodinámica actual [Gould & Vrba 1982]. Las plumas son un ejemplo en el que dos funciones han sido seleccionadas para un mismo rasgo y, actualmente, no seríamos capaces de discernirlas (problema de cuál es el origen primero de una función biológica actual, o del origen de la diversidad funcional).

Existe otro tipo de teoría etiológica de la función menos restrictiva que es la teoría de la "etiología débil" defendida por Buller [1998] y Kitcher [1993] según la cual, la función de un rasgo no está definida por la contribución a un proceso por el cual este rasgo se ha mantenido evolutivamente, sino por la forma en la que el rasgo funcional ha contribuido a la preservación evolutiva de su portador (y sus descendientes) a través de un proceso de selección natural. Es decir, lo importante para determinar ese rasgo como funcional no es que ese rasgo haya contribuido mediante un efecto determinado a su propia selección sino a la selección del sistema al que pertenece, independientemente de que haya habido otras posibles variantes biológicas que hayan contribuido a la selección del sistema con ese rasgo. No importa si ha habido o no selección de este rasgo concreto frente a otras variaciones de rasgos "rivales", sino que basta con que haya contribuido a la capacidad de reproducción y supervivencia de su portador ancestral mediante alguno de sus efectos.

La mayor crítica hacia los posicionamientos etiológicos-evolutivos es su carácter epifenoménico, representado por la metáfora del "mundo doble" [Bigelow & Pargetter 1987, Bickhard 2004] según la cual, si existiera un mundo idéntico al nuestro pero que hubiese aparecido repentinamente (sin ninguna historia evolutiva) a pesar de encontrar los mismos rasgos que en nuestro mundo conocido, no podríamos atribuir funciones a éstos, ya que ninguna historia estaría detrás de su existencia. Sabemos que esta es una situación hipotética y únicamente teórica, pero no

lo es tanto en el caso del origen de la vida, o cuando investigamos el origen o la emergencia de las funciones (previo a lo cual no existía ninguna historia evolutiva de las mismas). Además, para que la selección natural se ponga en marcha y seleccione algún rasgo funcional, debe haber previamente *algo* que seleccionar. Por lo tanto, es posible defender que la existencia de funciones es condición necesaria para la selección natural y no a la inversa [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009].

Por último, el concepto de función y las explicaciones funcionales de las teorías etiológicas no están basadas en características reales y actuales de los sistemas concretos a los que se les atribuyen las funciones. La atribución de una función no ofrece ninguna información adicional acerca del 'fenómeno' que está siendo analizado (es decir, el rasgo en el sistema actual); lo que determina la atribución de función son los efectos pasados que tuvo la presencia de ese rasgo en ancestros del sistema en cuestión.

2.1.2 (3/ii) Las teorías disposicionales

Esta perspectiva aparece como una crítica y una alternativa a las perspectivas etiológicas, alegando que pueden adscribirse comportamientos o rasgos funcionales independientemente de (o, al menos, antes de) la actuación de la selección natural [Cummins 1975, 2002, Davies 1994, 2001, Boorse 2002]. En “Functional Analysis”, Robert Cummins [1975] propone un enfoque completamente diferente y funda la *perspectiva disposicional*, también llamada 'sistémica' o de 'rol causal'. Desde esta perspectiva, la función se corresponde al papel causal de un rasgo con respecto a una capacidad global del sistema actual al cual pertenece. Entonces, la función del corazón es bombear sangre porque el papel del corazón, dentro de la capacidad de irrigar sangre en el sistema circulatorio, es el de bombearla.

En la perspectiva disposicional, las relaciones funcionales son una clase particular de efectos causales o disposiciones de un rasgo, dirigidos a fines que contribuyen a una capacidad distintiva del sistema actual al cual pertenecen [Davies 2001, Craver 2001, Boorse 2002, Bigelow & Pargetter 1987, etc]. La normatividad biológica o el propósito al que contribuyen dentro de esa capacidad global del sistema ha abierto todo un debate filosófico en el que se defienden muy diversas posturas (incluyendo la no necesidad de dar cuenta de tal normatividad). Además, las explicaciones disposicionales de las funciones no sirven para explicar la existencia de ese rasgo (no sirven para explicar de dónde viene). Éstas, únicamente, explican el 'para qué' de esa función biológica (“forward-looking”) y no el 'por qué' (“backward-looking”).

La característica principal de estas perspectivas disposicionales es la contribución actual del

rasgo a alguna capacidad global del sistema al que pertenecen. Cummins define este enfoque como 'enfoque sistémico'. El tipo de contribución que debe darse, es decir, el componente normativo, queda especificado adscribiendo funciones a cualquier tipo de contribución a una capacidad de más alto nivel en el sistema. La crítica reside, precisamente, en que esto sólo puede ser aplicado a sistemas jerárquicamente organizados [Davies 1994] y en que, al no establecer un criterio normativo claro para identificar el tipo de contribución, falla a la hora de distinguir contribuciones funcionales de efectos disfuncionales o accidentales [Milikan 1989, Neander 1991].

Las funciones no sólo hacen referencia a capacidades de un nivel más alto sino a capacidades que el sistema, en general, “debe” llevar a cabo porque son importantes para el mismo. Son importantes para algo, tienen una finalidad. Esta es la idea que llevó a desarrollar las teorías de *goal-directedness* (o direccionalidad hacia un fin). De acuerdo con estas teorías, las funciones se adscriben no sólo a partes que componen los sistemas biológicos sino también a artefactos y sistemas sociales, ya que su comportamiento parece estar regulado y orientado hacia alguna finalidad. Esta finalidad es una finalidad de *todo* el sistema, en el sentido cibernético y en palabras de Boorse [2002]:

“Un sistema S está “dirigido hacia un fin”, un resultado G cuando, a través de una serie de cambios en el ambiente, el sistema muestra disposiciones que permitan mantener G como resultado. Este sistema muestra 'plasticidad' y 'persistencia' para adquirir el resultado G: cuando una de las vías se bloquea, otra está disponible para ser utilizada. Los sistemas (biológicos) pueden ser descritos como sistemas dirigidos a preservar ciertos estados (presumiblemente supervivencia y reproducción) y, las funciones biológicas, serían disposiciones para lograr estos estados. Sin embargo, la caracterización cibernética de un sistema “dirigido hacia un fin” introduce una normatividad directamente relacionada con 'regulación para adquirir un estado' que, en principio, podría no ser exclusiva de aquellas capacidades que identificamos como función. Así, dentro de esta definición cabría incorporar los sistemas físicos en equilibrio (que tienden hacia un estado constante de equilibrio) o cualquier tipo de regulación “errónea” (que normalmente consideraríamos como disfuncional).”

Existe una tercera perspectiva disposicional que propone identificar directamente las funciones con las contribuciones causales de los componentes a la capacidad de supervivencia y reproducción (*fitness*) del sistema [Tinbergen 1963, Canfield 1965, Bigelow & Pargetter 1987, Horan 1989]. Según este *enfoque propensitivist* “algo tiene una función (biológica) sólo cuando confiere a la criatura que lo posee una propensión a mejorar su capacidad de supervivencia” [Bigelow & Pargetter 1987]. La supervivencia es entonces la *meta* (normatividad)

del sistema que fundamenta el análisis funcional. La propuesta propensivista falla en dar una definición adecuada de qué es una relación funcional: todas las funciones biológicas son, de hecho, contribuciones a la supervivencia del sistema al que pertenecen, pero no todas las contribuciones a la capacidad de supervivencia son funciones. Por ejemplo, un rasgo en un ambiente determinado puede ser una contribución a la capacidad de supervivencia (y, por tanto, funcional) mientras que el mismo rasgo en otro ambiente, no. Además, teniendo en cuenta que la contribución específica de un rasgo puede cambiar según un gran número de condiciones particulares, cada rasgo funcional poseería, de hecho, una lista indefinida de posibles funciones.

2.1.2 (3/iii) *La perspectiva organizacional*

Para dar cuenta de esta problemática, ha tratado de definirse función en relación a una circularidad causal, de manera que la meta normativa del sistema quede definida por el propio funcionamiento del sistema (organización automantenida). En este marco, las funciones son interpretadas como efectos causales específicos de una parte o rasgo que contribuye al mantenimiento de esta organización y, por lo tanto, recíprocamente, al suyo propio.

Dentro de la perspectiva organizacional existen también dos corrientes. La primera es la propuesta principalmente por Schlosser [1998] y McLaughlin [2001] en la cual la función es definida como estado o proceso causalmente necesario para la reproducción del rasgo que lo causa. El énfasis está puesto en la auto-reproducción de un rasgo más que en la totalidad del sistema, aunque el sistema deba tener unas condiciones adecuadas para que pueda darse esta auto-reproducción. La segunda corriente es la de las teorías propuestas por Edin [2008], Collier [2000] y Christensen & Bickhard [2002] y que interpreta las funciones como formas específicas de contribución al mantenimiento de la organización del sistema y, como consecuencia de esa organización, a la auto-reproducción de sus diferentes partes y rasgos. Este enfoque organizacional supone una unificación de las perspectivas etiológica y disposicional: una función es, en último término, una *disposición* a la autoreproducción de un rasgo funcional o al auto-mantenimiento de una organización biológica encargada de producir ese rasgo a través de una concatenación de procesos causales.

En 2009, Matteo Mossio y Cristian Saborido [Mossio et al. 2009, Saborido et al. 2010; 2011] proponen una nueva teoría organizacional basada en la teoría de la autonomía básica de los seres vivos [Ruiz-Mirazo & Moreno, 2004, 2012; Moreno et al. 2008; Moreno & Mossio 2015] y en los sistemas químicos automantenidos: sistemas con una organización alejada del equilibrio que

consiste en un cierre de constricciones generadas y mantenidas recursivamente por la propia red. Estas constricciones canalizan los procesos dinámicos (los flujos de materia y energía) contribuyendo a la fabricación / renovación de otras constricciones y, finalmente, al auto-mantenimiento global del sistema. En estos sistemas se da una inter-dependencia entre constricciones en forma de cierre causal, cada una de las cuales ejerce una contribución *específica y distinta* al mantenimiento de las condiciones que permiten la existencia del conjunto. Por tanto, una atribución funcional requiere un cierre organizativo que justifique las dimensiones teleológica y normativa por una parte y, por la otra, una diferenciación de partes en el conjunto del sistema. La dimensión teleológica queda satisfecha por el cierre organizacional que explica la existencia de un proceso por referencia a sus efectos: “¿Por qué existe X en este sistema? Porque X hace Y y, de lo contrario, su organización se desintegraría y, con ello, el propio X”. La dimensión normativa también queda satisfecha ya que, el conjunto del sistema (y sus procesos constitutivos) 'deben' comportarse de un modo específico, pues si no hiciese eso cesaría de existir. La actividad del sistema se convierte en su propia norma para existir.

La auto-organización es una condición necesaria pero no suficiente para dotar de funciones a un sistema. Pensemos, por ejemplo, en las estructuras disipativas (como el ejemplo de la llama o de las celdas de convección de Bénard): estructuras automantenidas mínimas pero a cuyos componentes no podemos atribuir funciones. A pesar de ser éstas estructuras dinámicas con un alto grado de complejidad material que consigue mantenerse alejado del equilibrio, sus componentes trabajan de manera homogénea generando un único patrón macroscópico. En los sistemas con funciones, en cambio, sí seremos capaces de distinguir contribuciones específicas que la organización constitutiva se procura para su auto-mantenimiento [Saborido et al. 2011]. A su vez, el cierre funcional por sí sólo tampoco será suficiente para generar este tipo de cierre organizacional auto-mantenido. Las funciones deben ser *auto-producidas*.

Según esta perspectiva *un rasgo T tiene una función si, y sólo si, está sometido a un cierre organizacional C en un sistema auto-mantenido S* y ocurre que se cumplen las siguientes tres condiciones [Mossio et al. 2009, Mossio & Moreno 2010; Saborido et al. 2010, 2011]:

1. *T contribuye al mantenimiento de la organización O de S;*
2. *T es producido y mantenido bajo algunas constricciones ejercidas por O;*
3. *S es organizacionalmente diferenciado.*

Esta concepción de función está basada en organizaciones que se automantienen en condiciones alejadas del equilibrio termodinámico mediante una red de estructuras materiales diferenciadas y que son capaces de ejercer constricciones de forma coordinada (cada estructura

tiene una contribución diferente), incluyendo el establecimiento de parte de sus condiciones de contorno. Esto implica que la red esté colectivamente automantenida, asegurándose la regeneración recursiva y el reemplazamiento material de los distintos componentes, lo cual sugiere un escenario químico bastante estricto y complicado para su posible instauración material en un laboratorio. Sin embargo, las propiedades emergentes y novedosas de la química compleja (la química de sistemas) podrían facilitar esta misión, una vez adquiridos los conocimientos y los mecanismos a través de los cuales encauzarlas hacia propósitos de corte biológico (ver capítulos 5, 6 y 7).

2.1.2 (4) El concepto de función en la Química

En química, el concepto de función ha sido menos trabajado y su definición es muy confusa. Generalmente, en la química clásica, el uso del término función únicamente ha sido utilizado para denominar a los 'grupos funcionales'. Esta denominación, sin embargo, dista mucho de la clase de definición de la que estamos hablando aquí y tiene, además, un uso muy estrecho ligado a la química orgánica. En general, se le llama grupo funcional al “conjunto de átomos, enlazados de una determinada forma y que presentan una estructura y propiedades físico-químicas determinadas que caracterizan los compuestos orgánicos que los contienen” [traducción del inglés de la entrada “Functional group” de Wikipedia]. Podría hacerse un intento de relacionarlos con la identidad de una molécula, por aquello de que determinan y caracterizan los compuestos orgánicos que los contienen; de hecho, ya ha habido algunas sugerencias al respecto [Sukumar 2013]. Sin embargo, esto no disolvería la enorme problemática que, como ya se ha discutido antes, supone la adscripción de identidad a una molécula de algún tipo.

Una definición diferente de función y más próxima a aquella empleada en los sistemas biológicos emerge en las mezclas químicas algo más complejas, conteniendo un mayor número de moléculas. La auto-organización es un proceso dinámico en el cual, bajo un flujo continuo de materia y energía, un gran número de componentes espontáneamente genera una correlación global e irreducible entre las escalas micro y macroscópicas que los mantiene unidos [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013]. La auto-organización física, como es el caso de las “estructuras disipativas” [Nicolis & Prigogine 1977, Prigogine & Stengers 1989] es la interpretación más estricta de esta descripción: las ya comentadas celdas de Bénard representan el efecto de la convección de millones de moléculas que, bajo el efecto de una fuente de calor generan un único patrón macroscópico alejado del equilibrio. En las mezclas químicas la generación de patrones puede ser algo más intrincada, dada la presencia añadida de *transformaciones* de algunos de los componentes del conjunto. Este es

el ejemplo de los osciladores químicos, como el de la famosa reacción de Belousov-Zhabotinsky (B-Z), donde un inmenso número de moléculas interacciona en una complicada reacción de 18 etapas y en la que intervienen más de 20 intermediarios dando lugar a un patrón macroscópico oscilatorio de oxidación-reducción. La correlación de larga escala que se da en los fenómenos de auto-organización química se debe a la ocurrencia de procesos de reacción y difusión [Turing 1952] a diferentes velocidades que generan periodicidades espacio-temporales de órdenes muy diferentes entre la escala micro- (las reacciones entre las moléculas) y la macroscópica (el patrón oscilatorio). Los patrones oscilatorios y fenómenos de auto-organización no sólo ocurren en la química sino que también están extendidos por toda la biología [Karsenti 2008] y, dada su ubicuidad, probablemente fueron esenciales durante el proceso de origen de vida. Recientemente se ha publicado la generación de una reacción oscilatoria a partir de una química de tioles, moléculas involucradas en la síntesis de péptidos y en otras reacciones del metabolismo celular [Semenov et al. 2016] mucho más relevante que la B-Z para el campo del origen de la vida. La actuación de una reacción autocatalítica, controlada por un subconjunto activador y otro inhibidor de la reacción con diferentes velocidades de difusión tiene como resultado una reacción oscilatoria, auto-mantenida dentro de un rango de condiciones (controlado aquí por el investigador externo mediante la manipulación del reactor en el cual se da lugar la reacción).

En relación a la descripción de función biológica desde la perspectiva organizacional que dábamos en la sección anterior, en la cual una función es una aportación diferenciable al mantenimiento del sistema y perteneciente a la organización del mismo, los sistemas químicos auto-organizados resultan especialmente interesantes. En una auto-organización química podemos ser capaces de diferenciar, de entre todas las reacciones químicas, distintas aportaciones al mantenimiento conjunto como es el caso de la activación y la inhibición en el último ejemplo de la química de tioles. Esto no ocurre en la auto-organización meramente física (estructuras disipativas) en las cuales todos los componentes microscópicos actúan de forma homogénea para el mantenimiento del patrón y no podemos diferenciar ninguna “parte” o diferente aportación al sistema.

La comunidad de investigadores trabajando el origen de la vida es, quizá, la única (en minoría) trabajando el concepto de función en los sistemas químicos. En su exploración de un puente entre la química y la biología, la búsqueda de fenómenos de tipo biológico en sistemas químicos complejos puede dar pie a enunciados básicos del concepto de función (ver capítulos 4 y 5).

2.1.3. La química prebiótica: un contexto apropiado para la naturalización de conceptos de relevancia biológica

Los seres vivos son el resultado de un camino largo de complejización material y organizativa a lo largo del cual no es sencillo de determinar el momento en el que emergen la función y la individualidad en un sentido propiamente biológico. La problemática sobre el estudio de la individualidad y de la función podría empezar, como se ha visto, desde la física (cristales), pasando por la química molecular (sustancias, stuff), la química más compleja (estructuras disipativas químicas), la biología (seres vivos) y extenderse hasta la sociología (poblaciones, culturas y lenguajes). ¿Dónde, entonces, encontramos un contexto apropiado para estudiar su emergencia natural?

Los organismos vivos son el ejemplo paradigmático de sistema en el que aparecen ambas nociones con gran claridad y que, además, parecen explicarse recíprocamente. El ser vivo es un sistema automantenido por la autoproducción continuada de constricciones funcionales (componentes macromoleculares como proteínas, ácidos nucleicos y estructuras supramoleculares como la membrana) que trabajan para el sostenimiento del sistema completo (incluida su barrera física y las condiciones de frontera que lo diferencian del ambiente, lo individualúan) repercutiendo, a su vez, en el propio mantenimiento de estas funciones en una actividad sin fin (mientras el sistema se mantenga vivo). Los sistemas biológicos actuales son sistemas automantenidos muy desarrollados y con un nivel de complejidad altísimo, donde estos comportamientos funcionales y de individualidad se dan de una manera optimizada. Al tratarse, en el fondo, de sistemas físico-químicos, la pregunta que me planteo en esta tesis es cuándo y/o cómo pudieron originarse este tipo de comportamientos a partir de una organización más básica de la materia.

Los modelos de simplificación para el estudio de la emergencia de un orden biológico mínimo se tratan en más detalle en el capítulo 4. El descubrimiento de la química alejada del equilibrio (las estructuras disipativas, el hiperciclo o las quasi-especies) y, en concreto, de la química de sistemas (sistemas dinámicos combinatorios (DCC), librerías y mezclas complejas) abre un interesante panorama donde explorar comportamientos emergentes y complejos (ver capítulos 5 y 6). Los sistemas químicos automantenidos que puedan mostrar cierres organizacionales (con o sin funciones), autoproducción y autocatálisis, autoensamblaje supramolecular, etc, constituyen comportamientos que, de hecho, se dan en la naturaleza y se corresponden en muchas de sus características a las nociones de individualidad y función estudiadas teóricamente; por tanto, pueden ayudarnos a naturalizar éstas explorando los fundamentos físico-químicos de las mismas. Este

campo no se encuentra suficientemente investigado empíricamente aún y todavía menos reflexionado filosóficamente, pero sugiere un excelente programa para el estudio de la emergencia de fenómenos como la función o la individualidad (capítulo 5 y 6). Buscar la continuidad de los principios naturales y organizativos que hacen posible la aparición y el desarrollo de los seres vivos, el paso entre la química y la biología (el origen de la vida o cómo la química se organiza para dar lugar a organismos vivos) es el gran eslabón perdido para la comprensión del dominio biológico.

2.2. Metodología

2.2.1. La aproximación genealógica como estrategia para abordar la complejidad biológica

El trabajo aquí presentado se sitúa a caballo entre lo químico y lo biológico y pertenece a un programa de investigación que apuesta por la simplificación de la organización biológica con el convencimiento de que, al llegar al esqueleto de esta estructura, pueden explicarse las claves de tal organización. Hoy en día, incluso el organismo unicelular más sencillo está formado por una compleja red de reacciones y comprende una inmensa diversidad de componentes químicos en interacción. Además, esta organización ha sido sometida, como mínimo, a tres mil quinientos millones de años de proceso evolutivo, desde el momento en el que la vida se originó. Un organismo tan simple como una especie de *Mycoplasma* “oculta”, tras lo evolucionado de sus componentes y de su integración como sistema, el esquema organizativo básico y fundamental para el mantenimiento de su autonomía. La relativamente reciente ciencia de la Biología de Sistemas, aprovechando la acumulación de datos obtenida de la explosión de la Biología Molecular y el desarrollo de la teoría de redes y la bioinformática, ha hecho grandes esfuerzos por desarrollar una teoría celular más completa, que permitiera enlazar todos los mecanismos y procesos que ocurren simultáneamente en las células. Sin embargo, aunque la intención es buena, la Biología de Sistemas se enfrenta a multitud de problemas. Sumado a la dificultad obvia de tratar con una cantidad ingente de datos conectados (como la que supone el metabolismo celular), el panorama obtenido no deja de ser una mera “colección” de moléculas y reacciones cuyas propiedades fueron investigadas individualmente de un modo simplificado y necesariamente reduccionista. Las conexiones e interrelaciones entre los componentes biológicos analizados dejan abiertos, por investigar, multitud de procesos e interacciones que están ocurriendo en el sistema (al igual que si entráramos en un taller de coches y viéramos todas las piezas expuestas sobre la pared, esto no nos ayudaría, a la

mayoría de nosotros, a entender cómo funcionan los coches). El capítulo 3 está dedicado a la Biología de Sistemas; en él ahondo en su historia, sus técnicas, sus avances y sus limitaciones.

El enfoque genealógico, presentado en el capítulo 4, pretende, precisamente, solventar algunas de las dificultades a las que se enfrenta la Biología de Sistemas. La intención de este enfoque es la de simplificar el escenario metabólico actual “yendo hacia atrás” (hacia el origen), reduciendo la complejidad para tratar de buscar las claves originales del esquema organizativo de las células. El primer modo de hacer esto consiste en desenredar la complejidad, buscando en modelos de reacciones y componentes más simples que los que encontramos en los organismos actuales; el segundo, se basa en tratar de sintetizar, desde cero, dicha organización, para entender cómo ésta se forma (citando la famosa frase de Richard Feynman “*what I cannot create [build], I do not understand*”). El enfoque genealógico ofrece la oportunidad de trabajar, a la vez, ambas estrategias: 1) implementar y operar con sistemas químicos prebióticos, con precursores sencillos de las moléculas actuales y 2) estudiar cómo estas moléculas se auto-organizan de manera espontánea en una simulación y búsqueda de la capacidad de “auto-producción” de la vida (dejar que la organización se haga a si misma) [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013].

2.2.1 (1) La complejidad biológica puede ser digerida. La necesidad de trabajar con precursores

La primera estrategia es la búsqueda, para su estudio, de modelos más simples a partir del tipo de organización biológica que conocemos en la actualidad. Esta simplificación puede tener en cuenta los componentes y/o su organización y puede hacerse de varias formas.

Una opción para tratar de encontrar formas más simples de vida es utilizar el método *top-down* (de arriba hacia abajo) que consiste típicamente en la generación de una célula mínima mediante la supresión de genes a partir de una célula moderna. De esta forma, se pueden ir eliminando genes que no codifiquen funciones vitales hasta encontrar la combinación mínima necesaria para la vida del sistema [Gibson et al. 2010, Hutchison et al. 2016]. Este método nos ayudará a comprender la organización básica de lo vivo: metabolismos celulares genéticamente instruidos (DNA-RNA-proteínas) pero en su expresión más básica o elemental. La supresión de genes a partir de una célula moderna puede darnos importante información acerca de cuál es el genoma mínimo o qué funciones celulares son indispensables para el sistema. Cabe destacar que estos sistemas “mínimos” provienen, en cualquier caso, de formas de vida muy evolucionadas. La Selección Natural es un mecanismo eliminatorio que hace desaparecer cualquier posibilidad que

existiera en el pasado si ésta no se ajusta a nuevas condiciones ambientales. Este método, consistente en una intervención sobre las formas de vida modernas, las cuales han sufrido un larguísimo proceso de continuas modificaciones sobre su diseño y la arquitectura de sus componentes (evolución molecular), puede ocultar o dejar atrás otras posibilidades viables de organización biológica. El genoma de cualquier célula moderna estará ampliamente modificado por la Selección Natural, siendo únicamente comprensible para el momento en el que existe. Así pues, el funcionamiento básico que pueda descubrirse mediante la eliminación de genes del método *top-down* servirá sólo para describir cómo sería una célula mínima de hoy en día y en un entorno determinado.

Si nuestro deseo es el de generalizar, universalizar (en el tiempo y en el espacio) la definición de célula mínima o de organización biológica básica, la otra opción será la de, de hecho, re-construir sistemas a partir de unidades sencillas para entender observando cómo éstas se ensamblan. Este método es llamado *bottom-up* (de abajo hacia arriba) y consiste en la investigación de la auto-organización de entidades de tipo biológico fabricadas a partir del auto-ensamblaje de componentes moleculares sencillos (y no siempre necesariamente prebióticos). La principal novedad de este enfoque es que muestra la biología como una capacidad emergente en un continuo evolutivo de un sistema químico, ofreciendo un escenario más realista para estudiar el *origen* de los procesos necesarios y las formas básicas de este tipo de organización. Además, al centrarse en dinámicas de auto-ensamblaje y auto-organización, aborda directamente una de las propiedades esenciales para lo vivo, como se ha comentado previamente: la auto-producción. Las ventajas de este método *bottom-up* son las de deshacerse de la complejidad material biológica para enfrentarse al origen de la complejidad organizativa y plantear la constitución de un puente sólido, hacia la biología desde la química. Este método ha podido demostrar que la generación de complejidad dinámica puede empezar a darse desde unas cotas de complejidad molecular relativamente bajas, mostrándose como una manera muy interesante de estudiar las expresiones básicas de propiedades como las funciones biológicas o la individualidad.

2.2.1 (2) Construir para entender. El reto de generar y estudiar grados progresivos de complejidad

A pesar de trabajar con componentes más sencillos que los biológicos, una de las hipótesis fundamentales que se tratará de justificar en este trabajo es que únicamente un sistema heterogéneo con una composición mínimamente diversa permite la emergencia de formas de complejidad

biológica en las que diferentes componentes y procesos actúan de manera sinérgica en un mismo sistema. Por tanto, será necesario cierto grado de complejidad en cuanto a la *mezcla* de componentes para la obtención de una organización biológica o proto-biológica mínima. A partir de tal organización mínima y a través de la elaboración de mezclas más o menos heterogéneas (en cuanto a componentes, interacciones y procesos) seremos capaces de generar diferentes niveles de complejidad organizativa y de identificar el tipo de dinámicas asociadas a cada uno de ellos. Por ejemplo, las mezclas podrán tener desde dinámicas más o menos cercanas al equilibrio, representadas por patrones de auto-ensamblaje y de reconocimiento molecular, hasta dinámicas más complejas y alejadas del equilibrio, con la orquestación de procesos de auto-catálisis, auto-organización y auto-producción. El enfoque genealógico nos permite hacer precisamente esto: estudiar el proceso de origen de vida por etapas de progresiva complejidad, en un intento de entender la vida a través de las transiciones que nos llevaron hasta ella.

La propuesta del trabajo con protocélulas consiste en tratar de hacer una re-construcción (teórica y experimental) de estas transiciones, desde el auto-ensamblaje de un compartimento y su sucesiva integración con los procesos químicos encapsulados. Una protocélula, según la definición de Ruiz-Mirazo en *Encyclopedia of Astrobiology* [2011] es “cualquier modelo experimental o teórico que incluya un compartimento auto-ensamblado (típicamente una estructura supramolecular) *ligado* a un proceso químico que tiene lugar alrededor o dentro de él, dirigido a explorar *cómo aparecen* las (más complejas) células biológicas u otras formas de organización celular”. La biología sintética, entendida en un sentido de síntesis o *fabricación* de lo biológico a partir de componentes (naturales o sintéticos) químicos más sencillos, tiene un papel central en el marco de investigación de fabricación de protocélulas y eso precisamente nos permitirá hacer propuestas concretas dentro de este enfoque genealógico, implementando mezclas químicas más o menos diversas y la consecuente fabricación de sistemas protocelulares más o menos complejos. Lo destacable de este nuevo enfoque es la vía alternativa que éste abre para la búsqueda del origen de los sistemas vivos. Tradicionalmente, los estudios sobre el origen de la vida han estado centrados en un tipo de molécula y basados en la evolución molecular de dicho tipo de molécula en un ambiente prebiótico. Ya esté puesto el foco en la capacidad auto-replicativa y hereditaria de cada tipo de molécula (RNA, DNA, péptidos), en el control catalítico de éstas (ver [Pross & Pascal 2017]) o en el control espacial sobre las mismas (como en el caso del “mundo lipídico”), el origen trata de ser explicado a partir de las propiedades microscópicas químicas y bioquímicas de tal o cual molécula elegida, encontrando severas dificultades en torno a la potencialidad catalítica, de generación de variabilidad o complejidad.

La vida, tal y como se ha propuesto recientemente en [de la Escosura et al. 2015], quizá necesitara desde muy temprano (y a pesar de la dificultad que esto supone en un principio) de un mínimo de integración entre algunos mecanismos de control, para poder establecer una base con suficiente flexibilidad y diversidad catalítica y adaptativa sobre la cual poder crecer en complejidad dentro de una evolución prebiótica. En un planteamiento de este tipo, la integración está íntimamente ligada a la auto-producción, como característica inherente e inseparable de los sistemas de tipo biológico (producción de componentes inmediatamente integrados a la organización del sistema por y para la producción de más componentes). Este tipo de aproximaciones sistémicas al origen de la vida tienen sus raíces en teorías clásicas como el Chemoton [Ganti 1974; 2003], la autopoiesis [Maturana y Varela 1980; 1995] o las redes autocatalíticas [Kauffman 1986]. Sin embargo, no han sido llevadas a la práctica hasta hace bien poco, en gran medida debido a su dificultad metodológica. La aparición, primero, de la biología de sistemas y, sobre todo (más tarde) de la química de sistemas, está permitiendo aplicar este tipo de estudios sistémicos en la investigación experimental de la emergencia de la hipercomplejidad biológica (explicando procesos tales como la reciprocidad entre la autoproducción de procesos microscópicos y la generación de patrones macroscópicos, a su vez, construyendo los primeros, de manera recursiva).

2.2.2. Una llamada a la transdisciplinariedad

Soy Licenciada en Biología e hice un máster en Biología Molecular y Biomedicina. Realicé algunos de los cursos del Máster de Filosofía, Ciencia y Valores para poder inscribir mi tesis en el programa de doctorado de susodicho departamento, pasando a formar parte también del grupo IAS-Research en San Sebastián. En los dos primeros años de tesis, cursé tales asignaturas mientras ponía a punto el sistema lipídico utilizado en mi modelo protocelular en los laboratorios del Instituto de Biofísica de Leioa. El desarrollo del modelo protocelular fue completado en el laboratorio de química orgánica del Departamento de Dinámica de Sistemas Biomoleculares Complejos (DSBC) en la Universidad de Montpellier. Por último, este manuscrito fue finalizado en el Instituto de estudios avanzados en biología teórica Konrad Lorenz Institute (KLI), cerca de Viena.

Con este breve resumen del recorrido de mi tesis querría llamar la atención sobre el importante desafío que supone realizar un trabajo transdisciplinar como éste, pasando a través de diferentes disciplinas, lugares, idiomas y lenguajes académicos. No obstante, a pesar del esfuerzo, la trayectoria merece la pena pues, precisamente, ofrece la oportunidad de observar con perspectiva todas estas disciplinas, lugares, idiomas y lenguajes. Académica y personalmente, la riqueza de

recursos y de habilidad para la solución de problemas que ofrece un trabajo académico transdisciplinar creo que es inigualable. Observar un problema desde diferentes perspectivas, ofrece un mayor número de ángulos por donde encararlo. Cuando el problema es tan complejo como la definición y el origen de vida, esta visión más completa, en perspectiva, diría que es imprescindible. De hecho, la realización de los objetivos planteados en este proyecto hubiera sido imposible sin alguna de las herramientas metodológicas y conceptuales obtenidas durante todo este camino.

Quiero subrayar aquí el hecho de que ésta es una investigación científica basada y fundamentada en una investigación filosófica previa con el objetivo de enriquecer, mediante datos experimentales, dicha investigación. En el libro de William Wimsatt resumido por Jim Griesemer en [Griesemer 2008] él habla del concepto *Philosophy for Science*. Wimsatt remarca la diferencia entre la manera tradicional de hacer filosofía de la ciencia, en la cual la ciencia es el objeto al que aplicar la metodología filosófica (filosofía *de* la ciencia), y una segunda manera de hacer filosofía *para* la ciencia en la cual la filosofía toma la ciencia a la vez como objeto de estudio y como modelo metodológico a seguir para su estudio. La filosofía *para* la ciencia se dedica a la reflexión crítica sobre la exploración, el modelaje, la descripción y el escrutinio de resultados encontrados en la naturaleza mediante prácticas y metodologías propias de la ciencia [Wimsatt 2007]. Nuestra investigación pretende ser un ejemplo de este tipo de filosofía *para* la ciencia, mediante la exploración experimental y el modelaje computacional fruto de la reflexión realizada desde la teoría en la cual están basadas. La filosofía, revisando y utilizando metodologías científicas, y la ciencia, haciendo lo mismo con las teorías filosóficas (a su vez basadas en la ciencia) se retroalimentan positiva y críticamente: éste es el tipo de reciprocidad (y consecuente transdisciplinariedad) que se considera útil alcanzar para enriquecer el desarrollo del conocimiento científico, al menos en determinados ámbitos. Para la investigación de algunas problemáticas, como es el caso de la definición y el origen de vida o la formulación de una teoría del organismo que aquí es pertinente, el tratamiento de la complejidad que éstas suponen hacen prácticamente imprescindible el uso de una metodología transdisciplinar. Sin embargo, consideramos que ésta puede ser trasladada a muchos otros campos de investigación científica que han perdido, en virtud de la altísima especificidad y pragmatismo por el que se dirigen la mayoría de los dominios de la ciencia actuales, la visión en perspectiva y el contacto con otros ámbitos de conocimiento. La filosofía puede ayudar a hacer de puente, de especie de 'omnivisión' que recoja problemas comunes, revise los avances de la ciencia y replantee, en continua comunicación y retroalimentación, nuevos planes de acción.

Capítulo 3

HACIA UNA TEORÍA DE LA ORGANIZACIÓN BIOLÓGICA: EL RETO DE LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS

3.1. La perspectiva evolutiva y sus limitaciones

En su huída del estereotipo de ciencia únicamente descriptiva, "coleccionadora de sellos", la biología ha tratado históricamente de encontrar teorías capaces de dotar de principios generales y de predecir resultados, tal y como lo hace gran parte de la física y la química. La publicación del trabajo de Darwin en 1859 brindó la oportunidad de mostrar este carácter de ley; la teoría evolutiva afecta a todos los seres vivos conocidos y es capaz de explicar su pasado y de predecir, en parte, su futuro. Tal fue el impacto de ese cambio de paradigma que su efecto aún continúa hoy en día.

La perspectiva evolutiva es, hasta hoy, el punto de vista más común para tratar de explicar todos los fenómenos de la biología. Para muestra, la mayoría de definiciones de vida identifican ésta con la capacidad de reproducción y de evolución. La “vida es aquello que evoluciona” [Chen & Nowak 2012] o, una de las más reconocidas internacionalmente, la definición que la NASA da a lo vivo como “un sistema químico capaz de llevar a cabo una evolución Darwiniana de manera auto-mantenida” (definición original de [Joyce 1994], ver también [Mullen 2013]).

La evolución mediante selección natural, principal fuerza evolutiva de la teoría de Darwin, se da mediante la sucesión de tres mecanismos en una población de unidades evolutivas. Primero, esas unidades han de tener *variación* fenotípica (tienen que diferir morfológicamente o en su comportamiento) lo cual, a su vez, dará lugar a diferentes grados de *fitness* (diferentes probabilidades de supervivencia y, por tanto, de *multiplicación*, de reproducción). El fitness de los progenitores será parcialmente *heredado* por sus descendientes [Lewontin 1970] y el ciclo se volverá a repetir. Esta tríada (*variación, multiplicación y herencia*) es aplicable a cualquier unidad considerada evolutiva; no únicamente a los organismos sino también podría aplicarse a genes, poblaciones, especies, moléculas prebióticas o ecosistemas [Lewontin 1970].

La explicación evolutiva-histórica de la vida da por sentado la organización y estabilidad físico-química de cada organismo individual sujeto a evolución, construyendo a partir de esa asunción. Sin embargo, poco es capaz de decir a la hora de explicar cuáles son los mecanismos que subyacen tales organizaciones individuales (en su expresión mínima, las células). El problema se vuelve aún más crítico cuando se trata de explicar la primera de tales organizaciones celulares, o lo que es lo mismo, el origen de la vida. La perspectiva evolutiva sobre el origen de la vida ha tratado de extrapolar el modelo evolutivo darwiniano, basado en la tríada variación, multiplicación y herencia que hemos visto más arriba, a escenarios prebióticos pre-celulares, tratando de explicar de la misma manera, y en un continuo, cómo una química de moléculas replicativas sometidas a una evolución darwiniana fueron capaces de evolucionar hasta su forma celular. En resumidas cuentas, la reproducción celular sería la versión orgánica de la replicación molecular prebiótica en una línea de continuidad entre el mundo abiótico y el biológico. La aparición de todo lo demás en el camino (desde la propia celularidad hasta las funciones biológicas, el metabolismo, la comunicación con el medio, etc) quedaría explicado por la mecánica evolutiva. Este tipo de escenario está ejemplificado por los modelos prebióticos de tipo “RNA-first”, de los cuales hablaremos en mayor profundidad en el siguiente capítulo (capítulo 4) y que tratan de explicar cómo las primeras moléculas auto-replicativas de ARN aparecieron y evolucionaron mediante selección natural, hasta dar lugar a la aparición de arquitecturas químicas del tipo ADN-ARN-proteína rodeadas de una membrana (células). Bajo esta concepción, una célula es principalmente considerada una entidad auto-reproductiva que evoluciona (tal y como describen las definiciones de vida actualmente más populares, mencionadas arriba). Consecuencia de ello, la característica más importante de los sistemas vivos es su información genética y la replicación y transmisión de esta información a sus descendientes [Maynard-Smith & Szathmáry 1995; ver también Shirt-Ediss 2016].

La comprensión genética de la teoría de la evolución, o lo que es lo mismo, el acomodamiento de las leyes de Mendel y el modelo de Darwin, dio lugar a la llamada Síntesis

Moderna (SM) en los años 1940. Esta fusión, apoyada posteriormente por los enormes avances genéticos tras el boom de la Biología Molecular y la aparición, más tarde, de la genómica (y el resto de las "ómicas" derivadas de ella) ligada a los avances técnicos de finales del siglo XX derivó en una versión reforzada del paradigma darwiniano que guía el trabajo de la mayoría de biólogos evolutivos de hoy en día con un enfoque gen-centrista y meramente internalista.

Por otro lado, existe una rama hasta ahora aislada de biólogos evolutivos con un enfoque algo más sistémico que están comenzando a hacer una lectura distinta de los datos disponibles y a replantearse el papel del funcionamiento de la organización individual del organismo y de los cambios que suceden en el mismo durante su desarrollo y su tiempo de vida en la comprensión de la teoría evolutiva. Una de las principales consecuencias de esta nueva perspectiva, denominada genéricamente 'Evo-Devo' es la profunda revisión de la importancia real de la selección natural como fuerza evolutiva principal y la reivindicación de una necesidad de actualización de la teoría para dar cabida a fenómenos como el desarrollo, la "evolucionabilidad" ('evolvability' en inglés) o la plasticidad biológica, así como un intento de re-integrar áreas de trabajo relacionadas, como la ecología o la epigenética (ver [Pigliucci & Müller 2010]). Esta nueva reformulación de la teoría evolutiva se denomina Síntesis Evolutiva Extendida (SEE).

Son varias las innovaciones formuladas por los impulsores de la SEE que modifican en cierta manera la SM y que llaman la atención sobre la falta de poder explicativo de la Selección Natural en determinadas casos. En general, en ellas se subraya la importancia de fenómenos biológicos adscritos a la organización funcional individual de la entidad (robustez, modularidad, plasticidad fenotípica, ...) incluyendo su relación con el entorno en forma de ecosistema (interacciones genotipo-entorno, fabricación de nichos, acomodación genética y fenotípica, herencia de modificaciones epigenéticas, etc) [Pigliucci 2007]. Algunos de los objetivos comunes de la SEE están relacionados con superar: (i) el gradualismo impuesto por la teoría darwinista y que no explica determinados saltos en los cambios fenotípicos encontrados en el registro fósil (que sí pueden ser explicados mediante discontinuidades producidas por el desarrollo o la herencia epigenética); (ii) el externalismo que deja a la evolución (si ésta es ligada sólo a la SN) a merced únicamente de los cambios en el ambiente, en contraste con la interpretación de los organismos como fuentes de variación y novedad por sí mismos (característica de los planteamientos "Evo-Devo"); y (iii) el gen-centrismo tan extendido durante la revolución de la Biología Molecular (de manera que los cambios en las frecuencias genéticas, aunque se consideren relevantes, quedan *acompañados* por otros posibles actores en el proceso evolutivo, como pueden ser la plasticidad adaptativa o la ecología).

Una de las innovaciones más desafiantes, al tiempo que prometedoras en términos productivos, ha sido la inclusión de la "Teoría de la Complejidad" en los procesos evolutivos. La idea de la complejidad viene inspirada por la observación de que algunos tipos de sistemas físicos (incluidos los biológicos), cuando son lo suficientemente extensos y heterogéneos (en número y diversidad de elementos, así como de tipos de interacción entre los mismos), muestran una tendencia espontánea a la *auto-organización* y al comportamiento complejo y emergente (ver capítulo 2). Estos fenómenos físicos traen consigo diversas implicaciones conceptuales sobre la teoría evolutiva, pues no únicamente traen a la palestra otras fuentes de variabilidad heredable (ligadas a la organización individual) sino que ponen en entredicho el proceso de Selección Natural *per se* como único principio general para explicar la forma y la función biológica, sugiriendo incluso la posibilidad de haberla precedido y de explicar su origen durante una evolución molecular química prebiótica [Hoelzer et al. 2006; Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. La relación entre la auto-organización y la selección natural podría haberse dado de diferentes maneras y en diferentes órdenes jerárquicos [Depew & Weber 1995]; no obstante, en un intento de naturalizar y fundamentar materialmente la SN, una de las tesis más convincentes es la afirmación de que "la SN dispone lo que la auto-organización propone" (propone, a su vez, en base a lo que la SN ha dispuesto en el pasado) [Batten et al. 2008]. Estas "propuestas" de la materia auto-organizada tuvieron quizá un efecto más crítico durante el proceso de origen de la vida, cuando la SN aún no era lo suficientemente fuerte (dada la escasa variabilidad fenotípica y la dificultad para la multiplicación y la herencia) [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. Los procesos auto-organizativos alejados del equilibrio (unidos a otros procesos de auto-ensamblaje más cercanos al equilibrio termodinámico) pudieron haber incentivado la aparición de una suficiente variabilidad fenotípica sobre la cual comenzaría a actuar la SN. Esta relación se encontraría recursivamente reforzada, dada la presión selectiva de la SN empujando a los mecanismos auto-organizativos a "proponer" cada vez más soluciones funcionales (en definitiva, una mayor complejidad funcional), de nuevo sometidas a SN [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. Más adelante en este mismo capítulo daremos una explicación más detallada sobre esta propuesta de emergencia de diversidad funcional a través de mecanismos organizacionales y su implicación con la teoría evolutiva (sección 3.4).

Veamos ahora cómo un enfoque más fisiológico de lo que ocurre en los organismos puede darnos una perspectiva más completa de lo que puede estar ocurriéndoles a los organismos embebidos en un proceso evolutivo y aportar nuevas claves para entender el propio proceso evolutivo. No obstante, el enfoque puramente fisiológico parece no estar llevándonos tampoco muy lejos, al menos por el camino seguido hasta ahora. Trataremos de explicar a continuación por qué.

3.2 La perspectiva fisiológica: más allá de la Biología Molecular

La revolución de la biología molecular y la genética, que tuvo lugar a partir de la década de los años 1950-1960 dio paso a una comprensión nueva de los organismos. Ya hemos visto más arriba cómo esta revolución ha influido en la perspectiva evolutiva, produciendo un giro desde una concepción correlativa-estadística procedente de la incursión de la genética de poblaciones (SM) hacia una concepción más mecanística-causal (representada por la Síntesis Extendida) capaz de *cuantificar y cualificar* los efectos de la SN sobre los organismos individuales y poder aplicar modelos experimentales para probar tales efectos [Pigliucci & Müller 2010]. No obstante, la transformación que ha supuesto el desarrollo de la biología molecular, llegando más recientemente a las ómicas ha tenido quizá un mayor impacto sobre la perspectiva fisiológica de los seres vivos.

La perspectiva fisiológica trata de entender la función y la forma de los componentes celulares como pertenecientes a un *todo* organizado (ya sea a nivel celular, tisular u orgánico). Esta corriente está en su origen influida por la tradición de la Teoría Celular clásica, que pretendía explicar la biología en base a sus constituyentes y principios organizacionales mínimos, articulados en torno a sus unidades básicas, las células. Dos de los principales precursores de esta teoría, Theodor Schwann y Jakob Schleiden asentaron los llamados principios de la Teoría Celular en su libro publicado en 1839: (i) todos los seres vivos están formados por células y (ii) la célula es la unidad básica de organización de la vida (la unidad fisiológica mínima). Con estas afirmaciones trataban de fundamentar los fenómenos biológicos y la *fisiología* de los organismos (cómo estos se comportan funcionalmente) en la comprensión global de estos componentes o unidades estructurales básicas. La inclusión más moderna de algunas otras observaciones, como la composición química, la bioenergética, el metabolismo común a todas las células, y los intercambios de materia y energía con el ambiente que ocurren a través de sus fronteras, permitieron especificar que la actividad funcional del organismo ocurre, de hecho, a nivel celular (o por encima de él).

Tras la explosión de la genética, la disponibilidad de la metodología y los avances brindados por la revolución de la biología molecular alzaron grandes expectativas sobre la posibilidad de conocer los mecanismos subyacentes a tal organización funcional y, como resultado, conocer el funcionamiento global de todo sistema biológico. Laboratorios de todo el mundo se pusieron manos a la obra en el reconocimiento y la reproducción *in vitro* de cientos de rutas bioquímicas, interacciones proteicas, señalizaciones biomoleculares, regulación genética, expresión de mecanismos celulares, etc, práctica que sigue siendo la más habitual en el global de las ciencias

biológicas. Esta práctica general se aplica a organismos concretos y paradigmáticos (*Mycoplasma*, *E.coli*, *Bacillus*,...) a partir de los cuales - tras un análisis detallado y un intento de integrar éste en un modelo holístico - se trata de extraer principios generales. El problema reside en que la extrapolación de estos principios generales a partir de sistemas concretos tan complejos no es una tarea nada trivial y esta dificultad, en la práctica, está llevando a la Biología Celular a acumular datos sobre rutas moleculares discretas y, en resumen, a una visión más detallada pero de nuevo *descriptiva* de la biología.

La enorme ventana abierta al reduccionismo que posibilitan las prácticas actuales de la bioquímica y la biología molecular poco o nada tiene que ver con el objetivo fundamental que subyace a disciplinas como la fisiología o la teoría celular y muestran, además, una serie de limitaciones relacionadas con sus descripciones teórico-conceptuales. De hecho, quizá conviene repasar para hacernos una idea de la magnitud del problema [Westerhoff & Kell 2007]. Según destacan estos autores, la representación de las reacciones enzimáticas entre componentes moleculares en bioquímica se realiza comúnmente mediante dibujos caricaturizados (bolas, flechas, cajas, ...) representando los enzimas, ligandos, cofactores y flujos de la reacción, entre otros actores. Esta representación, incapaz de reducir y fundamentar las reacciones en términos de ecuaciones físico-químicas es debida al desconocimiento de la estructura molecular exacta de muchos de los participantes. No únicamente desconocemos dicha estructura molecular, cualquiera que fuera, sino que además ésta se modifica continuamente y de forma no lineal, dada la interacción con el resto de componentes moleculares de la célula (los cuales somos incapaces, de nuevo, de conocer en su totalidad). Este tipo de problemas de irreducibilidad nos impiden elaborar hipótesis testables y vuelven intratables los sistemas celulares a un nivel bioquímico. La incapacidad de rastrear todos los factores que ocurren a la vez en una catálisis bioquímica (en el supuesto imaginario de que fuera posible tratar de rastrear individualmente *una*) nos obliga a dar respuestas cualitativas a éstas, en forma de "sí hay efecto o no hay efecto". El resto de detalles cuantitativos debidos al efecto aditivo de cada uno de los factores interviniendo en la reacción se perderán, obteniendo un resultado, por un lado, inexacto, y por el otro, incapaz de lidiar con los fenómenos emergentes característicos de un sistema complejo como un sistema biológico [Westerhoff & Kell 2007]. En definitiva se genera aquí una tremenda paradoja, pues visto así parece que la bioquímica y la biología molecular son incapaces de abordar, de hecho, los fenómenos biológicos.

La metodología consistente en diseccionar los sistemas celulares en los elementos que los componen y estudiar estos individualmente trae consigo muchísimos problemas pero, además, no es un buen modelo de lo que está ocurriendo en el sistema celular. La suma de los resultados del estudio de las reacciones individuales entre componentes para tratar de imitar su actuación conjunta

no tiene por qué parecerse al resultado de una interacción sistémica de todos estos componentes al mismo tiempo (dada la no linealidad de los efectos colectivos). Por tanto, a pesar de la innegable contribución del enfoque reduccionista derivado del análisis bioquímico *in vitro* parece evidente la necesidad de añadir algo más, algún otro tipo de aproximación que vaya "más allá de las moléculas" y sea capaz de captar el carácter sistémico celular. Propiedades colectivas como la auto-organización han sido tradicionalmente consideradas por disciplinas como la fisiología, la embriología o la ecología; no obstante, en biología molecular ha habido una tendencia a acallar cualquier inferencia proveniente de estas ciencias que abordan la complejidad [Callahan et al. 1997; Purdy et al. 2010]. Por el contrario, es necesario reivindicar una nueva disciplina que aproveche los detalles moleculares brindados por la biología molecular y la bioquímica, y que los integre en la complejidad subyacente a la biología. Este es precisamente el reto de una joven disciplina llamada Biología de Sistemas.

3.3. El reto actual: comprensión integrada y exhaustiva de células vivas

3.3.1. La Biología de Sistemas: historia y objetivos principales

La Biología de Sistemas (BS) nace en el cambio de siglo (y de milenio) bajo la influencia de diversas áreas de investigación que, según Kohs y Callebaut [2007] pueden ser vinculadas con alguna de estas dos raíces principales. La primera, la raíz composicional, se nutre de todo el progreso experimental y tecnológico de la genómica y la biología molecular (principalmente las ómicas y la bioinformática de finales de siglo). La segunda, la raíz sistémica es previa y proviene en gran medida de los modelos matemáticos relativos a la teoría del control (sistemas dinámicos) y del análisis formal del comportamiento funcional del metabolismo.

El objetivo principal de la BS está relacionado con encontrar principios generales en la biología; para ello, su intención es entender el funcionamiento interno de un organismo desde su unidad básica (la célula) y, en particular, en términos moleculares. Cabe señalar que este reduccionismo propuesto por la biología de sistemas (relativo a buscar respuestas en términos moleculares) es muy diferente al tipo de reduccionismo ligado a la bioquímica que se ha comentado antes (más analítico, cartesiano, relativo a diseccionar en partes) y, por tanto, no se enfrenta a los mismos problemas que éste. La imposibilidad de encontrar respuestas en las moléculas que

componen las células, siendo conscientes de que las células están compuestas únicamente por moléculas es, precisamente, la paradoja que la biología de sistemas está tratando de resolver.

La BS parte de la premisa de que existe "algo más" emergiendo del nivel molecular hacia el nivel celular (hacia los organismos) que explica las propiedades fenomenológicas de este último (y, por tanto, de la vida) y busca las respuestas en la relación entre la dinámica molecular (las moléculas como componentes estructurales fundamentales) y la dinámica celular (las células como entidades organizadas y organizadoras de las moléculas). En esta combinación de niveles descriptivos celular y molecular, la BS encuentra un terreno en el que consigue ser suficientemente cuantitativa para captar las propiedades emergentes de las interacciones no-lineales entre los componentes moleculares pero, a su vez, contextualizando el estado del sistema -la célula- en interacción con el entorno (biológico y/o físico-químico). A diferencia de lo que ocurre en los modelos *in vitro* puramente bioquímicos, esto permitirá añadir la complejidad necesaria para hacer el modelo mucho más realista. No obstante esta metodología no está exenta de complicaciones y de potenciales limitaciones.

3.3.2. Metodología y problemas conceptuales

La Biología de Sistemas encuentra una de sus raíces en la cibernética y el análisis de sistemas, que tratan de dar un sentido dinámico y sistémico al funcionamiento de los organismos. Los modelos cibernéticos aplicados a la biología buscan explicar la regulación de los sistemas biológicos a través de su análisis dinámico. La cibernética biológica hace todo esto de forma abstracta, los únicos datos experimentales que utilizan son los provenientes del análisis de organismos completos sometidos a determinadas condiciones. A partir de estos datos tratan de inferir qué está ocurriendo a nivel molecular mediante su simulación computacional, pero con muy pocas referencias a su posible realización física. Una manera de refinar el sistema cibernético es completarlo con el análisis matemático de determinadas rutas metabólicas, realizado mediante ecuaciones diferenciales de flujos metabólicos conocidos, basados principalmente en las cinéticas enzimáticas de Michaelis-Menten. Estos modelos matemáticos se centran en una ruta en particular, con pocos componentes y en estados estacionarios. No obstante, consiguen ofrecer datos más realistas sobre la cinética de las enzimas involucradas, que se pueden luego aplicar sobre los análisis más dinámicos de la cibernética.

La BS tiene otra manera de conseguir datos moleculares detallados y realistas. Ésta consiste en echar mano de los datos producidos por las llamadas "ÓMICAS": la genómica, la proteómica, la

transcriptómica y la metabolómica, principalmente. Las *ómicas* tienen su origen en los años 1990 cuando empezaron a aflorar los proyectos de secuenciación a larga escala de genomas completos. La acumulación de datos moleculares ha producido enormes catálogos con información estructural sobre secuencias de ácidos nucleicos, proteínas y metabolitos - no obstante, en su mayor parte, vacíos de interpretaciones teóricas sobre su dinámica e interacción dentro las células. La introducción de todos estos datos en los modelos cibernéticos consigue dar un cierto significado teórico a los cúmulos de datos, al tiempo que, recursivamente, rellenan el vacío de los modelos teóricos cibernéticos y matemáticos, realimentando la obtención de resultados cada vez más realistas.

En general existen dos maneras de abordar esta integración entre datos y teoría [Kohs & Callebaut 2007]. La llamada aproximación *bottom-up* consiste en comenzar con los modelos matemáticos de regulación metabólica compuestos por unos pocos componentes e ir añadiéndoles complejidad, tanto composicional (procedente de las *ómicas*) como dinámica (procedente de los modelos dinámicos). Así, han podido re-construirse redes dinámicas metabólicas como las pertenecientes al sistema regulatorio sensomotor de *E.coli* [Kitano 2002] o complejas rutas de señalización molecular [Kholodenko 2006]. Por otro lado, la aproximación *top-down* consiste en comenzar con un sistema completo, en el cual se intentan ajustar los datos de las *ómicas* obtenidos en diferentes estados celulares (para observar sus variaciones dinámicas). Generalmente, enfrentarse al total del sistema es imposible, dada su complejidad, por lo que gran parte del enfoque *top-down* consiste en la identificación y subdivisión en módulos funcionales y/o dinámicos. Este trabajo no está libre de dificultades y controversia pues la identificación de *funciones* en componentes y módulos moleculares no es siempre tan evidente y puede ser fácilmente malinterpretada, dada la complejidad de los fenómenos metabólicos. Las funciones (entendidas como contribuciones distinguibles al mantenimiento del sistema, ver capítulo 2) pueden no asociarse a un sólo componente o circunscribirse a un determinado compartimento o entorno espacial concreto y son comúnmente compartidas entre diferentes partes de la red total [Kohs & Callebaut 2007]. La descomposición en módulos funcionales [Hartwell et al 1999], por tanto, puede deshacer la imagen de la red metabólica entendida como un conjunto de rutas de transformación química controladas por enzimas. Por esta razón, en algunos casos se ha optado por realizar una descomposición basada en la estructura física de la red, utilizando un criterio de *descomponibilidad*, al estilo de Herbert Simon, de determinadas regiones en virtud de sus interacciones (es decir, un módulo “unido naturalmente” será cualquier región de la red con interacciones dinámicas más fuertes entre sí que con el resto de la red). No obstante, esta manera de trabajar conlleva igualmente diversos problemas. Por una parte, las interacciones dinámicas en las que se fundamenta el criterio de

descomponibilidad a menudo reflejarán los intereses particulares del investigador; puede ser posible otra forma de descomposición si observamos las interacciones dinámicas bajo otras premisas. Por otra parte, nos encontramos con el problema de la atribución de un “significado” (un punto de referencia comparable) a estos módulos estructurados bajo un criterio no-funcional y que será necesario para poder modelarlos (criterio universalmente atribuido en biología a la forma en relación a la función biológica). Visto de otra forma, la subdivisión en módulos basada en un criterio físico interactivo saca a relucir problemáticas mayores en torno a la comprensión de las funciones en biología. La primera tiene que ver con el papel intrínseco de las interacciones físicas propias de los componentes disponibles en el sistema, que podría ser quizá investigado a través de este segundo tipo de descomposición modular. La segunda tiene que ver con la propia definición de función como una contribución al *total* del sistema pues, a pesar de ser capaces de modelar los datos cada vez en más y más detalle, aún tenemos dificultades en definir qué es, de hecho, *la totalidad de ese sistema*. El problema de la individuación es uno de los temas centrales de esta tesis y se volverá a él en los capítulos consecutivos.

A continuación se revisa una aplicación concreta de la BS asociada al caso del metabolismo que ha servido como ejemplo para reconocer la complejidad de los seres vivos y su dificultad para entenderlos experimental y conceptualmente.

3.3.3. El caso del metabolismo: el Análisis del Control Metabólico

La explicación de los fundamentos del metabolismo como ejemplo idiosincrásico de fenómeno biológico también ha estado históricamente bajo la influencia del reduccionismo de la bioquímica. El descubrimiento de las reacciones limitantes (“rate-limiting state”), atribuidas a una o pocas enzimas concretas de una ruta metabólica particular y reguladas por algún metabolito de esta última (normalmente el producto final), parecía dar una explicación convincente al funcionamiento y regulación del metabolismo. No obstante, la falta de correlación directa entre el fenotipo y el genotipo en los resultados observados en muchos de los experimentos de knock-out genético empezó a requerir algún otro tipo de explicación. La Biología de Sistemas en su aplicación a los sistemas metabólicos está tratando de desmontar esta visión simplista del metabolismo y de ofrecer una alternativa más acorde al funcionamiento complejo celular global.

La herramienta principal encargada de esto se resume en el llamado Análisis del Control Metabólico (MCA, del inglés “Metabolic Control Analysis”). El MCA surgió entre los años 60 y 70 a partir del descubrimiento de las cinéticas no-lineales a las que respondían las enzimas en relación

con sus ligandos, productos y efectores. El funcionamiento no-lineal de las enzimas puede dar explicación a tal ausencia de correlación entre genotipo y fenotipo pero, al ser dependiente de un efecto colectivo, su mecanismo de actuación queda oculto bajo la descripción meramente cualitativa de “reacción limitante”. El remplazo de esta descripción cualitativa por una cuantitativa, basada en la medida de *coeficientes de sensibilidad* de las enzimas en respuesta a cambios en muy diferentes parámetros propuesto por Higgins en 1963 y extendido por otros autores (principalmente [Kacser & Burn 1973] y [Heinrich & Rapoport 1974]) dieron origen a esta nueva metodología de “medida del metabolismo” [Fell 2007]. El MCA se apoya fundamentalmente en dos ideas y metodologías distintas, una es el control del coeficiente de flujo (*ccf*), llevado a cabo por análisis algebraicos de sistemas metabólicos estáticos (en estados estacionarios) y la otra es la teoría de sistemas dinámicos bioquímicos, llevada a cabo mediante simulación computacional. Entre sus logros explicativos más destacados resalta el llamado *Teorema de la Suma de Flujos* que establece que cualquier enzima de una ruta metabólica particular actúa en interacción y colaboración con otros componentes de la ruta, de manera que la suma de sus contribuciones totales da siempre igual a 1. El control de una ruta metabólica, antes atribuido a la función limitante de una sola enzima, es ahora compartido por todas las enzimas de la ruta en particular. Este teorema sirvió para dar una explicación al papel de la famosa inhibición retroactiva (afectando a las reacciones limitantes) como una atenuación del *ccf* de la enzima que está siendo inhibida y una intensificación del *ccf* de los enzimas consumidores del metabolito inhibidor. En resumen, el MCA puede ayudar a ofrecer una comprensión más integral de algunas propiedades del metabolismo, como la mencionada inhibición retroactiva u otras (por ejemplo: la homeostasis, la regulación cruzada o la plasticidad de las interacciones regulatorias), más allá de la plasticidad de las reacciones enzimáticas por sí solas. Este funcionamiento cooperativo es especialmente importante en uno de los problemas que venimos mencionando, la atribución de funciones. La clásica estructuración jerárquica de las funciones de la bioquímica, más propia de la mecánica de los artefactos (ver [Jonas & Kording 2017]), en la cual cada componente particular tiene una determinada función que explicará después la función de los módulos de los cuales estos componentes formen parte, y así sucesivamente hasta explicar todos los niveles de organización, se tambalea ante los resultados del MCA sobre los sistemas vivos. Tanto la organización funcional individual de los organismos (con interacciones complejas entre niveles jerárquicos y propiedades emergentes de comportamientos colaborativos) como la historia evolutiva de estos (que desmonta en muchos casos una correlación directa, meramente adaptativa, de los mecanismos seleccionados) imponen una complejidad añadida, que no responde a su estudio desde un enfoque teleológico clásico (ver la definición organizacional de función en el capítulo 2).

3.4 Reconciliación de la perspectiva fisiológica y la perspectiva evolutiva

En la filosofía de la biología, la pregunta de si es posible entender la biología sin necesidad de dar una explicación evolutiva tiene diferentes respuestas, dependiendo en gran medida de la interpretación que se le quiera dar a la cuestión. En opinión de uno de los padres de la Síntesis Moderna, Theodosius Dobzhansky, esto no es posible, tal y como refleja su famosa cita - "nothing in biology makes sense except in the light of evolution [1973]. Por otro lado, la práctica cotidiana en la mayoría de laboratorios de biología parece demostrar lo contrario: en su día a día, pocos experimentalistas se preguntan sobre la teoría evolutiva. No obstante, como hemos visto a lo largo de este capítulo, ni una acepción estricta como la de Dobzhansky es acertada (como argumentan los impulsores de la Síntesis Extendida) ni una explicación puramente mecanicista sería coherente con el mundo biológico: la mayoría de sus fenómenos parecen necesitar ambos tipos de explicaciones de forma *integrada*.

Al principio del capítulo se discutía la necesidad de revisar la perspectiva actual de la teoría evolutiva de manera que el papel de la fisiología de los individuos acarree mayor importancia en los procesos que guían la evolución. Este es el principal objetivo de la llamada Síntesis Evolutiva Extendida (siglas del inglés EES). Por otro lado, también han sido mencionados los problemas que un enfoque puramente bioquímico o fisiológico, a pesar de ser tratado de forma cooperativa o sistémica (por ejemplo a través de principios auto-organizativos), encuentra a la hora de "descomponer" e interpretar la actividad funcional del metabolismo. En este contexto, la comprensión fisiológica de la célula es inseparable de su comprensión histórico-evolutiva y, más bien, existe entre ambas una relación causal recíproca [Laland 2011]. Por eso, parecen necesarios algunos principios adicionales para tratar de integrar ambas dimensiones en una misma teoría organizativa.

No cabe duda de que la biología se ha nutrido enormemente de la auto-organización, por ser éste un proceso físico cuya ocurrencia es ubicua y espontánea en la naturaleza. De hecho, existen pruebas de la importancia de los procesos auto-organizativos a lo largo y ancho de la biología: desde los patrones de consumo de ATP hasta el control del ritmo del ciclo celular, pasando por la regulación de ciertas funciones proteicas o la re-organización estructural del citoesqueleto durante la mitosis [Karsenti 2008]. No obstante, los seres vivos parecen utilizar tal recurso de una manera muy sofisticada y robusta *tomando el control* de las condiciones de contorno bajo las que tiene lugar ese tipo de fenómeno y siendo capaz de (auto-)mantener tal organización en el tiempo (al contrario

que los sistemas auto-organizativos puramente físicos, cuyas fronteras y patrones de organización dinámico están a merced de las condiciones externas).

En concreto, para conseguir un auto-mantenimiento más robusto, parece necesario el acoplamiento de procesos auto-organizativos alejados del equilibrio a otro tipo de procesos que den lugar a estructuras relativamente más cercanas al equilibrio, como puede ser el auto-ensamblaje [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. La consecuencia de tal acoplamiento es que se genera una actuación conjunta de estructuras que constriñen los flujos de materia y energía del entorno de manera global altamente inespecífica por un lado, y otras capaces de hacerlo de forma local y mucho más específica específica por el otro. Las estructuras específicas constriñendo a nivel microscópico darán lugar a patrones procesuales que funcionarán como constricciones a nivel macroscópico y que, recursivamente, afectan a las primeras (las estructuras constrictoras son, en última instancia "coordinadores de procesos") [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. Los autores de esta propuesta afirman que sólo así, en el origen de la vida, procesos bajo control termodinámico pudieron pasar a estar dirigidos cinética y espacialmente, de forma que pudieran auto-mantenerse. Como las estructuras para constreñir los flujos del entorno pueden ser de muchos tipos (hay muchas maneras de utilizar estos flujos), los sistemas vivos pudieron explorar diversas soluciones para hacerlo (condición necesaria para la emergencia de componentes funcionales, ver capítulos 5 y 6). De esta forma, las funciones quedarían naturalizadas en el fundamento de esta organización como las diferentes contribuciones (en forma de constricciones) al (auto)mantenimiento de la misma (como se trata de explicar más adelante en el capítulo 6). Llevada a un nivel químico, este enfoque ofrece una posible explicación de la integración de los fenómenos fisiológicos en el proceso evolutivo y engarza muy bien con un contexto como el mencionado antes en este capítulo, en cual la SN y la auto-organización coexistieron como actores selectivos: la variabilidad funcional *propuesta* por los sistemas (en gran parte dependiente de su propia organización) será seleccionada y *dispuesta* por la SN. Según se remarcaba en la sección 3.1., otra de las contribuciones a esta visión más integradora proviene de una parte de la disciplina de Evo-Devo, iniciada por Pere Alberch y que intenta comprender en qué manera el nivel morfogenético pudo haber intervenido en la evolución [Etxeberria & Nuño-de la Rosa 2009]. Estas nuevas concepciones parecen ofrecer una imagen algo más amplia y comprehensiva de la biología en la cual, el proceso evolutivo y la organización individual demuestran un reforzamiento mutuo y una co-evolución de su influencia sobre los fenómenos biológicos que, la teoría de la evolución más clásica o la bioquímica pura son incapaces de reflejar.

El muy reciente campo de investigación llamado Biología de Sistemas Evolutivos (BSE) trata precisamente de integrar los enfoques más mecanístico-individualistas del "cómo" con

aquellos más histórico-colectivos del "por qué". La separación que Mayr hizo en [1961] entre causas próximas (atribuidas a lo fisiológico) y causas últimas (atribuidas a lo evolutivo) trataría de ser superada mediante una concepción causal recíproca entre ambas [Laland et al. 2011, 2013]: las causas próximas respondiendo y moldeando a las causas últimas. Esto significa cambiar el modelo de causación biológica -clásicamente *dicotómico*, que separa los procesos sucediendo a escala espacio-temporal de la vida del organismo y los procesos sucediendo a escala espacio-temporal evolutiva- por uno *recíproco* que valore particularmente los procesos fisiológicos, ontogénicos y la herencia no-genética como causas evolutivas *per se* y, en resumen, que promueva un enfoque integrador de acuerdo al cual puedan estudiarse conexiones causales entre procesos interaccionando a lo largo de un amplio rango de escalas espacio-temporales [Laland et al. 2013]. Este cambio de perspectiva nos llevaría a dibujar un mapa genotípico-fenotípico más comprehensivo que permitiría, en principio, articular un marco teórico más completo para la biología. Sin embargo, las propuestas en este sentido todavía son escasas: se trata de un ámbito de trabajo en sus primeros pasos, todavía enormemente inexplorado, indefinido y, en la práctica, aún no muy desarrollado (ver [O'Malley 2012; O'Malley et al. 2015] para una reflexión más profunda).

La ruptura del esquema dicotómico de causas próximas (fisiológico/individuales) y causas últimas (histórico/poblacionales) y su sustitución por un esquema causal recíproco capaz de integrar ambas requiere entonces encontrar funciones en el esquema organizacional metabólico que puedan aplicarse a diferentes escalas espacio-temporales en biología. Estas funciones, aún formando parte del individuo, hallarán el contexto de su cierre causal a nivel poblacional y dentro de una historia evolutiva. Esta especie de "extensión" del cierre causal organizativo queda bien representado por las funciones trans-generacionales que, como su propio nombre indica son aquellas que tienen su rango temporal de actuación extendido más allá del tiempo de vida del organismo individual (paradigmáticamente las funciones de los rasgos reproductivos, por ejemplo, la función del semen de inseminar un óvulo).

Este tipo de funciones han supuesto tradicionalmente un reto para los enfoques de tipo disposicional al forzar a estos a enfrentarse a la explicación no únicamente de la dimensión organizativa individual de un organismo sino también de su integración en una dimensión histórica. Como ya veíamos en el capítulo anterior, la dimensión histórico-evolutiva no supone un problema para definir funciones desde un enfoque etiológico pues éste utiliza, de hecho, la dimensión temporal (las adaptaciones) para atribuir funciones (con algunos problemas derivados, ver capítulo 2). No obstante, los enfoques disposicionales y organizacionales que definen función en torno a la contribución actual a la organización del individuo se topan con la siguiente contradicción: ¿cómo explicar una función que no tiene una contribución directa al mantenimiento de la organización de

este individuo sino que contribuye a la generación de un individuo distinto funcionando en un momento también diferente? De forma más general y en relación a lo que nos compete en esta sección, ¿cómo incluir la dimensión histórica en la organización actual del sistema?

Las perspectivas organizacionales ha encontrado diversas maneras de hacer frente a este - a primera vista - "problema ontológico". Según [Saborido et al. 2011] las propuestas pueden diferenciarse en dos grupos. Por un lado, la perspectiva organizacional de [Schlosser 1998; McLaughlin 2001] caracteriza las funciones como procesos que contribuyen a re-producción del *rasgo* que las produce (no así tanto del sistema que contiene esos rasgos). De esta forma, las funciones trans-generacionales, así como las de los rasgos reproductivos, serán necesarias para la re-producción de estos rasgos (aunque sea en otro individuo). La crítica principal a esta propuesta, lanzada por Delancey [2006], va en relación a la imposibilidad de atribuir estas funciones a un *sistema* concreto (con fronteras, una forma estable y, sobre todo, una organización interna). Este autor recalca la consecuente incapacidad ontológica de saber si la función está afectando intra-generacionalmente o trans-generacionalmente y propone un enfoque alternativo que *separa* las funciones de auto-mantenimiento como funciones intra-generacionales y las funciones de auto-reproducción como funciones trans-generacionales.

Por otro lado está la otra corriente de perspectivas organizacionales, representada principalmente por [Collier 2000, Christensen & Bickhard 2002; Saborido et al. 2011; Moreno & Mossio 2015] (ver capítulo 2) y que atribuyen funciones a los rasgos contribuyendo al auto-mantenimiento del sistema. Chirstensen y Bickhard solucionan el problema atribuyendo la autonomía no únicamente a los organismos individuales sino también a otras organizaciones de orden mayor como poblaciones, especies o comunidades. De esta forma, las funciones intra-generacionales son aquellas que contribuyen a la organización autónoma de los organismos individuales, mientras que las funciones trans-generacionales son aquellas que contribuyen a una organización autónoma de escala superior. El principal problema de esta propuesta es que el citado criticismo de Delancey puede aplicarse aquí de igual manera, al encontrar problemas para discernir qué tipo de sistema conforma, por ejemplo, una especie.

La perspectiva del cierre organizacional (Saborido, Mossio y Moreno, ver capítulo 2) intenta escapar a la crítica ontológica de Delancey recalcando que, aunque la organización de un organismo individual y la de un sistema que envuelva más generaciones (por ejemplo, un linaje) tienen diferencias en muchos aspectos, estos *no* son diferentes en cuanto al tipo de *cierre organizacional auto-mantenido* del cual forman parte, el cual - y esta es la clave de su propuesta - es *continuo* (no varía en el tiempo). Por tanto, la atribución tanto de funciones intra-generacionales como de

funciones trans-generacionales es correcta porque ambas contribuyen a la continuidad del cierre organizacional auto-mantenido. La diferencia entre las primeras y las segundas es la *escala temporal*¹ que estemos utilizando para explicar una u otra función: las funciones intra-generacionales las encontraremos a una escala temporal más corta y las funciones trans-generacionales a una escala temporal mayor.

Como se está viendo a lo largo de este capítulo, son varios los problemas con los que se enfrenta ésta o cualquier aproximación integradora de los sistemas biológicos: las tradiciones gen-centristas y reduccionistas, la tendencia a la biología descriptiva, el externalismo, etc. Uno de los problemas clave que impide seguir esta línea de trabajo es la ausencia de conceptos que ayuden a identificar el tipo de problemas al que se enfrenta y, consecuentemente, el tipo de soluciones que deben ser investigadas. A pesar de las críticas de algunos autores, que han considerado la comprensión de los individuos biológicos bajo premisas en torno a la integración funcional o el concepto de autonomía como "vagas y poco útiles" [Clarke 2013], hemos visto que el marco teórico de la autonomía resulta, por el contrario, práctico y preciso a la hora de naturalizar los fenómenos fisiológicos de las células y tratar de fundamentar su origen e integración en una historia evolutiva. Repasamos a continuación más detalladamente en qué consiste esta propuesta conceptual y si realmente ofrece mejores perspectivas integradoras.

¹ La escala temporal es un concepto central en la definición de función en el marco de la autonomía biológica pues para describir un cierre organizacional lo esencial será describir una dependencia funcional (una correlación) entre momentos distintos de esa organización (ver [Moreno & Mossio 2015] pág 18). Un cierre organizacional en un período de tiempo puede ser una de las instancias temporales de otro periodo de tiempo más amplio en el que se esté dando otro cierre organizacional.

3.5. Búsqueda de conceptos y principios adicionales

3.5.1. La teoría de la autonomía y la perspectiva organizacional

El objetivo principal de la teoría de la autonomía biológica [Moreno & Mossio 2015], enmarcada dentro de una perspectiva organizacional de los sistemas vivos, es el de naturalizar todas las propiedades fenomenológicas de la biología (a nivel fisiológico, ecológico y evolutivo) en un tipo de organización característica de la materia. Para hacer esto de manera formal sería en principio necesaria la especificación de un régimen causal característico y de una serie de nociones conceptuales asociadas a éste. En el capítulo 2 adelantábamos ya alguna de estos conceptos al hablar de la perspectiva organizacional de las funciones pero, dado que las hipótesis centrales de este ensayo orbitan alrededor del concepto de autonomía, conviene aclararlo brevemente un poco mejor.

En el núcleo constitutivo de la idea de los sistemas biológicos como sistemas autónomos se encuentra el principio de *auto-determinación*. Los sistemas biológicos funcionan (hacen algo) para continuamente mantener su constitución (ser algo); recursivamente, el mantenimiento de esta constitución les permitirá seguir funcionando. A este régimen causal de dependencia mutua se le ha denominado técnicamente *cierre* y ha sido utilizado históricamente con más o menos peso por diversos autores (Varela, Pattee, Rosen, Kauffman) para dar una explicación a la organización biológica; algunos de ellos volveremos a mencionarlos más adelante. Bajo la perspectiva autónoma, no obstante, el principio de auto-determinación no está expresado en la biología bajo cualquier tipo de cierre. En los sistemas biológicos este cierre ha de involucrar una cierta *organización* en la cual la dependencia mutua se da a través de diferentes *constricciones* actuando sobre los flujos termodinámicos de intercambio con el ambiente (los sistemas biológicos son sistemas autónomos con un régimen causal organizacional cerrado pero un régimen termodinámico abierto).

Estas constricciones, actuando dentro de un régimen causal autónomo, son los ingredientes a los que se pueden atribuir *funciones* y como, por definición, la organización de este régimen requiere de una dependencia mutua entre constricciones, será necesaria la presencia de más de una actuando al mismo tiempo². Es aquí donde se fundamenta la definición de función que dábamos en el capítulo 2 como cualquier componente (o conjunto de componentes) identificable con una

² Como aclaración, veamos el caso de los sistemas disipativos físicos (por ejemplo, una llama o un huracán). Estos sistemas están auto-determinados mediante un cierre causal llevado a cabo por una restricción del flujo termodinámico: la producción del patrón macroscópico que mantiene sus límites y permite su continuidad. No obstante, al no poder diferenciar distintas constricciones no es factible atribuir a estos sistemas una organización a especificar en términos de sus componentes y, por consiguiente, tampoco ninguna función.

contribución diferente al mantenimiento del sistema (es decir, al cierre organizacional). La diferenciación de funciones es necesaria no únicamente debido al requisito organizativo de la autonomía biológica, sino también por la propia naturaleza del régimen causal del cual ésta emerge. Ya hemos comentado que la auto-determinación es un principio central pero no suficiente para describir la autonomía; los sistemas autónomos no solo generan intrínsecamente las normas que los constituyen (auto-determinación simple) sino que, además, son capaces de *modular* estas normas de acuerdo a sus necesidades en un contexto determinado (auto-determinación en un sentido más fuerte, menos contingente, más identitario). El cierre causal que da lugar a un sistema autónomo estará compuesto de, al menos, dos niveles: un cierre central dedicado a la constitución de las normas (a la fabricación de las constricciones) y un segundo cierre, procedente y dependiente del primero, dedicado a su *regulación* (en relación al contexto). Al primero de estos cierres causales se le refiere como la dimensión *constitutiva* de la autonomía mientras que al segundo es referido como su dimensión *interactiva*³.

Las funciones dedicadas a la dimensión interactiva de los sistemas autónomos son también denominadas *capacidades agenciales* o *agencialidad*. La agencialidad hace referencia a la capacidad de los sistemas autónomos de actuar sobre su ambiente, aprovechándose de él o modificándolo en su propio beneficio. Este subconjunto de funciones del sistema es muy importante pues será responsable de la primera forma de restricción de los procesos y flujos termodinámicos, que después se integrará al resto del cierre causal constitutivo (es decir, será responsable de la viabilidad termodinámica del cierre organizacional autónomo). La combinación de ambos cierres causales, agencial y constitutivo, define el *metabolismo* desde la perspectiva autónoma. En definitiva, un sistema autónomo será aquel que posea autonomía, o lo que es lo mismo, una organización internamente regulada (mediante diferenciación funcional y meta-funcional) y agencial (dependiente de una apertura termodinámica). Los organismos biológicos encajan con esta definición y, por tanto, pueden ser tratados plenamente como sistemas autónomos.

La perspectiva metabólica de la vida (basada en cierres organizacionales del tipo al comentado más arriba) había sido ya investigada teóricamente por algunos autores, sobre todo por aquellos interesados en sus orígenes en relación a su definición. Por un lado, tenemos el importante trabajo de Stuart Kauffman sobre redes autocatalíticas [1986] en las cuales un conjunto de catalizadores logra una dependencia mutua entre sí, de forma que cada uno de ellos constriñe una reacción química que produce (al menos) uno de los catalizadores del conjunto. Este trabajo clásico

³ Las dimensiones constitutiva e interactiva tienen entre sí una dependencia mutua pues las funciones de la dimensión interactiva, por ser constricciones pertenecientes al sistema, serán absolutamente dependientes de la dimensión constitutiva, encargada de producirlas en primera instancia. Y viceversa: sin las funciones interactivas el mantenimiento del sistema alejado del equilibrio no es viable y, por tanto, su régimen constitutivo se desintegra, más pronto que tarde.

fue continuado, en tiempos más recientes, por un intento muy interesante de incluir aspectos termodinámicos a su modelo: nos referimos aquí a sus reflexiones sobre los ciclos de Trabajo-Constricción y los sistemas con "cierre en un espacio más amplio de tareas catalíticas" [2000].

Otro de los enfoques teóricos que (de forma reconocida) más profundamente ha inspirado a los autores de la teoría de la autonomía es el de Robert Rosen en torno a lo que él llamó 'Cierre de causas eficientes' [1991], dado su profundo análisis formal del cierre organizacional característico de los sistemas biológicos. Rosen, utilizando la terminología aristotélica, plantea un doble régimen causal en los sistemas biológicos: la coexistencia de, por un lado, una causación eficiente cerrada (un cierre organizacional funcional) y, por el otro, una causación material abierta (permite la interacción de materia y energía con el entorno). Estos dos regímenes causales emergen del funcionamiento recursivo y auto-determinado de los sistemas biológicos, en el cual todos los componentes que lo conforman son causas eficientes (hacen algo) y, a la vez, son causas materiales (son algo). Las causas eficientes (entendámoslas como funciones) encargadas de mantener tal organización son de tres tipos: *metabólicas*, de *reparación* y de *replicación*. Rosen llamó a estos sistemas "sistemas M,R" (Metabolismo-Reparación) para representar cómo la organización celular en forma de procesos metabólicos catalizados por componentes materiales (léase enzimas) puede ser continuada gracias otro tipo de procesos de reparación, catalizados por otro tipo de componentes materiales procedentes de los procesos metabólicos primeros. Los procesos de replicación (más tarde re-interpretados por Letelier y colaboradores [2006] como funciones de *estabilidad organizacional*) pueden ser entendidos como procesos de regulación promovidos por componentes que actúan modulando el funcionamiento de los procesos de reparación, en forma de segundo ciclo causal de regulación sobre el primero (ver figura 3.1).

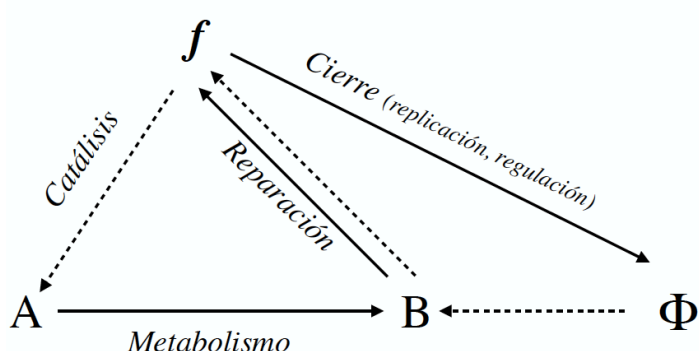


Figura 3.1. De [Cronish-Bowden et al. 2007]. Representación del esquema de Rosen de los sistemas Metabolismo-Reparación (M,R) que describe la organización celular metabólica como un doble cierre causal: un cierre funcional cerrado y un cierre material abierto (de interacción). Tanto f como B son siempre al mismo tiempo causas y efectos materiales y causales. La organización de este cierre está garantizada mediante la inclusión de elementos Φ , generando un segundo cierre a modo de regulación sobre el primero.

Imaginemos el funcionamiento metabólico de una bacteria consumidora de glucosa: la glucólisis (entre otros procesos metabólicos) se encargará de consumir la glucosa mediante la

actuación de las enzimas. Los productos de las reacciones enzimáticas (por, ejemplo, el ATP o la Ac-CoA) serán los componentes estructurales destinados a re-constituir (reparar, remplazar) las enzimas que los producen en el proceso de reparación enzimática pero, a su vez, funcionarán como efectores positivos o negativos (constricciones) para modular su funcionamiento en el proceso de regulación enzimática. Los componentes estructurales de estos sistemas están, por tanto, siempre sometidos a un doble *cierre* causal organizacional: uno involucrando (y que los involucra en) su producción y otro involucrando (y que los involucra en) la regulación de su continuación o mantenimiento.

En términos de la teoría de la organización autónoma, para completar el esquema, sería importante considerar algunas implicaciones adicionales: la glucosa (entre otros recursos materiales y energéticos) tiene que obtenerla del exterior y, por tanto, el sistema debe estar *abierto* a un intercambio causal con el ambiente, involucrando a éste en su organización en pos de su propio beneficio. Sería necesario, en otras palabras, incorporar ese doble cierre organizacional a modo de "seguro para la persistencia" ligado a su apertura y "conquista" de los flujos materiales y termodinámicos externos (agencialidad), convirtiendo a los o sistemas M,R en entidades con una identidad organizacional extremadamente fuerte que los distingue, definitivamente, de los sistemas meramente físicos.

El modelo de Rosen describe el funcionamiento auto-productivo del metabolismo en un lenguaje meramente formal y, utilizando operaciones lógicas matemáticas, consigue justificar el cierre causal eficiente que, en su definición, se satisface en los sistemas biológicos. No obstante, la analogía de este cierre causal eficiente con un sistema biológico resulta algo trivial sin la consideración, por un lado, de los requerimientos termodinámicos y, por el otro, de una membrana semi-permeable [Hofmeyr 2017]. La importancia de la membrana en la descripción teórica de un sistema biológico es una de las principales aportaciones de la teoría autopoietica de Maturana y Varela [1973]. Esta teoría, que se explicó en más detalle en (2.1.1), resalta la importancia de la auto-producción de una frontera para la caracterización básica de la organización biológica, entendida por la autopoiesis como una identidad que fabrica los componentes necesarios para diferenciarse de su entorno. La teoría de la autonomía está influida en gran medida por la teoría autopoietica en dos aspectos: el primero es la importancia de la diferenciación de un medio externo y uno interno (individuación) y el segundo es la auto-producción. No obstante, la interpretación que la teoría de la autonomía hace de estas ideas, al incluir el aspecto termodinámico (las entradas y salidas de flujos de materia y energía) resulta bastante más sustanciosa en términos biológicos que la que hace la teoría autopoietica. Esta última, al ignorar el funcionamiento disipativo de cualquier célula viva,

expone tales conceptos de una forma demasiado vaga y abstracta difícilmente analizable de forma empírica.

Finalmente, las investigaciones de Tibor Gánti en torno al 'Chemoton' son de las más cercanas a la idea de sistema autónomo, sobretodo si concebimos sistemas autónomos con capacidades evolutivas abiertas: es decir, un "super-sistema" capaz de realizar una organización biológica mínima [1975; 2003]. El 'Chemoton' se compone de tres ciclos autocatalíticos funcionalmente dependientes: el primero es una red metabólica, encargada de producir el material necesario para los otros dos, el segundo es una membrana que gestiona la interacción con el entorno y, el tercero es la polimerización de una plantilla que funciona como control o sistema regulatorio, afectando al rendimiento de la red metabólica. Marcando un paralelismo con la organización funcional regulada y agente de los sistemas autónomos, podemos considerar los tres ciclos autocatalíticos como tres clases de constricciones (de funciones) distintas: la red metabólica representaría las funciones constitutivas, la membrana la función interactiva y la plantilla regulatoria representaría las funciones dedicadas al doble cierre causal necesario para promover la continuación de esta identidad auto-mantenida. Cabe señalar que tanto el modelo de Ganti como el modelo de la autonomía biológica, a diferencia de los otros modelos mencionados (Kauffman, Rosen y Varela), tienen en cuenta el aspecto histórico-evolutivo en la descripción de la organización biológica. Ganti incluye un ciclo autocatalítico dedicado al registro funcional de la red metabólica; la autonomía, mediante el funcionamiento dependiente de contexto [Juarrero 1999; 2000] de las constricciones que forman parte de su cierre organizacional, abre una ventana a la generación de novedad, a la variabilidad y, consecuentemente al progreso evolutivo.

3.5.2. Implementabilidad experimental de la teoría de la autonomía

Los conceptos con los que se ha venido definiendo la organización biológica parecen encajar bastante bien para describir la vida a nivel teórico pero ¿cuánto de todo esto se puede instaurar en un modelo experimental que permita aplicarlos a la Biología de Sistemas (o a la biología sintética) para la comprensión de los fenómenos biológicos dentro de una teoría celular más completa o informativa? La naturaleza hipercompleja de los sistemas biológicos actuales, incluso en el caso más simple de los organismos unicelulares, puede enmarañar el proceso de identificación de la base material de estos conceptos teóricos. Durante el proceso evolutivo, la estructura organizacional de los organismos ha ido reforzándose, enriqueciendo éstos con una enorme cantidad y variedad de

constricciones que reafirman y mantienen su identidad, incluso mediante diferentes niveles de organización (multicelularidad, ecosistemas) y cronológicos (reproducción sexual) [Ruiz-Mirazo et al. 2000; Ruiz-Mirazo & Moreno 2012; Arnellos et al. 2014; Moreno & Mossio 2015].

La concepción de la autonomía como una forma de organización material-causal con unas características determinadas nos permite partir de un andamiaje teórico suficientemente concreto como para ser explicativo pero también suficientemente general como para poder ser aplicado a las diferentes capas de complejidad adquiridas durante la evolución. Los cambios que los organismos han llevado a cabo durante su historia evolutiva, necesarios para superar los diversos retos y cuellos de botella con los que se han ido encontrando por el camino, se pueden interpretar como versiones cada vez más complejas de la misma estructura identitaria, su organización autónoma [Ruiz-Mirazo & Moreno 2012]. La posibilidad de identificar la autonomía en sus diferentes formas organísmicas a lo largo del proceso evolutivo nos permitirá "ir hacia atrás" en el mismo (en lo que nosotros hemos llamado un *enfoque genealógico*, ver capítulo 4) para poder explorar sus versiones más simples, los requisitos composicionales básicos y la estructura organizacional mínima que permita su emergencia. Este nivel más bajo de complejidad que nos transporta a etapas del origen de la vida y, por tanto, a un escenario físico-químico prebiótico, resulta más accesible a una exploración experimental exhaustiva. Los requerimientos materiales para la obtención de un sistema autónomo son exigentes, pero no tanto como para tener que buscarlos únicamente en organismos ya muy complejos. De hecho, algunos tipos de mezclas químicas funcionando de forma sistémica muestran comportamientos complejos interesantes para la búsqueda de una organización autónoma (ver capítulo 5). Por supuesto existen muchas complicaciones, la implementación química del cierre organizacional que exige la autonomía requiere de un mínimo grado de complejidad que es difícil de conseguir experimentalmente (y, para muestra, su falta de comprobación o implementación experimental hasta la fecha). En el siguiente capítulo se hablará de una alternativa de simplificación mediante el enfoque genealógico y de una propuesta para superar la dificultad del límite de complejidad impuesto, relacionada con un aumento de la diversidad composicional molecular.

Aunque las contribuciones científicas realizadas durante esta tesis doctoral han estado dirigidas sobre todo a abordar la dimensión *sincrónica* de la autonomía, es decir, su realización en la organización de una protocélula individual (ver capítulo 7), cabe destacar que la implementación de la autonomía es también realizable en su dimensión *diacrónica* (o histórico-evolutiva), es decir, en relación a las propiedades que adopta y aporta en el contexto de poblaciones protocelulares. Como también se menciona en el capítulo 7, éste es un tipo de experimentación que está llevando a cabo principalmente Jack Szostak en la universidad de Harvard mediante la realización de ensayos de competición/selección de poblaciones protocelulares con diferentes grados de *fitness* relativo a su

estabilidad, robustez y perdurabilidad (auto-mantenimiento) [Chen et al. 2004; Adamala & Szostak 2013]. De momento no se puede decir que las protocélulas utilizadas en los experimentos de Szostak logren una mínima autonomía. No obstante, es una línea de trabajo de gran potencial [Ruiz-Mirazo et al. 2017]. Poblaciones protocelulares que pudieran exhibir diferentes eficacias en la realización (o el intento de realización) de la autonomía permitiría, por un lado, probar las ventajas evolutivas que ésta confiere a los individuos protocelulares y, por el otro, explorar qué características y mecanismos funcionales pueden aparecer, ser seleccionados o co-evolucionar.

Capítulo 4

LA ESTRATEGIA GENEALÓGICA: ESTUDIANDO EL DESPLIEGUE DE LA ORGANIZACIÓN BIOLÓGICA EN DIFERENTES CAPAS DE COMPLEJIDAD

Como hemos visto en el capítulo anterior, la Biología de Sistemas ha desarrollado una metodología basada en aprovechar los avances reduccionistas de la biología molecular sumados al análisis sistémico de los datos mediante herramientas informáticas cada vez más sofisticadas, con el objetivo de entender la célula como un todo individual y construir un escenario más completo y realista de la organización biológica. Sin embargo, la acumulación masiva de detalles experimentales y su combinación con modelos matemáticos y bioinformáticos parecen no ser una vía lo suficientemente fructífera para el avance en la comprensión de los sistemas biológicos. De hecho, la dinámica y la organización celular imponen algunas limitaciones metodológicas y conceptuales que necesitan ser revisadas en mayor profundidad.

Una de las principales limitaciones está relacionada con la hiper-complejidad intrínseca a la célula; por muy simple que ésta sea, el número y tipo de componentes y procesos, actuando unos sobre otros, generando redes, ciclos, efectos superpuestos, etc, es simplemente inabarcable. La Biología de Sistemas intenta simplificar este escenario de varias formas, resumidas en sus metodologías *bottom-up* y *top-down* de sistemas fragmentados (ver capítulo anterior). Al enfrentarse a

los sistemas biológicos, aunque sea sólo por partes (partes de una red metabólica o de una ruta o mecanismo concreto), la Biología de Sistemas se topa siempre con los problemas relativos a la complejidad intrínseca de la vida, pues el funcionamiento de estas rutas, mecanismos y redes sólo tiene sentido si están inmersos en dicha complejidad. En el capítulo 3 adelantábamos que la teoría de la autonomía puede darnos un marco teórico apropiado para tratar de estructurar la organización subyacente a la complejidad biológica mediante una serie de requerimientos causales y formales. La ventaja del concepto de sistema autónomo es que puede utilizarse como "puente" para abarcar el fenómeno de la vida en todas sus etapas históricas y grados de complejidad (incluso en etapas *infra*-biológicas) [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004]. Esto significa que cualquier tipo de organización biológica cabe dentro de la definición de sistema autónomo, desde toda la diversidad de organismos actuales y pasados, hasta la primera forma celular en el origen de la vida e incluso antes de ésta, en el camino prebiótico hacia su completa integración. Poder identificar el esquema de la organización autónoma en todas las etapas del proceso evolutivo biológico y prebiótico nos va a permitir seguir una *estrategia genealógica* para identificar el fundamento de esta organización en sus diferentes capas de complejidad. Mediante esta estrategia, en un viaje regresivo, se tratará de identificar qué propiedades sustentan la organización autónoma en etapas de complejidad más simples y, al fin, qué requisitos organizacionales son mínimos para su origen.

El ámbito de origen de vida ha sido ya previamente utilizado para tratar de dar una definición de vida a partir de una versión simplificada de la misma. Estas simplificaciones han consistido, tradicionalmente, en centrar toda la atención en *un tipo de molécula* y los fenómenos moleculares asociados a ésta y, a partir de ahí, derivar el resto de propiedades biológicas. No obstante, en este capítulo se verá que este tipo de aproximación conlleva severas limitaciones para explicar la evolución molecular que dé lugar a la complejidad organizativa propia de una célula.

Por el contrario, la exploración genealógica de la autonomía que aquí se propone, permitirá hacer una simplificación alternativa que tenga en cuenta la complejidad organizativa *desde el principio*. Los requerimientos materiales para la satisfacción de este nivel mínimo de complejidad pueden ser algo más exigentes que en los modelos tradicionales de origen de vida pero, también, destacadamente más fructíferos (a la hora de generar diversidad funcional y prospección evolutiva). Además, veremos cómo lidiar con la complejidad en un escenario prebiótico puede no ser tan complicado si se tiene en cuenta una mezcla química lo suficientemente diversa que permita la aparición y actuación conjunta de patrones colectivos.

4.1 Modelos tradicionales de origen de vida

Dentro del tipo de simplificación de la organización biológica realizado en un contexto de origen de vida, el enfoque más popular ha consistido en buscar un tipo de molécula que, por sí sólo, muestre características biológicas y sea capaz de dirigir la evolución molecular hacia la formación de un sistema biológico pleno. Al basar su búsqueda en un sólo tipo de molécula y, consecuentemente, en un solo tipo de fenómeno molecular, la definición de vida depende del tipo de molécula elegido y lo que éste sea capaz de hacer. Por ejemplo, los modelos basados en las moléculas de ARN otorgan más importancia a la capacidad replicativa como propiedad para definir vida y los modelos basados en proteínas buscan en las reacciones catalíticas de un metabolismo primigenio la primera forma de organización biológica. La falta de consenso en cuanto a qué proceso es más fundamental para definir vida no es el único problema que encontramos con este tipo de enfoque reduccionista. El problema más grave que encontramos con esta aproximación es la dificultad para explicar cómo, a partir de un único tipo de fenómeno molecular, la biología ha obtenido más tarde el alto grado de integración entre muy diferentes procesos que caracteriza hasta la célula más sencilla. Veamos a continuación un poco más en detalle las tres aproximaciones más clásicas al origen de vida, simplificaciones que se realizan tomando como punto de partida un sólo tipo de molécula.

4.1.1. El mundo ARN

“At some point a particularly remarkable molecule was formed by accident.”

Richard Dawkins 1976

El mundo de ARN atribuye el origen de la vida al origen de las primeras moléculas replicativas. Esta hipótesis se remonta a las hipótesis de J.B.S. Haldane sobre un proceso abiogénico de formación de las primeras células a partir de una “sopa prebiótica” de componentes. Según esta teoría la vida se originó mediante la “congregación apropiada” y espontánea de moléculas auto-replicativas encerradas en una “película de aceite”. El descubrimiento de la estructura de doble hélice de la molécula de ADN [Watson & Crick, 1953] apoyó fuertemente esta hipótesis al mostrar que el mecanismo de auto-replicación mediante el cual se hace posible el ensamblaje espontáneo de dos cadenas de ácidos nucleicos en principio se basa en la simple complementariedad entre sus respectivas bases nitrogenadas. Von Kiedrowski, de hecho, se encargó de demostrar que la auto-replicación de una molécula de ADN de cadena sencilla compuesta por 6 nucleótidos puede darse

de forma prebiótica en ausencia de enzimas [von Kiedrowski 1986; von Kiedrowski et al. 1991]. Por otro lado, los avances en evolución artificial "*in vitro*" [Mills et al. 1967], el descubrimiento posterior de la capacidad catalítica de la molécula más sencilla de ARN [Guerrier-Takada et al. 1984, Cech 1985] se consideró la 'piedra roseta' que justificaba este planteamiento en el que el ARN sería el "eslabón perdido", como molécula con simultáneas capacidades de contener información, de replicarla y de ser funcional. El escenario de un "mundo ARN" fue propuesto por primera vez por Walter Gilbert y consiste en un modelo en el que el proceso evolutivo comenzó con la catalización por parte del ARN de su propia síntesis y auto-replicación [Gilbert 1986].

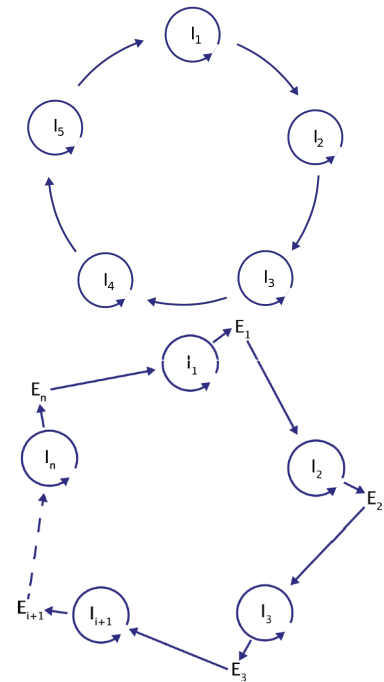
4.1.1 (1) *Las cuasi-especies, el 'hiperciclo' y otros modelos de un mundo ARN*

El modelo de cuasi-especies [Eigen 1971; Eigen & Schuster 1979] trata de explicar de forma cualitativa la evolución darwiniana de un conjunto de unidades replicativas como aquellas descritas en la propuesta de un "mundo ARN". Una *cuasi-especie* es una distribución en forma de nube de secuencias moleculares con un genotipo cercano (con la misma función pero distinta especificidad) caracterizada por una secuencia máster muy frecuente rodeada de una gran diversidad de secuencias relacionadas en menor frecuencia. La generación de una cuasi-especie se da a partir de una *especie molecular* (la secuencia máster) que, al replicarse, produce errores y genera esta nube de mutantes con secuencias similares. El espectro completo de los mutantes más la secuencia máster es llamado *cuasi-especie molecular*. A pesar de que en la distribución interna de la cuasi-especie el porcentaje de secuencias mutantes es mayor que el porcentaje de secuencias máster, el número de individuos mostrando fenotípicamente las mutaciones (en unas condiciones ambientales determinadas) es mucho menor. Los factores externos serán los responsables de seleccionar la distribución que se adapte mejor en cada contexto; por eso, la nube de mutantes funciona como "reserva" (o como memoria, como en el caso de ciertos virus [Ruiz-Jarabo et al. 2000, 2002; Briones et al. 2003]) pudiendo pasar algunas secuencias mutantes a ser secuencias máster y viceversa. Estas cuasi-especies moleculares han demostrado su importancia biológica en la distribución genotípica de determinados virus (*cuasi-especies víricas*) [Domingo et al. 1978; 2001; Domingo 2000] y su relevancia en la evolución de secuencias cortas de ARN [Diaz-Arenas & Lehman 2010].

La cantidad de información que puede contener una molécula de ARN de cadena sencilla es limitada e inestable y, por tanto, su capacidad para evolucionar hacia grados más altos de complejidad también lo es. La tríada de requisitos de cualquier sistema sometido a una evolución darwiniana (multiplicación, variabilidad y herencia) impone algunas limitaciones a estos polímeros

cortos, supuestamente primitivos, de ARN. La tasa de mutación de secuencias ribonucleicas (indirectamente proporcional a su tamaño) convierte estas secuencias en cadenas lineales altamente inestables. Si su estabilidad no es controlada de algún modo (como lo es, de hecho, mediante los mecanismo de “proof-reading” en los actuales sistemas bacterianos y eucariotas) el sistema sufrirá directamente una catástrofe en su replicación y perderá toda la información adquirida hasta el momento (*error-catastrophe*). El modelo del Hiper ciclo [Eigen & Schuster 1979] trata de proponer un escenario viable para la existencia de un “mundo-ARN” mediante una forma natural de organización de las moléculas auto-replicativas.

Un ‘hiperciclo’ se define como un ciclo catalítico global formado por varios ciclos catalíticos auto-replicativos interconectados (ver figura a la derecha: la autoproducción de I_1 catalizaría la autoproducción de I_2 que catalizaría la autoproducción de I_3 ...hasta I_n). Más concretamente, la actividad de las moléculas auto-replicativas portadoras de información (I_n) se traduce en la producción de catalizador (E_n) de la replicación de la siguiente molécula portadora de información.



La popularidad del “mundo ARN” continúa hasta el día de hoy, siendo la perspectiva con más adeptos en el ámbito de investigación sobre el de origen de la vida. Como prueba, la cantidad de experimentos y pruebas que la sustentan son considerablemente altos. Además del modelo teórico del ‘Hiper ciclo’ existen diversas pruebas moleculares, siendo la más importante el descubrimiento del ARN autoreplicativo (años 90, Wright & Joyce). Otras muchas pruebas “fósiles” presentes en la biología actual y prueba de un mundo antiguo de ARN son: el descubrimiento de riboreguladores (que aparecen en todos los seres vivos), los intrones autocatalíticos, las ribozimas como la ARNasa o las snRNP (que intervienen en los procesos de maduración del ARN), el ribosoma (cuya procedencia pudo ser un ARN catalítico al que se le fueron añadiendo péptidos y proteínas de apoyo), las retrotranscriptasas y ARN-replicasas (vestigio de la transición de un mundo "ARN-proteína" a uno "ADN-ARN-proteína), los retrotransposones (que pudieron haber sido causantes de la evolución primogenia) o la ribointerferencia (propuesto como un mecanismo de regulación primitivo en el cual el ARN detectaba secuencias que no debían estar en la célula). Mediante evolución in vitro, por mencionar algunos experimentos, se ha conseguido demostrar a aparición de aptámeros de ARN a partir de librerías de secuencias aleatorias que progresivamente mejoran sus sitios de unión a moléculas pequeñas [Ellington & Szostak 1990] y la selección

espontánea, entre un grupo de secuencias aleatorias de ARN, de ciertas secuencias catalíticas (ribozimas) capaces de unir, con mayor o menor efectividad, dos fragmentos de ARN previamente alineados mediante una plantilla [Bartel & Szostak 1993]. Recientemente se ha publicado la generación de una ribozima funcional obtenida mediante evolución molecular 'in vitro', capaz de replicar ARNs y, además, generar varios ribozimas funcionales, aptámeros e incluso tARN [Horning & Joyce 2016].

La antigüedad de la molécula de ARN y su importancia en alguna de las etapas de la evolución prebiótica es algo de lo que no cabe duda, dado su papel central en la organización biológica, la enorme conservación de los mecanismos asociados a ella y su promiscuidad funcional. La molécula de ARN debió aparecer en algún momento temprano durante el proceso evolutivo; la pregunta es, ¿cuán temprano? La molécula de ARN es una molécula bastante compleja, difícilmente sintetizable de forma espontánea en condiciones prebióticas y sin ayuda de enzimas. Aunque la abiogénesis de ésta molécula ha sido demostrada por varios grupos, notablemente el de John Sutherland y su equipo [Powner et al. 2009], estos mismos afirman que las condiciones para que su síntesis suceda de forma natural, sin la ayuda de un sistema más complejo, son muy fortuitas. Este hecho hace complicada su aparición espontánea y su preexistencia a la aparición de sistemas más complejos y más cercanos a la célula. ¿Podemos imaginar un sistema complejo procedente de una molécula de ARN o debemos pensar que el sistema ya tenía cierta complejidad en el momento en el que esta molécula adquirió su papel?

Que el escenario predicho por los investigadores del “mundo ARN” pueda ser relevante no significa que su aparición fuese una cosa sencilla y espontánea y que, previamente, no hubiese ya algún tipo de complejidad. Tampoco significa que tal escenario pueda equipararse a un escenario biológico. ¿Cómo encajar este tipo de sistemas bajo un dominio termodinámico? ¿Es la autocatálisis y la auto-replicación/auto-reproducción condición suficiente y necesaria para describir la vida? ¿De dónde proviene la intrincada red de procesos funcionando colectivamente en los seres vivos? Estas son algunas de las preguntas que llevaron a otro grupo de investigadores a plantear un escenario alternativo, en el cual se pone de manifiesto la importancia de las redes catalíticas y el metabolismo en el dominio de lo vivo.

4.1.2. El mundo proteico

El escenario del “metabolismo primero” o del “mundo proteico” tiene su origen en las hipótesis realizadas por Alexandr Oparin, otro de los padres (junto a Haldane) de la hipótesis abiótica del origen de la vida. Oparin imaginó un mundo en el cual la formación de componentes orgánicos cada vez más complejos se dio gracias a la interacción continua entre moléculas en la sopa prebiótica. Una vez formadas las proteínas, éstas continuaron combinándose, rompiéndose y volviéndose a re-combinar en una especie de auto-síntesis de nuevos compuestos. En agua, las proteínas formaban agregados por fuerzas electrostáticas que Oparin llamó “protobiontes”, formando redes de interacción.

En la naturaleza, incluso la más pequeña y simple de las bacterias tiene una red metabólica encargada de la continua destrucción y formación de estructuras, produciendo (reacciones exergónicas) y consumiendo (reacciones endergónicas) energía para mantener el balance energético del sistema "a flote" y alejado del equilibrio. La importancia de las redes auto-catalíticas del metabolismo llevó a Stuart Kauffman a proponer un escenario alternativo para el origen de la vida [Kauffman 1986]. En este caso, el foco está puesto en una especie de proto-metabolismo en el que, alcanzado un determinado umbral de número y diversidad molecular, una serie de redes colectivas de autocatálisis pudieron haber emergido espontáneamente. Estos *sets autocatalíticos* (ver Fig 4.1, izquierda) son sistemas en los que el comportamiento auto-reproductivo no emerge a partir de la copia de una plantilla, como en la propuesta del mundo-ARN, sino a partir de la actividad colectiva de un conjunto suficientemente grande de moléculas con roles simultáneos de reactivos y catalizadores. El escenario del “mundo proteico” es uno sembrado de reacciones químicas espontáneas o catalizadas por agentes físico-químicos del ambiente (por ejemplo, superficies inorgánicas) formando redes y ciclos autocatalíticos que, a lo largo del tiempo, irán volviéndose más complejos y produciendo un mayor número y diversidad de elementos en la red, reforzando su funcionamiento autocatalítico y su autoproducción (ver Fig 4.1, derecha). La cantidad de moléculas necesarias para producir un tipo de comportamiento auto-productivo es bastante alta, lo cual añade dificultad a las probabilidades de encuentro y colisión en un medio acuoso de dimensión media.

El funcionamiento del modelo de sets autocatalíticos e, incluso, su emergencia espontánea en sistemas químicos reales ha sido demostrado empíricamente y computacionalmente [Hordijk et al. 2013] tanto para la oligomerización de ácidos nucleicos [Von Kiedrowski 1996; Vaidya et al. 2012] como de oligopéptidos [Lee et al. 1996; Ashkenasy et al. 2004; Ura et al. 2009].

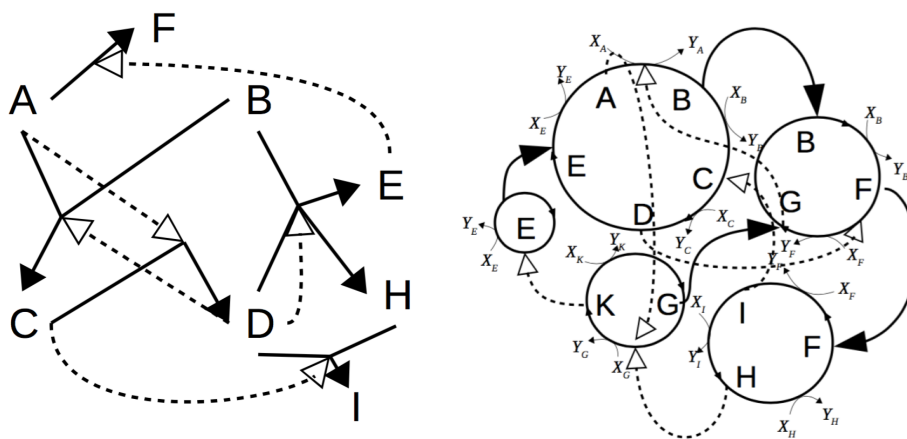


Figura 4.1. Los RAFTs [Hordijk et al. 2013] se definen como un conjunto de reacciones R en el cual i) cada reacción es catalizada por, al menos, una de las moléculas pertenecientes al conjunto R y ii) todos los reactivos del conjunto R (denominados “alimento” o “food” en inglés) provienen del funcionamiento del mismo.

Más adelante, en este mismo capítulo, veremos cómo la presencia añadida de un compartimento simplifica y facilita la existencia de esta idea de auto-catálisis y auto-producción. El propio Robert Shapiro, quien acuñó el término “metabolismo-primerero” (otro nombre para referirse al “mundo proteico”) reservó un importante papel a los compartimentos en su descripción del proceso del origen de la vida según el cual: (a) el sistema debe tener una frontera física y formar un compartimento que separe las reacciones metabólicas del medio inerte; (b) debe existir una forma de preparar la energía procedente del ambiente (por ejemplo, una reacción “red-ox” o la generación de un gradiente) para acoplarla después a la red metabólica; (c) está red será suficientemente compleja como para asegurar su resiliencia, posibilitando su adaptación y su evolución y (d) el compartimento al completo debe poder crecer (es decir, ganar más material del que pierde durante la red de reacciones) y dividirse [Shapiro 2000]. En la visión del “mundo proteico”, en la práctica, el compartimento tiene dos funciones, por lo general pasivas y subordinadas a la red metabólica (lo verdaderamente importante en el sistema): por un lado es el límite de contacto entre la red metabólica y el entorno (que canalizará el aporte de materia y energía para continuar tal red); por otro lado sirve como diferenciación de “unidades discretas de redes metabólicas” que puedan crecer y dividirse. La importancia *activa* de las asociaciones supramoleculares y la formación de compartimentos para la obtención de dinámicas auto-catalíticas efectivas trató de ser puesta en valor mediante la idea del “mundo lipídico” (*«lipid-world»*) lanzada por Daniel Segré y Doron Lancet en 2001. Veamos a continuación cómo, de esta forma, estos autores hacen un intento de integrar y reconciliar a las escuelas del “mundo-ARN” y el “mundo-proteico”.

4.1.3. El mundo lipídico

El modelo de "mundo lipídico" [Segré et al. 2001] nace con la intención de reparar el vacío teórico en relación al compartimento lipídico, fenomenológicamente tan característico de cualquier forma de vida y prácticamente inexistente en los modelos del "mundo ARN" y el "mundo proteico", más centrados en los procesos catalíticos y auto-replicativos asociados al sistema molecular en cuestión (del ARN y de las proteínas, respectivamente). El escenario del "mundo lipídico" trata así de poner en valor la intervención del propio compartimento lipídico en estos procesos catalíticos y auto-replicativos, que serán después sujetos a selección. La idea es la siguiente: un auto-ensamblaje de agregados *cuasi-estables* de composiciones lipídicas concretas dará lugar a lo que ellos llaman *genomas composicionales* o *composomas*. Estos composomas son capaces de crecer y dividirse: los "composomas hijos" heredan el genoma composicional de la "madre". Al tratarse de agregados auto-ensamblados mediante uniones no covalentes, las interacciones desiguales (*fallos*) que ocurren durante la división, provocarán modificaciones en la composición de los nuevos agregados (*mutaciones*) y serán fuente de variación y evolución. El modelo evolutivo utilizado, llamado GARD (Graded Autocatalysis Replication Domain) se basa en la combinación de dinámicas auto-catalíticas y catálisis cruzadas entre los diferentes tipos de lípidos, que dotan a cada *composoma* de capacidades globales diferentes, justificando así una posible actuación de la Selección Natural sin necesidad de poseer aparatos genéticos (por ejemplo, determinados *composomas* pueden tender a replicarse más rápido que otros).

Aunque diversos autores como David Deamer [1985] o P. L. Luisi [1991] ya habían detectado la posible relevancia de los compartimentos lipídicos en el origen de la vida, siguiendo la estela de Oparin, el modelo del "mundo lipídico" fue el primero en popularizar el posible papel temprano de las membranas en el contexto de los sistemas protobiológicos. La contextualización espacial que otorga el compartimento es importante para la reactividad del sistema (y, como veremos más adelante, para la definición de su individualidad e identidad fisiológica y evolutiva); no obstante, el papel del compartimento lipídico en sistemas con una estructura autónoma (como es el caso de los organismos biológicos) es algo más sustancioso y complejo que su obvia (e indiscutiblemente importante) aportación de naturaleza topológica (ver capítulo 6 y 7). El modelo de *composomas lipídicos*, a pesar de ser un buen intento de integración de los compartimentos en la escena prebiótica, se ve muy limitado a la hora de explicar el aumento de complejidad que llevó al origen de la vida. Las limitaciones están, en mi opinión, ligadas (como en los casos anteriores) a la presencia de un único tipo de molécula, asociado a un único tipo de fenómeno (en este caso el auto-ensamblaje y la formación de estructuras supramoleculares; las capacidades catalíticas no son

verdaderamente importantes en el modelo GARD) que no permite la aparición de un espacio fenotípico funcional (de procesos de diferente naturaleza) lo suficientemente amplio para guiar un posible avance evolutivo bajo Selección Natural (u otras presiones selectivas, cualesquiera que sean).

4.2 Una simplificación alternativa

Los tres planteamientos explicados más arriba parecen dejar en evidencia una cuestión importante: las dinámicas reactivas y evolutivas posibilitadas por *un único tipo molecular* son claramente insuficientes para explicar el grado de complejidad alcanzado por cualquier célula actual. Por otro lado, las características geológicas y meteorológicas de la tierra primitiva no apoyan un escenario prebiótico uniforme, con espacios composicionalmente homogéneos como los que requiere cualquiera de los tres modelos tradicionales de origen de vida. Más bien, el escenario prebiótico debió de ser uno composicionalmente rico y desestructurado, con mezclas químicas complejas de diferentes tipos moleculares en continua interacción estocástica: es decir, un escenario "sucio" con multitud de procesos ocurriendo al mismo tiempo [Dyson 1985, 1999]. Esta combinación de procesos, de hecho, pudo haber sido clave en el proceso hacia el origen de los primeros sistemas biológicos pues, el grado mínimo de complejidad organizativa que dirige al sistema hacia la autonomía pudo haber procedido del orden alcanzado por la aparición de procesos colectivos de una química lo suficientemente diversa (veremos esto a continuación).

Hoy en día, en todos los seres vivos, podemos diferenciar tres tipos diferentes de biomoléculas y procesos asociados a éstas a partir de los cuales se llevan a cabo las funciones celulares principales: (i) los lípidos, encargados de la compartimentación, generación de barreras físicas, superficies de contacto y andamiaje y soporte de otros procesos; (ii) los péptidos y proteínas, encargados mayoritariamente del metabolismo catalítico celular en forma de infinidad de enzimas y efectores pero también de multitud de otras funciones, como mecanismos de transducción energética, transporte, etc; y (iii) los nucleótidos y ácidos nucleicos, funcionando como plantillas para la transferencia de información. La complejísima y variada arquitectura funcional de hasta el más simple de los organismos unicelulares actuales procede, a grandes rasgos, de la combinación e intrincada colaboración entre estos tres sub-sistemas moleculares.

Teniendo en cuenta todo esto, la estrategia propuesta en este trabajo consiste en simplificar el escenario de una forma alternativa, no tan centrada en elegir un tipo de componente (como hacen los modelos tradicionales) sino un tipo de organización, esto es, la organización autónoma. Por

tanto, el modelo de simplificación alternativa consistirá en buscar un escenario químico que cumpla los requisitos para permitir el desarrollo de una organización autónoma mínima. Aunque se trate de buscar una versión básica de la autonomía [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004; Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008] y, por tanto, no enfrentada aún a sistemas tan complejos como un organismo vivo (ni siquiera en un sentido mínimo, *a la Ganti*, por así decirlo), uno de los requisitos de la autonomía, como explicábamos en el anterior capítulo, es la diferenciación funcional. La organización articulada en torno a funciones permitirá al sistema (auto-)producir las constricciones necesarias para adquirir su carácter regulado y de agente (ver capítulo 3). Para alcanzar un mínimo grado de diferenciación funcional necesitaremos - en contraposición con los modelos tradicionales - un mínimo grado de diversidad composicional. Esto quiere decir que el modelo tendrá que estar compuesto por, al menos, dos tipos de químicas distintas que permitan ampliar el espectro de procesos sucediendo al

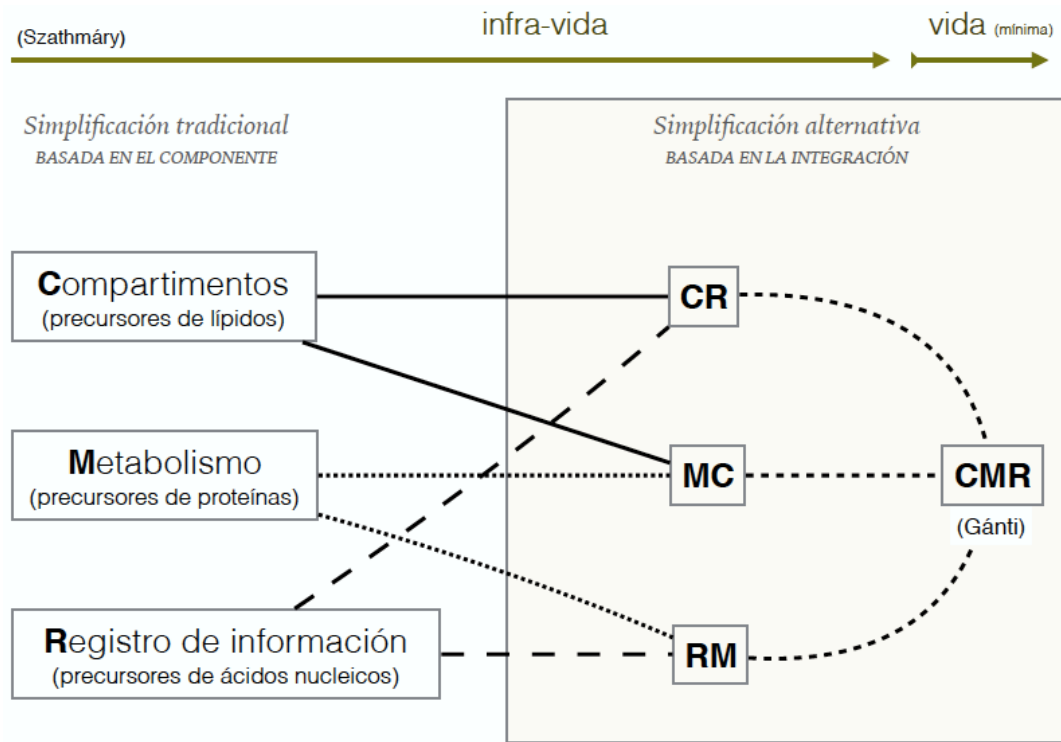


Figura 4.2. Esquema modificado de [Szathmáry et al. 2005] en el cual se distinguen los tres sub-sistemas que conforman un organismo (Compartimento, Metabolismo y Registro de información) y su posible combinación en parejas. Los modelos de origen de vida tradicionales han trabajado con estos sub-sistemas de forma individual; la propuesta aquí presentada consiste en trabajar, como mínimo, con sub-sistemas algo más complejos procedentes de la integración de alguna de sus combinaciones. La integración de los tres representaría un sistema 'a la Gánti' que cumple con los requisitos de cualquier organismo vivo en toda regla.

mismo tiempo en el sistema. En superposición con el esquema de Szathmáry y colaboradores [2005] (ver figura 4.2), los modelos de origen de vida tradicionales se situarían en la primera columna, en el estudio de los sub-sistemas celulares por separado, mientras que el tipo de simplificación aquí propuesto se situaría, como mínimo, en la segunda, en una *combinación* de dos o más de los diferentes tipos de sub-sistemas.

4.2.1. Más allá de la auto-organización

La combinación de diferentes tipos moleculares ampliando el espectro de procesos en el sistema resulta tener una importancia clave, organizacionalmente hablando. Hemos visto cómo la química basada en un único tipo de componente de los modelos de origen de vida tradicionales mostraba algunas propiedades en torno a una única forma (auto-)organización molecular. La química basada en el ARN es capaz de auto-replicarse por complementariedad mediante la unión no-covalente de dos cadenas: la molécula de ARN que está siendo formada y la que es utilizada como plantilla. Las redes metabólicas auto-catalíticas del "mundo proteico" son capaces de auto-reproducir redes completas de interacciones y ciclos autocatalíticos. En el caso de los composomas del "mundo lipídico" los lípidos se auto-ensamblan en agregados que serán o no seleccionados, dependiendo de sus características globales. Además, se ha mencionado previamente la importancia que los procesos de auto-organización tienen en biología [Karsenti 2008]. No hay duda de que la auto-organización es un fenómeno poderoso pues, espontáneamente (en lenguaje vulgar, "gratuitamente" para la célula), es capaz de transmitir de forma muy eficaz a una escala de orden mayor, temporal y espacial, las actividades e interacciones no-lineales sucediendo a escala molecular. No obstante, los sistemas autónomos - los seres vivos - dependen de un tipo de organización que va algo más allá que la "simple" auto-organización y que los diferencia, de hecho, del resto de sistemas alejados del equilibrio meramente físico-químicos.

Los sistemas físico-químicos alejados del equilibrio fueron popularizados, principalmente, gracias al trabajo con oscilaciones químicas y estructuras disipativas de Ilya Prigogine entre los años 70 y 80. Los sistemas de este tipo consisten en mezclas químicas complejas con multitud de componentes en las cuales un conjunto de reacciones simultáneas sucediendo a escala microscópica amplifican sus efectos a una escala macroscópica, pudiendo generar orden en forma de patrones emergentes. Previamente, en los años 60, se había publicado la famosa reacción oscilatoria BZR (Belousov-Zhabotinski Reaction), situada desde entonces como ejemplo clásico de las reacciones oscilatorias. La BZR implica un número enorme de reacciones distintas y hasta un total de 18 pasos diferentes; sin embargo, el patrón general puede resumirse en dos procesos autocatalíticos que se suceden cíclicamente: el proceso "A" que genera bromina, y el proceso "B" que la consume. Al igual que lo que sucede en los modelos tradicionales de origen de vida previamente citados, los patrones emergentes a la auto-organización por sí sola son muy escasos, limitados, por lo general, a uno sólo (oscilación en la concentración de bromina en la BZR, auto-replicación del ARN, auto-catalisis de la red metabólica, auto-reproducción del composoma,...). La presencia de un sólo patrón dificulta la diferenciación funcional en estos sistemas químicos auto-organizados. La imposibilidad

de identificar distintas aportaciones al global del sistema (identificar una *organización funcional*) será lo que distinga la organización auto-mantenida de los sistemas disipativos (meramente físico-químicos) de aquella de los sistemas autónomos [Moreno & Mossio 2015]. Como ya se mencionó previamente (capítulo 3), las funciones de una organización auto-mantenida de tipo autónomo serán constricciones sobre los flujos de materia y energía procedentes del entorno. Estas constricciones provienen, de hecho, de estructuras materiales distinguibles, generadas a partir del *acoplamiento de procesos de auto-organización* alejados del equilibrio *con procesos de auto-ensamblaje* algo más cercanos al equilibrio. Como ha puesto en evidencia el trabajo de Epstein [Epstein 2014] en el cual precisamente la BZR es implemetada en un contexto de micro-emulsiones lípido-acuosas, esto enriquece la dinámica enormemente (generación de patrones de Turing mucho más diversos). A partir de estas consideraciones, se puede plantear que, en un sistema autónomo tienen que concurrir, como mínimo, dos tipos de procesos y componentes distintos para generar una primera diferenciación funcional (entre constricciones de producción endógena). Esta condición impone un escenario químico más rico en diversidad molecular que aquel sugerido por los modelos tradicionales de origen de vida.

4.2.2. La importancia clave de la auto-producción

La combinación de diversos tipos moleculares con distintos tipos de químicas asociadas que permita la aparición simultánea de procesos auto-organizativos y de auto-ensamblaje generará la situación material y energética adecuada (acoplamiento de patrones globales y locales, cercanos y lejanos al equilibrio) para que el sistema pueda (*auto-*)*producir* las constricciones que forman parte del cierre organizacional característico de la autonomía, regulado, agente y, en definitiva, capaz de manipular el flujo termodinámico en pos de su propio beneficio. En un sistema autónomo, el requisito de la auto-producción de estas constricciones es clave para entender la toma de control del flujo termodinámico y su robusto auto-mantenimiento en un régimen alejado del equilibrio. En otras palabras, la auto-producción permite tomar el control de sus umbrales de existencia o sus límites de viabilidad. En otros tipos de cierres causales auto-mantenidos, como puede ser el ya citado ejemplo de la llama de una vela o las estructuras disipativas químicas, el patrón global generado es el encargado de mantener al sistema durante un tiempo determinado. Este patrón único no es suficiente para tomar el control de los límites de viabilidad y estos dependerán, en los sistemas disipativos físico-químicos, del entorno. Para tomar el control de tales límites es necesario el reforzamiento de la noción de auto-mantenimiento mediante el (doble) cierre causal regulado característico de los sistemas autónomos (ver sección 3.5.1.). Este cierre causal regulado sólo es

posible mediante la auto-producción o síntesis endógena de ambos tipos de componentes funcionales, constitutivos e interactivos.

En la búsqueda de una implementación química de sistemas autónomos intermedios (*infra-biológicos*) tendremos pues que utilizar, para empezar, mezclas químicas con un grado de diversidad molecular mínimo para permitir la presencia de procesos de diferente naturaleza. De entre éstos, será especialmente importante la simultaneidad de procesos de auto-organización que permitan dar lugar a patrones globales a partir de interacciones moleculares y procesos de auto-ensamblaje que permitan la aparición de patrones locales que tengan un efecto sobre los primeros. La sinergia de estos dos tipos de constricciones (locales y globales) será una de las claves para propiciar la auto-producción de diferentes tipos de constricciones (diferenciación funcional) que finalmente resultará en un control de los límites de viabilidad y, consecuentemente, en una noción de auto-mantenimiento mucho más robusta y estable (autonomía). El esquema de la autonomía puede aparecer (o, al menos, dar señales de su presencia) no únicamente en sistemas biológicos mínimos sino también en sistemas *químicos* suficientemente *complejos*. La *química de sistemas* de la cual hablaremos en el siguiente capítulo ofrece el escenario metodológico perfecto para llevar esto a la práctica (ver capítulo 5).

En el capítulo anterior y en éste se ha defendido la necesidad de entender la biología - y ahora también la química - de una forma sistémica, con el fin de contextualizar y dar sentido a propiedades relevantes para la biología. A continuación se discutirá brevemente qué quiere decirse con *sistema* y qué diferencias conceptuales tiene éste con otras mezclas moleculares no-sistémicas y, especialmente, con el concepto de *población molecular* (tan utilizado en los modelos evolutivos de origen de la vida, en los cuales se tiende a equiparar "vida" "capacidad de replicación/reproducción").

4.2.3 Reflexión sobre las diferencias entre sistema y población molecular

La comprensión sistémica de los sistemas biológicos parece un requisito necesario para dar sentido a sus propiedades bajo la perspectiva teórica de la autonomía. No obstante, como veíamos en algunos ejemplos de la Biología de Sistemas (capítulo 3), no siempre es fácil definir el sistema, qué significa y qué forma parte de él. De esto dependerá, en gran medida, que seamos capaces de identificar propiedades asociadas tan importantes como su límites o las funciones que lo integran.

Harold Morowitz, en su libro *Beginnings of Cellular Life* [1992] escribió, basado en ideas ya defendidas en algunos trabajos previos muy relevantes [Morowitz et al. 1988], que la integración de los sistemas químicos a partir de mezclas de poblaciones moleculares es un requisito imprescindible y temprano en el camino hacia la vida. Es preciso, por tanto, discutir qué diferencia estas mezclas iniciales de poblaciones moleculares de los sistemas integrados que encaminaron la química hacia la biología.

El término 'sistema' alude a un conjunto de entidades relacionadas entre sí ordenadamente, contribuyendo a un objetivo común. El término 'población', por otro lado, hace referencia a un conjunto de entidades de un mismo tipo (no tienen por qué estar constituyendo un orden) y, por lo general, es una manera estadística de aludir a un conjunto de individuos con una determinada carga genética en biología evolutiva. El conjunto de entidades, en los sistemas, parece tener relación con el orden o la organización entre esas entidades mientras que, en la población, parece tener relación con la naturaleza de éstas. A primera vista, esto puede recordarnos a la diferencia entre el tipo de simplificación basado en poblaciones moleculares (de un tipo) y el tipo de simplificación basado en sistemas ordenados de determinada manera (en un régimen autónomo, en este caso). La *relación ordenada* entre las (diferentes) entidades (moléculas, que pueden provenir de diferentes poblaciones moleculares) parece ser la clave de tal diferencia y de la del paso de una mezcla química aleatoria a un *sistema* químico (dentro de los cuales están los sistemas biológicos) a la que Morowitz se refiere en su libro.

4.3. El escenario protocelular

El término protocélula hace referencia al intento de generar un puente entre la materia química abiótica y las primeras formas de vida. Las protocélulas son modelos de trabajo artificiales de sistemas celulares mínimos o pre-celulares, teóricos o experimentales, que reconstruyen las propiedades básicas de lo biológico: el compartimento, el metabolismo y el registro informativo. El término *protocélula* se utiliza para referirse a la realización experimental o simulación teórica de cualquier combinación de estos tres subsistemas funcionales fundamentales [Rasmussen et al. 2009; Ruiz-Mirazo 2011].

En general, existen dos maneras de realizar una aproximación experimental al estudio de protocélulas: el enfoque *bottom-up*, que consiste en la re-construcción de sistemas integrados de tipo celular a partir del ensamblaje de componentes aislados (inorgánicos y/u orgánicos) muy simples y, el enfoque *top-down*, que consiste en la simplificación de células existentes mediante

técnicas de 'knock-out' genético hasta la expresión mínima necesaria para un funcionamiento celular.

Dentro del enfoque *bottom-up*, en el cual podemos situar la línea de trabajo y de concepción primaria de este manuscrito, podemos diferenciar la realización de dos tipos de protocélulas [Shirt-Ediss 2016]: las protocélulas básicas y las protocélulas híbridas. Las protocélulas básicas estarán compuestas de componentes moleculares y procesos químicos simples, generalmente prebióticamente plausibles (aunque no siempre). Su objetivo consiste, principalmente, en demostrar principios básicos del funcionamiento celular como la relación de la estructura celular con el balance osmótico o la capacidad de encapsulación; no obstante, las protocélulas de este tipo también son capaces de mostrar comportamientos más complejos, como la división proto-celular o el movimiento adaptativo. Las protocélulas híbridas son una especie de "sistemas quimera" en los cuales, además de componentes sencillos (generalmente constituyendo el compartimento) se incorpora maquinaria celular transplantada de células ya existentes (por ejemplo plásmidos, complejos proteicos, o sistemas completos de transcripción/traducción) para - mediante "este pequeño truco" - poder mimetizar propiedades biológicas algo más complejas, como puede ser la síntesis de proteínas en volúmenes pequeños o la interacción de ácidos nucleicos con membranas protocelulares (para una bibliografía detallada ver [Shirt-Ediss 2016], pág. 32). El trabajo experimental que se presentará y se defenderá en este ensayo (capítulo 7) entra dentro de la clasificación *bottom-up* de protocélulas básicas, como una contribución a la búsqueda del principio de autonomía en su grado de complejidad más básico (a partir de una química prebiótica). Más adelante en este capítulo (sección 4.4) veremos en más detalle los requisitos para llevar a cabo esta propuesta de un enfoque de construcción *bottom-up* de protocélulas desde el ámbito de la biología sintética.

La definición de protocélula, en cualquier caso, varía en relación a qué propiedades características utilicemos para definir vida en su mínimo exponente. Por ejemplo, David Deamer [2008] hace una lista de las funciones básicas que él considera necesarias para la fabricación de una protocélula. Esta lista asciende a las enumeradas a continuación: (1) el auto-ensamblaje de moléculas de tipo lipídico en un compartimento capaz de encapsular maquinaria molecular pero permeable a nutrientes que pasaran por difusión o a través de poros; (2) la capacidad de capturar energía (luminosa a mediante un sistema de pigmentos, química o oxido-reductiva); (3) la presencia de un metabolismo primitivo que acople la energía capturada a la síntesis de monómeros activados que crecerán mediante polimerización; (4) el crecimiento de los compartimentos por adición de moléculas anfífilas; (5) la presencia de un sistema regulatorio primitivo que controle tal crecimiento al modificar los procesos metabólicos y de polimerización; (6) el control de la re-

producción del sistema mediante polímeros informativos codificando polímeros catalíticos; (7) la correcta división de todo el sistema y, finalmente, (8) la transmisión de información entre generaciones (incluyendo la acumulación de errores ocasionales que posibiliten la evolución mediante selección natural). Como vemos, este listado de funciones "básicas" es muy exigente y requeriría para su fabricación un grado de complejidad similar al de las células de hoy en día. La realización química *bottom-up* de una protocélula con estas características es prácticamente inimaginable. Por eso, en el trabajo aquí presentado se recurrirá a una definición algo más laxa de protocélula: "cualquier modelo experimental o teórico que incorpore un compartimento auto-ensamblado (típicamente una estructura supramolecular como una vesícula lipídica) ligado a un proceso químico teniendo lugar alrededor o dentro de él, y destinado a explicar cómo pudieron aparecer formas de organización celular biológica más complejas" [Ruiz-Mirazo 2011]. Esta definición está profundamente inspirada por la teoría autopoietica que, como se vimos anteriormente, define vida como un compartimento con una organización interna que produce y mantiene la frontera de tal compartimento. Es importante recalcar la palabra *organización* dentro de la definición, pues esto permitirá construir protocélulas en base a las propiedades procedentes de la relación entre los componentes (en particular la complementariedad entre química y compartimento), más allá de qué componentes sean utilizados. El tipo de relación, en este caso, será aquella que dé lugar a una organización autónoma y permitirá extrapolar estos sistemas con el comienzo del esquema organizativo biológico fundamental, repetido a lo largo de todas las etapas de la evolución molecular prebiótica, hasta la configuración celular definitiva. La fabricación de protocélulas autónomas podrá abordarse asumiendo diferentes grados de complejidad, correspondientes a las diferentes etapas de las principales transiciones prebióticas (ver más adelante, sección 4.3.3).

4.3.1. Desde el principio, la compartimentación

Assumption 1 (Oparin Theory): Cells came first, enzymes second, genes much later.

Freeman Dyson 1985

La enorme diversidad de formas de vida que existen sobre la tierra tiene un obvio denominador común: su dependencia de las membranas celulares. No se conoce ningún tipo de sistema biológico en el que la unidad mínima no sea, de hecho, celular. El aspecto fenomenológico más evidente de lo biológico es, por tanto, el compartimento encapsulando un funcionamiento metabólico. Entonces, ¿podemos entender la vida de un modo acelular?

Harold Morowitz [1992] describió el origen de la vida como el "colapso" de la energía libre de una sopa prebiótica en dos fases: las membranas celulares y el resto de componentes geoquímicos. La generación de esta asimetría provocó una primera constricción de la energía (en forma de generación de gradientes, de pH, de voltaje) para su utilización en la fabricación de estructuras ordenadas en el interior de las células (o protocélulas). La canalización de la energía es la responsable de mantener un máximo de entropía inferior al que espontáneamente tendría el sistema y, por tanto, de mantener al sistema fuera del equilibrio (o lo que es lo mismo, de generar orden a partir del desorden)⁴. Las ventajas derivadas de una compartimentación desde etapas muy tempranas en el proceso de origen de la vida han empezado a ser apreciadas por una mayor parte de investigadores del campo. Incluso autores procedentes de la tradición del "mundo-ARN" aprovechan estas ventajas y explican la selección de replicasas encapsuladas en diferentes poblaciones de vesículas (*ribocélulas*) en virtud de su segregación espacial, funcionando cada ribocélula como una unidad de selección dentro de un proceso de evolución darwiniana [Szostak et al. 2001; Mansy et al. 2008; Blain & Szostak 2014]⁵.

Otros efectos ventajosos de la encapsulación que contribuyen a justificar su relevancia temprana para con el proceso prebiótico han sido enumerados por Shirt-Ediss [2016] :

1. Las vesículas (por ej. los liposomas) obedecen a un principio de continuidad. Todas las células de hoy en día usan las membranas fosfolípídicas como elemento central de su compartimentalización (y de muchas otras de sus estructuras - véanse los orgánulos celulares o la pared celular).
2. Las vesículas son permeables a una gran diversidad de moléculas pequeñas. Esto podría indicar un origen "heterótrofo" de las primeras protocélulas, absorbiendo los nutrientes necesarios del ambiente [Deamer 2008, Mansy 2010] resolviendo el dilema del estricto origen autótrofo propuesto previamente [Morowitz et al. 2000; Morowitz & Smith 2004; Wächtershäuser 1988; Blöchl et al. 1992; Drobner et al. 1990].
3. Los compartimentos permiten un 'efecto aislante' generando un microambiente con una química interna que está *a*) protegida del exterior (de posibles parásitos o inhibidores del exterior y *b*) concentrada en el interior, creando un volumen de tamaño microscópico que puede hacer las reacciones encapsuladas más favorables [Fallah-Araghi et al. 2014, Matsuura et al. 2012] - debido en multitud de ocasiones a un fenómeno de "crowding" [Sokolova et al. 2013, Ellis 2001].

⁴La teoría quimio-osmótica propuesta por Peter Mitchell (1961) apostaba ya por la importancia de las reacciones vectoriales en las células, permitiendo convertir la energía química en energía osmótica mediante la generación de gradientes de protones y de pH (tal y como ocurre en el clásico ejemplo de la ATP-sintetasa).

⁵ El propio Szostak ha escrito lo siguiente: "Although a protocellular structure poses more problems initially, it is actually simpler to solve these problems up front rather than leave them till later when they could become completely intractable" [Szostak 2012].

4. Los compartimentos representan unidades de selección, co-localizando poblaciones de distintos tipos moleculares. Esto permitirá que estas poblaciones se puedan mover como un todo a regiones con distintas composiciones, recursos o competidores [Hanczyc 2011]. Los compartimentos pueden crecer (por adición de monómeros del lípido) y pueden dividirse, transfiriendo parte de su composición a su descendencia.
5. Los compartimentos pueden proliferar de manera exponencial, autocatalíticamente [Stano & Luisi 2010].
6. Los compartimentos crean separaciones de fase en mitad de un medio homogéneo [Morowitz 1981, 1992]. Esto permite generar una diferencia entre un 'dentro' y un 'fuera' del sistema, dando lugar a gradientes de concentración o de pH [Chen & Szostak 2004] o a diferencias de oxido-reducción [Murillo-Sanchez et al. 2016]. Estos gradientes serán de tremenda importancia como almacenes de energía para, en algún momento, utilizarse en reacciones endergónicas.
7. Las membranas lipídicas (especialmente las bicapas) pueden funcionar como promotores y reguladores de variedad de reacciones químicas [Walde et al. 2014].
8. Los compartimentos funcionan como un andamiaje, que es importante *a)* para poner en contacto distintos tipos de química que no se darían en un medio acuoso, como la química de superficies o de fase (por ejemplo la química de interfase aceite-agua) y *b)* para anclar nanomáquinas que puedan tener una funcionalidad en la protocélula (catalizadores, receptores, bombas de iones, flagelos....)
9. Los compartimentos pueden generar variedad fenotípica mediante la llamada 'generación de novedad por agregación' [Rasmussen et al. 2009]; dos compartimentos con características diferentes pueden agregarse y combinarlas en una nueva organización.
10. Especialmente hablando, diferentes partes de la vesícula podrán desarrollar actividades químicas por separado, y unidas por el conjunto de la vesícula [Elani et al. 2014].

4.3.2. Compartimentos y autoproducción

Uno de los efectos más importantes de la compartimentación en lo que concierne a la búsqueda de un sistema autónomo básico es la simplificación de la idea autoproducción que va implícita en dicho programa de investigación [Ruiz-Mirzo & Moreno 2004, 2012; Murillo-Sánchez & Ruiz-Mirazo 2016]. La autoproducción es, como hemos visto más arriba, una característica esencial para la comprensión del tipo de cierre organizacional que se da en la autonomía. No obstante, también veíamos cómo en un esquema al estilo de los sets autocatalíticos de Kauffman, en el cual los componentes del sistema provienen de la transformación catalizada por algún otro

componente del sistema, la cantidad de componentes necesarios para consumir el cierre es alta y, su organización, compleja, (ver figura 4.3, izquierda).

En presencia de un compartimento, la co-dependencia producida entre los procesos de auto-ensamblaje (un compartimento auto-ensamblado) y los procesos de transformación que encapsula (entre los cuales algunos producen los ingredientes de la membrana), provoca un cierre causal conceptualmente similar al primero, pero experimentalmente mucho más sencillo de realizar (ver figura 4.3, derecha).

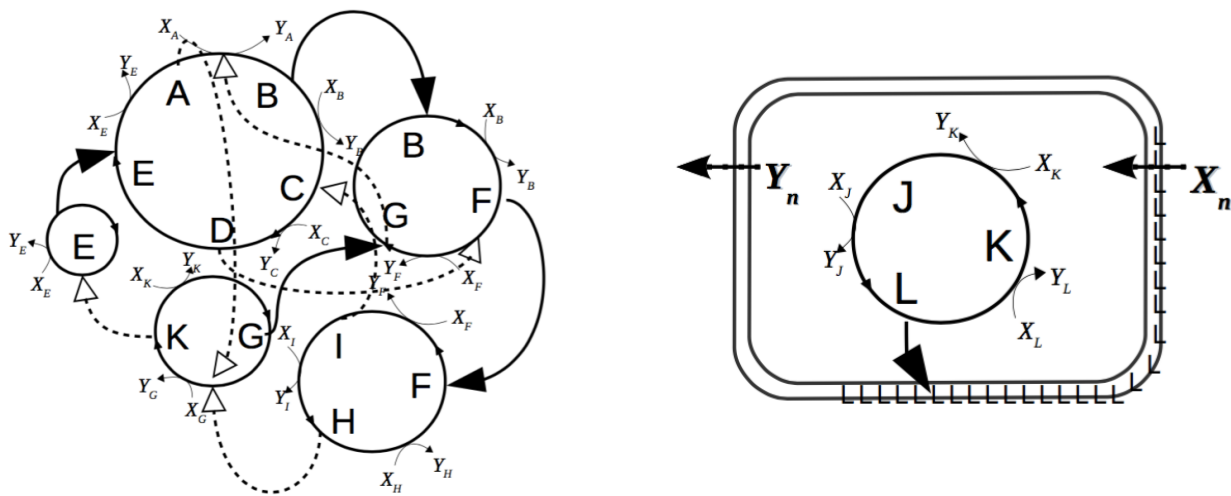


Figura 4.3. Esquema de auto-producción mediante sets autocatalíticos ‘a la Kauffman’ (izquierda) en el cual es necesario una compleja y numerosa red de cierres catalíticos trabajando simultáneamente. La presencia de un compartimento simplifica significativamente el escenario manteniendo el mismo esquema auto-productivo (derecha). Ver detalles en el texto.

Una implementación experimental de esta co-dependencia podría consistir en la encapsulación dentro de una vesícula lipídica de un sistema reactivo sintetizando un ingrediente lo suficientemente hidrofóbico como para unirse espontáneamente a la membrana, contribuyendo a su estabilidad o a su crecimiento/división. Este vínculo sencillo y directo constituye, por un lado, un acoplamiento funcional entre química y frontera física como el que precisa la definición de protocélula y, por el otro, una dinámica auto-productiva como la que precisa la definición de autonomía. Estas *protocélulas auto-productivas* serán, pues, un buen punto de partida sobre el cual comenzar a investigar experimentalmente el esquema organizativo autónomo básico.

4.3.3. Transiciones prebióticas en torno al modelo protocelular auto-productivo

Como se explicaba al principio de este capítulo, la intención del enfoque genealógico es la de estudiar, en capas de complejidad progresiva, la organización básica (autónoma) que, en última instancia, subyace a todos los sistemas biológicos. Este tipo de organización precisa de un cierre funcional característico que puede ser realizado por un sistema químico suficientemente complejo mediante la generación espontánea de protocélulas auto-productivas del tipo a las mencionadas arriba. Según se trata de ilustrar en la figura 4.4 (explicada resumidamente en la tabla que la acompaña), previo a la generación de protocélulas auto-productivas (autonomía básica), los sistemas químicos precursores tuvieron que impulsar una re-organización previa de la materia, en una transición preparativa (T0), mediante el auto-ensamblaje de compartimentos (lo que Morowitz llamó “colapsar” en dos fases). Durante la etapa vesicular subsiguiente (e0) los sistemas disponían de un ancho espacio fenotípico (todas las posibilidades combinatorias químicas compartimentadas) compitiendo en términos de robustez y durabilidad. En algún momento, la combinación ventajosa de procesos químicos de auto-organización y auto-ensamblaje dio pie a la emergencia de protocélulas con un esquema organizativo autoproducente (T1) que mejoró significativamente su capacidad de auto-mantenimiento, diferenciándolas en una nueva etapa - una etapa clave - en la historia evolutiva molecular prebiótica: el origen de la autonomía (e1). El régimen organizativo autónomo se repetirá o redefinirá y será reforzado a lo largo de las diferentes transiciones prebióticas: primero (T2), con el origen de la regulación (el doble cierre causal organizativo); y, finalmente (T3), con la instrucción genética (desdoblamiento fenotipo-genotipo). La asunción o hipótesis fundamental de este esquema es que el cierre organizacional autónomo es redefinible, o reconfigurable y, por tanto, podrá ser utilizado como constructo teórico de referencia para entender las innovaciones y los avances mecanísticos y sistémicos en cada una de las etapas de la evolución molecular prebiótica, desde una mezcla sucia de componentes químicos hasta la célula actual.

Así pues, en base a las innovaciones más importantes realizadas sobre el esquema organizativo básico autónomo, se han diferenciado aquí cuatro transiciones principales (T0-3) que separan cuatro etapas (e0-e3) en la evolución prebiótica concebida como un proceso de desarrollo protocelular (ver figura 4.4). Cada una de estas etapas se identificará por la aparición de procesos funcionales característicos que habrían conseguido reforzar el cierre organizacional (detalles en la tabla). En cada etapa, una vez estabilizadas, las poblaciones protocelulares habrían podido generar suficiente variabilidad funcional para, tras un proceso de competición y selección y la superación de una serie de cuellos de botella, conseguir completar el grado de complejidad del tipo de autonomía

que hoy identificamos con los organismos vivos⁶. El núcleo teórico y experimental de esta tesis está centrado en la primera transición (T1, el origen de una autonomía básica) y, mayoritariamente, en la etapa prebiótica previa a ésta (T0 etapa vesicular y funcionalización de vesículas).

PRINCIPALES TRANSICIONES PREBIÓTICAS	
MEZCLAS QUÍMICAS COMPLEJAS	Mezclas heterogéneas de poblaciones moleculares muy diversas formando redes en interacción alejadas del equilibrio. Procesos predominantes: auto-catálisis, auto-organización y auto-ensamblaje de estructuras supramoleculares.
T ₀	COMPARTIMENTOS AUTOENSAMBLADOS: DISTINCIÓN DE FASES
VESÍCULAS (e ₀)	Agregación espontánea de membranas y compartimentos. Sistemas químicos compartimentados Procesos predominantes: encapsulación/concentración de componentes, generación de gradientes, químicas fase-específicas, diferenciación de procesos (inicio de una diferenciación de funciones).
T ₁	INTEGRACIÓN FUNCIONAL: AUTO-PRODUCCIÓN (AUTONOMÍA BÁSICA)
PROTOCÉLULAS AUTOPRODUCTIVAS (e ₁)	Compartimentos asociados a químicas reactivas formando sistemas auto-productivos. Procesos predominantes: Auto-ensamblaje ligado a auto-organización. Auto-producción sin conservación fiable de secuencia (oligómeros). Co-dependencia y cooperación entre diferentes tipos de químicas (diferenciación funcional).
T ₂	DOBLE CIERRE CAUSAL: REGULACIÓN
PROTOCÉLULAS REGULATORIAS (e ₂)	Protocélulas auto-productivas con funciones regulatorias. Procesos predominantes: reforzamiento del segundo cierre organizacional con funciones regulatorias. Autoproducción de componentes más complejos (biopolímeros) que comienzan a mantener su secuencia (aparición de mecanismos hereditarios). Reforzamiento de las funciones interactivas y la agencialidad.
T ₃	INSTRUCCIÓN GENÉTICA
CÉLULAS	Células con metabolismos genéticamente instruídos, LUCA. Procesos predominantes: Desacoplamiento genotipo-fenotipo. Autoproducción fiable. Modularidad. Mecanismos de herencia ilimitada. Evolución abierta.

Tabla 4.1. Descripción de las principales transiciones prebióticas (T₀-T₃) y las etapas de transición (e₀-e₃) en una evolución prebiótica en torno al modelo de protocélulas autónomas mínimas. Más adelante se hace una reflexión entre las principales etapas de esta evolución molecular prebiótica y el origen de la identidad (infra)biológica (capítulo 6).

⁶ Los detalles de esta propuesta pueden ser encontrados en el Apéndice (3)

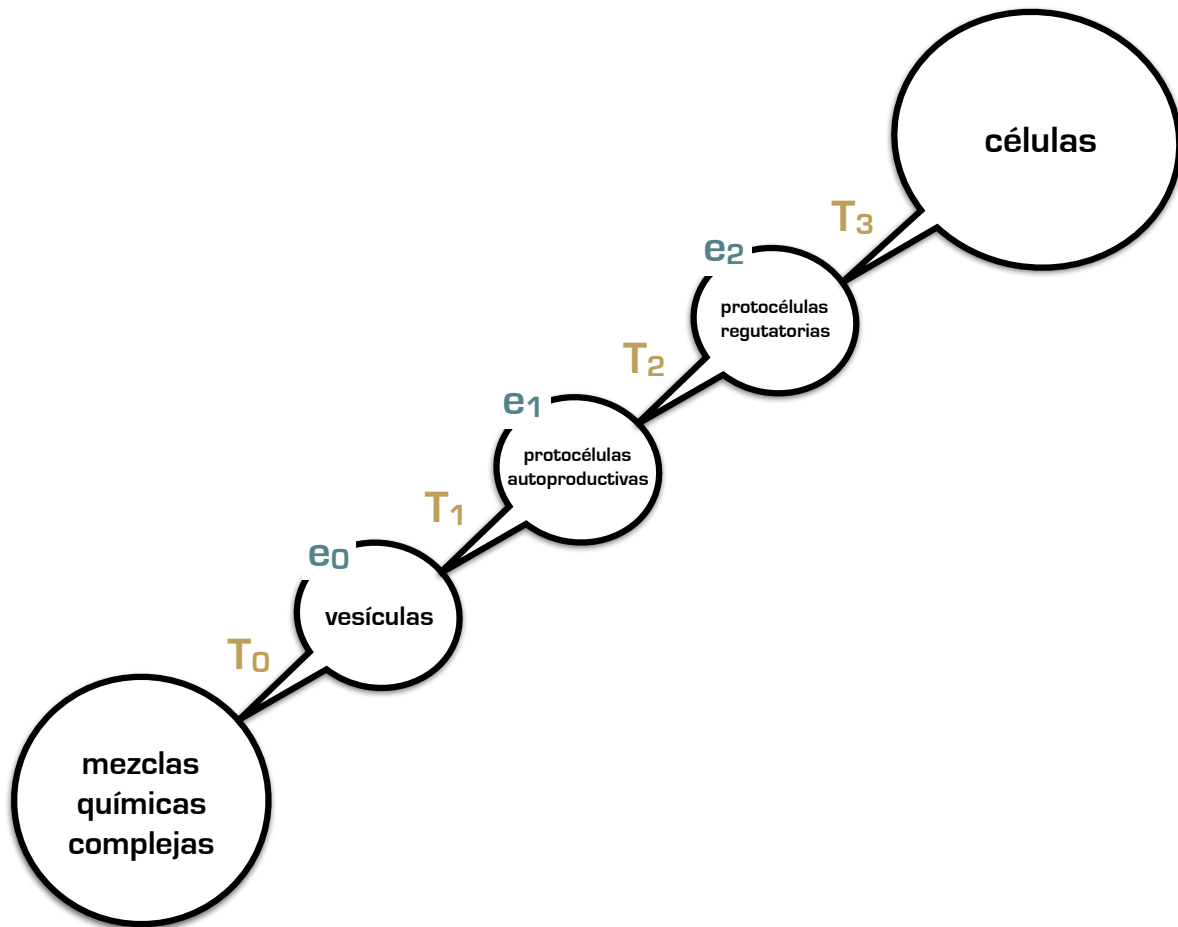


Figura 4.4. Etapas de transición en una evolución prebiótica en torno al modelo protocelular autónomo. Ver en la tabla 4.1 la descripción de cada etapa (e_n) y los principales eventos que suceden en cada transición (T_n).

4.3.4. Un grado de complejidad organizacional mínimo es necesario

Los requisitos organizacionales para la generación (natural o en el laboratorio) del régimen autoproductivo protocelular son mucho menos exigentes que aquellos que precisa la compleja red de ciclos autocatalíticos imaginada por Kauffman en un escenario prebiótico. De hecho, hemos visto cómo este tipo de protocélulas puede emerger espontáneamente a partir de componentes químicos y reacciones sencillas compartiendo un nicho común. No obstante, su grado de complejidad en términos de diversidad composicional y organizativa no es para nada despreciable.

Las protocélulas auto-productivas, como veíamos en el esquema de transiciones prebióticas (sección anterior), requieren una "preparación del terreno" previa que impone ya ciertos requisitos.

La organización funcional que exige la emergencia del régimen auto-productivo (ver sección 5.2.2) consta de, al menos, dos procesos funcionales distinguibles, actuando recursivamente el uno sobre el otro, y precisa de la presencia de un grado mínimo de diversidad composicional en cuanto al tipo de molécula - y por tanto, al tipo de química. La principal ventaja del auto-ensamblaje espontáneo de una membrana vesicular es la consecuente generación de dos fases químicas distintas que dotan al sistema instantáneamente de esta diversidad. Los procesos relacionados con la fase lipídica de la membrana y aquellos relacionados con la fase acuosa del interior vesicular tendrán, automáticamente, contribuciones distintas al total del sistema protocelular.

La organización básica y primigenia de la materia en forma de diferenciación de fases de la etapa vesicular (e_0 , en la tabla) permitirá a estos sistemas abrir un espacio fenotípico en torno a los distintos tipos de procesos que puedan darse en esas diferentes fases, con diferentes grados de eficacia en cuanto a la dotación de estabilidad y robustez (permanencia, auto-mantenimiento) de esas vesículas. Es decir, la diferenciación de fases prepara el terreno en cuanto a la diferenciación de procesos. No obstante, la generación de protocélulas auto-productivas requiere todavía dar un paso más en cuanto a complejidad organizativa: el cierre causal funcional - la *integración funcional* - entre estos procesos y, en concreto, entre procesos de auto-ensamblaje que permitan la formación de estructuras de constricción y procesos de auto-organización que generen los patrones macroscópicos a constreñir, alejando al sistema del equilibrio. Es únicamente a partir de este momento cuando podemos comenzar a hablar, propiamente, de diferenciación funcional y de organización autónoma.

La presencia de un mínimo irreducible de complejidad organizacional es algo que Ganti ya había dejado indicado en su modelo del 'Chemoton', en el cual la co-existencia de los tres sub-sistemas catalíticos es necesaria para la realización funcional básica de una célula. Aunque el modelo de protocélulas autónomas básicas es algo más simple (al no incluir el sub-sistema genético desde el inicio - éste aparecería en las últimas etapas del proceso prebiótico, para reforzar el régimen autónomo y completar el esquema celular actual) sí que incluye, entre los requerimientos mínimos, el auto-mantenimiento y auto-producción de una membrana y un proto-metabolismo.

Recientemente, en [Ruiz-Mirazo et al. 2017] han sido propuestas una serie de exigencias mínimas organizativas que podrían haber permitido que diferentes poblaciones de sistemas químicos autónomos - sometidos a una evolución por competición y selección natural en base a la eficacia de robustez y estabilidad de la organización protocelular funcional - entrasen en una carrera

en complejidad hasta originar la vida. Según los autores es necesario el desarrollo de - como mínimo - cuatro mecanismos de control para la aparición de este tipo de unidades de selección: i) un control espacial (que delimite la frontera física), ii) un control cinético (coordinando los procesos reactivos), iii) un control energético (para facilitar la barrera termodinámica) y iv) un control hereditario (para tener la posibilidad de evolucionar hacia sistemas más complejos). Los tres primeros mecanismos permiten al sistema funcionar como autónomo; el mecanismo hereditario, por su parte, permitiría fijar el tipo de integración funcional que conforma cada unidad autónoma y transmitirlo a su descendencia. La integración temprana de estos cuatro mecanismos en la historia evolutiva prebiótica podría haber permitido que ésta fuera guiada hacia un fenómeno biológico sin encontrarse con los problemas derivados típicamente de las aproximaciones más puramente evolutivas, o más puramente fisiológicas, al origen de la vida (centradas, principalmente en "su molécula"). Entre otros, como hemos venido viendo, afrontar el origen de una molécula muy compleja (como en el caso del "mundo-ARN") o dar sentido a la falta de continuidad con la complejidad biológica (como en el caso del "mundo-proteico").

No obstante, la principal desventaja de este enfoque es su difícil comienzo, el "salto" desde una química heterogénea hasta este grado mínimo (pero relativamente alto) de organización. Podemos imaginar que el origen de la autonomía básica no fue único, sino más bien un "ir y venir" de subidas y bajadas por montañas de energía hasta caer en estados metaestables, suficientemente robustos y capaces de persistir durante un tiempo, generar variabilidad, crecer y dividirse. Este esquema organizativo - al principio muy frágil y dependiente de las fluctuaciones del ambiente - permitió, en algún momento, la adquisición de alguna innovación organizacional que le permitió tomar sus propias riendas; esta novedad supuso un antes y un después en las reglas causales de la naturaleza y abrió el camino hacia el origen de la vida. El desconocimiento del escenario geo-físico-químico exacto existente en la época prebiótica, la enorme variedad de procesos químicos no-lineales que emergen de cualquier mezcla molecular compleja (sumado a la dificultad para su análisis) suponen un reto pero, también, una oportunidad, para indagar en los sistemas responsables de tal innovación en los regímenes causales de la naturaleza. La Biología Sintética (entendida como la biología de la síntesis) unida a la metodología de la 'Química de Sistemas' (capítulo 6) debería ayudarnos a comprender algunas de las claves. Veamos a continuación de qué manera podría llevarse a cabo todo esto.

4.4 La posible contribución de la Biología Sintética⁷

La mayor parte de las líneas de investigación abiertas en biología sintética tienen, actualmente, a la ingeniería genética y la biotecnología como principales representantes [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013] y trabajan sobre la base de ingredientes moleculares copiados o extraídos de otras formas de vida. Con esto se persigue la generación de un comportamiento o efecto nuevo a partir de la integración/inserción de un conjunto de módulos funcionales ('biobricks') y otros ingredientes básicos previamente sintetizados (en la mayor parte de los casos, por otros organismos vivos). Dentro de esta misma clasificación podría incluirse la realización de protocélulas híbridas comentadas previamente (ver sección 4.3). No obstante, cada vez se hace más patente la necesidad de profundizar en los conceptos más fundamentales del funcionamiento biológico para llevar a cabo estos objetivos [Serrano 2007; Kwok 2010; Kittleson et al. 2012]. Concretamente, comienza a echarse en falta la investigación en torno a la *síntesis* de esos módulos de construcción que la biología sintética utiliza en sus aproximaciones ingenieriles (con el fin de modificar o mejorar una u otra función del sistema). Resulta que el propio proceso de auto-producción de estos 'biobricks', que se da naturalmente en los sistemas biológicos - pues es parte de la definición de estos - y que hasta ahora ha sido obviada en el trabajo biotecnológico (el cual utiliza únicamente el producto de esta producción), podría tener algo importante que decir para lograr una mejor comprensión - y utilización - de su funcionalidad.

Existe la posibilidad de realizar una biología sintética alternativa, que encare el nudo central de esta cuestión (la síntesis autónoma de componentes con potencial funcional en un sistema). Esto implica una estrategia experimental muy distinta a la habitual (la ingenieril) que, en lugar de diseñar sistemas modificables desde el exterior, busque las condiciones de posibilidad para que el sistema se auto-construya y auto-modifique a sí mismo ante fluctuaciones impuestas externamente [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013]. Este problema, intuitivamente similar a aquel que nos enfrenta al origen del metabolismo y, a su vez, al origen de la autonomía, de la identidad auto-constituida, supone un reto metodológico enorme que se plantea como una paradoja. ¿Cómo producir sistemas auto-producidos sin intervenir en esa misma capacidad auto-productiva, que es su principal característica? Desde aquí se proponen tres puntos a tener en cuenta para encarar esta nueva estrategia [Murillo-Sánchez & Ruiz-Mirazo 2016]:

- i) *Ampliar del estudio de sistemas auto-catalíticos*: La auto-catálisis se presenta como un mecanismo esencial en la auto-producción de los seres vivos, siendo desde un motor para la

⁷ Ideas extraídas principalmente de Apéndice (1).

producción material, molecular, hasta un imperativo organizacional para el crecimiento y la reproducción. De manera más específica, sería preciso explorar redes de complejidad creciente que produzcan robustez dinámica en el sistema pero, a su vez, mantengan el potencial para la producción de nuevos componentes y comportamientos emergentes.

ii) *Apostar por la diversidad y heterogeneidad*: El empleo de sistemas de composición mixta y distribución heterogénea de fases (principalmente, tal y como hace la vida, acuosas e hidrofóbicas) hará más complicado pero más interesante el estudio de estos sistemas. Una de las claves consistiría en explorar si estos compuestos fase-dependientes son capaces de generar dinámicas auto-organizativas (patrones de orden espacio-temporal alejados del equilibrio) y de auto-ensamblaje (formación de estructuras supramoleculares de cuasi-equilibrio) combinadas, que permitan la implementación de un control espacial (por ejemplo una constricción de la difusión) y posibilite 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] y corroborado por los enfoques más recientes de [Epstein 2014]).

iii) *Auto-producción compartimentada*: La compartimentación proporciona ventajas reales como ya se ha discutido previamente, entre ellas hace posible un sentido de autoproducción diferente y más sencillo, más plausible a su implementación ‘*bottom-up*’ (ver, como ejemplo de gran interés en esta línea [Hardy et al. 2015]).

4.4.1. La auto-fabricación: ventajas de los planteamientos ‘bottom-up’ (desde la Química)

Los sistemas biológicos son fábricas de sus propios componentes: se auto-construyen en un sentido fuerte (si bien nunca estrictamente completo). Como venimos viendo hasta ahora, para lograr este régimen autoproduutivo (o autonomía básica) los ingredientes materiales iniciales y los tipos de interacción implicados deben ser lo suficientemente diversos, al tiempo que moldeables y acoplables entre sí, posibilitando el producto de una integración funcional. La *química* proporciona un mundo de posibilidades dinámicas mucho más ricas que las que proporciona la física (a pesar de que existan comportamientos dinámicos interesantes en sistemas físicos como las ‘celdas de Bénard’ y otros fenómenos de organización física [Nicolis 1989; Bishop 2012]). 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. El análisis de este tipo de sistemas era, hasta ahora,

demasiado dificultoso, no obstante, hace unos pocos años, el nacimiento de la Química de Sistemas [von Kiedrowski 2005; Ludlow & Otto 2008] permite estudiar experimentalmente mezclas químicas complejas, 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 [de la 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. Veamos en el siguiente capítulo qué es y qué posibilidades otorga el nuevo campo de la Química de Sistemas.

Capítulo 5

LA QUÍMICA DE SISTEMAS COMO LA PLATAFORMA IDEAL PARA ABORDAR EL PROBLEMA DE LOS ORIGENES DE LA VIDA

La química de sistemas es un campo de investigación aún muy joven. Fue hace diez años cuando, en una reunión del proyecto científico cooperativo COST, se convocó el primer workshop dedicado a esta disciplina [von Kiedrowski 2010]. Allí se encontraron reunidos mayoritariamente representantes de campos relativos al Origen de la Vida y a la química supramolecular, que veían en la química de sistemas un punto en común para abordar los sistemas complejos. Desde esta perspectiva, se propuso una definición temprana de la disciplina ‘Química de Sistemas’ como: un esfuerzo en común entre la química prebiótica y la química supramolecular ayudada por los avances computacionales de la biología de sistemas y la química teórica. El objetivo de esta disciplina es el de abordar la integración de supersistemas dinámicos que incluyan, al menos, un subsistema autocatalítico. Entendida como el ala “bottom-up” de la biología de sistemas, la Química de Sistemas trabajaría para la realización de una biología sintética que reforzara la comprensión de las raíces químicas de la vida.

5.1. En el núcleo del cambio de estrategia: las Químicas

Dinámicas Combinatorias

La química dinámica combinatoria (Dynamic Combinatorial Chemistry o DCC) es, junto con otros sistemas más conocidos de osciladores, replicadores y sistemas auto-ensamblados, uno de los ingredientes estrella de la química de sistemas.

Las DCC tienen sus raíces en la química supramolecular [Lehn 1995; 1999], pues comparten entre sí dos de sus pivotes centrales: el auto-ensamblaje y el reconocimiento molecular. La tendencia de la química supramolecular hacia sistemas cada vez más complejos y su afinidad en torno al objetivo de encontrar respuestas a propiedades del sistema global, ha propiciado el acercamiento, o incluso la fusión parcial de este campo con el de la Química de Sistemas.

Las DCCs se basan en procesos reversibles de conexión (puentes de hidrógeno, enlaces *Van der Waals*, reacciones redox o enlaces ión-metal) entre una colección aleatoria de “building-blocks” que forman, continua y espontáneamente, constituyentes supramoleculares formando una *librería* (Dynamic Combinatorial Library o DCL). La generación de estructuras supramoleculares a partir de estos “building blocks” ha demostrado dotar al sistema de funciones emergentes imprevisibles a partir de sus componentes moleculares individuales. La distribución de los componentes está regida por un control termodinámico, son los eventos de reconocimiento molecular y la formación de estructuras más estables los que determinan la selección y la abundancia de determinada parte de ellos. Aunque la tendencia sería a imaginar que los rendimientos globales de las reacciones de la librería son predecibles de acuerdo a las condiciones termodinámicamente controlables, aparecen comportamientos complejos, contra-intuitivos, que únicamente son comprensibles si tratamos el conjunto a nivel de sistema. Por ello, las DCC son una valiosísima herramienta para el desarrollo de un marco teórico del comportamiento de redes de moléculas cercanas al equilibrio y bajo la acción de estímulos externos. Por otro lado, cada vez existe más interés y mejores capacidades analíticas para trabajar con DCCs *alejadas* del equilibrio, las cuales resultan especialmente interesantes en el estudio de la química prebiótica por su carácter auto catalítico y auto-organizativo y su amplio grado de libertad para la emergencia y plasticidad de funciones colectivas.

La aplicación de principios biológicos a los sistemas químicos (en otras palabras, el *mirar la química con ojos de biólogo*) resulta una buena estrategia para discriminar, de entre todas las redes moleculares con procesos auto-catalíticos y auto-organizativos emergentes, aquellos que puedan parecerse más a la complejidad biológica. En el recientemente formado campo de investigación en

‘Química Prebiótica de Sistemas’ los científicos trabajan con redes de precursores de biomoléculas para tratar de encontrar las raíces químicas a los fenómenos biológicos.

Por último, al final de este capítulo veremos cómo esto queda especialmente bien ejemplificado con el desarrollo del programa de investigación con protocélulas dirigido a la fabricación “bottom-up” (a través de la Química de Sistemas) de vesículas funcionales.

5.1.1 Librerías moleculares

Las librerías dinámicas combinatorias (Dynamic Combinatorial Libraries o DCLs) están formadas por un número determinado de moléculas de uno o varios tipos y pertenecientes a uno o varios tipos de química. Estas moléculas se encuentran interaccionando, mediante enlaces covalentes o no, en una serie de reacciones generalmente reversibles y cercanas al equilibrio, dando lugar a estructuras de composición (relativamente) distinta pero con funcionalidades (relativamente) similares. Las DCLs están, principalmente, controladas termodinámicamente y por ello son sensibles a los cambios en las condiciones internas o externas (plantillas, temperatura, pH, luz, campos eléctricos, etc) que afectarán directamente en la distribución de sus productos. Todas estas características permitirán seleccionar y calibrar artificialmente (externamente) aquellas estructuras mediante las cuales se obtenga el tipo de función más adecuado al objetivo buscado (un receptor, una cápsula, un replicador, una nano-máquina...).

En la tabla (5.1) se observa, resumidamente, la enorme diversificación en las funcionalidades y los procesos de los cuales toman parte las distintas DCCs más comunes hasta la fecha (muchos de estos ejemplos pueden encontrarse en [Li et al. 2013]). Esta diversidad podría ser incluso más amplia, pues la combinatoriedad en las DCCs impone escasos límites a la imaginación de los científicos encargados de diseñarlas. El primer y más extendido uso de las DCCs fue y sigue siendo el descubrimiento, la síntesis y la correcta purificación de moléculas bio-activas, de nuevos receptores para biomoléculas o de bio-catalizadores. Estas DCLs están basadas en mecanismos de reconocimiento molecular y en la formación de enlaces covalentes entre componentes de la librería, encontrándose éstos en solución o, alguno de ellos, estabilizado mediante el anclaje a un sólido. La precipitación, volatilización o la separación entre diferentes fases funcionarán como mejoras para la eficacia en el aislamiento de estos nuevos productos. Basado en el auto-ensamblaje, el desarrollo de cápsulas o de agentes quelantes para una administración farmacológica coordinada y programada es otra de las aplicaciones más comunes. Clásicamente las DCLs son gobernadas mediante un control termodinámico y constan de una diversidad en cuanto al *tipo* de componente relativamente baja (la

n° de fases	1 fase/DCLs en solución				DCLs multifase				
	descubrimiento, síntesis y purificación de moléculas bioactivas, receptores, ligandos y catalizadores	fabricación de enlaces topológicos / estructuras entrelazadas	fabricación de cajas y cápsulas	descubrimiento, síntesis y purificación de moléculas bioactivas, receptores, ligandos y catalizadores	transporte de cargas / agentes quelantes	replicadores	desarrollo superficies dinámicas y materiales "inteligentes"	nanomáquinas y moléculas "caminantes"	procesadores de información química; memorias químicas; operadores lógicos
Uso/Objetivo	baja	baja	baja	media	media	alta	alta	alta	alta
Diversidad composicional	termodinámico	termodinámico	termodinámico o cinético	termodinámico	termodinámico	cinético + termodinámico	cinético + termodinámico	cinético + termodinámico	cinético + termodinámico
Tipo de control	reconocimiento z uniones moleculares	reconocimientos y uniones moleculares	auto-ensamblaje	unión a sólidos, volatilización, separación líquido-líquido, separación agua-líquido	separación entre soluciones agn-líquido	auto-ensamblaje + autocatálisis + redes catalíticas reversibles	auto-ensamblaje + difusión + autoorganización + autocatálisis + uniones reversibles	enlaces covalentes dinámicos + autocatálisis + uniones reversibles	control cinético de la constitución, configuración y coordinación
Ejemplos	Otto & Kubik 2003; Vial et al. 2006; Nielsen & Ulven 2008; Gasparini et al. 2010; Prins & Scrimin 2009	Belowich et al. 2010, 2012; Chung et al. 2009; 2012	Takahagi et al. 2009; Stefankiewicz et al. 2012; Ziach et al. 2011	Kiekota et al. 1997; Bersenus et al. 2008, 2010; Iwasawa et al. 2007; McNaughton et al. 2008; Bugaut et al. 2006	Nitschke 2007; Riddell et al. 2012; Saggiomo & Liming 2009; Pérez-Fernández et al. 2009	Nyugen et al. 2009; Carnall et al. 2010; Dadon et al. 2012; Ura et al. 2009	Tauk et al. 2009; Sakai & Matile 2011; Toledano et al. 2006; Minkenberg et al. 2009; Wang et al. 2011	Von Delius et al. 2010; Campaña et al. 2012; Kovaricek & Lehn 2012	Campbell et al. 2010; Chaur et al. 2011

Tabla 5.1. Tipos de DCLs y propiedades dinámicas características. Ver texto para detalles.

librería genera una enorme diversidad de componentes pero dentro de sólo uno o dos tipos de química distintos, generalmente). Los tipos de procesos, por tanto, serán también cualitativamente sencillos y dirigidos a un interés concreto del investigador. Por ejemplo, las DCLs han permitido mejorar significativamente el descubrimiento de receptores permitiendo el rastreo de millones de moléculas auto-generadas por la librería mediante reacciones reversibles y enlaces covalentes, al mismo tiempo que facilita su purificación mediante la modulación del sistema ante cambios en las variables termodinámicas.

Sin embargo, la propiedad más peculiar y característica de las DCCs es su comportamiento altamente sistémico. A pesar de tratarse de mezclas bajo control termodinámico, las DCLs exhiben comportamientos no tan fácilmente predecibles debido a su funcionamiento en red y la estrecha interconectividad entre sus componentes, lo cual hace necesaria su comprensión como sistemas globales para el correcto análisis de sus resultados. Las DCLs se vuelven especialmente interesantes a partir de un cierto nivel de diversidad de componentes, cuando la aparición de sinergias entre procesos añaden un control cinético al control termodinámico, permitiendo el alejamiento del equilibrio de tales mezclas complejas. Esta propiedad ha sido aprovechada por la Química de Sistemas, tanto por su aplicación tecnológica (como en el caso de los materiales ‘inteligentes’, tubos fotónicos o las nano-máquinas) como en la investigación más fundamental en químicas complejas y comportamientos de tipo proto-biológico. El colectivo de procesos emergentes puede encontrarse actuando al mismo tiempo y/o coordinadamente bajo algún tipo de jerarquía espacial (auto-ensamblaje), temporal (difusión) o espacio-temporal (auto-organización), similares a aquellas que gobiernan los actuales sistemas vivos y por ello abren para el campo de la química prebiótica de sistemas un interesantísimo escenario en el cual realizar sus investigaciones.

5.1.2. Librerías *versus* poblaciones moleculares

La denominación de “librería”, en el contexto de las DCCs, pone de manifiesto una especie de necesidad por diferenciar estos conjuntos moleculares en interacción de su caracterización en la más tradicional denominación de “población” molecular. Aunque ninguno de los trabajos en DCCs revisados explicita particularmente el por qué de esta diferenciación, la diferente terminología tiene (voluntaria o involuntariamente) un consenso generalizado. Lo cierto es que, si revisamos más detalladamente el tipo de colectivos que estos dos términos describen tradicionalmente, podemos encontrar diferencias significativas y además particularmente relevantes a la hora de caracterizar mezclas químicas complejas.

Aunque el término “población” se refiere también a “conjunto”, éste tiene, por añadido, un significado genealógico inherente, un sentido de parentesco entre sus integrantes, inscritos en una línea histórica y de continuidad en una serie evolutiva. La referencia a una población molecular indica normalmente un conjunto de moléculas emparentadas tratando de conservar su *secuencia* (generalmente se trata de moléculas lineales con una secuencia) mediante mecanismos replicativos embebidos en un proceso genealógico-evolutivo. El término “librería”, por otro lado, se refiere a un conjunto de entidades, en el sentido de una *colección* de componentes y procesos. Es decir, la referencia a una librería molecular tiene un sesgo totalmente ahistórico e indica un conjunto de moléculas poseedor de determinadas “piezas” y generador (por recombinación de las mismas) de diversidad y de novedad.

Así pues, la primera diferencia principal que encontramos entre las librerías y las poblaciones moleculares es su significado ontológico sincrónico y dicrónico, respectivamente. Mientras que las poblaciones sólo tienen sentido cuando están inmersas en una historia evolutiva, las librerías, aunque pueden ser utilizadas a través de un mecanismo evolutivo (por ejemplo, en una evolución molecular “in vitro” para la mejora de alguna propiedad de la librería) encuentran su significado ontológico en cualquier momento discreto de tiempo, dada su composición y su estructura. Esta característica resulta interesante para tratar de entender una organización química concreta y sus propiedades actuales, en línea con el tipo de aproximación fisiológica adoptada en este trabajo.

La segunda diferencia tiene que ver, precisamente, con el *tipo* de organización química que puede ser observado en uno u otro conjunto y su interés en un contexto prebiótico. Aunque la correcta replicación de las moléculas pertenecientes a ciertas poblaciones moleculares genera, también, la adquisición de cierta disposición funcional (véase por ejemplo el trabajo de Ashkenasy y colaboradores en 2008 : [Dadon et al. 2008]), el funcionamiento modular, cooperativo y recombinatorio de las librerías, hace que su organización funcional se parezca bastante más a la de los seres vivos. En relación a esto también el tipo de definición de individualidad que puede ser descrito en ambos conjuntos moleculares será cualitativamente diferente; argumentaré esto en mayor profundidad en el capítulo 7, pero una primera noción intuitiva puede ser ya extraída de lo aquí mencionado. En términos generales, el carácter de *sistema (funcionalmente integrado)* en una población molecular es mucho más débil que en una librería molecular; mientras que cada molécula replicadora de la población funciona y es seleccionada por su capacidad replicativa individual (aunque lo haga a costa de, o ayudada por, otras moléculas de la población), los componentes de la librería son seleccionados (artificialmente, dado su interés específico) en conjunto, por poseer ciertas características sistémicas globales. Estas propiedades globales pueden ser muchas y muy

variadas (ver tabla 5.1) dada la capacidad recombinatoria y modulable de las librerías.

La tercera diferencia tiene que ver de hecho con esto. Las poblaciones moleculares tienen un carácter conservador intrínseco mientras que las librerías son productoras innatas de diversidad. Por tanto, el desarrollo y la presencia de funciones distintas estará mucho más patente en estas últimas, pudiendo darse la actuación sinérgica de varios mecanismos (y a diferentes niveles espaciales, temporales o espacio-temporales), dada una diversidad composicional mínima (ver los ejemplos de las últimas columnas de la tabla 5.1). En las poblaciones moleculares, y a pesar de que se ha comprobado la asistencia autocatalítica y catalítica de ciertas secuencias sobre otras [Vaidya et al. 2012], la funcionalidad del conjunto se verá prácticamente reducida a la replicación.

En resumen, es bastante evidente que las librerías alejadas del equilibrio resultan especialmente interesantes para el estudio de un sistema químico orientado hacia la biología, dado su carácter sistémico y la emergencia de procesos y funciones diferenciadas dentro del mismo. Sin embargo, su alcance explicativo, orientado a la naturalización de una noción de función e individualidad biológica mínima tiene sus limitaciones y debe estar bien acotado, tal y como discutiré más adelante (ver capítulo 6).

5.1.3. Mezclas heterogéneas y alejadas del equilibrio: retos y oportunidades

El alejamiento del equilibrio de las librerías con un nivel composicional y de procesos algo más complejo al de las DCLs tradicionales ha estimulado el interés de los investigadores del campo de Origen de la Vida, particularmente el de aquellos interesados en investigar, desde una perspectiva *bottom-up*, las raíces de la organización biológica. La sinergia entre la producción de diversidad molecular y la respuesta a estímulos, característica de todas las DCLs, junto con la aparición de procesos de autocatálisis, auto-ensamblaje y auto-organización que permitan la disipación de energía y el alejamiento del equilibrio cuando estas mezclas se hacen más complejas, establecen una base química suficientemente diversa y robusta para la investigación de sistemas auto-constructivos y adaptativos (dos de las características básicas de los seres vivos bajo un esquema autónomo autopoiético). Precisamente, el comportamiento autopoiético de las DCCs ha sido explorado en los últimos años por el grupo de Giuseppone y colaboradores [Nguyen et al. 2009]. En una librería molecular compuesta por diferentes tipos de aminas hidrofílicas y aldehídos hidrofóbicos, su condensación en forma de moléculas surfactantes (con una parte hidrofílica y otra hidrofóbica) de distintas longitudes da lugar, mediante auto-ensamblaje en un medio acuoso, a la

formación de estructuras supramoleculares (micelas). Una vez formadas las micelas, la presencia de la fase hidrofóbica mejora el ratio de condensación de los componentes originales en las moléculas surfactantes, consecuentemente mejorando la ratio de formación de las micelas, y así recursivamente. Las micelas, por tanto, funcionan como catalizadores de su propia formación y crecimiento, mostrando un comportamiento autopoietico (como ya se conocía previamente gracias al trabajo de Luisi y colaboradores [Rasi et al. 2003, Szostak et al. 2001]). Además, las propiedades particulares de las distintas estructuras supramoleculares formadas (dependientes, finalmente, de las moléculas surfactantes que las conforman) hacen que unas crezcan *a costa* de las otras, dándose una selección interna y una auto-amplificación de un tipo de estructura en detrimento de las demás. El tipo de moléculas surfactantes perteneciente a la estructura seleccionada será, a su vez, seleccionado entre toda la librería molecular, produciéndose lo que los autores llaman una “relación sinérgica a dos niveles” en una DCL replicativa. Los componentes moleculares compiten a escala subnanométrica por la producción reversible de moléculas surfactantes de diferente longitud y esto determina la formación y estabilidad termodinámica de las estructuras supramoleculares auto-ensambladas. Después, en un primer ciclo autocatalítico, estas estructuras supramoleculares son capaces de catalizar su propia formación mediante el incremento en la tasa de condensación de sus surfactantes constituyentes (la así denominada autopoiesis química) y, en un segundo “ciclo autopoietico”, las estructuras auto-ensambladas discriminan entre la síntesis de unos u otros constituyentes, mostrando una preferencia y amplificación de los suyos propios. La combinación entre cooperaciones químicas actuando a diferentes niveles será la base para entender la particular (auto-)organización de los sistemas biológicos en la cual se da una coordinación de procesos bajo control termodinámico (estereoespecíficos y auto-ensamblados) con procesos cinéticos reactivos que requieren una disipación de la energía [Karsenti 2008].

La particular modularidad funcional adaptativa de la cual se nutren las DCLs, junto con la amplificación y refuerzo de aquellas propiedades que mejoran el sistema mediante auto-catálisis, es otra de las características que pueden ser explotadas tecnológicamente, como es el caso de los llamados materiales “inteligentes” [Faramarzi et al. 2012]. Los componentes que conforman estos materiales son capaces de auto-ensamblarse en respuesta a un estímulo eléctrico (luz) y la estructura supramolecular generada resulta ser un canal eléctrico que permite estabilizar y transferir espacio-temporalmente la primera señal luminosa, modulando y catalizando el auto-ensamblaje de más de sus constituyentes y, por tanto, su propia fabricación [Moulin et al. 2010]. La investigación en este tipo de materiales *auto-fabricados* subraya explícitamente la importancia de la combinación del auto-ensamblaje de estructuras supramoleculares y su papel en la auto-organización, la disipación de energía y el mantenimiento del sistema lejos del equilibrio.

Por otro lado, la topología en forma de red adquirida por estas mezclas complejas mejora significativamente sus posibilidades funcionales, pues permite modular de manera muy precisa su estructura, en respuesta a variaciones de tipo o de intensidad en el medio, con la consecuente producción de un efecto (por ejemplo, y en el caso de los agentes autónomos, mantener su integridad). La respuesta al estímulo externo en un sistema auto-producido se generará mediante una combinación de la energía potencial disponible, dada su configuración (aumento de la entropía), y su patrón auto-organizativo, dada la lejanía al equilibrio y la correlación espacio-temporal con el estímulo (descenso de la entropía). Si la fluctuación no es demasiado intensa para desintegrar la organización del sistema, el resultado será una re-estructuración de los componentes en el esquema organizativo de la entidad. De hecho, en paralelismo con un modelo evolutivo, la exposición del tipo de sistemas auto-constructivos presentados arriba a una librería molecular aleatoria de componentes permitiría mejorar la funcionalidad del sistema a través de dinámicas de selección, amplificación, competición e integración entre la mezcla de componentes disponibles en la misma [Giuseppone 2012].

La importancia e interés para la Química de Sistemas y, en concreto, para la Química *Prebiótica* de Sistemas de las mezclas complejas de las DCCs es innegable. Sin embargo, la dificultad para su análisis también lo es. El control de las variables y el escrutinio de los resultados provenientes de una mezcla muy heterogénea de componentes ha resultado, hasta hace bien poco, un escenario poco atractivo para muchos experimentalistas. Afortunadamente, la revolución tecnológica de la Biología Molecular de los últimos años ha traído consigo un enorme desarrollo de técnicas analíticas de alto rendimiento en materia de experimentación empírica. Las nuevas generaciones de secuenciadores, los estudios de selección “in-vitro” o la implementación de “laboratorios en miniatura” mediante las técnicas de micro- y nano-fluidos para el análisis ultra-discriminatorio de estas mezclas complejas, abre la puerta a la implementación real de un programa de investigación en química con un fuerte componente sistémico que es perfectamente combinable con una Biología Sintética “*bottom-up*”, como se abogaba en el capítulo anterior.

5.2. Una batería de técnicas analíticas en pleno desarrollo

La química de sistemas, basada principalmente en las DCCs, se ve obligada a tratar con complejísimas mezclas moleculares, formando patrones en red con comportamientos y resultados muchas veces impredecibles y difíciles de monitorizar. El desarrollo de una metodología experimental de alta precisión ha sido esencial para la posibilidad de llevar a cabo experimentos en tales condiciones. La caracterización de tales mezclas complejas de componentes sólo ha sido posible tras la revolución tecnológica de la Biología Molecular en las últimas décadas, que ha sido fruto de técnicas analíticas de altísimo rendimiento capaces, incluso, de estudiar la química a nivel molecular.

5.2.1. Nueva generación de secuenciadores

Los avances en secuenciación ocurridos a partir de la década de 1950, momento en el que empezaron a secuenciarse las primeras proteínas (Sanger 1951-1953), hicieron posible una detallada descripción de la composición celular aminoacídica, nucleotídica y lipídica. Esto dio lugar al nacimiento de los principales campos de las “ómicas” (la proteómica, la genómica, la metabolómica y la lipidómica) revolucionando la comprensión molecular global de la célula.

En torno a la secuenciación peptídica, las primeras técnicas estaban basadas en hidrólisis (enzimáticas y químicas), electroforesis, cromatografías y posterior análisis de las huellas moleculares mediante tintes de nihidrina. A día de hoy, aún se utilizan diariamente métodos que son únicamente mejoras en torno a esta metodología (por ejemplo el método de degradación de Edman, en el cual se van marcando, separando y analizando cromatográfica o electroforéticamente los aminoácidos de la secuencia peptídica). Sin embargo, el método más eficiente y más comúnmente utilizado en la actualidad es la Espectrometría de Masas (Mass Spectrometry o MS) que, basándose en la relación carga/masa de cada molécula (tras haber ionizado la muestra mediante diferentes métodos), es capaz de establecer con gran precisión la distribución de estas moléculas en la composición de una sustancia. Otra técnica, de mayor coste pero también ampliamente utilizada es la Resonancia Magnética Nuclear (Nuclear Magnetic Resonance ó NMR). Ésta, a su vez basada en las propiedades mecánico-cuánticas de los protones y neutrones pertenecientes a los núcleos de los diferentes átomos de los cuales está compuesta la molécula a detectar, es utilizada para obtener información estructural y química de una mezcla de componentes.

Tras el éxito de la genómica, la mayor parte de las secuencias de proteínas son deducidas indirectamente de la secuencia nucleotídica codificante, después de haber secuenciado la cadena de

ADN o ARN de la cual provienen. El primer método de secuenciación de ADN fue también desarrollado por Sanger en la década de 1970. La fragmentación del ADN mediante la utilización de secuencias ‘terminadoras’ durante la síntesis de una cadena complementaria era seguida de la amplificación de los fragmentos por clonaje *in vivo* y su resolución por electroforesis. En la década de 1990, la aparición de los secuenciadores automáticos de ADN, basados en el marcaje fluorescente y la electroforesis capilar, fue el punto de partida para la tecnología de secuenciación de alto rendimiento y la aparición de la genómica y la metagenómica.

En el año 2005, gracias a los avances en microfluídica y la nanotecnología, empezó a desarrollarse la llamada ‘segunda generación’ de secuenciación de ADN (Next Generation DNA Sequencing ó NGS). En ésta, el proceso comienza con una fragmentación aleatoria de la molécula a secuenciar, seguida de su unión a secuencias adaptadoras comunes y la generación enzimática de clones amplificados (mediante diferentes técnicas de PCR), amplicones a su vez distribuidos en clusters fijados sobre una superficie. La matriz generada es después analizada mediante ciclos de interrogación enzimática (usando DNA polimerasa o DNA ligasa). Recientemente, está saliendo a la luz una nueva ‘tercera generación’ de secuenciación de ADN que permite la secuenciación de moléculas individuales de ácidos nucleicos mediante dos métodos: la separación electroforética de las moléculas a su paso por un nanoporo y la polimerización y marcaje de las moléculas individuales a partir de un “primer” inmovilizado en una superficie.

5.2.2. “Microarrays” y “Biochips”

Otro de los avances más importantes en la metodología relacionada con el análisis de mezclas complejas es el desarrollo de técnicas de hibridación e interacción de proteínas y ligandos. Tradicionalmente, este tipo de interacciones ha sido (y son) estudiados mediante métodos basados en el “blotting” de membranas, en los cuales las proteínas son inmovilizadas en una membrana, expuestas a la molécula con la que han de interactuar, y aquellas que interactúan son teñidas y analizadas. Esta tradición ha evolucionado en técnicas de mayor rendimiento como los biosensores inmovilizados en superficies sólidas: aparatos analíticos que contienen un receptor o “sonda” biológica (la cual interacciona con la molécula muestra) y un transmisor de señal (que detectará la interacción y la traducirá a una señal medible). Las sondas pueden ser de todo tipo: proteínas, ácidos nucleicos artificiales o naturales, carbohidratos, combinaciones de estas biomoléculas, ensamblajes moleculares e, incluso, células enteras o fragmentos de tejidos. Los transmisores aprovechan la sensibilidad y especificidad de las interacciones en términos ópticos, mecánicos,

eléctricos o térmicos. Los “microarrays” o “biochips” son una mejora sobre esta misma idea, permitiendo la inmovilización de miles de moléculas sonda en un sustrato sólido de pequeño tamaño. La muestra a analizar (que puede estar purificada pero también puede ser una mezcla química compleja) se marca fluorescentemente y se híbrida con el “microarray”, detectando el tipo de interacción específica mediante escáneres de alta resolución. Los ensayos con “microarrays” han permitido elevar enormemente el rendimiento y la velocidad de los análisis en genómica y proteómica.

5.2.3. Estudios de selección ‘*in vitro*’

Los estudios de selección *in vitro* han permitido el escrutinio de enormes librerías de ARN y ADN con propiedades específicas para una u otra función, dando lugar a la selección de nuevas o mejoradas ribozimas, enzimas artificiales y moléculas diana. El proceso de evolución *in vitro* implica ciclos seriados de amplificación y selección de las moléculas más adaptadas funcionalmente, hasta obtener la actividad deseada en el experimento. El resultado puede ser después monitorizado por el análisis del fenotipo y el genotipo de dicha molécula artificialmente evolucionada.

En los años 90 apareció el llamado protocolo SELEX, consistente en ciclos sucesivos de amplificación-selección, y que hace uso de la posibilidad de sintetizar químicamente grandes conjuntos de secuencias aleatorias y de utilizar la tecnología de PCR junto a la enzima transcriptasa inversa para amplificar y seleccionar aquellas que son interesantes para el investigador. Las secuencias nucleotídicas no son las únicas moléculas que pueden evolucionar artificialmente mediante estos métodos. Por ejemplo, la tecnología llamada “mRNA display” produce la unión covalente de la proteína modelo a su propio ARNm, permitiendo así su selección y amplificación, o el método PACE (“Phage Assisted Continuous Evolution”) que permite la evolución continua de proteínas codificadas, transferidas de célula a célula mediante un bacteriófago cuyo ciclo vital es dependiente de la actividad de la proteína en cuestión. A pesar de que la mayoría de experimentos de evolución *in vitro* han estado centrados en la mejora de ribozimas (apoyando con pruebas experimentales la hipótesis del «mundo ARN») las nuevas metodologías permiten la evolución de moléculas simples (ácidos nucleicos, aminoácidos, péptidos) hacia moléculas con funciones catalíticas concretas en un medio heterogéneo (tal y como el propuesto desde una perspectiva integradora y sistémica al origen de la vida). Por otro lado, la evolución *in vitro* nos ayuda a entender mejor los límites de la evolución química en tales circunstancias.

5.2.4. Microfluídica

Las nuevas metodologías previamente introducidas son generadoras de innumerable información. Sin embargo, para su manejo se requiere de una tecnología específica y suficientemente refinada que permita una atinada modulación de las variables complejas en tales mezclas heterogéneas mediante la automatización y miniaturización de los experimentos. Esta tarea es responsabilidad de la tecnología de los *micro-fluidos*, convirtiéndose en una de las herramientas más útiles para químicos, bioquímicos y biólogos de sistemas, pues permite replicar la tecnología “de poyata” a escala de “microchip”. En los años 90, la puesta a punto de la electroforesis capilar en chips o en cristales fue uno de los primeros avances en cuanto a la utilización de los microfluidos. La secuenciación de ADN de alto rendimiento se benefició ya enormemente de estos microcanales y micro-reactores, permitiendo reproducir un laboratorio en cada microchip y probar, en paralelo y mucho más rápido, un número enorme de pruebas químicas y biológicas.

El siguiente hito en el campo de la microfluídica fue el desarrollo de la litografía blanda (“soft lithography”) que permite la réplica exacta de moldes con canales exquisitamente detallados. Los patrones con los microcanales se foto-litografían en un molde de silicona y después, vertiendo sobre él el polímero PDMS (polidimetilsiloxano) y dejándolo secar, todos los detalles micrométricos quedan impresos en este último. El molde ya seco se sella con una capa de cristal y se obtiene una cámara cerrada con una red de canales de geometría microscópica (10-100um) que permite controlar microambientes celulares de bacterias y células eucariotas. Los microfluidos basados en PDMS también permiten la fabricación de compartimentos con membranas electrónicamente programables que pueden ser usadas para el transporte y la concentración de ADN y otras biomoléculas en una red sin mayor intervención externa.

Finalmente, los avances continúan en la última década del 2000 con el desarrollo de la *nanofluídica*. Las dimensiones nano-métricas de tales artilugios permiten monitorizar individualmente ácidos nucleicos, proteínas y otras macromoléculas, y muestran amplísimas posibilidades para el campo de la Química de Sistemas y la evolución molecular. Como ejemplo, la inmovilización de vesículas de lípido puede permitir determinar su composición, su geometría y sus componentes internos, siendo manipuladas sin ninguna intervención externa gracias a las propiedades electrostáticas de los nano-fluidos (Karlsson et al. 2004; Krishnan et al. 2010). La minimización de la intervención externa es especialmente importante para realizar un esfuerzo sintético y “bottom-up” en la fabricación de entidades protocelulares. Siendo una de las principales características de lo biológico la capacidad de “hacerse a sí mismo”, los experimentos encaminados a construir estructuras de tipo proto-biológico tendrían que “dejar hacer a la química”, al tiempo que

son capaces de monitorizar lo que está haciendo. La Biología Sintética, de hecho, adolece de un exceso de intervención externa si uno de sus objetivos es contribuir al problema del origen de la vida (en tanto en cuanto ésta lleva consigo la implementación de dinámicas auto-productivas) [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013].

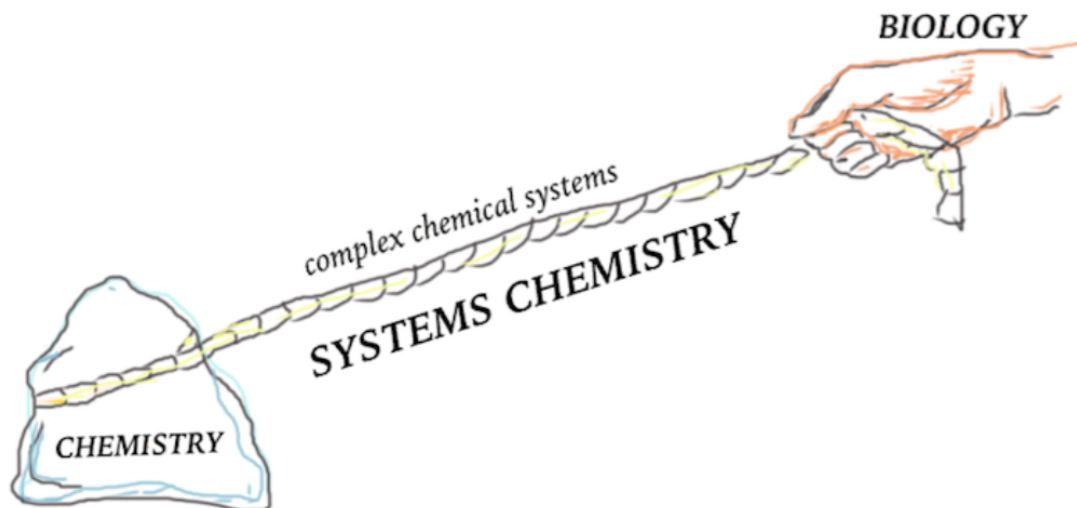
5.3. Una promesa para el campo del origen de la vida

5.3.1. La gran oportunidad de “biologizar” la química

En el capítulo 2 habíamos visto algunos problemas y retos conceptuales implícitos en la química clásica, haciendo un recorrido desde su visión más tradicional, corpuscular y sustancialista, hasta la nueva ola de la “química de los *algo*” (*stuff*), definida por los procesos de transformación, con una estructura en red conformada por la mezcla de sustratos, intermediarios y productos de las reacciones.

La intención de este capítulo era la de presentar hasta qué punto la química puede ser aún mucho más compleja y apartarse de las propiedades que dominan la química más tradicional, lineal y bajo control termodinámico. El nacimiento del campo de la Química de Sistemas demuestra la necesidad de dedicarle un rincón de investigación y conocimiento a este tipo diferente de químicas complejas con comportamientos sistémicos, emergentes y dinámicos. Además, el desarrollo de la tecnología adecuada para el enfrentamiento a este tipo de sistemas ha hecho posible su implementación en diferentes ámbitos tecnológicos, farmacológicos y de investigación fundamental.

La oportunidad de poder rastrear y modular las propiedades de mezclas complejas de componentes químicos y procesos alejados del equilibrio es interesante para la Biología y especialmente para el estudio del origen de la vida desde una perspectiva “*bottom-up*”. Cada vez hay más y más científicos trabajando con redes de diferentes tipos de precursores de biomoléculas, tratando de encontrar las raíces químicas de algunos fenómenos biológicos. Una de los trabajos más destacables con redes de precursores de los últimos años es el que realiza el grupo de John Sutherland en el Medical Research Council en Cambridge. Estos han conseguido sintetizar, a partir de dos compuestos prebióticos sencillos (ácido sulfhídrico y cianhídrico) las rutas químicas comunes para la producción de ARN, varios aminoácidos y varios lípidos [Patel et al. 2015]. La importancia de este trabajo reside, principalmente, en el esfuerzo empleado para tratar el problema del origen de la vida como el de un sistema con varios actores involucrados, en el cual la diversidad



Dibujo 5.1: La Biología “tirando” de la Química a través de las herramientas que nos ofrece la Química de Sistemas puede ayudarnos a dilucidar, de entre toda la variedad de mezclas químicas complejas, aquellas en las que pudieron haberse enraizado fenómenos biológicos o proto-biológicos.

composicional pudo haber estado presente, y haber co-evolucionado, desde muy temprano. Sin embargo, la red de reacciones propuesta en el escenario prebiótico de Patel y colaboradores está construida a partir de la síntesis de cada uno de los compuestos de manera individual, paralela, cada una con sus propios tiempos y condiciones de reacción y, por tanto, no es satisfactoria en cuanto a la sincronización de los procesos y en dotar al sistema de la integración espacio-temporal que, precisamente, caracteriza al metabolismo biológico.

La química de sistemas alejada del equilibrio brinda una nueva oportunidad en relación a la sinergia de procesos emergentes, especialmente aquellos de auto-ensamblaje y auto-organización, abre nuevos horizontes para el estudio de sistemas auto-producidos, integrados, disipativos y sincronizados en el espacio y en el tiempo. No obstante, la enorme plasticidad y combinatoriedad de la química puede dar lugar a sistemas químicos interesantes pero que nada tengan que ver con la biología conocida, o por conocer. Por tanto, la química de sistemas necesita ser combinada con algún principio biológico para poder guiar la investigación y discriminar el tipo de procesos que, en un escenario prebiótico hiper-poblado de mezclas químicas y reacciones complejas, pudo haber inducido a algunas de ellas hacia formas de organización prebiótica (ver dibujo 5.1).

En este sentido, si hay una característica fenomenológica por excelencia en la biología, ésta es su celularidad. Todos los sistemas biológicos son celulares, como ya comenté en 4.3.1. La apuesta por comprender la organización celular, por tanto, pasa por la búsqueda de un sistema cohesivo que vaya más allá de la auto-organización química, particularmente encaminado hacia una auto-

producción y, en concreto, a la auto-producción con un compartimento en el cual la presencia de una membrana tome una parte activa en el funcionamiento integrado del sistema.

5.3.2. Fabricando protocélulas

En el capítulo 4 veíamos cómo el escenario protoceular, de hecho, podía ofrecer diversas ventajas para la aparición de una organización autónoma auto-producida. Desde la Química de Sistemas también se ofrece la oportunidad de llevar a la práctica el esquema protoceular, trabajando con el auto-ensamblaje de vesículas lipídicas en un medio acuoso.

La primera consecuencia del auto-ensamblaje de lípidos hidrofóbicos en una solución acuosa es la automática diferenciación de fases en el medio. Los lípidos hidrofóbicos concentrados y unidos por enlaces no covalentes generan un nuevo ambiente local, de naturaleza diferente al grueso del volumen acuoso. Esta diferenciación de fases tendrá importantes consecuencias en la química reactiva de la solución pues ésta tenderá a segregarse ofreciendo comportamientos diferentes en cada una de las fases. El producto de una química reactiva en presencia de dos (o más) fases será, por tanto, más diverso que el que pudiera tener en una solución homogénea; o lo que es lo mismo, la diferenciación de fases permite generar variedad de procesos en un sistema de composición relativamente sencilla. Como ya se vio en dicho capítulo 4, la diversidad de procesos es uno de los primeros requisitos del esquema organizacional autónomo pues es necesario para la diferenciación funcional que produce el cierre causal auto-mantenido.

La diferenciación de fases podría darse en forma de superficie, de monocapa o de cualquier estructura supramolecular que diferencie dos zonas de naturaleza química distinta en una solución. No obstante, la generación de estructuras *vesiculares* conllevará ventajas añadidas relacionadas con la *dependencia mutua* de esos diferentes procesos derivados de la diferenciación de fases, es decir, relacionadas con la generación del cierre causal. El efecto más evidente es la generación de un interior y un exterior vesicular. Esto permite al sistema tener un interior acuoso “propio” ligado a (encapsulado por) una membrana lipídica de naturaleza hidrofóbica. En capítulos posteriores (capítulos 6 y 7) reflexiono sobre la importancia de esta idea de “interior generado por una frontera auto-ensamblada” y su relación con diferentes aspectos de la organización, entre ellos la ya mencionada posible contribución a la producción de un esquema auto-productivo.

El auto-ensamblaje de vesículas lipídicas se produce de forma espontánea, sin mayor intervención externa que poner en contacto los diferentes componentes moleculares de la mezcla

(fundamentalmente agua y lípidos). Este proceso termodinámicamente favorable si es acoplado a una química reactiva que lo soporte y desplace a regiones alejadas del equilibrio (desencadenando procesos de crecimiento y potencial reproducción, por ejemplo) ofrece una primera aproximación a la capacidad auto-generativa intrínseca a lo vivo. Como veremos a continuación (capítulo 6) el acoplamiento de un sistema químico de este tipo a una química auto-organizativa en solución (que pueda formar parte igualmente del interior vesicular) es una veta a explorar de gran potencial en este sentido. El sistema resultante será un sistema químico auto-generado a partir de la organización relativamente compleja (auto-organización + auto-ensamblaje) aunque de una mezcla de componentes químicos relativamente simples.

La orientación de un experimento químico teniendo en cuenta principios (generales) biológicos puede contribuir a la comprobación de estos principios, así como a su posible reproducción en un escenario prebiótico, o en una biología alternativa.

Capítulo 6

EXPLORANDO LOS SISTEMAS COMPLEJOS ENTRE LA QUÍMICA Y LA BIOLOGÍA: EN BUSCA DE FORMAS DE IDENTIDAD INFRA-BIOLÓGICAS

6.1 ¿Qué significa la idea de identidad *infra*-biológica?

Hasta ahora se ha dado un repaso global al conjunto de teorías existentes en la actualidad para concebir la vida y sus orígenes, haciendo mayor hincapié en aquellas basadas en el aspecto organizacional de la misma. Por su paralelismo con el tipo de organización que utiliza el metabolismo hoy en día, en algunos sitios este enfoque ha sido -mal- llamado aproximación *metabólica* al origen de la vida pero, como he aclarado previamente, algunos de estos modelos organizacionales, como el hiperciclo o el modelo de *cuasi*-especies, tienen como objetivo final explicar otros aspectos de la biología (replicación, reproducción, capacidad evolutiva, etc) diferentes al metabolismo. Se ha llamado la atención sobre la tradicional búsqueda de “la molécula de la vida” para tratar de explicar esta organización (ya fuera el ARN, las proteínas o los lípidos) en contraste con la aparente necesidad de la presencia de una alta diversidad composicional para la emergencia de procesos mínimamente complejos (por no hablar de su mayor coherencia con un escenario prebiótico, probablemente poblado por un número alto de especies moleculares y no de una solución “límpida” con un sólo tipo de componente molecular). Tal y como prueba la Química

de Sistemas, las mezclas complejas de diferentes componentes moleculares son una rica fuente de procesos dinámicos diversos, los cuales veremos que resultarán imprescindibles si pretendemos naturalizar y fundamentar las complejas propiedades biológicas (en este caso la individualidad y la función) desde su base material.

El propósito de fundamentar la definición de vida sobre su base material no viene motivado únicamente por el interés por re-construirla en el laboratorio o por tratar de *probar* experimentalmente teorías de gran calado pero demasiado abstractas como la autopoiesis [Maturana y Varela 1980] o los sistemas M,R de Rosen [Rosen 1991]. El interés en incluir los componentes materiales y sus efectos sobre la organización dentro de la definición de vida viene, de hecho, impuesto por la propia naturaleza no hilemórfica (pero tampoco sustancialista) de dicha organización [Simondon 1995; Di Frisco 2014]. Los sistemas vivos no pueden ser descritos únicamente por su materia (como puede ser descrito un sistema físico) ni por su forma (como son interpretadas las máquinas, en las cuales la materia sólo necesita ser compatible con el diseño), sino que su ontología está situada en un estado intermedio en el cual ambos se funden (a diferencia del esquema hilemórfico, en el cual podemos diferenciar materia y forma de un ente dado). La teoría autopoietica y, especialmente la de los sistemas M,R de Rosen, son dos de los trabajos más efectivos a la hora de investigar teóricamente la organización de los seres vivos, pues atienden muy rigurosamente a sus principios formales básicos de auto-producción y auto-regeneración. Sin embargo, al apartar por completo la posible realización material de tales descripciones formales, se convierten en teorías demasiado abstractas y alejadas de la realidad. Ambas teorías tienen un carácter descriptivo, tratan de extraer lo esencial de la organización biológica a partir de la observación de la vida conocida. Esto ha apartado de la ecuación el aspecto material [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004], dando por supuesto que si la organización biológica actual descrita es universal, su realización será posible siempre que encuentre un material compatible (tal y como sucede en las máquinas tecnológicas). Sin embargo, la metáfora de la máquina para la organización de los seres vivos resulta ser insatisfactoria en multitud de ocasiones [ver Nicholson 2013].

La contraposición con el modelo del ‘Chemoton’ [Ganti 2003] ha sido destacada en otra parte [Di Frisco 2014]; éste es llamado un modelo parcialmente constructivo y “bottom-up” por tener en cuenta el aspecto material (al menos, de un modo tentativo) para elaborar la organización del sistema. Aunque en la organización del ‘Chemoton’ las relaciones estén también formalmente descritas, éstas quedan al menos parcialmente constreñidas por las imposiciones materiales de las reacciones químicas involucradas: los tres sub-sistemas autocatalíticos que lo componen tienen que funcionar de manera que se mantenga globalmente la estequiometría que imponen las reacciones químicas involucradas. Esto cambia fundamentalmente la manera de pensar en Filosofía de la

Biología, sustituyendo un pensamiento “más abstracto o informacional” (como lo describe Griesemer en el prefacio del libro de Ganti) por otro “más químico”. La ontología no-hilemórfica en el que forma y materia se fusionan está así mejor representada en el modelo de Ganti que, sin ser reduccionista (los tres sub-sistemas funcionan de manera no-lineal), consigue reducir la teleología subyacente a su organización hasta niveles muy bajos de la materia. Dada la amplísima flexibilidad y variedad de procesos que permiten las transformaciones químicas (de ahí que Ganti llamara a esta organización ‘autómatas fluidos’) la materia puede ser vista de una manera *activa*, como encontrándose ya en un estado intermedio (entre la química mecanicista y la biología) [Ganti 1997; Morowitz & Smith 2007] en lugar de ser vista como una materia *pasiva* a la espera de ser introducida en una organización de-tipo-biológico [Di Frisco 2014]. Dicho de otra manera, los sistemas químicos dan pie a la llamada visión *generativa* de la forma, en oposición a la visión *estática* de la forma, propia del tratamiento hilemórfico y mecanicista de los seres vivos [Simondon 2005].

En la teoría de la autonomía biológica (Moreno y Mossio 2015) sus autores definen la vida como autónoma, es decir, como i) capaz de auto-producir y auto-mantener las partes que contribuyen al funcionamiento del sistema integrado, operacional y topológicamente distinto de su entorno y, a su vez ii) capaz de promover las condiciones de su propia existencia mediante su interacción con dicho entorno. La autonomía se compone pues de dos dimensiones: la *dimensión constitutiva*, responsable de la producción de los componentes (funciones) y la *dimensión interactiva*, referente a la capacidad de ejercer efectos casuales sobre las condiciones de frontera (de existencia) del global del sistema, modificar el ambiente en su propio beneficio (agencialidad). Estos autores defienden que estas dos propiedades de la autonomía, llevadas a un plano experimental, sólo pueden ser explicadas mediante el cierre causal de una serie de constricciones auto-producidas (“closure of constraints”), estructuras funcionales que permitirán la gestión de los flujos de materia y energía procedentes del exterior (ver capítulo 4). El cierre causal auto-producido será, según los autores, el determinante de la *identidad* del individuo biológico. La auto-determinación del “cierre de constricciones” será el núcleo conceptual de la autonomía pues permitirá establecer una interdependencia entre estas dos dimensiones y los regímenes causales implicados: la propia producción de constricciones (dimensión constitutiva) y su actuación sobre el flujo termodinámico (dimensión interactiva) [Moreno & Mossio, 2015]. La teoría de la autonomía, al igual que el modelo del ‘Chemoton’, afronta el problema del no-hilemorfismo añadiendo el factor material y energético a la explicación de la organización biológica pero, además, va un paso más allá que éste al incluir el control y la regulación de los flujos metabólicos, es decir, al tener en cuenta el carácter *vectorial* del metabolismo configurado principalmente por el sistema celular de

membranas (actualmente incorporando sofisticados transductores de energía y transportadores de moléculas e iones). El planteamiento de una serie de relaciones estequiométricas entre componentes materiales, tal y como hace el modelo del ‘Chemoton’, es insuficiente para recoger esta importante característica del aspecto físico-químico del metabolismo.

En los sistemas autónomos, la topología de la organización causal en forma de cierre la vuelve dependiente de los efectos de su propio funcionamiento, es por tanto una organización teleológica. La teleología presupone una normatividad; hará falta un *buen* funcionamiento de la organización para que se de el cierre causal que permita su propia existencia. Esta normatividad estará internamente determinada (“auto”-determinada): los seres vivos tienen que funcionar para persistir y, si no lo hacen, se desintegran. Teniendo la teleología y la normatividad enraizadas en el cierre de constricciones, la idea de función se desprende automáticamente del cierre organizacional autónomo, pues ésta será definida por los efectos causales producidos por las constricciones sometidas al cierre y que determinarán internamente la identidad de la organización. Una función biológica será, por tanto, cualquier aportación diferenciable por parte de una estructura también distinguible al cierre de constricciones de una determinada organización biológica (ver capítulo 2).

Esta teleología interna que determina una normatividad propia es una idea que ya había imaginado Kant al hablar de los sistemas vivos como “propósitos naturales” capaces de (auto)organizarse o Jonas al caracterizar los sistemas vivos como aquellos en los que “el ser es su hacer” y está presente en los sistemas autopoieticos o en la recursividad formal de los sistemas M,R de Rosen. Sin embargo, la identificación de funciones no se hace posible hasta la apelación a componentes materiales reales, que hacen posible una distribución de tareas en el funcionamiento del sistema global. En el modelo del ‘Chemoton’ de hecho, ya podemos diferenciar de manera muy primitiva algunas funciones en cada uno de los tres ciclos catalíticos que conforman su organización. Otra de las críticas más comunes a la teoría de la autopoiesis, además de su abstracción, proviene de su carácter demasiado *internalista*. La descripción de los sistemas autopoieticos está centrada principalmente en la realización de un cierre operacional, consistente en la producción de una frontera física que hace posible la existencia de una red química interna encargada de la producción de tal frontera. Este cierre operacional coincidiría principalmente con sólo una de las dimensiones de la autonomía (la dimensión constitutiva) mientras que la otra, su necesaria apertura termodinámica e interacción con el ambiente, queda meramente descrita como un “acoplamiento estructural” consecuencia de la organización interna que será, según sus autores, su verdadera identidad. Sin embargo sucede que los sistemas vivos no pueden deshacerse de las imposiciones externas y son definidos *tanto desde dentro como desde fuera* ya desde muy temprano en su proceso de origen. La propuesta aquí introducida es que, para la completa integración de una

identidad biológica plena, es necesaria una fase previa que constituya ya el núcleo básico de una forma de organización autónoma de tipo proto-biológico. En esta forma de organización estarán ya representadas las dos dimensiones de la autonomía, tanto la constitutiva como la interactiva mediante la actividad del sistema por mantenerse diferenciado topológica y operacionalmente.

Los sistemas protocelulares auto-productivos pueden ser un buen modelo de esta organización primitiva. A partir de un sistema químico organizado suficientemente complejo podríamos ya diferenciar algunas funciones - muy primarias - relacionadas con la dimensión constitutivas y algunas funciones relacionadas con la dimensión interactiva. Entre las funciones relacionadas con la dimensión constitutiva de un sistema químico protocelular encontraríamos el propio auto-ensamblaje de lípidos, generando una diferenciación de fases que favorezca la emergencia de diversidad de procesos. Los componentes de la membrana autoensamblada pueden funcionar a su vez como atractores y organizadores de otros componentes [Budin & Szostak 2011; Adamala & Szostak 2013], favoreciendo la catálisis de reacciones lípido-específicas [Zepik et al. 2007; Murillo-Sánchez et al. 2016; Izgu et al. 2016;] que puede resultar incluso en una auto-producción de esos componentes [Hardy et al. 2015]. Por otro lado, podemos encontrar diversas funciones relativas a una dimensión interactiva primitiva en la propia naturaleza semi-líquida de la membrana lipídica; la permeabilidad específica o la elasticidad pueden tener efectos sobre el control del balance osmótico y, consecuentemente, sobre la química en solución ocurriendo en su interior [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008; Shirt-Ediss et al. 2015] o sobre la generación de gradientes osmóticos [Chen & Szostak 2004; Izgu et al. 2016]. Esto es algo que Ganti, por ejemplo, tampoco consideró adecuadamente.

Las dimensiones constitutiva e interactiva son, de cualquier forma, inseparables, y las funciones asociadas tanto a una como a otra deben ser combinables. Por ejemplo, la producción favorecida por la membrana de un péptido lo suficientemente largo podría atravesar ésta y generar imperfecciones en su superficie modificando su permeabilidad y su balance osmótico. Esto, a su vez, podría afectar a la química productiva o a la tasa de crecimiento del sistema. A lo largo del proceso de origen de vida y durante la evolución biológica estas dos dimensiones de la autonomía se han especializado y robustecido independientemente, con funciones específicas asociadas a cada una de ellas. No obstante, su profunda integración en un sistema protocelular primitivo con pocos componentes y una organización relativamente simple puede hacerlas más difíciles de diferenciar. Las entidades con una identidad *infra*-biológica se caracterizan pues por *funcionar* para mantenerse *individuidas* (alejados del equilibrio). Este funcionamiento constará de un *aspecto generativo* encargado de producir los componentes funcionales, entre estos, su propio límite, para con este gestionar la materia y la energía extraída del entorno (*aspecto interactivo*) en una continua

exposición y precariedad frente el entorno y una necesaria búsqueda de soluciones y re-estructuración de las funciones para poder mantener tal organización. Por tanto, tanto el aspecto interactivo como el generativo se necesitan recíprocamente para adquirir un sentido en las identidades biológicas e *infra*-biológicas. Es más, ambos caracteres *funcional* e *individual* se funden en la identidad biológica en una especie de doble dimensión en el origen de la autonomía básica (identidad *infra*-biológica) (Fig 6.1). Esta conjunción, esta forma de organización con una dimensión desdoblada y recíproca, generativa e interactiva, se repite a lo largo del proceso de origen de vida y también más allá de este, a lo largo de la evolución. A su vez, tanto el carácter funcional como el individual sufren, más adelante, re-estructuraciones y re-interpretaciones que permiten su robustecimiento. Por ejemplo, la regulación aparecerá como un desdoblamiento del aspecto funcional, una función sobre las funciones, y la multicelularidad como una individuación sobre la individualidad; no obstante el esquema general se mantiene.

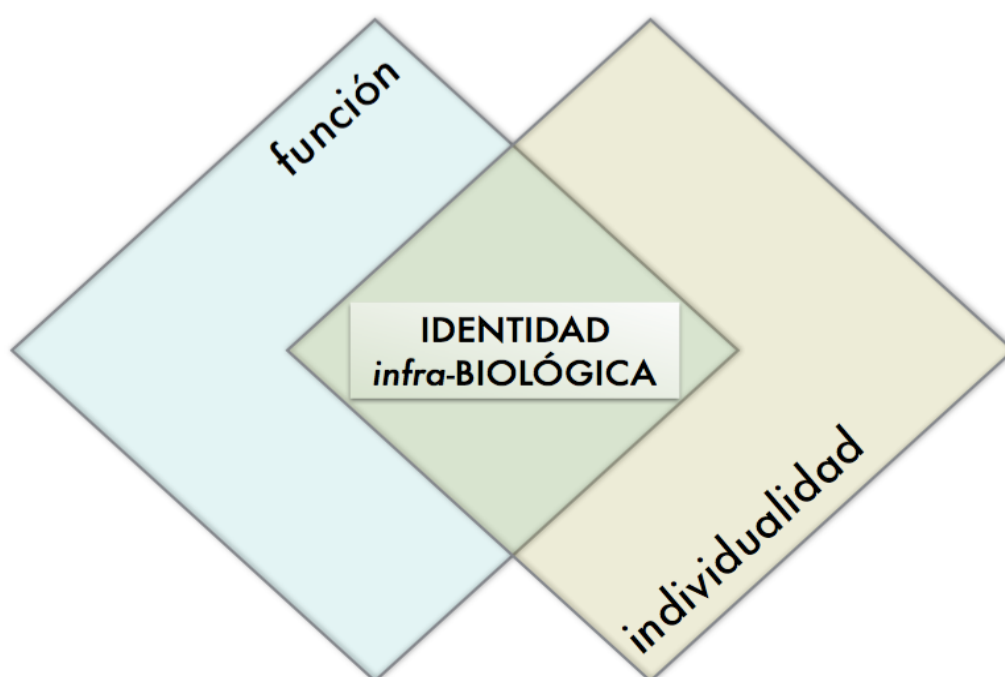


Figura 6.1. La identidad *infra*-biológica hace referencia a sistemas funcionalmente individuados. En las entidades *infra*-biológicas los conceptos de individualidad y de función generan una doble dimensión y son, por lo tanto, inseparables y recíprocamente definibles.

La búsqueda de una identidad *infra*-biológica nos permitirá llevar a la química el origen de la autonomía, fundamentando ‘desde abajo’ los conceptos de individualidad y de función. La naturalización desde la química de una organización (proto)biológica no sólo simplifica su implementación empírica (simplificando la hipercomplejidad de la síntesis de un sistema autónomo

pleno, biológico) sino que también encara directamente el problema del carácter no-hilemórfico de la génesis de la forma, comentada más arriba. Esta propiedad tan característica de todo sistema biológico real parece imposible de re-producir si no es desde su fabricación química o, mejor dicho, desde dejar a la química que se fabrique. Otras aproximaciones, por ejemplo la intervención externa para establecer una organización a partir de materiales ya construidos y acabados (sean éstos químicos, biológicos o sintéticos - como los circuitos lógicos o en los modelos de células y biorreactores semi-sintéticos) estarán implementando sistemas hilemórficos, en los que se da un encuentro entre forma y materia más propio de una máquina que de un ser vivo.

A partir de un sistema químico que entrelace cierto carácter metabólico, auto-productivo, a un carácter protocelular que lo diferencie topológicamente de su ambiente se establecerá automáticamente un ‘cierre de constricciones’ primitivo. Es decir, la *funcionalización de un sistema individuado* permitirá definir una identidad *infra*-biológica y diferenciar así los sistemas susceptibles a adoptar una identidad biológica del resto de sistemas individuados meramente químicos (unidades replicativas, compartimentos auto-ensamblados, reacciones oscilatorias...).

6.2. Condiciones para la emergencia de entidades químicas con identidad propia y su conexión con el problema del origen de la individualidad y la función

Función e individualidad, capacidad productora y capacidad de distinguirse operacional y topológicamente, deben ir de la mano en la identificación de una identidad biológica o, más concretamente, de una identidad *cuasi*-biológica o *infra*-biológica. Siguiendo la escuela autónoma para la definición de la vida, los sistemas químicos con cierto potencial biológico deberán ser capaces de auto-definirse, constituyendo internamente un “cierre de constricciones”. Este “cierre” sólo tendrá sentido si forma parte de una entidad diferenciada, individuada (a la cual, a su vez, contribuirá a individuar). Aunque el acoplamiento entre individualidad y función haya de darse desde un comienzo para que esto pueda ocurrir, podría ser que cierto potencial individual, cierta diferenciación de fases en el medio, tuviera que haber ocurrido antes de empezar a hablar de potencial funcional. Una vez integrados ambos, no se podrían volver a separar pues, la individuación ya no tendrá sentido sin su función individuante, ni la función sin su contexto individuado. A partir de este “cierre de constricciones” se podrían definir las funciones como partes distinguibles dentro de esta organización con aportaciones concretas al mantenimiento de la misma, y la individualidad como el orden global conseguido y que diferenciará lo que pertenece al sistema

y lo que no. Sobre esta organización característica, robusta, alejada del equilibrio y auto-producida se sostendrá la dimensión interactiva del sistema autónomo, última responsable de su existencia al imponer la exposición al ambiente y la precariedad que debe solventar como propiedad normativa distintiva y exclusiva de la biología. La construcción de una frontera propia es un comienzo de la misma, aún muy precaria, *pseudo-agente*, una primera *confrontación* al ambiente pero sin control activo aún sobre la gestión del mismo (agencialidad en un sentido más pleno). Sin embargo, este primer enfrentamiento entre el sistema individuado y su ambiente pondrá en contexto, dotará de una normatividad (ese “huir de la precariedad”) en el cual se basará la generación de mecanismos implicados en la dimensión constitutiva.

Este “cierre de constricciones” puede tomar su forma más simple en una realización empírica de un sistema autónomo básico que, precisamente, enlace función e individualidad en la constitución de su organización. Los sistemas químicos con un potencial biológico deberán presentar entonces características de las dos y, además, deberán hacerlo de manera integrada. Aunque los potenciales funcional e individual son difíciles de explicar por separado en este contexto, desde un punto de vista meramente analítico podemos asociarlos con aspectos proto-metabólicos y proto-celulares, respectivamente, y adscribir, a cada uno de ellos, algunas características propias que nos ayuden a caracterizarlos en su posible aparición en un sistema químico concreto.

La alusión a la química para la definición de conceptos biológicos como función e individualidad no sólo resulta eficaz para simplificar su realización experimental sino que se hace necesaria para encarar la característica organización no-hilemórfica generadora de forma de la identidad biológica. Los sistemas químicos complejos serán esa materia en un “estado de-tipo-proto-biológico”, generando un tipo de orden intermedio entre la materia descrita por la mecánica y la de los sistemas biológicos, como también destacan autores como Ganti [1997] o Morowitz y Smith [2007].

6.2.1. Potencial individual

La individualidad de un sistema químico se asocia directamente con su capacidad de diferenciarse operacional y topológicamente como un ente distinto a su ambiente. La individualidad en los seres vivos es una característica ampliamente discutida (ver capítulo 2) y que varía según el enfoque que se le dé a su definición (en términos generales, uno más evolutivo o uno más fisiológico). A un nivel químico pero en continuidad con la biología y en el contexto de la teoría de

la autonomía, vincularé la individualidad a la emergencia de compartimentos *proto*-celulares en estos sistemas. Esto implica una cierta idea de cohesión, de diferenciación de una interioridad y una exterioridad pero, sobre todo, la presencia de una frontera auto-ensamblada y auto-producida.

A la hora de definir individualidad en un sistema químico es importante la capacidad de éste para diferenciar lo propio y lo ajeno. Una diferenciación “dentro/fuera” meramente topológica es relativamente fácil de conseguir mediante la realización material de una frontera física. En la biología actual, esta frontera está demarcada por la membrana celular, compuesta mayoritariamente por fosfolípidos, moléculas hidrofóbicas que tienden a agruparse cuando están en un medio acuoso. Asimismo, existen otros tipos de moléculas surfactantes (con un extremo hidrofóbico y otro hidrofílico) que llevan a cabo su auto-ensamblaje en agua, generando estructuras supramoleculares cercanas al equilibrio. La diferenciación de este tipo de súper-estructuras es más evidente cuando el sistema químico lleva consigo un número de dos o más tipos de fases (acuosa, lipídica, orgánica, líquida, sólida...) que hacen que los componentes que las ocupan se comporten de maneras distintas. La presencia de dos o más fases, de hecho, es ya una prueba fehaciente de la existencia de estructuras distinguibles en el sistema (ver 5.4.2). La estructuración del medio, como tal, no distingue aún un interior y un exterior; sin embargo, la existencia de fases facilita las condiciones para que esto pueda suceder. La estructuración en forma de compartimentos dota al sistema de una primera materialización de la idea de *contorno*, haciendo explícito el contacto entre “lo que pertenece al sistema” y “lo que le rodea” (es decir, lo propio y lo ajeno). El nuevo ambiente de interacción que proporcionan las fases (por ejemplo, una membrana vesicular) no será únicamente importante desde un punto de vista simbólico o conceptual (como veremos más adelante) sino que, de hecho, facilitarán la aparición de mecanismos funcionales asociados a la frontera, típicamente relacionados con el aspecto interactivo de la organización pero, también relativos al aspecto constitutivo. Por ejemplo, una membrana puede tener una función permeabilizante selectiva que dejará pasar o no determinadas sustancias hacia dentro o hacia afuera. Esta función contribuye a su individualidad pues diferenciará un ambiente interno de uno externo (concentración de determinadas sustancias, ausencia de otras, etc). Otra de las funciones relacionadas con el aspecto interactivo puede ser la propia composición de la membrana que, “atrapando” unas u otras sustancias contribuirá, de nuevo, al transporte selectivo pero, también, funcionará como anclaje para la exposición de determinadas sustancias, o como andamiaje de otras que puedan pertenecer a futuros mecanismos (por ejemplo, un canal de membrana). Una vez se ha generado una proto-individualidad, una diferenciación incipiente entre un interior y un exterior, ésta podrá ser también utilizada para reforzar la asimetría dentro/fuera (por ejemplo mediante un control interno de los cambios de volumen). En el modelo presentado por Mavelli y Ruiz-Mirazo [2007] los sistemas

procelulares propuestos auto-regulan su volumen mediante la auto-producción de los componentes de membrana. Durante el proceso de producción de los componentes de membrana, se generan sub-productos inservibles para el sistema que tienen a acumularse en su interior, haciendo que la presión osmótica aumente y el volumen de la protocélula también. Al aumentar el volumen, la protocélula se hincha generando micro-aperturas en la membrana y dejando los sub-productos de deshecho salir. De esta forma la protocélula recupera su tamaño y continúa con su organización [Mavelli & Ruiz-Mirazo 2007]. La situación se vuelve más robusta y estable cuando la membrana es capaz de sustentar la polimerización de un canal oligo-peptídico que facilita el paso de los subproductos [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008]. Los cambios de volumen en una protocélula también pueden ser utilizados en el aspecto constitutivo de su organización. En un modelo de protocélula que encapsulaba reacciones químicas sencillas se demostró cómo el volumen cambiante del compartimento afectaba a la eficacia de las reacciones que producían estos cambios [Shirt-Ediss et al 2015].

Ya hemos mencionado antes la importancia del acoplamiento entre frontera y química interna para dar una explicación al origen del cierre de constricciones autónomo. También estamos viendo cómo el aspecto interactivo (típicamente relacionado con el potencial individual) y el aspecto constitutivo son dos caras de la misma moneda, una vez el cierre de constricciones está mínimamente formado. El auto-ensamblaje de súper-estructuras se produce de forma espontánea dadas las propiedades físico-químicas de los componentes moleculares que podían estar presentes en un entorno abiótico. Sin embargo, una vez formadas, es posible que algunas de ellas *induzcan* procesos que refuercen la asimetría interior / exterior estableciendo una individualidad más plena y robusta. La auto-producción de una frontera física y las consecuencias que ésta acarrea será, por tanto, una de las características aquí considerada más importante a la hora de tratar de encontrar una potencial individualidad (infra)-biológica.

6.2.2. Potencial funcional

El potencial funcional será interpretado aquí como la capacidad que presente el sistema, dadas sus características composicionales y estructurales, de organizarse y descomponerse en términos funcionales. Las funciones, como hemos dicho, son definidas como partes distinguibles del sistema diferenciado topológica y dinámicamente de su entorno, con aportaciones también distinguibles a la organización del mismo. En un cierre organizacional como el que sucede mediante el “cierre de constricciones” en los sistemas autónomos, cada una de las funciones habilitará la

actividad de las demás y, con ello, el funcionamiento del global del sistema. Las funciones, como hemos visto, pueden aparecer tan pronto el sistema ha alcanzado una complejidad material suficiente como para auto-organizarse y diferenciarse del ambiente (individuarse). Las funciones pueden aparecer ligadas al aspecto interactivo de la autonomía básica (permeabilidad, transporte/accesibilidad de sustancias, control del volumen) pero, como también hemos visto, pueden estar implicadas recíprocamente en el aspecto constitutivo de la organización. Los cambios de volumen pueden modificar las eficiencias de reacciones químicas encapsuladas; o la propia membrana puede hacer de catalizador de determinadas reacciones [Izgu et al. 2016; Murillo-Sánchez et al. 2016]. Un mayor número y variedad de procesos dinámicos auto-organizándose y actuando para con el sistema en forma de mecanismos y módulos funcionales requerirá una mayor complejidad de la composición de las distintas fases del sistema individuado. Las dimensiones interactiva y constitutiva co-evolucionarán en complejidad permitiendo una más eficiente y más robusta interacción con el ambiente mediante una mejor constitución de los componentes.

En línea con lo que sabemos de los sistemas biológicos, donde el principal encargado de la realización de las funciones es el metabolismo, identificaré los sistemas químicos con un potencial funcional con aquellos que indiquen cierto carácter *proto*-metabólico: presencia de una red de reacciones, organización modular de los procesos dinámicos y emergencia de patrones auto-organizativos.

La variabilidad molecular (inter-específica), es decir, la presencia de distintos tipos moleculares puede indicar la posibilidad de cierto potencial funcional pues es un indicador directo de la concurrencia de diferentes tipos de químicas (y, por tanto, de la generación de procesos y mecanismos funcionales). La variabilidad molecular intra-específica, es decir, la presencia de distintas moléculas pero pertenecientes a *un mismo* tipo (pensemos, por ejemplo, en cuasi-especies de ARN) es una importante fuente de variabilidad y de optimización de los componentes implicados, pero no tanto un indicador de la diversidad procesual asociada a la emergencia de funciones.

Esta variedad de mecanismos dinámicos concurrendo en el sistema puede estar más específicamente organizada en módulos⁸, cuando su actividad esté asociada a alguna parte material

⁸ A lo largo del manuscrito me he referido a mecanismos y a módulos funcionales sin hacer mayor distinción entre ambos. De hecho, un proceso asociado a un tipo molecular puede ya realizar alguna acción que contribuya al global del sistema, sobre todo cuando el sistema aún es muy simple. No obstante, comúnmente, las funciones se atribuyen a *mecanismos*, o agrupaciones de diferentes procesos y rara vez podemos atribuir una función a un proceso o componente aislado. Los mecanismos, a su vez, pueden encontrarse agrupados en *módulos*. La agrupación modular de mecanismos funcionales será especialmente importante una vez aparecido un sistema regulatorio (ver más adelante en este capítulo). En cualquier caso y aunque la discusión en torno a dónde se encuentran las funciones es muy controvertida e interesante, en esta tesis se trata esta cuestión de una manera relativamente laxa, atribuyendo funciones a todo proceso, mecanismo o módulo que cumpla con la definición.

concreta del sistema. La identificación material de estos módulos puede ayudar a rastrear el origen y el grado de interacción e integración de los procesos dinámicos, dando una idea de la capacidad global del sistema para producir y mantener un acoplamiento funcional. La modularidad permite formas de organización eficientes, flexibles y robustas pues hace posible el intercambio y la variabilidad entre mecanismos funcionales y, por tanto, su optimización, sin interrumpir su actividad.

Los sistemas biológicos, dada su condición de sistemas abiertos y alejados del equilibrio, son inherentemente precarios. Si el sistema deja de organizarse activamente se desintegrará y pasará a equilibrarse con su ambiente (morirá). Por tanto, el sistema necesita continuamente gestionar la energía y la materia de ese ambiente para producir estructuras (anabolismo) que lo ayuden a gestionar tal energía y tal materia, a costa de degenerar otras estructuras (catabolismo). La generación de orden en condiciones alejadas del equilibrio termodinámico no es una característica exclusiva de los sistemas biológicos. Como ya hemos mencionado previamente, en las estructuras disipativas físicas (por ejemplo, las celdas de Bénard o los huracanes) se da la generación de patrones macroscópicos complejos pero que no tienen mucho que ver con los que ocurren en la biología. La auto-organización es un proceso físico ubicuo y extendido en la naturaleza, consecuencia de la colectividad y la interacción no-lineal entre un número alto de componentes que se encuentran fuera del equilibrio. La biología hace uso de esta propiedad natural tan potente de forma continuada pero, a diferencia de lo que sucede en los sistemas auto-organizados meramente físicos o químicos, se *apropia* de ella. Esto quiere decir que, mientras que en las estructuras disipativas físico-químicas las condiciones energéticas que mantienen al sistema alejado del equilibrio y que permiten la formación continuada del patrón son impuestas externamente, en los sistemas biológicos éstas son generadas y controladas internamente por el propio sistema, mediante la auto-gestión de la energía y la materia. La auto-organización en los sistemas físico-químicos se haya absolutamente a merced del aporte energético externo y cesará si éste se acaba; por el contrario, la auto-organización de los sistemas biológicos será mucho más robusta y estable y, aunque nunca independiente del ambiente, sí *autónoma* [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004].

Es la capacidad para auto-producir esas condiciones de contorno dentro de las cuales el sistema se organiza lo que hará característica la auto-organización propia de un individuo biológico. Ningún sistema químico conocido en la naturaleza posee esta capacidad, aparentando que la biología la ha acaparado para sí. Sin embargo, en algunos diseños de laboratorio (algunas veces semi-sintéticos, es decir, mezclados con componentes biológicos) se han obtenido sistemas químicos complejos con cierto control de sus fronteras, permitiéndolos persistir (auto-mantenerse) durante un tiempo relativamente largo [Noireaux & Libchaber 2004; Hardy et al. 2015]. A pesar de

la relevancia de estos trabajos, que nos indican la línea a seguir (la síntesis de sistemas químicos complejos con control de sus propias fronteras) no podemos obviar que, en estos sistemas, las condiciones iniciales siguen estando impuestas por el experimentador y que en su mayoría, sin un mantenimiento externo de las condiciones experimentales, su estabilidad seguiría siendo muy precaria. En otras palabras, a pesar del auto-control conseguido, que hace que estos sistemas “tarden” en desintegrarse, no dejan de estar inmersos en una cascada termodinámica que, sin ayuda externa, terminará engulléndolos.

6.2.3. El programa de fabricación de protocélulas.

Funcionalización de vesículas

Una vesícula es un compartimento formado por una bicapa lipídica que encierra un medio acuoso en su interior. La formación de estas estructuras en agua es espontánea dadas unas determinadas condiciones experimentales, en particular a partir de una concentración suficiente de moléculas del lípido y dependiente, entre otras cosas, del pH. Si hay otros componentes en el mismo medio de reacción, las vesículas pueden encapsularlos durante su auto-ensamblaje; dependiendo de su hidrofobicidad, los componentes irán a parar al interior acuoso o a la propia bicapa (dentro y/o asociados con ésta). El reclutamiento de algún tipo de química en el nuevo micro-ambiente tendrá efectos sobre las interacciones que ya se daban entre los componentes cuando estos se encontraban fuera de su rango de influencia, así como sobre las nuevas interacciones que puedan darse entre los componentes y la superestructura generada. Los efectos serán más o menos directos y muy diversos, relativos, por ejemplo, a la propia concentración y aproximación entre componentes, a la separación de fases, a los cambios de volumen y efectos osmóticos o a catálisis nucleofílicas llevadas a cabo por la propia membrana. Globalmente, el resultado será el mantenimiento de un sistema compuesto por ambos tipos de componentes y más robusto, cohesivo e integrado que cuando éstos se encontraban actuando por separado.

La idea de *vesícula funcional* hace referencia a la dotación de cierto tipo de normatividad *proto*-biológica al funcionamiento de un sistema previamente pasivo (compartimento vacío) y cercano al equilibrio. La normatividad buscada, por muy débil que sea, provendrá del propio sistema, precisamente de la generación de un “cierre de constricciones” mínimo o, al menos, de una interacción/integración causal entre la dinámica *proto*-metabólica y *proto*-celular (entre compartimento y química asociada, entre individualidad y función) con el fin de conseguir que el sistema controle mínimamente las condiciones que lo mantienen alejado del equilibrio (en clara

analogía con lo que actualmente sucede en la células).

La propiedad de *funcionalización de un compartimento* es importante en el programa de investigación con protocélulas. La implementación experimental de la idea autónoma básica en la auto-producción de una barrera física requiere un grado de integración ya muy alto entre una membrana y un tipo de química asociada. No obstante, previo a esta dinámica de auto-fabricación, las químicas involucradas en las poblaciones protocelulares pueden ya mostrar algunas dinámicas de colaboración y beneficio mutuo, en términos de protección, estabilidad y/o robustez, que permitan establecer una base material físico-química fuerte sobre la que crecer en complejidad. Por ejemplo, una química reactiva puede verse beneficiada por la presencia de un entorno lipídico (ver capítulo 7) y, la estructura formada por éste, a su vez, puede ser estabilizada por los productos de las reacciones de la primera⁹.

Los relativamente escasos trabajos en protocélulas de tipo autopoietico son, hasta ahora, el intento más satisfactorio de auto-fabricación química *bottom-up*. Un trabajo en biología sintética de Hardy y colaboradores que ya se ha mencionado previamente logra la consecución de un cierre casual y auto-productivo de constricciones, haciendo que el sistema mantenga sus condiciones de contorno (aunque, en última instancia, siga a merced del investigador) [Hardy et al. 2015]. El trabajo con bioreactores [véase Noireaux & Libchaber 2004 ó Matsumoto et al. 2011; Caschera et al. 2011], realizado a partir de una mezcla de componentes químicos, bioquímicos y biológicos (utilizando a veces incluso extractos celulares completos, maquinarias de transcripción, genomas celulares...) podría ser otra de las aproximaciones más cercanas a una entidad con autonomía básica (identidad *infra*-biológica); sin embargo, la utilización de biocomponentes modernos alejan un poco este tipo de abordaje del estudio del proceso de origen de vida “desde abajo”.

Desde una perspectiva más simple, pero más interesante prebióticamente hablando, los sistemas químicos en los que sencillamente se acopla una química a un compartimento pueden ya mostrar propiedades emergentes a la interacción entre ambos como las descritas más arriba. Este acoplamiento, aunque aún no es suficiente para hablar de una identidad *infra*-biológica fuerte, sí resulta especialmente interesante para la investigación de su origen a partir de un potencial funcional e individual básico. El análisis de sistemas químicos complejos con diferentes propiedades tanto a nivel funcional como individual, así como diferentes niveles de cohesión e

⁹ Para Moreno y Mossio, autores de la teoría de la autonomía, la atribución de una función a algún componente o mecanismo del sistema implica la síntesis *interna* del mismo. No obstante, en un nivel muy básico de la autonomía, cuando aún no hay un sentido fuerte de la auto-producción, es probable que muchos de los componentes fueran extraídos del medio y después *utilizados funcionalmente* por el sistema. Por ejemplo, algunos componentes “atrapados” en la membrana podrían funcionar como permeabilizadores o estabilizadores de la misma. En cualquier caso, la síntesis interna de todos los componentes funcionales es cuestionable pues, a día de hoy, hay muchos co-factores y otros componentes necesarios para el funcionamiento metabólico que sí son *gestionados* internamente por el sistema pero *no* son, estrictamente, *sintetizados* por éste.

integración entre los mismos, puede ayudarnos en la comprensión del camino hacia la identidad biológica hiper-compleja y guiarnos, quizá, hacia su re-producción.

6.3 Tabla comparativa: sistemas químicos complejos

En la tabla resumen mostrada en este apartado comparo los diferentes tipos de sistemas químicos complejos más representativos del campo del origen de la vida (en gris), sobre todo desde un punto de vista ‘*bottom-up*’ (aunque también se incluyen modelos semi-sintéticos, como en el caso de los bioreactores) tomando como referencia (en amarillo) los modelos ‘*top-down*’ de célula mínima, en los cuales las propiedades biológicas se cumplirían plenamente.

La tabla está agrupada en dos bloques principales; el primero tiene que ver con propiedades del sistema químico que pueden tener que ver con la adquisición de cierto tipo de funcionalidad biológica (o protometabolismo) y el segundo con aquellas relacionadas con la adquisición de cierta individualidad, diferenciación de su entorno (o proto-celularidad). Por supuesto, y tal y como explico en el apartado anterior, ambos bloques se encuentran sumamente interconectados, sin embargo, este esfuerzo analítico nos ayudará a desgranar los detalles de cada sistema, comprender cuáles son sus puntos fuertes y cuáles los débiles, y justificar aquellos que se asemejen más a la identidad biológica, encontrando un balance entre lo proto-metabólico y lo proto-celular. A continuación se hace un análisis exhaustivo de la tabla, revisando cada sistema químico complejo (en las columnas) y sus propiedades específicas (en las filas).

La primera columna corresponde a las poblaciones de replicadores. En este grupo están congregados desde poblaciones de “cuasi-especies” (como virus) hasta redes de replicadores (de tipo Von Kiedrowski, Ashkenasy, Vaidya, Lehman) pasando por los trabajos de evolución artificial *in-vitro* de ribozimas (Joyce). El mecanismo dinámico principal, motor del funcionamiento de estos sistemas, es la replicación mediante “template” o plantilla (es decir, conservación de secuencia). En algunos de estos sistemas, como en las redes de replicadores más sofisticadas [Vaidya et al. 2012, Dadon et al. 2008] se dan algunos procesos catalíticos entre componentes, pero el sistema sigue dependiendo de la replicación como mecanismo principal para su existencia. La variedad molecular inter-específica es prácticamente nula, tratándose normalmente de sistemas compuestos por moléculas de un mismo tipo (secuencias aminoacídicas o peptídicas); no obstante, estas secuencias pueden ser muy variadas, dadas las tasas de replicación y de mutación que, en los experimentos de evolución *in vitro* suelen ser muy altas. A pesar de ser sistemas más o menos homogéneos composicionalmente, las poblaciones de replicadores muestran cierta generación interna de

		SISTEMAS QUÍMICOS COMPLEJOS										
		Poblaciones de replicadores	DCLs en solución	DCLs multifase	Auto-organización (estructuras disipativas)	Auto-ensamblaje (estructuras supramoleculares)	Auto-org + Auto-ensamb	Acoplamiento química-compartimento	Protoceúlas autopoieticas	Bioreactores complejos	MINIMAL CELL.	
POTENCIAL FUNCION (PROTOMETABOLISMO)	Mecanismo o proceso dinámico	TEMPLATE REACCIONES	TEMPLATE/ REACCIONES	TEMPLATE/ REACCIONES/ AUTOENS.	REACC.-DIFUS.	TEMPLATE/ REACCIONES/ AUTOENS./REACC.-DIFUS.	REACCIONES+AUTOENS.	REACCIONES+AUTOENS.-REACC.-DIFUS.	REACCIONES+AUTOENS.	REACCIONES+AUTOENS.-REACC.-DIFUS.	TEMPLATE-REACCIONES+AUTOENS.-REACC.-DIFUS.	
	Variedad molecular											
	Variedad Intraespecifica	ALTA	ALTA	ALTA	ALTA	BAJA	ALTA	MEDIA	MEDIA	ALTA	ALTA	
	Variedad Interespecifica	BAJA	MEDIA	ALTA	ALTA	BAJA	ALTA	ALTA	MEDIA	ALTA	ALTA	
	Modularidad (endo/exo)	ENDÓGENA	-	EXÓGENA/ ENDÓGENA	ENDÓGENA	-	EXÓGENA	EXÓGENA	ENDÓGENA	ENDÓGENA	ENDÓGENA	
	Autonomía energética	ALTO	-	BAJO/ALTO	BAJO	-	MEDIO	MEDIO	ALTO	ALTO	MUY ALTO	
	Orden disipativo/ patrón	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	
	Diversidad de fases	NO	NO	SÍ	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	
	Diferenciación dentro/fuera	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	
	Frontera física auto-ensamblada	NO	NO	NO	NO	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	
POTENCIAL INDIVIDUALIDAD (PROTOCELULARIDAD)	Autoproducida	-	-	-	-	NO	-	NO	SÍ	SÍ	SÍ	
	Condiciones de contorno											
	Generación (Int/Ext)	INTERNO	EXTERNO	EXT/INT	EXTERNO	INTERNA	EXTERNA	EXTERNA	INTERNA	INTERNA	INTERNA	
	Tipo de Control	CINÉTICO+REGISTRO	-	CINÉTICO/ ENERGETICO/ ESPACIAL/ REGISTRO	CINÉTICO +ENERGÉTICO	ESPACIAL +CINÉTICO	ESPACIAL +CINÉTICO+ENERGÉTICO	ESPACIAL+ CINÉTICO/ ESPACIAL+TEMPERATE	ESPACIAL+ CINÉTICO+ENERGÉTICO	ESPACIAL +CINÉTICO+ENERGÉTICO	ESPACIAL+ CINÉTICO+ENERGÉTICO+REGISTRO	
	EJEMPLOS	Von Kiedrowski, Ashkenasy, Lehman, Joyce, virus...		Nyugen, Carnall, Dadon, Ura, Campbell, Iwasawa,...	Belousov-Zhabotinsky, Whitesides, Turing	Mann, Monnard, Cape, Apel, Namani, Deamer,...	Epstein, Rossi,...	Luisi, Walde, Adamala, Cheri, Mansy, Kuribara, Igaru, ...	Luisi, Zepik, Hardy,...	Noireaux, Yorno, ...	Venter, Danellon, ...	

“módulos” o de distribución de tareas. Es importante recalcar que, al tratarse de sistemas cuyo funcionamiento no se entiende claramente sin un eje de tiempo, esta distribución de tareas será un poco diferente a aquella que diferenciaremos en los sistemas químicos sucesivos. Por ejemplo, las poblaciones de “cuasi-especies” presentan una forma filogenética radial con una larga cola que conecta a una población algo más alejada en el espacio de posibles secuencias. Mientras que las poblaciones más cercanas sirven para la autocatálisis y la correcta replicación de la secuencia “maestra”, la población más alejada servirá como reservorio de información para poder adaptarse ante posibles perturbaciones bruscas del ambiente. Las redes de replicadores, por su parte, presentan una modularidad más claramente delineada, basada en el establecimiento de ciertas relaciones catalíticas (ya sean catálisis directas o catálisis cruzadas -es decir, autocatálisis-). A pesar de tener cierto control interno sobre sus condiciones de contorno (en términos cinéticos y/o de registro de información secuencial), el acoplamiento energético entre estos módulos no es excesivamente exigente, ya que los distintos replicadores pueden seguir ocurriendo, con mayor o menor eficacia, de manera independiente (ver Vaidya et al. 2012). En ausencia de esta coordinación entre componentes estos sistemas no generan ningún tipo de patrón alejado del equilibrio y no podemos diferenciar, por tanto, ningún tipo de orden que marque una asimetría con ambiente si no hacemos esto explícito extrínsecamente. Podemos resumir el carácter protometabólico de estos sistemas como medio-bajo pues, a pesar de presentar cierta modularidad, ésta funciona, podríamos decir, de manera conjunta pero no integrada energéticamente. El carácter proto-celular de las poblaciones de replicadores es nulo dada su homogeneidad de fases y la ausencia de una frontera física.

Las segunda y tercera columnas están dedicadas a las librerías dinámicas estudiadas en detalle en el capítulo anterior (capítulo 5). Ninguna de las DCLs muestra un carácter proto-celular muy fuerte, dada la ausencia de fronteras físicas. Sin embargo la heterogeneidad de fases en las DCLs multifase permite la emergencia de una diversidad de procesos mayor que en sus homólogas en solución, posibilitando cierto control local de las condiciones de contorno, pero sin ningún tipo de regulación integradora que determine globalmente un conjunto o subconjunto de la red. Las DCLs, especialmente las multifase y alejadas del equilibrio, pueden ser sistemas muy útiles a la hora de investigar la emergencia de procesos en la interacción de un número muy alto de componentes. Su capacidad combinatoria es una potentísima fuente de diversidad y, su análisis complejo, puede revelar procesos auto-organizativos y cierto control local de las fronteras. Sin embargo, las librerías moleculares son sistemas delicadamente diseñados y constreñidos por los intereses del investigador y resultan muy difícilmente extrapolables a la producción espontánea de un sistema organizado.

La producción espontánea de orden, como ya hemos comentado, puede originarse cuando un sistema con un número muy alto de componentes se aleja del equilibrio y las interacciones microscópicas amplifican de manera no-lineal sus efectos en forma de generación de un patrón disipativo macroscópico. Este mecanismo de correlación (reacción-difusión) entre lo microscópico y lo macroscópico es muy efectivo y la biología lo utiliza extensamente en todas sus formas actuales (Karsenti 2008; Kondo & Miura 2010). No obstante, esta propiedad no es ni mucho menos exclusiva de la biología, pues muchos sistemas puramente físico-químicos como la llama de una vela o un huracán ya son capaces de mostrarla (Prigogine, Stengers). En los procesos de auto-organización química podemos ya diferenciar contribuciones específicas en lo que podríamos llamar módulos (aunque algunos autores dirían que la auto-organización, a diferencia de la autonomía, carece de una organización interna suficiente como para distinguir actividades distinguibles y susceptibles a selección) por ejemplo: un módulo activador, un módulo represor y otro catalítico (en una reacción oscilatoria del tipo [Semenov et al. 2016]). No obstante, aunque la auto-organización automáticamente genere un control sobre las condiciones de contorno locales-globales, le energía para sacar al sistema del equilibrio y permitir dicho patrón oscilatorio macroscópico provienen y son gestionadas exteriormente, al contrario de lo que sucede en los sistemas agentes autónomos. Además, las estructuras disipativas clásicas *per se* no producen una frontera física y no pueden ser consideradas como estructuras protocelulares.

El estudio del auto-ensamblaje de estructuras supramoleculares puede mejorar considerablemente el aspecto protocelular de un sistema químico, dada la formación espontánea de compartimentos (coacervados, micelas, vesículas, agregados supramoleculares de otros tipos...) que permiten separar materialmente un interior y un exterior del sistema. La separación de fases y la formación de un nuevo entorno físico-químico dotarán al sistema de cierto control espacial y cinético de las condiciones de contorno dada la sujeción y concentración de reactivos, la formación de gradientes, la permeabilidad selectiva o la propia actividad catalítica de algunos compartimentos, como vimos anteriormente. Sin embargo, la baja variedad composicional que típicamente muestran estos sistemas y, consecuentemente, la escasez de procesos dinámicos que se suelen implementar no han dado, hasta la fecha, ninguna opción a la emergencia de patrones disipativos; a su vez, la ausencia de módulos propiamente distinguibles no prometen un carácter *proto*-funcional demasiado fuerte. Esta situación cambia ligeramente cuando incluimos ambos, auto-ensamblaje y auto-organización, en un mismo sistema de estudio. La diversidad de mecanismos ocurriendo en global se amplifica: por un lado se mejora el aspecto funcional, carente en el auto-ensamblaje y, por el otro, la estructura supramolecular aporta el control de las condiciones de contorno, carente en los sistemas químicos meramente auto-organizativos. Además, estos sistemas ponen de manifiesto la

importancia de las fases (membranas, emulsiones,...) sobre los procesos de reacción-difusión siendo capaz de variar significativamente los patrones auto-organizativos de reacciones oscilatorias [Epstein 2014, Rossi et al. 2012]. Sin embargo, el efecto recíproco, el de la estructura disipativa sobre el compartimento, no es tan evidente o directo. Las estructuras generadas funcionan más como “receptáculos” o modificadores de las estructuras disipativas encapsuladas y, en realidad, el efecto global se plasma, sobre todo, en la variación del tipo de patrones que éstas pueden generar. No se trata, pues, de un sistema verdaderamente integrado sino más bien de un calibrado del escenario energético y material impuesto por el investigador utilizando compartimentos.

Según la definición de protocélula (“cualquier modelo experimental o teórico que involucre un compartimento auto-ensamblado [...] asociado a un proceso químico [...] y dirigido a explicar cómo se dio lugar la organización celular [...]” [Ruiz-Mirazo 2011]) sólo cuando se de un acoplamiento real entre una química y el compartimento se puede empezar a hablar de proto-celularidad. En ese contexto, la topología de las vesículas otorgaría ya cierta separación de tareas (como mínimo, el propio compartimento y la química encapsulada) empezando a cumplir los requisitos para poder empezar a hablar de funciones: los procesos son distinguibles en partes del sistema pertenecientes a la misma organización trabajando para beneficio mutuo y global. Además, la presencia de una frontera física fortalece el carácter protocelular y, a pesar de la dependencia de un control energético externo, la integración y carácter funcional de sus componentes les permite extender los efectos locales a un control global de condiciones de existencia como, por ejemplo, fabricar componentes de su membrana [Izgu et al 2016], controlar los gradientes osmóticos [Chen e & Szostak 2004] o mejorar el rendimiento de algunas reacciones [Murillo-Sánchez et al. 2016]. El carácter proto-metabólico representado por la química interna, acoplada al carácter protocelular representado por el compartimento, materializan la idea de identidad *infra*-biológica básica desde una integración del origen de la función y de la individualidad biológica. Cuando ambos aspectos quedan integrados funcionalmente, es más complicado diferenciar su pertenencia a una u otra categoría (metabolismo o celularidad) pues los efectos locales se dirigirán a reforzar el todo integrado formado por ambos, es decir, su identidad.

Experimentalmente, esta idea de integración global queda mejor capturada por los llamados *modelos protocelulares autopoieticos* (diversos trabajos de Luisi, Zepik et al 2001, Hardy et al. 2015) en los cuales, podríamos decir que hay una verdadera auto-producción del “cierre de constricciones” primitivo. En estos, la integración entre compartimento y química es tal que permite la re-producción del global del sistema y el mantenimiento del mismo durante un tiempo relativamente largo. El incremento de la robustez y del “tiempo de vida” del sistema es precisamente lo que las poblaciones de protocélulas “buscaron” en el proceso del origen de la vida;

su persistencia durante un tiempo suficiente para funcionar y crecer en complejidad. Aunque son sistemas aún muy precarios en términos de autonomía energética, las complejas respuestas que ofrecen a través de una topología relativamente simple parecen indicar que la integración entre componentes relativos al protometabolismo y a la proto-celularidad (entre el aspecto interactivo y constitutivo comentado previamente) es el primer paso hacia la reciprocidad existente entre función e individualidad característica de la identidad autónoma biológica y el camino, por tanto, para su estudio más pormenorizado.

6.4. Perspectivas fenomenológicas de la individualidad

La definición de vida ofrecida por la teoría de la autonomía realiza la auto-producción de una frontera capaz de promover un cierre operacional de constricciones sobre la materia y la energía provenientes del exterior, fomentando la continuación de tal organización re-productora alejada del equilibrio. Esta concepción proviene de ideas que ya habían sido previamente sugeridas por parte de diversos autores en filosofía, sociología, psicología y otras ciencias sociales. A continuación comento algo más en profundidad tres de ellas que, a pesar de ser contemporáneas a las teorías mencionadas al comienzo de esta discusión no aparecen mencionadas en prácticamente ninguno de estos trabajos.

Ninguno de los autores de los que hablamos a continuación se dedicó específicamente a definir un principio biológico (a excepción quizá de Hans Jonas, quien escribió un pequeño libro dedicado a su búsqueda). Sin embargo, en su interés por entender al “sujeto” en todos sus niveles ontológicos, y por descubrir las raíces y el papel de su identidad y su individualidad, se vieron enfrentados, en algún momento, al carácter especial del sujeto biológico. La especial similitud de sus ideas fenomenológicas para definir la identidad, la individualidad o la función con el tipo de perspectiva elegido en el presente trabajo los convierte en interesantes referencias para la reflexión. Así, desde su re-lectura a partir de un posicionamiento científico como la química de sistemas, creo que esta reflexión puede aportar nuevas luces tanto sobre la teoría ya escrita como sobre nuevos dominios de investigación como el que desde aquí se trata de proponer.

6.4.1. El principio de individuación (Gilbert Simondon): los sistemas metaestables y el límite

Gilbert Simondon (1924-1989) fue un filósofo francés que, dedicado a su vida universitaria como profesor de la Sorbona en París, no pareció preocuparse demasiado por la publicación de su original trabajo. Únicamente tras su muerte, con la re-edición de su tesis escrita cuarenta años antes (1964) en dos libros *L'individu et sa genèse physico-biologique* [1995] y *L'individuation à la lumière des notions de forme et d'information* [2005] ha sido reconsiderado e internacionalmente reconocido por su excéntrica teoría en torno a la noción de *individuación*. Simondon se aleja de los dos pensamientos ontológicos predominantes, el *hilemorfismo* que entiende al ser como la unión de la materia y la forma, y en contraposición, el *sustancialismo* que busca la última explicación causal en la reducción a la materia. Nada de esto convence a Simondon por ver en ellos principios externos que describen la realidad y la tratan como el producto final de un proceso, pero sin ser capaces de explicar su producción. Por tanto, se desmarca de este esquema e inventa uno nuevo, basado en el proceso, para explicar la realidad del ser: “*No hay ser sino devenir; o devenir del ser*” [1995]. Una sustancia no existe ni está determinada si no es en relación con otras sustancias. El ser y el devenir se pertenecen mutuamente, son dos caras de una misma dimensión, la cual queda explicada por la operación de individuación: el *ser pre-individual* será la materia *metaestable*, esta materia estará predispuesta a recibir una *información*¹⁰ y devenir en *ser individualizado*. El ser individualizado será más estable que el ser pre-individual, será una “solución” tomada por el ser pre-individual de acuerdo a la información recibida. Sin embargo, el individuo siempre conservará el potencial de volverse a individuar (cambiar de forma) ya sea desde su forma individualizada o desde su forma pre-individual (pues siempre conserva parte de su materia en estado meta-estable). Este esquema se repite en los tres niveles de realidad: el físico, el vital y el psíquico-colectivo.

Para no extenderme demasiado iré directamente al nivel que nos interesa, el nivel biológico, a partir del cual trato de explicar su posición. Conviene mencionar que para Simondon la realidad está inicialmente individualizada a un nivel físico en base al cual se dan los demás niveles de individuación. Simondon fue un fiel defensor de la búsqueda de un principio de continuidad entre la física y la biología sin caer, no obstante, en el reduccionismo. En uno de los capítulos de su tesis, *Cap.5 Topologie et ontogenese*, se extiende en la explicación de la individuación a nivel vital y, según se verá a continuación, los requisitos que demanda para su origen (a pesar de llegar a ellos de

¹⁰El concepto de información en Simondon hace referencia a la semántica. La materia meta-estable no es pasiva a la adquisición de una forma sino que debe ser capaz de entender el mensaje y tomar la forma que requiera una determinada solución (una situación determinada en el ambiente). Simondon compartía el ideal cibernético de una teoría unificada del ser explicada a partir de la noción de información [Chabot 2002].

una manera un tanto extravagante y a partir de un vocabulario propio) no nos serán del todo extraños.

Simondon comienza llamando la atención sobre la falta de esfuerzo existente por “producir la *topología* del ser vivo, su particular tipo de espacio y de relación entre un medio de interioridad y un medio de exterioridad” ; a pesar de que ha habido varios intentos de producir las *moléculas de la vida*, sólo ha habido intentos de *describir* la vida, no de producirla realmente. Subrayamos el concepto de topología pues para Simondon es clave en la descripción de la individualidad, “la estructura vital más primitiva y profunda es topológica”. La membrana (que para él puede estar “anatómicamente o sólo funcionalmente diferenciada”) está polarizada y separa una región de interioridad con una de exterioridad. Esta interioridad y exterioridad serán absolutos en los “sistemas elementales” ¹¹ (sistemas unicelulares) y permitirá que la membrana se mantenga “viva, re-polarizándose a sí misma después de realizar su función”. Su función es la de mantener la metaestabilidad (la condición alejada del equilibrio), mantener el ser pre-individual para que pueda seguir individuándose: “la vida existe como un aspecto de la topología dinámica de la membrana que mantiene la metaestabilidad en la cual existe”. Es interesante cómo Simondon remarca que, aunque el aparato de regeneración de los componentes de membrana sea interno, no debemos estar “tentados a atribuir esto a su interioridad” pues esta interioridad sólo existe en relación a la exterioridad y ninguna de las dos existiría sin la membrana. Simondon está hablando de la necesidad de mantener al sistema alejado de la estabilidad, es decir alejado del equilibrio y, el último responsable de esto es la membrana o (si entendemos membrana como límite funcional el último responsable) literalmente, la capacidad de mantenerse alejado del equilibrio, re-produciendo las condiciones de contorno. La conexión del pensamiento de Simondon con la teoría de los sistemas alejados del equilibrio ha sido ya reivindicada en otros sitios (así como la importancia general de su planteamiento conceptual para aludir a una nueva visión científica más amplia) [Stengers 2002, 2004, Atamer 2011, Penas 2014].

La similitud con la no-linearidad y los sistemas disipativos alejados del equilibrio no acaba ahí y continúa en la explicación de la relación entre topología y cronología en los sistemas vivos. A Simondon le llama la atención la peculiar relación entre el espacio y el tiempo existente en los seres vivos, que cree que es central en el proceso de individuación. Los seres vivos, a través de sus

¹¹ Más tarde, en los sistemas más complejos, las interioridades y exterioridades pasarán a ser relativas y anexas y aparecerán otro tipo de estructuras, no-topológicas, como la integración o la diferenciación. Sin embargo, para Simondon, la estructura elemental sobre la que se sostiene la individualidad biológica es topológica, es la membrana. Curiosamente, con ello realiza también una breve crítica a la metodología ahora llamada ‘top-down’ diciendo que: “Las estructuras no-topológicas no podemos asirlas y comprenderlas tan fácilmente y, por ello, si empezamos estudiando la individuación en organismos más evolucionados, corremos el riesgo de prevalecer las funciones de la integración [inter-celular] y la diferenciación [a la función elemental, la de mantener la metaestabilidad]. No podemos dar cuenta de la verdadera estructura de lo vivo considerando células que pertenecen a un organismo complejo” [1995].

membranas selectivas, asimilan ciertas sustancias y las llevan a su interior. Una vez dentro, esas sustancias pasan a formar parte del *pasado*¹² del sistema. Aquellas que son expulsadas o que continúan en el exterior son el *futuro* del sistema (son potencialmente asimilables). El espacio de interioridad del sistema, con todo su contenido “pasado”, tiene un papel global en la individuación: existe una *resonancia* en el interior-pasado que lo integra y permite que *todo* el contenido sea presentado (a través de la membrana) al exterior-futuro. Simondon habla de la “inexistencia de distancia topológica” a nivel del límite del sistema. Aunque suene un tanto extravagante, esto podría ser traducido como la correlación micro-macrosópica que se da en los límites de una estructura disipativa alejada del equilibrio. Tal y como sucede en una estructura disipativa, las sustancias que pasan a través de ella generan una serie de efectos acumulativos (su “pasado”) que afecta a la globalidad del sistema y produce una respuesta común (global, “sin distancia topológica”).

A nivel de la membrana ocurre el *presente* del sistema, el mantenimiento del estado alejado del equilibrio mediante la operación de asimilación selectiva y el proceso de individuación. La operación de individuación convierte al ser pre-individual (metaestable) en interioridad. Pero, en vez de convertirlo en un ser individuado (estable e inactivo) como sucede en los seres inertes que crecen (como en el ejemplo del cristal) el ser vivo lo convierte en algo potencialmente cambiante después, re-estructurable, de nuevo individuable: “el individuo vital se individualiza a sí mismo”. Según Simondon, “es en relación a esta actividad *alagmática*¹³ de presencia mutua que el exterior es exterior y el interior es interior”. Es decir, que mediante el intercambio de energía y materia a través de la frontera ésta puede auto-regenerar su estructura y mantener así la diferencia topológica/cronológica dentro/pasado - fuera/futuro. Esta polarización será causa y efecto del mantenimiento de la frontera metaestable (auto-mantenimiento de las condiciones de no-equilibrio) y, a su vez, de mantener la interioridad siempre re-estructurándose y, globalmente, al sistema continuamente individuándose. En paralelismo de nuevo con la teoría de la autonomía básica (o la autopoietica, más bien), esto sería igual a decir que el sistema, respondiendo al ambiente, cambia de estructura para conseguir mantener su identidad autopoietica (su individualidad vital).

Simondon acaba el capítulo haciendo un llamamiento a la necesidad de comenzar un programa de investigación que trabaje específicamente esta dimensión cronológica-topológica tan peculiar de los sistemas vivos. Cree que este programa nos ayudaría a entender por qué hay

¹² La noción de pasado será importante para Simondon como una especie de registro que tiene el ser vivo para enfrentarse a nuevas situaciones de tensión entre el interior (sujeto) y el exterior (objeto) durante el proceso de individuación. La analogía en el nivel psíquico-colectivo puede servirnos para entenderlo: el pasado sirve para “imaginar” y después “inventar”. En términos autopoieticos, este pasado simondoniano serviría para re-estructurar el sistema para enfrentarse al nuevo ambiente tras una perturbación.

¹³ *Allagma* en griego puede significar cambio o ‘lo que se toma y se da’ en un intercambio. Simondon también define la alagmática como la “teoría de las operaciones”, definiendo operación como “la conversión de una estructura en otra estructura” [1995].

“procesos intermedios entre el mundo inerte y el animado” (él pone el ejemplo de la cristalización de virus) y menciona que “si podemos encontrar cuerpos químicos capaces de asimilar y responder con soluciones, sin necesidad de un germen cristalino (como en los cristales inertes, que necesitan de un template para crecer), se rellenaría una porción de la grieta existente entre los procesos vivientes y los procesos físico-químicos [...]” subrayando que “debe de existir algún tipo de estructura cronológica-topológica”. Simondon aún no conoce la auto-organización ni los procesos de reacción-difusión ni las estructuras disipativas y mucho menos la posibilidad de acoplar estos con una (de sus anheladas) fronteras físicas. Sin embargo, especifica que estos cuerpos de “orden intermedio”, como él los llama, estarán representados por “procesos generativos, cronológico-topológicos, es decir, procesos de individuación [vital]”. En otras palabras, lo que busca Simondon para explicar el lapsus entre química y biología son procesos dinámicos generativos, alejados del equilibrio y capaces de regenerar su frontera (sus condiciones de intercambio con el ambiente); o, traducido a una terminología más familiar, procesos dinámicos auto-productivos.

6.4.2. Helmuth Plessner (1892-1985) La posicionalidad y la realización del límite

Helmuth Plessner fue un filósofo alemán y uno de los fundadores de la Antropología Filosófica, movimiento originado a principios del siglo XX y tremendamente influyente en el panorama intelectual alemán. Su interés prioritario fue el de establecer una ontología de la naturaleza y, particularmente, el de desvincular la comprensión de la naturaleza del hombre del halo cartesiano. Para Plessner, así como entre lo inerte y lo vivo existe una diferencia ontológica (y no fundamentalmente de grado, como en el caso de Simondon), en todos los niveles de lo vivo (desde las plantas y los animales hasta el hombre) el patrón ontológico es el mismo y éste únicamente va modificando su complejidad. Aunque su teoría quizá nos resulte algo abstracta y su metodología existencialista nos aleje un poco de la perspectiva adquirida en esta tesis, merece la pena repasar brevemente sus ideas, ya que alguno de sus conceptos resulta original e interesante para su cometido.

Plessner considera que lo vivo, expresándose a sí mismo, se expresa de una manera particular, tal que puede ser percibida por el ser humano. Para Plessner la vida no puede ser caracterizada mediante la realización de una lista con propiedades ya que, la particularidad de la vida, su particular expresión a través de nuestra percepción, tampoco puede ser medida con ninguna tecnología. Su teoría está basada en la identificación de un carácter orgánico esencial perceptible

(aquello que nos hace diferenciar rápidamente una piedra de una pelota de tenis, o de un gato jugando con esa pelota) a partir del cual podemos deducir todas las demás¹⁴. Este rasgo identificador particular a lo biológico es la *posicionalidad*.

El ser viviente, al contrario que el ser inerte, no sólo “ocupa” un espacio sino que también “toma” ese espacio. Esa es la diferencia principal entre lo orgánico y lo inorgánico para Plessner, los seres vivos *tienen posicionalidad*. Tomar el espacio no es una cuestión únicamente espacial sino que consiste en emerger en el ambiente, depender de él a la vez que oponerse a él [Grene 1966]. Para hacer tal cosa los seres vivos deben ser capaces de tener una interacción con su ambiente y que esa interacción les devuelva algo, necesitan una doble dirección desde su *centro*¹⁵ hacia el ambiente y viceversa. Plessner deduce que esto sólo puede ocurrir una vez el organismo ha producido (realizado) su propio límite. En los entes inorgánicos la separación entre el ente y su ambiente no existe de verdad, es un límite *virtual* que estará donde nosotros como observadores lo pongamos. En el ser vivo, el límite pertenece al ente viviente pues está fabricado por él. Es un límite de verdad entre ente y ambiente que, no obstante, genera esta relación peculiar entre los dos (una doble relación que Plessner denomina duplicidad de aspecto o *gestalt*): el ser va desde su *centro* hasta su membrana (hasta sí mismo, es la auto-relación que fundamenta su individualidad) pero también *trasciende* ésta última, sobrepasando las dos posiciones normalmente enfrentadas (dentro/fuera) para relacionarse con el entorno. El límite, para Plessner, no es una barrera sino que más bien es un *trámite* que permite esta dualidad: al tiempo que diferencia (individualiza físicamente) está abierto al ambiente (depende vitalmente). Esta forma gestáltica es mantenida mediante la *organización* del ser vivo, que se encargará de separar la independencia de cuerpo de la independencia vital. Aunque Plessner no entra en detalles en la explicación de esta organización, sí especifica que ésta está dividida en *órganos periféricos* (partes) en continua interacción, apoyo y recíproca dependencia del *centro*. Al igual que para Simondon, el ser vivo no *es*, el ser vivo *deviene* durante el proceso de mantener su forma gestáltica individuante, su posicionalidad, es decir, durante el proceso de *producir y mantener su propio límite*.

¹⁴ Su teoría se clasifica formalmente como un materialismo *a priori* por esta razón.

¹⁵ El concepto de *centralidad* es también clave en la filosofía de Plessner pues será a partir de él mediante el cual el ser vivo adopta una subjetividad (previa a aquella dotada por la conciencia). La centralidad, en los seres vivos, permite que no sólo *sean* cuerpos (sujetos) sino que además *posean* cuerpos (objeto). La separación entre cuerpo sujeto y cuerpo objeto permite que exista este aspecto de *gestalt* tan particular en los seres vivos mediante el cual como cuerpo (objeto) son entidades cerradas pero como ser vivo (sujeto) son entidades abiertas, dinámicas, en continua interacción. En los seres vivos más evolucionados, esta separación se hará cada vez más grande hasta el punto en el cual, en el caso del humano, éste es capaz de percibirla adquiriendo una conciencia de sí mismo y de los demás, su papel en la sociedad, etc.

6.4.3. Hans Jonas (1903-1993) : metabolismo y libertad. El principio de Autonomía

Hans Jonas, al igual que Plessner, opina que lo inorgánico y lo orgánico son niveles ontológicamente diferentes, sin embargo no llega a comprender ni explicar cómo puede haberse dado tal salto ontológico o si existen estados intermedios (tal y como se plantea Simondon). Para él, la organización de la materia en su forma orgánica es una “sorpresa ontológica” probablemente debida a una “*tendencia* en el fondo de toda materia inorgánica [...] hacia la libertad [...]”. De hecho, toda su filosofía pretende dotar de una continuidad entre la materia físico-química y la materia biológica motivada, como en Plessner, por una ruptura del esquema cartesiano y de la tradición moderna en filosofía de la mente en la comprensión última de la ética y la sociedad humana pues, para Jonas, la esencia de la conciencia está pre-configurada en lo orgánico desde su principio.

Jonas otorga la emergencia de la *libertad* a la aparición de la vida, representada ésta por el metabolismo celular¹⁶. El metabolismo celular, mediante la continua asimilación y expulsión y el recambio de materia y energía es capaz de organizar la materia de una manera propia, *liberándola* de la forma que le vendría impuesta por la materia que la compone (tal y como sucede en las entidades inorgánicas). Mediante esta emancipación de la forma sobre la materia provocada por la organización metabólica el organismo se *individualiza*, manteniendo su forma idéntica a pesar de variar las cualidades de la materia. La individuación, (como la posicionalidad en Plessner - y a diferencia de Simondon) es para Jonas un fenómeno típicamente orgánico.

Sin embargo, el régimen de libertad que se da en los seres vivos es un tanto peculiar pues, emergiendo y formando parte de un mundo físico sobre el cual se independiza, el mecanismo principal responsable de hacer esto, el metabolismo, depende absolutamente de él. La materia física es el sustrato sobre el cual erigir cualquier estructura libre y, los seres vivos, al divorciar su identidad de ésta, se encuentran en un “doble aspecto del metabolismo - “poder y necesidad” - que se somete a un destino de continuo enfrentamiento entre “ser o no ser”. Como “no ser” supondría la desintegración del sistema y, el principal papel de lo orgánico es diferenciarse de lo inorgánico, su única opción es “ser”, un ser precario, siempre enfrentando forma y materia, individuo y mundo, libertad y necesidad. Este enfrentamiento es, el contexto del doble aspecto del metabolismo, una relación que implica *trascendencia*, ir más allá de sí mismo [en el límite] (recordemos que este

¹⁶ Jonas habla de emergencia de libertad incluso en una etapa más temprana; en lo que él llama “movimientos oscuros” (“*dark stirrings*”) la materia inorgánica se organizó por primera vez en forma de materia orgánica. Desafortunadamente, Jonas decide no indagar más en tal hipótesis: “for our purpose we need not commit ourselves to this or any hypothesis on first origins, for where we start, the ‘first stirrings’ have long occurred”.

término ha sido utilizado previamente tanto por Simondon como por Plessner). El ser vivo, en su necesidad de “ser” (de individuarse, de ser libre) “hace” (asimila, transforma, expulsa, se mueve, ...) y únicamente haciendo, es. Si deja de hacer, de realizar su libertad, ya no será más. Esta dinámica en la cual existe una necesidad de ser libre determina el tipo de círculo causal en el que se encuentran los seres vivos: “la teleología se encuentra en la dialéctica entre la falta y la satisfacción” [Jonas 1968]. Esta teleología no existe en el ser inerte que, siendo únicamente “caracterizable a través de la continuidad exterior de la dimensión espacio-temporal en la que se encuentre”, tiene una identidad que puede ser autosuficiente (no tiene necesidad de nada que no sea de sí mismo para existir) pero no es *autónoma* (al no tener necesidad de hacer, su independencia no le otorga la libertad, su independencia queda descontextualizada o únicamente contextualizada desde el exterior).

Durante la breve revisión previa de estos tres autores se ha podido entrever su estrecha relación con la teoría de la autonomía, en la cual se enmarca el presente manuscrito, y algunos de los principales temas que la conciernen. Se ha visto subrayada la importancia de la membrana (en Simondon y Jonas) o, en un concepto más abstracto (como el posicionamiento de Plessner) la importancia del límite (lo que aquí se ha llamado condiciones de contorno) auto-producido y auto-mantenido.

El *límite* ha de ser parte del sistema (su presente, su cuerpo-periferia, el producto de su metabolismo) para poder trascenderlo, manteniendo la relación consigo mismo (manteniendo la subjetividad). Es la auto-producción y el auto-mantenimiento del límite lo que permite la individuación (la posicionalidad, la dialéctica necesidad-libertad) y lo que le da sentido al sistema como *propio*. Igualmente, en la teoría de la autonomía, es el continuo mantenimiento de las condiciones de contorno alejadas del equilibrio mediante la re-producción de la membrana lo que permite la correcta gestión de la entrada y salida de materia y energía y, finalmente, la sustentación global del sistema biológico.

El concepto de *organización* es otro de suma importancia en estas tres perspectivas pues ésta será la encargada de mantener la actividad allagmática (Simondon), el trámite (Plessner) o la transcendencia para generar el doble aspecto del metabolismo (Jonas), últimos responsables de sustentar la *individualidad biológica*. Simondon y Plessner hacen especial hincapié en que es el trámite entre el interior y el exterior lo que da sentido al ente biológico individuado: para Simondon es el lugar en el cual la materia pre-individual se individúa y para Plessner es la adopción de la posicionalidad, el concepto central sobre el cual se sustentan el resto de rasgos orgánicos. Para

Jonas esta responsabilidad recae en un principio interno (el metabolismo) y, aunque la consecuencia de esto es un enfrentamiento y una trascendencia de “la parte que interviene en esa relación” [la membrana], ésta queda relegada como a un segundo plano, ganando importancia el resto de características polarizadas en la organización metabólica (la forma y la materia, la necesidad y la libertad) que afectan, inmediata y principalmente al metabolismo. Por esta razón la teoría de Jonas ha sido considerada popularmente como algo “internalista”. Sin embargo, los sistemas biológicos de Jonas *necesitan* igualmente de esta exposición al exterior para mantener su autonomía (y para haber un exterior ha de haber un límite que lo separe del interior) y aunque se opone a las reglas generales de la entropía natural, sigue dependiendo de ellas para continuar. Sin esta oposición al mundo natural físico-químico, su teoría - “internalista” - tampoco tiene sentido. La filosofía de Simondon y de Plessner contemplan también una *centralidad* con un papel nuclear ya que, no solamente aporta los recursos necesarios para la correcta re-producción del límite en cada situación ambiental (el pasado acumulado, en Simondon, es esencial para solucionar la continua gestión de la materia metaestable - en un símil con los mecanismos dinámicos del metabolismo que gestionan la materia y energía) sino que principalmente dotan al sistema de la subjetividad (la relación centro-periferia en Plessner), la diferenciación dentro/fuera, esencial en la definición del sistema individuado.

Por su lado, Plessner destaca que esta organización debe estar dividida en órganos [partes] que, de forma unitaria [integrada], trabajarán por mantener la organización centro-periferia (relación cuerpo/sujeto-cuerpo/objeto y las partes de las que se compone y en las que se apoya recíprocamente esta organización). La teoría de la autonomía enfatiza especialmente la existencia de estas partes (*funciones biológicas*), responsables de habilitar la existencia de las demás y del conjunto de la organización. La especialización de, al menos, dos funciones es necesaria para la construcción de un cierre de constricciones mínimo que dote de autonomía (o de un comienzo para la misma) a un sistema biológico (o proto-biológico). Plessner también subraya la importancia de la subdivisión en partes durante el proceso vital (el continuo devenir) ya que estas partes podrán variar, mutar, transformarse..., pero la forma identitaria, la organización biológica individuatoria, se mantendrá. De hecho, en los sistemas biológicos, la subdivisión de tareas da lugar no sólo una resiliencia ante perturbaciones en el ambiente (ampliando el margen de existencia del individuo vivo) sino, también, a la apertura de una puerta hacia la complejización mediante mutación y modularidad¹⁷.

Por último, quizá el más llamativo de todos los temas o, al menos, el menos explorado, es la mención a la búsqueda de ese eslabón, esa “sustancia intermedia” de la que habla Simondon,

¹⁷ Un estudio detallado de la hermenéutica del ser viviente para Plessner comparado con Jonas ha sido realizado por Francesca Michelini en su libro “*Il vivente e la mancanza*” [2011], cuyo texto nos ha sido de gran utilidad para la escritura de esta sección.

situada entre la química y la biología, instaurando un nuevo dominio de investigación basado en esos sistemas complejos (“topológico-cronológicos) alejados del equilibrio. Simondon es el único en declarar explícitamente la necesidad de su existencia, a pesar de que él no puede llegar a comprender su naturaleza; los otros dos (principalmente Jonas con su caracterización de “sorpresa ontológica”) describen un escenario en el que aparecen nuevas reglas achacadas a la dinámica producida a nivel del límite biológico pero no van más allá en su descripción (quizá Plessner por abstracción y Jonas por desconocimiento). En cualquier caso, es este vacío epistemológico el que la química de sistemas alejada del equilibrio puede intentar cambiar, exhibiendo un escenario prebiótico nuevo, con reglas que no pertenecen aún a la biología pero que, desde luego, han sobrepasado la física y la química.

6.5. La perspectiva biológica sobre los sistemas químicos complejos

Después de haber introducido la química de sistemas en el capítulo anterior y de haber justificado su correlatividad con algunas de las propiedades biológicas más básicas en este capítulo, comprendemos mejor cómo ésta puede ser de enorme utilidad a la hora de realizar una reconstrucción de la emergencia de los sistemas biológicos desde la química. Las mezclas complejas de componentes moleculares diversos llevan asociados comportamientos complejos y alejados del equilibrio, algunos de ellos similares a aquellos que suceden en la biología. Sin embargo, la química es una materia tan inmensa que, si no se acota, puede resultar absolutamente intratable. Por eso será necesaria una selección de criterios que encarrilen la enorme diversidad de procesos disponible en química para quedarnos sólo con la combinación de aquellos que encajen con dinámicas de tipo biológico o proto-biológico.

En el capítulo 5 proponíamos una serie de transiciones fundamentales en el proceso de origen de vida mediante las cuales una mezcla química suficientemente diversa pudo haber crecido en complejidad organizativa a lo largo del proceso de biogénesis. Durante ese proceso aparecen mecanismos dinámicos clave (encapsulación, auto-organización, procesos reacción-difusión, registros de información, re-producción...) y formas determinadas de organización que van siendo fijadas en una especie de evolución molecular, dados los beneficios globales en el sistema en términos de robustez y plasticidad. Estos sistemas químicos más perdurables, una vez aparecidos, colonizan el nicho físico-químico y dificultan la continuación del resto de sistemas contemporáneos menos eficientes, generando una serie de cuellos de botella que distinguen las diferentes fases del

proceso de origen de vida. Así, podemos diferenciar etapas pobladas por sistemas con características químicas propias, asociables a identidades *infra*-biológicas más o menos maduras (dependiendo del grado de individualidad y de integración funcional mostrado en cada etapa). Esta identificación de etapas prebióticas en una evolución química molecular nos es útil para encarrilar el estudio de aquellos sistemas químicos con potencial biológico. De esta forma, comprobamos que para que la química de sistemas pueda aportarnos información sobre la biología necesitaremos un soporte recíproco de la biología sobre la química, generándose un espacio de investigación donde la una y la otra se retro-alimentan para comprender ese período en el cual estuvieron, más que nunca, conectadas.

6.5.1. Las transiciones fundamentales en el origen de vida involucran distintos tipos de identidad

En un estadio muy inicial del proceso de origen de vida, caracterizado por la presencia de vesículas auto-ensambladas en un medio acuoso, el estado de organización de la materia es aún muy primitivo, gobernado por estructuras supramoleculares cercanas al equilibrio y completamente supeditado a las leyes de la termodinámica. La auto-formación de los compartimentos genera una estructuración del medio. La aparición de nuevas fases acarrea consecuencias importantes para la química presente en ese escenario pues, como veíamos previamente, la presencia de distintos ambientes no sólo modifica los comportamientos químicos de una mezcla sino que es un mecanismo central y ubicuo en la biología (véase la compleja actividad de las membranas celulares). En esa etapa de la línea evolutiva prebiótica aún no podemos hablar de proto-celularidad, pues no sería posible aún diferenciar un interior de un exterior; lo que está dentro de las vesículas es igual a lo que está fuera. Sin embargo, la estructuración y la generación de fases será una primera forma de organización esencial para el desencadenamiento del resto de etapas del proceso.

Estos sistemas vesiculares, en su dinámica de formación y disolución, son capaces de encapsular y/o disolver en sus membranas solutos, reactivos, reacciones e incluso redes químicas relativamente complejas. La asociación topológica del compartimento con otras sustancias encapsuladas será el desencadenante del comienzo de la individualidad del sistema, que pudo haber permanecido al generarse una membrana con una composición mixta más estable (y, por tanto, más tiempo perdurable) que modifica a su vez otras capacidades globales del sistema como la encapsulación, la resistencia osmótica, la fluidez de la membrana o su permeabilidad selectiva. Estos mecanismos topológicos básicos diferencian las características del sistema con respecto a su

medio (mayor o menor concentración de solutos, composición específica, ...) y es a partir de este punto cuando podemos hablar de una diferencia real entre un medio interno y uno externo y, por tanto, podremos otorgar crédito al aspecto *proto*-celular del sistema y al comienzo de una individualidad *infra*-biológica, aunque ésta sea aún muy inestable. A pesar de la presencia y la asociación ventajosa de diferentes tipos de moléculas químicas, a estos sistemas aún no puede atribuírseles ningún tipo de carácter funcional pues aún no podemos distinguir actividades diferenciadas con una contribución activa (alejada del equilibrio) al mantenimiento de un sistema global (la contribución, en este estadio, es pasiva y aún muy dependiente del destino termodinámico ambiental). Concluimos pues que, en esta fase, pueden darse indicios de una individualidad *infra*-biológica pero, aunque el terreno se está preparando para ello, no hay rastro aún de la emergencia de un ningún carácter funcional ni, por tanto, de una identidad que los relacione con un posterior sistema biológico.

Esta diferenciación dentro/fuera es el comienzo de la característica *agencialidad* de los sistemas vivos; aunque se trate de una agencialidad muy precaria e inactiva (una *pseudo*-agencialidad carente todavía de un control de las condiciones de existencia del sistema al que pertenece) el enfrentamiento entre un interior y un exterior genera ya la tensión y la condición de precariedad (de un sistema que *tiene* que diferenciarse del medio para *permanecer*) característica del ‘funcionamiento agente’ de cualquier sistema biológico. La diferenciación, la individualidad generada en este estadio, por muy inestable que sea, será además la base del desarrollo del *-auto* que dé sentido a cualquier expresión posterior de una función biológica. Es decir, para dar inicio a un *proto*-metabolismo funcional nos hace falta un soporte *proto*-celular básico que diferencie al sistema del ambiente y sitúe en contexto el resto de funciones (todavía por configurar) (figura 6.2/a). La *proto*-celularidad, por otra parte, no llegará muy lejos sin un *proto*-metabolismo temprano pues no olvidemos que el sistema necesita “hacer”, tener una posición activa, para poder “ser” (continuar individuado) (figura 6.2/b-d).

Esta asociación entre química y compartimento va reforzándose durante la evolución molecular (figura 6.2) ya que permite que estos sistemas heterogéneos sean más perdurables y tengan más posibilidades para la complejización organizativa. Una de las mejoras organizativas más significativas pudo haber sido el *acoplamiento* real entre el compartimento y una química asociada. Este acoplamiento conlleva una habilitación recíproca entre compartimento y química interna que nos permite hablar del sistema en términos globales como de un sistema individual compuesto por dos componentes *funcionales* (ahora sí, por su contribución activa al total) (figura 6.2/b-d). El acoplamiento caracteriza, por tanto, la emergencia del aspecto funcional que, por encontrarse perteneciendo a un sistema *proto*-celular será propiamente *proto*-metabólico.

El tipo de químicas acopladas a compartimentos puede ser de índole muy diversa [Shirt-Ediss 2016]. Llegados a este punto en la evolución molecular y teniendo en cuenta que estos sistemas aún no serían capaces de especificar o seleccionar un tipo de química concreto (como sucedió más tarde) lo más probable, de hecho, es que el escenario fuera muy heterogéneo. Esta diversidad química, funcionando de forma coordinada en un sistema (y/o en la población de sistemas heterogéneos), asegura una plasticidad y resiliencia ante perturbaciones en el ambiente que no está presente en los sistemas vesiculares más simples. En definitiva, una población heterogénea de sistemas acoplando *proto*-celularidad y *proto*-metabolismo robustecería a los sistemas individuales previamente inestables y sería el origen de una identidad *infra*-biológica, constituyendo un esquema organizativo básico que, sucesivamente a lo largo del proceso de origen de vida, será reforzado más y más con la aparición de diferentes mecanismos y especializaciones. La identidad *infra*-biológica básica supone el nacimiento del *-auto-*, entendido como la diferenciación topológica y dinámica del sistema de su ambiente, que contextualiza y sienta las bases organizativas para el futuro *autónomo* de los sistemas biológicos, es decir, para el desarrollo de la capacidad de *auto*-producir, *auto*-controlar y *auto*-mantener las condiciones en las cuales el sistema existe. La adquisición de esta nueva forma de organización de la materia genera un cuello de botella en la línea de transiciones prebióticas que deja atrás todos los sistemas químicos carentes de esta identidad *infra*-biológica y que allana el terreno a la autonomía biológica.

La identidad *infra*-biológica provee de una robustez y una durabilidad que puede ser mayor o menor dependiendo de la química presente y su capacidad para ralentizar la cascada termodinámica hacia el irremediable equilibrio natural. Sin embargo, a pesar de haberse “independizado” o “emancipado” un poco, estos sistemas aún no son capaces de controlar plenamente las condiciones de su existencia. Dicho de otro modo, no son capaces de mantenerse alejados del equilibrio tal y como hacen los sistemas biológicos autónomos. El control de estas condiciones (control de las fronteras) requiere de un nuevo nivel de agencialidad: una agencialidad más activa, capaz de modificar su ambiente más próximo (gestionar los flujos de materia y energía) en pos de su propio beneficio. Este tipo de agencialidad activa provendrá de la complejización de una red funcional *auto*-producida cada vez más rica, diversa y especializada. Sin embargo, sustentar de forma eficiente una red funcional compleja es tarea difícil sin una comunicación o coordinación entre las partes rápida y eficaz. La aparición de mecanismos de *regulación* hace factible la respuesta coordinada de un sistema complejo frente a cambios en su ambiente [Bich et al. 2016]. La adición de una arquitectura organizativa que clasifique las actividades de la red funcionales en forma de módulos de participación condicionada a estímulos del entorno permite una coordinación y una reproducibilidad sin precedentes de dichas actividades. A su vez, la regulación modular conecta de

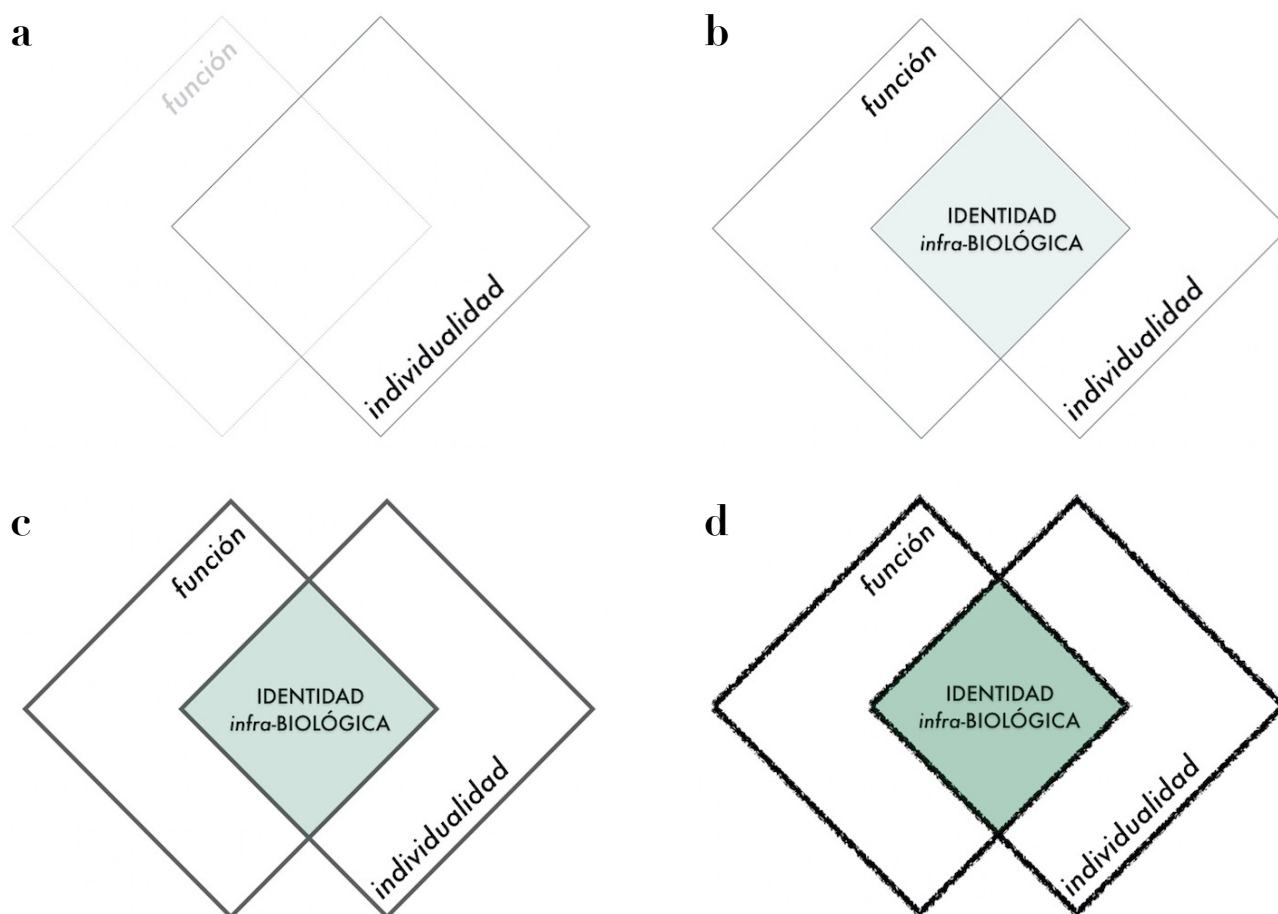


Figura 6.2. El potencial funcional requeriría de un contexto para poder aparecer -un cierto potencial protocelular/ individual- previo (a). No obstante, muy pronto, ambos potencial funcional e individual se necesitarían mutuamente para definirse y desarrollarse en las entidades con identidad *infra*-biológica (b). Este esquema se reforzaría a lo largo de la evolución molecular prebiótica mediante mejoras en los mecanismos que mantienen esta integración (acoplamiento químico, módulos, regulación, plantillas,...), volviendo la identidad *infra*-biológica más estable y robusta (c-d). La integración de mecanismos que permitieran re-reproducir fidedignamente este esquema mediante una instrucción genética daría lugar, posteriormente, a la identidad *biológica*.

forma más estrecha y eficaz las funciones, permitiendo una respuesta global más rápida (una mejora de la agencialidad) y fortalece el esquema organizativo identitario. Además, permite y alenta la plasticidad, amortiguando los cambios en alguno de los módulos y asegurando el funcionamiento del sistema global. La eficacia y precisión del sistema de estos mecanismos regulativos supone un nuevo salto en la robustez de los sistemas prebióticos. En el esquema de transiciones prebióticas (figura 4.4), defino estas formas de organización como *protocélulas auto-reguladas*¹⁸. Para Ganti, la adición de este mecanismo regulador a los dos sistemas ya previamente presentes (*proto*-célula y

¹⁸ La regulación de los módulos funcionales también tiene consecuencias a otro nivel. La fijación de los mecanismos funcionales en módulos codificados asegura una posibilidad de transmisión fiable de dichos mecanismos. Además, el desdoblamiento de la actividad del sistema regulatorio en términos temporales previene un efecto trans-generacional que será posteriormente esencial en el desarrollo evolutivo de lo vivo. Este es un tema apasionante y aún muy desconocido pero en el que aquí no tenemos tiempo de adentrarnos.

proto-metabolismo) constituye una célula mínima. Sin embargo, bajo el esquema de la autonomía biológica, esta etapa aún está lejos de describir una identidad biológica, caracterizada no únicamente por la autonomía del sistema sino también por la capacidad de fijar ésta y transmitirla a sus descendientes desplegando un proceso de evolución abierta.

El siguiente paso en las transiciones prebióticas fue, probablemente, el que dio paso a la vida, a la organización biológica tal y como hoy la conocemos (figura 4.4). El rasgo más característico añadido a la infraestructura que ya existía hasta la fecha fue el desdoblamiento entre el fenotipo y el genotipo. Este desacoplamiento llevó a un grado superior los mecanismos de modificación y adaptación dando como resultado los metabolismos genéticamente instruidos.

6.5.2. Implicaciones evolutivas del esquema organizativo infra-biológico

La hipótesis de un escenario prebiótico inicial poblado por entidades infra-biológicas funcionalmente individuadas a través de arquitecturas organizativas químicas tiene importantes implicaciones en cuanto a la manera de concebir la evolución en dichas etapas tempranas del proceso de biogénesis y sobre cómo pudieron ir configurándose, a partir de entonces, las capacidades evolutivas de tales entidades protocelulares. La principal consecuencia de definir estos sistemas químicos individuados y funcionalmente diferenciados es la apertura de un espacio fenotípico suficientemente amplio para que tenga lugar una evolución que podríamos llamar ‘pre-darwiniana’, basada en dinámicas de competición y selección, pero también agregativas o de cooperación, y en la cual las propiedades de cohesión, estabilidad o robustez de los sistemas protocelulares individuales tuvieran mayor relevancia que otro tipo de mecanismos darwinianos más modernos, basados en las capacidades hereditarias y el éxito reproductivo poblacional.

Este cambio de concepción, tratado en mayor profundidad en [Shirt-Ediss et al. 2017] (ver Apéndice 3) conllevaría una propuesta teórica para entrelazar las dimensiones organizacional y evolutiva de lo vivo que arrancaría desde muy temprano en la evolución prebiótica, antes incluso de que existiera ningún tipo de biopolímero replicativo. En otras palabras, la dinámica evolutiva podría haber comenzado a darse a partir la interacción sistémica de un gran número de moléculas químicas sencillas, al contrario de lo que se ha postulado tradicionalmente en el campo del origen de la vida, donde el modelo evolutivo por antonomasia se articula sobre las propiedades de un sólo tipo de

biomolécula compleja (típicamente, el ARN), encargada además, posteriormente, de reclutar (no se sabe muy bien cómo) al resto de biomoléculas para dotar al sistema de una organización celular. Buena parte del trabajo reciente con protocélulas, se ha realizado, de hecho, desde esta perspectiva tradicional, como una manera de conectar la química de moléculas muy sofisticadas (como el ADN o el ARN) con el auto-ensamblaje de otras moléculas mucho más sencillas como lípidos prebióticos, concibiendo los compartimentos como meros receptáculos para segregar poblaciones de ácidos nucleicos con diferentes eficiencias en su replicación [Szostak et al. 2001; Mansy et al. 2008; Kurihara et al. 2015]. No obstante, extensiones de esta misma línea de investigación, motivadas por la búsqueda de posibles mecanismos físico-químicos de competición/selección en sistemas químicos compartimentados más sencillos [Adamala et al. 2013; ver también Chen et al. 2004; Budin & Szostak 2011; Cheng & Luisi 2003] demuestran que el resultado global de la dinámica de poblaciones de protocélulas muy elementales en interacción puede estar ya sujeto a selección, en forma de entidad evolutiva individual propiamente dicha, sin necesidad de la presencia de macromoléculas biológicas. Esto, unido a los resultados de líneas de trabajo enfocadas de raíz a la caracterización organizativa (o fisiológica) de la protocelularidad [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008; Piedrafita et al. 2017], nos lleva a un escenario nuevo para la plantear los orígenes de la evolución darwiniana [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009].

La comprensión de los diferentes tipos de organización protocelular como entidades evolutivas amplía el espacio fenotípico que obtenemos bajo la concepción de las moléculas replicativas (tipo ácidos nucleicos) como únicos objetos que están sujetos a dinámicas de selección prebiótica (perspectiva tradicional en el estudio del origen de la vida). La variabilidad fenotípica en sistemas moleculares estrictamente replicativos (“mundo ARN” tradicional) se ve limitado, en la práctica, a cambios en la velocidad y precisión de la replicación. Además, la optimización de estas propiedades se ha demostrado poco compatible con la posible incorporación de otros aspectos fenotípicos (resultado ilustrado por la metáfora del monstruo de Spiegelman’ [Mills et al. 1967; Oehlenschläger & Eigen 1997]). La variabilidad de mecanismos funcionales que pueden formar parte de una organización protocelular, dirigidos a conseguir esa mayor estabilidad o robustez de la misma (es decir, variabilidad funcional traducible a variabilidad fenotípica), es mucho mayor (posea o no moléculas replicativas): producción de componentes de membrana para modificar la permeabilidad, la fluidez o la elasticidad (fluidificantes, solidificantes, canales pasivos, transportadores, ...), balance osmótico, producción de gradientes, anclajes (para catalizadores, para

estabilizar moléculas, para proteger de la hidrólisis) y, más adelante, mecanismos de reproducción, herencia o regulación más complejos.

La consideración de los sistemas protocelulares individuales como entidades evolutivas (aunque se trate de una evolución no-darwiniana) invita a su denominación como *proto-organismos* sobre los cuales la selección natural podría comenzar a operar directamente [Moreno & Ruiz-Mirazo 2009]. Tal y como sucede en la evolución biológica actual, es el total del sistema (el organismo) lo que constituye la ‘unidad de selección’ y no únicamente parte de él. Esta interpretación, que presenta la evolución proto-biológica y la evolución biológica como un continuo, pone también en cuestión el momento a partir del cual podemos comenzar a hablar de evolución Darwiniana (o, más bien, cuándo empieza exactamente a operar la Selección Natural, cuestión que debe ser sujeta a futura investigación, teórica y experimental) [Ruiz-Mirazo et al. 2017; Shirt-Ediss et al. 2017].

La comunión de las dimensiones evolutiva y organizacional desde un estadio prebiótico muy temprano (pero alternativo al tradicional; es decir, con más peso en aspectos organizativos de los individuos implicados) permite explorar el desarrollo de la capacidad de ‘evolución abierta’, característica de los seres vivos, de una forma más progresiva, a partir de la búsqueda de espacios fenotípicos que permitan un mejor auto-mantenimiento [Mavelli & Ruiz-Mirazo 2013]. Estos espacios fenotípicos irían ampliándose mediante la adquisición de mecanismos que confieran mayor robustez dinámica a dichos individuos (protocélulas), mayor capacidad de transmisión hereditaria de rasgos, y mayor estabilidad, regularidad y reproducibilidad en sus procesos de división y multiplicación, hasta alcanzar el enorme potencial de variabilidad y adaptabilidad que logran los metabolismos celulares genéticamente instruidos, una vez se originó ya la vida en sentido pleno (ver figura 6.3). En otras palabras, modificaciones en el cono ‘fisiológico’ (dimensión sincrónica) de las entidades infra-biológicas (protocélulas en diversos estadios de desarrollo), implicarían cambios profundos en los conos ‘evolutivos’ de sus respectivas poblaciones (dimensión diacrónica). No solamente cambia el cono evolutivo en cuanto a las posibilidades de exploración abiertas (representado por un cono progresivamente más abierto en la figura 6.3), sino en cuanto a la profundidad temporal del proceso evolutivo en sí (es decir, a la generación de filogenias en un sentido cada vez más biológico).

En síntesis, el acoplamiento de las propiedades ‘autonomía’ y ‘evolución abierta’ en torno al cual se define la vida en [Ruiz-Mirazo et al. 2004] comienza a establecerse (y a enriquecerse mutuamente), en un sentido muy básico y todavía solo incipiente, desde etapas muy tempranas del proceso de biogénesis. Una transición evolutiva prebiótica basada en un régimen dinámico de competición y selección, en diferentes ambientes ecológicos y sometido a diferentes presiones selectivas, habría sido la responsable de probar este boceto *proto*-autónimo y *proto*-evolutivamente abierto en todas las diferentes versiones que le permitiera su composición molecular. Nuestra hipótesis general es que algunos conceptos relacionados con la autonomía (función, individualidad) pueden proyectarse hasta el mismo inicio del proceso, mientras que hay que esperar a etapas

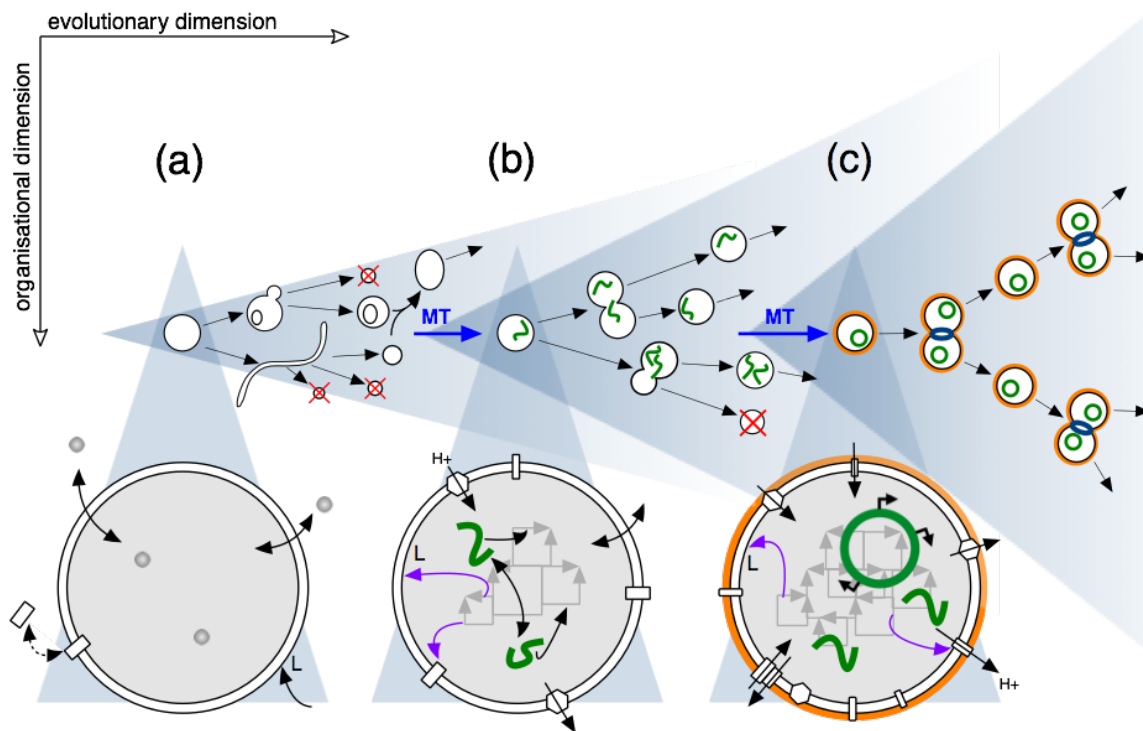


Figura 6.3: Figura de [Shirt-Ediss et al. 2017], adaptada de [Shirt-Ediss 2016]. Efecto de la organización protocelular sobre las capacidades evolutivas. La re-estructuración de la arquitectura organizativa protocelular y re-definición de la identidad *infra*-biológica a lo largo de las diferentes transiciones evolutivas prebióticas (en azul MT del inglés “Major Transition”) permite la exploración de un espacio fenotípico cada vez mayor (conos en gris del eje horizontal/evolutivo) incrementando progresivamente el grado de integración entre las dos dimensiones (fisiológica-organizativa e histórico-evolutiva) de lo biológico. El espacio fenotípico exhibido por las protocélulas en sus primeras etapas (a) será relativamente pequeño, dada su simplicidad, inestabilidad y baja reproducibilidad. En etapas posteriores (b) la complejidad funcional de las poblaciones protocelulares seleccionadas por la estabilidad de su arquitectura organizacional (acoplamiento químico, módulos funcionales, regulación, etc) amplía su dimensión evolutiva, y la importancia relativa de ésta en la configuración (optimización) de las propiedades de los individuos (proto-organismos) en desarrollo. Finalmente, el desacoplamiento del genotipo y el fenotipo (a través de la aparición del código genético), en el momento en el que la vida se originó (c), permiten la emergencia de la capacidad de evolución abierta en poblaciones de metabolismos celulares de complejidad similar a la de los micro-organismos que pueblan actualmente la biosfera.

posteriores para poder hablar de transiciones hacia evolución abierta, en sentido estricto, aunque la dimensión evolutiva está también presente desde un inicio. Es decir, planteamos una asimetría que debería reflejarse en la manera de elaborar los modelos o la teoría a desarrollar en el futuro sobre la cuestión del origen de la vida. Comenzaríamos con sistemas químicos relativamente sencillos pero que deben organizarse en torno a compartimentos dinámicos y sólo a partir de ahí explorar sus capacidades evolutivas en un contexto de poblaciones de protocélulas con un esquema organizativo (una infra-identidad) similar. Con el tiempo, el mantenimiento y la fidedigna repetición / reproducibilidad de este esquema, cada vez con más capas de complejidad superpuestas pero involucrando siempre aspectos funcional-ecológicos e individual-evolutivos, permitió que se alcanzara el estado organizativo completo que hoy en día definimos como ‘vida’ y desplegar, a partir de él, la enorme diversidad de soluciones biológicas que encontramos a día de hoy sobre la Tierra.

6.6 Sugerencias para operar un cambio y apoyar el establecimiento de un nuevo campo de investigación

Tal y como Gilbert Simondon proclamaba ya en el año 1964, tras la revolución de la biología molecular se han hecho enormes esfuerzos por describir los organismos, pero muy pocos por tratar de sintetizarlos. La observación detallada de los sistemas biológicos resulta un método necesario para tener un conocimiento actual de los mecanismos dinámicos presentes y para encontrar soluciones prácticas con una aplicación directa en un ámbito clínico, tecnológico, farmacéutico y bioquímico. Sin embargo, la descripción exhaustiva de cada uno de los mecanismos por separado nos dice muy poco sobre la forma de organización subyacente y común a todos los seres vivos. Hemos visto cómo la Biología de Sistemas está haciendo intentos por entender los organismos como un todo, de producir una teoría celular, agrupando e integrando el conjunto de datos que las “ómicas” (la genómica, proteómica, lipidómica, metabolómica,...) ha ido acumulando. Sin embargo, la estrategia de combinar datos obtenidos de forma individual en un programa que imponga determinadas reglas al sistema tampoco es la más adecuada para entender la naturaleza de lo vivo. Imitando la característica propiedad generativa de la biología (y citando a famosa frase de Richard Feynman “si no puedo crearlo, no puedo entenderlo”) necesitamos ser capaces de re-construir los mecanismos básicos de lo biológico para poder entenderlos. La Biología Sintética es la rama de la biología en la cual deberíamos poder encajar esta propuesta; no obstante,

la biología sintética popularmente se encarga de modificar y reconstituir algunos mecanismos biológicos y de “bioingenierizarlos” con objetivos concretos, pero externos y casi siempre manipulando lo ya existente y disponible. Los intentos de re-generar un mecanismo biológico *de novo*, “*bottom-up*”, son desafortunadamente muy escasos. Re-construir un mecanismo biológico desde cero significa hacerlo desde sus precursores moleculares más simples y con las herramientas propias de la química. Pero no de cualquier tipo de química, pues la química clásica, regida por mecanismos lineales y bajo control termodinámico está lejos de ser capaz de imitar ningún aspecto de la biología, caracterizada por mecanismos no-lineales y un alejamiento del equilibrio.

La investigación y la fabricación de entidades entre la química y la biología nos pone en medio de un terreno desconocido, poblado de formas de organización de la materia de las cuales conocemos muy poco (tanto en su forma, sus normas o su evolución). Por otro lado, en un contexto de origen de la vida, sí conocemos algunas cosas sobre su estado previo (la geoquímica) y la meta a dónde fueron a parar (las células). Por eso podríamos ayudarnos tanto de lo primero como de lo segundo para tratar de entender ese (en términos simondonianos) “estado intermedio de la materia”. Los sistemas a los que nos enfrentamos deberán ser sistemas químicos plausibles en la Tierra primigenia, formados por componentes moleculares simples pero diversos y, en conjunto, auto-organizados, alejados del equilibrio, dinámicos y con una cierta tendencia auto-productiva (autocatálisis). Como veíamos en el anterior capítulo, la Química de Sistemas nos ofrece una oportunidad única en este contexto pues de sus mezclas de componentes pueden emerger multitud de procesos dinámicos similares a aquellos de los que dispone la biología. Con todo, en el proceso de origen de vida fueron seleccionadas sólo algunas de esas combinaciones de mecanismos, aquellas que resultaron clave para desarrollar la identidad biológica (su forma de organización). Por esta razón la biología debe servirnos como guía para focalizar la inmensidad de posibilidades que tienen cabida en la química de sistemas. Así, construiríamos un campo de investigación nuevo, a caballo entre los sistemas químicos y los sistemas biológicos, con reglas y conceptos que no pertenecen ni al uno ni al otro y, al mismo tiempo, tienen rasgos de ambos dos. El programa de investigación destinado a describir estos nuevos principios debería estar basado en un trabajo interdisciplinar, que combine el análisis teórico/conceptual de los fundamentos o principios biológicos básicos con la aproximación químico/experimental, consistente en la re-producción de estos principios en forma de sistemas dinámicos proto-biológicos.

Tal y como se ha visto en este capítulo, es posible hacer una correlación entre algunos de los procesos dinámicos de la química actuando de forma sistémica, y algunas de las propiedades fundamentales de la identidad biológica, como su individualidad y su carácter funcional. En concreto, la compartimentación y su acoplamiento con una química auto-productiva sientan las

bases de un sistema diferenciado (individual) y activo (funcional) definiendo una estructura de *identidad infra-biológica*. Esta forma de organización identitaria será re-estructurada y reforzada mediante complejidades y especializaciones a lo largo del proceso de origen de vida e incluso más allá de éste (redes funcionales más complejas, mayor diversidad composicional, mecanismos de transporte, regulación, desdoblamiento fenotipo-genotipo, multicelularidad, reproducción sexual, etc).

La aproximación experimental al origen de la vida puede ser llevada a cabo a partir de la reconstrucción de entidades con una identidad *infra-biológica* básica como modelos del origen de la forma organizativa (proto)biológica. La Química de Sistemas unida a los avances metodológicos de los últimos años en técnicas de alto rendimiento posibilitan la realización de esta tarea. No obstante, la dificultad tanto para la manipulación como para el análisis de mezclas complejas de componentes moleculares es evidente, por mucha tecnología de la que dispongamos. No olvidemos que la propiedad auto-organizativa proviene de la interacción de millones de componentes y de que, para la obtención de características mínimamente complejas necesitaremos una diversidad intramolecular relativamente elevada. El número y tipo de componentes de los que estamos hablando para la realización de este tipo de sistemas integrados es alto y, por tanto, difícil de monitorizar. No obstante, en comparación con una célula, aunque fuese la más simple de las bacterias, las redes moleculares generadas en química de sistemas son relativamente accesibles.

La característica auto-producción de los sistemas vivos no es tampoco una propiedad fácil de abordar en el laboratorio pues, la experimentación siempre tiene detrás las manos interventoras de un experimentador (ver [Ruiz-Mirazo & Moreno 2013]). Tratar de imitar la auto-producción a partir de la intervención es, obviamente, una paradoja. La propiedad auto-generativa de la vida y su normatividad interna (proveniente de la continua huida del equilibrio: el *ser* es el *hacer*) únicamente podría reproducirse si se le “deja hacer”. En términos generales lo que estaríamos proponiendo es que, una vez el experimentador conoce los ingredientes capaces de auto-organizarse prepare su mezcla heterogénea y “espere a que estos hagan”. Por supuesto, este es un escenario irreal (y cuestionablemente no interventivo, pues la simple selección de los ingredientes ya es una intervención externa) pero la pretensión, no obstante, ha de ser esta. Las nuevas técnicas en micro y nanofluídica, por ejemplo, permiten construir laboratorios de química del tamaño de un microchip, pudiendo realizar experimentos muy precisos con la menor intervención externa.

A continuación, en el capítulo 7, presento un ejemplo experimental propio de un modelo de funcionalización de vesículas de ácidos grasos y péptidos desarrollado en el laboratorio durante la realización de esta tesis. La posibilidad de trabajar en la funcionalización de vesículas desde su

auto-fabricación química *bottom-up* nos permite avanzar en la investigación de las raíces químicas de la individuación y de la función biológica pues, la naturalización de estos conceptos estará basada, precisamente, en la capacidad de la química para producir (y controlar) las condiciones para el despliegue de sistemas que incrementan su complejidad y robustez de manera progresiva.

Capítulo 7

CASO-ESTUDIO EXPERIMENTAL: EL MODELO PROTOCELULAR “LIPO- PEPTÍDICO” MÍNIMO

En línea con el tipo de planteamiento sistémico que vengo defendiendo en esta tesis, según la cual una aproximación empírica a través de la química de sistemas ayudaría a fundamentar el origen de determinadas propiedades biológicas (bajo la perspectiva autónoma), una parte importante de mi actividad doctoral ha consistido en llevar a cabo un estudio experimental. Concretamente, he trabajado en la fabricación de un modelo de membrana protocelular lípido-peptídica, basado en las propiedades emergentes de una química supramolecular centrada en el auto-ensamblaje de compartimentos (vesículas) de ácidos grasos y su interacción con una química de aminoácidos y pequeños péptidos. La motivación para la realización de este modelo proviene de un trabajo *in silico* previo [Mavelli & Ruiz-Mirazo 2007; Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008] el cual pretende probar, a su vez, la validez de la teoría de la autonomía biológica básica [Ruiz-Mirazo & Moreno 2004, 2012; Moreno & Mossio 2015]. Mi aportación empírica muestra un sistema químico con una complejidad composicional mínima pero con una diversidad suficiente para dar lugar a comportamientos sistémicos de cooperación mutua entre especies moleculares. De acuerdo al modo en el que se planteó la naturalización de la individualidad *infra-biológica* de los sistemas protocelulares (ver capítulo 6) el tipo de colaboración buscado entre los componentes se dirige a la

funcionalización del compartimento, es decir, a la emergencia de contribuciones diferenciadas (funciones) para el mantenimiento del global (de la unidad individuada).

Hoy en día, el límite físico de las células está definido por la membrana celular, constituida, mayoritariamente, por fosfolípidos de muchísimas clases y por otros componentes hidrofóbicos embebidos en ella, en gran medida proteínas asociadas (a la membrana) y proteínas transmembrana. Esta estructura, representada icónicamente por el modelo de “mosaico fluido” [Singer & Nicolson 1972] (ver figura 7.1) es la responsable más directa de la característica agencialidad biológica, funcionando no únicamente como la línea divisoria más evidente entre célula y ambiente, sino también como la superficie de interacción entre ambos a través de la cual se produce el intercambio de toda materia y energía necesaria para su auto-(re)producción.

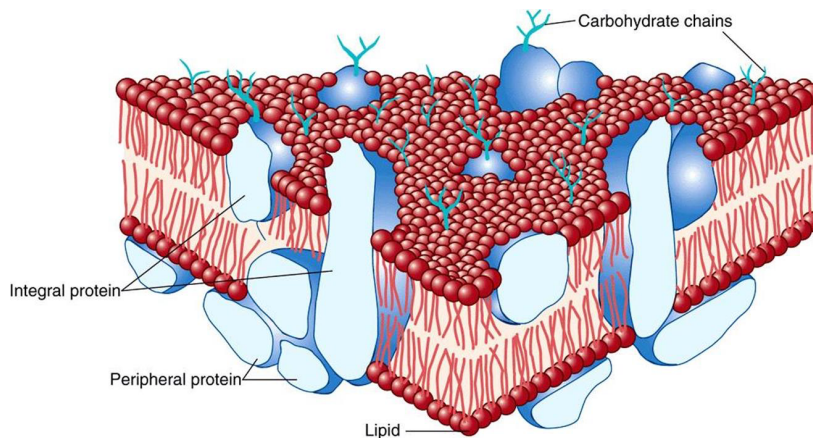


Figura 7.1. De Harpers Illustrated Biochemistry 29th Edition [2012]. Modelo de ‘Mosaico fluido’ de Singer y Nicolson en el cual diferentes tipos de proteínas (en azul) están inmersas o asociadas a una membrana semi-fluida de fosfolípidos de muy diversa índole (en rojo).

El modelo de membrana protocelular lípido-peptídica (ver figura 7.2) pretende ser una simplificación de esta estructura, conservando su diversidad composicional identitaria pero realizada con componentes mucho más sencillos (precursores de las biomoléculas actuales): ácidos grasos como precursores de los fosfolípidos y aminoácidos y péptidos cortos como precursores de las proteínas hidrofóbicas de membrana. La combinación de agregados prebióticos con una química de péptidos ha sido ya previamente estudiada en la literatura del origen de la vida [Yanagawa et al. 1989; Blocher et al. 1999, 2001; Hitz et al. 2001; Zepik et al. 2007; Grochmal et al. 2015]. No obstante, en la mayoría de estos trabajos se han utilizado liposomas (vesículas hechas de fosfolípidos), dada su estabilidad a temperatura ambiente y mayor facilidad para su manejo experimental. Únicamente unos pocos han preferido la utilización de componentes más simples pero prebióticamente más realistas como los ácidos grasos [Furuuchi et al. 2005; Adamala & Szostak 2013]. En el trabajo que expongo a continuación se remarca, además, la posible

importancia de estas moléculas concretas en un escenario prebiótico, demostrando su importante contribución a la oligomerización de un péptido hidrofóbico (a partir de los aminoácidos precursores) sin la ayuda de ninguna otra molécula catalizadora de tipo soluble. Este resultado podría apoyar una narrativa del origen de la vida que implicara una co-evolución entre estos dos componentes de la membrana protocelular. La estructura supramolecular generada por los ácidos grasos podría haber favorecido la oligomerización de péptidos prebióticos que, a su vez, al insertarse en la membrana, podrían tener un efecto sobre ella, por ejemplo, de estabilización o de atracción de otros componentes [Adamala & Szostak 2013; Izgu et al. 2016]. Un péptido lo suficientemente largo podría incluso haber atravesado por completo la membrana, generando un canal (o al menos una vía de conexión) entre el interior y el exterior, con las consecuentes repercusiones para la dinámica global del sistema [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008]. En resumen, el modelo de membrana lípido-peptídica propone un enfoque integrador para la fundamentación química del origen de las primeras protocélulas funcionales - coherente, además, con la estructura de las membranas biológicas actuales.

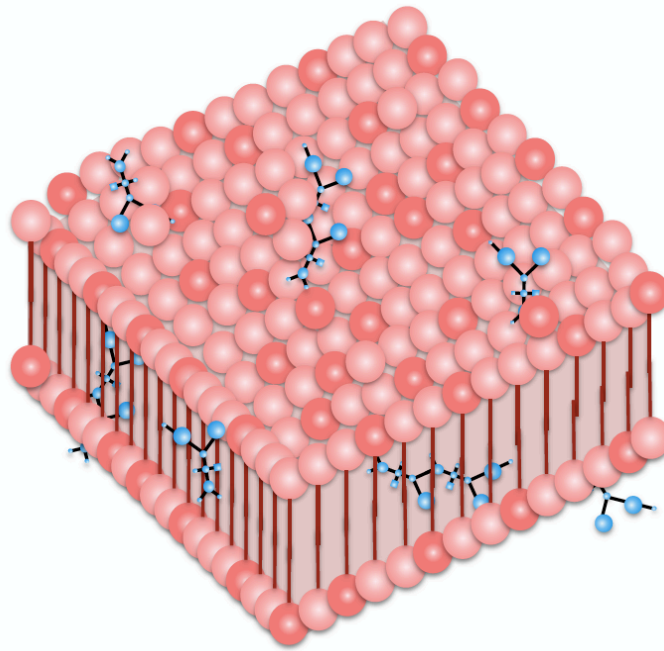


Figura 7.2. Modelo de membrana protocelular lípido-peptídica basado en el modelo ‘in-silico’ de [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2007; 2008]. En una especie de simplificación de las bio-membranas, los fosfolípidos son sustituidos por ácidos grasos (en sus formas iónicas y neutras, rojo más claro y más oscuro) y las proteínas por aminoácidos y péptidos cortos (en azul).

7.1. Hacia la producción de compartimentos autónomos

7.1.1. Contribución de la membrana a la polimerización de un péptido*¹⁹

Al contrario que el proceso de hidrólisis de un péptido, el proceso de oligomerización, es decir la formación de enlaces peptídicos para construir una cadena de aminoácidos, es un proceso no espontáneo que requiere un aporte de energía para generar el enlace covalente entre un aminoácido y el siguiente, liberando agua en el proceso. En soluciones acuosas, la polimerización de aminoácidos y síntesis de péptidos prebióticos ha sido demostrada tras la activación, entre otras vías, del Carbono-terminal (C-terminal) de los monómeros y su transformación en un compuesto cíclico reactivo llamado 5(4H)-oxazolona [Pascal et al. 2005; Danger et al. 2012, 2013] (ver figura 7.3) mediante la actuación de agentes abióticos pertenecientes a la química de las cianamidas.

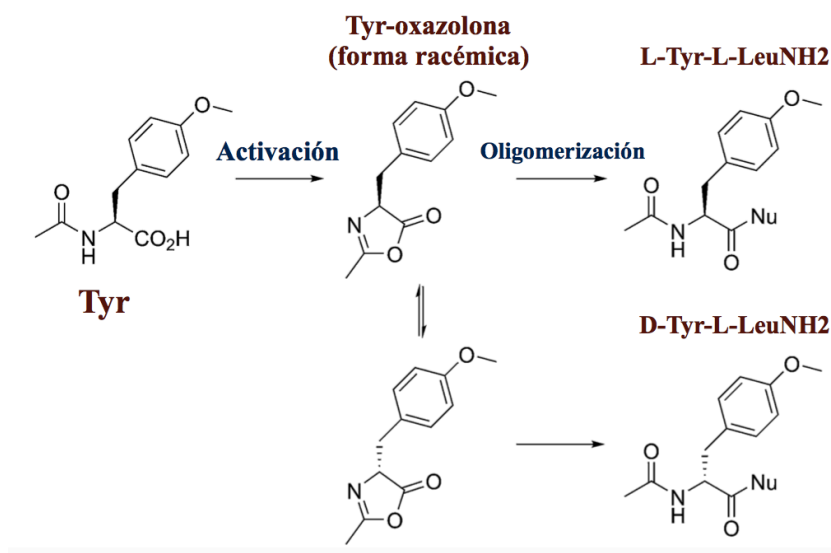


Figura 7.3. Esquema de la reacción. El sustrato, aminoácido Tyr es activado en su C-terminal y transformado en el compuesto racémico Tyr-oxazolona. Este compuesto reacciona después con el otro sustrato (aminoácido LeuNH₂) dando lugar al producto, el dipéptido estereoespecífico (L-Tyr-L-LeuNH₂ ó D-Tyr-L-LeuNH₂). La quiralidad del producto es determinada cinéticamente por la reacción de oligomerización y, por eso, puede aportar información sobre la misma.

El aminoácido activado de esta forma será capaz de formar un enlace peptídico con otro aminoácido (que llamaremos nucleófilo), obteniendo el péptido oligomerizado. En el estudio experimental que presento aquí [Murillo-Sánchez et al. 2016] hemos demostrado que la presencia de vesículas compuestas de ácidos grasos favorece estas reacciones de oligomerización, catalizando la formación de un dipéptido ((L,D)Tyr-L-LeuNH₂) a partir de sus monómeros: el aminoácido

¹⁹*Resultados extraídos de Apéndice (2). Para más detalles acudir a la bibliografía.

tirosina (Tyr), activado en forma de oxazolona ((L,D)Tyr-oxazolona), y el aminoácido levógiro L-leucinamida (L-Leu-NH₂).

Las vesículas son agregados de ácidos grasos formando un compartimento con una membrana bicapa que separa el medio acuoso externo del medio acuoso interno encapsulado. El autoensablaje de las vesículas depende de diversos factores, entre ellos la concentración de monómero de ácido graso disponible en el medio. Una vez alcanzada esta concentración (llamada concentración vesicular crítica, *cvc*) los ácidos grasos tenderán a agruparse, exponiendo al agua únicamente la parte hidrofílica de la molécula y resguardando sus colas hidrofóbicas en el espacio hidrofóbico intermembrana de la bicapa (ver figura 7.4). Los resultados de

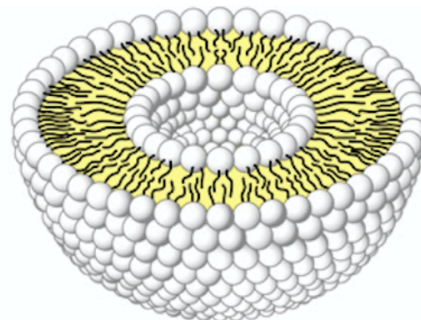


Figura 7.4. Representación del corte transversal de una vesícula en el que se observan los lípidos con las cabezas polares (blanco) dirigidas hacia el agua y las colas apolares (en negro) mirándose entre sí, generando un interior acuoso y un espacio hidrofóbico transmembrana (amarillo).

nuestros experimentos mostraron cómo en el momento en que se alcanzaba la *cvc* y por encima de ésta (es decir, en presencia de vesículas) el rendimiento de la reacción de oligomerización del péptido se disparaba visiblemente, en relación al correspondiente en solución acuosa. Otro de los efectos de las vesículas sobre la reacción fue en la ratio de estereoselectividad presente en el producto de la reacción. Las oxazolonas son moléculas con una quiralidad muy inestable; esto quiere decir que, en solución, dada la rápida velocidad de intercambio entre los dos enantiómeros, se encuentran a partes iguales en su forma L y en su forma D (también denominado estado *racémico*). La configuración definitiva (L ó D) de la tirosina queda determinada, por tanto, cuando se une al otro aminoácido (es decir, que está cinéticamente determinada por la propia reacción de oligomerización). Como el nucleófilo utilizado sólo lo añadimos en una forma quiral (L-LeuNH₂), la proporción de cada una de las formas (la aparición de más formas L o más formas D en el producto) la describiremos mediante la ratio de estereoselectividad (d.r.), que será la cantidad de especies homoquirales (homodímeros, en este caso, L-L) dividida entre la cantidad de especies heteroquirales (heterodímeros, en este caso, D-L). En comparación con aquellos dipéptidos formados en solución acuosa, en presencia de las vesículas esta ratio estereoselectiva fue revertida (de más proporción de especies homoquirales a más proporción de especies heteroquirales) reforzando la hipótesis de que las vesículas efectivamente influyen sobre la reacción (ver fig. 7.5).

La interacción del dipéptido hidrofóbico formado con las vesículas de ácidos grasos fue comprobada mediante el estudio biofísico de varias propiedades de la membrana. El método Langmuir-Blodgett permite detectar la interacción de determinados productos con una monocapa de

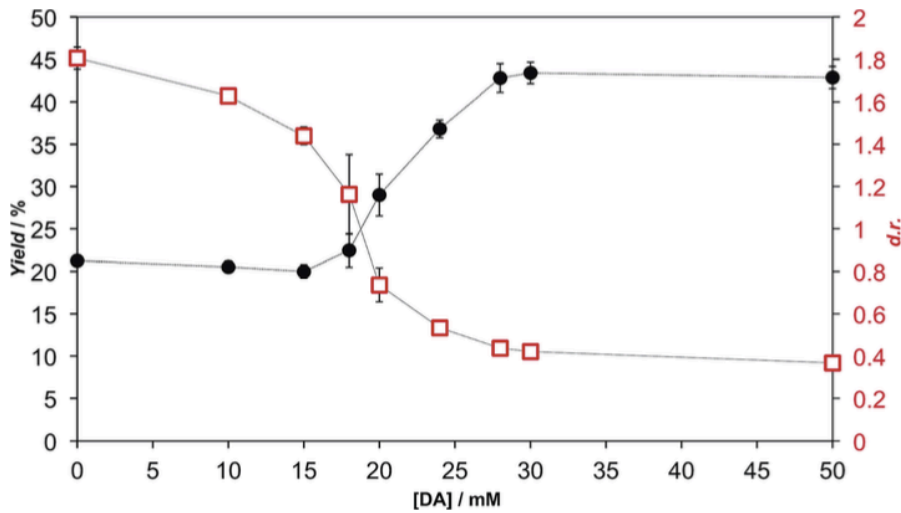


Figura 7.5. Resultados del rendimiento (círculos negros) y la estereoselectividad (cuadrados rojos) de la reacción. Se observa que, a partir de una concentración de lípido coincidente con la *cvc* (ver texto para detalles), la tendencia tanto de uno como de otro varían (aumentando el rendimiento y cambiando la quiralidad) debido al cambio de ambiente en el que se produce la reacción: de un medio acuoso a un medio lipídico.

lípido formada superficialmente en la interfase aire/agua de un pocillo lleno de una solución buffer. Si el péptido, inyectado en la fase acuosa, tiene preferencia por situarse en la monocapa provocará un aumento en la tensión superficial del agua registrable mediante una sonda (ver figura 7.6). La diferencia ($\Delta\Pi$) entre la tensión superficial inicial (Π_0) y la tensión superficial obtenida cuando va insertándose el péptido (Π_i) variará en función de la tendencia de éste a interactuar con la membrana. Cualquier pendiente negativa indica pues tal interacción (ver figura 7.6).

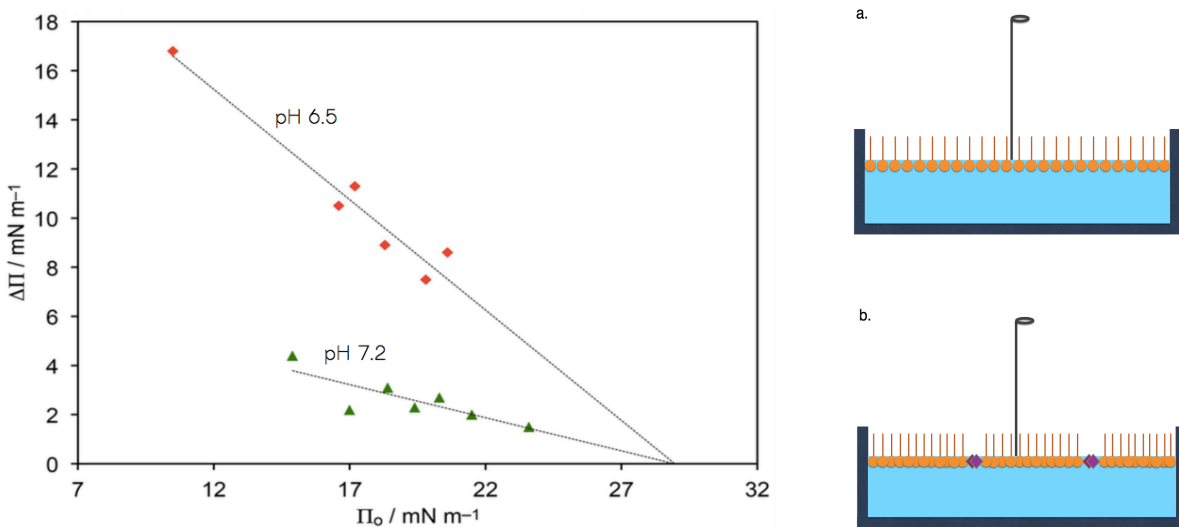


Figura 7.6. Gráfico con los resultados de la técnica Langmuir-Blodgett que muestran una interacción del péptido con la membrana de ácido graso (ver texto para detalles). Esquema explicativo del método: formación de una monocapa de ácidos grasos (en naranja) en un pocillo con un medio acuoso (a); interacción del péptido (en morado) con la monocapa, provocando un cambio en la tensión superficial detectado por la sonda de medida.

La inserción del péptido en la bicapa, representación más acorde con un modelo de membrana protoceular, también fue comprobada mediante un experimento de quenching con acrilamida. La acrilamida es un compuesto químico que bloquea la fluorescencia propia del grupo aromático del aminoácido Tyr presente en el dipéptido, cuando éste se encuentra en solución. Cuando el dipéptido se inserta en la membrana de las vesículas el grupo aromático queda protegido por la bicapa y la acción de la acrilamida no produce ningún efecto (ver figura 7.7).

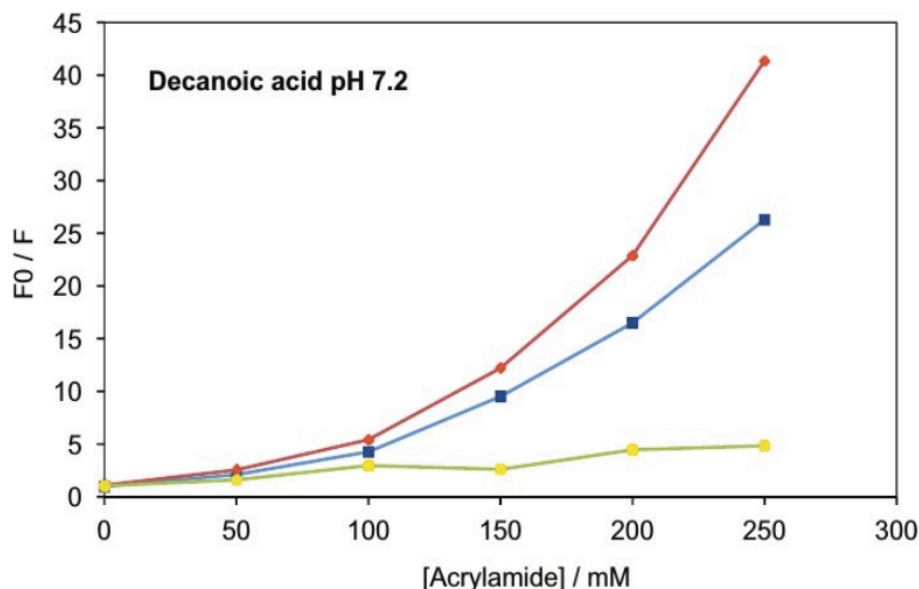


Figura 7.7. Detección por fluorescencia de la inserción del péptido en membranas de vesículas de ácido graso. La presencia de la molécula acrilamida bloquea la fluorescencia de la Tyr, cuando esta no se encuentra protegida por la membrana como en el caso del experimento control sin ácido graso (rombos rojos) o cuando la concentración de ácido graso no es suficiente para generar vesículas (cuadrados azules). En presencia de vesículas (círculos amarillos) la fluorescencia se mantiene, indicando una inserción del péptido en la membrana.

La comprobación de que el péptido se localiza en la membrana nos permite hipotetizar que es el ambiente hidrofóbico de la misma el que está teniendo un efecto sobre la química peptídica. No obstante, el efecto hidrofóbico resultó no ser el único causante del aumento del rendimiento de la reacción y del cambio en la quiralidad, pues experimentos realizados en vesículas de otro tipo de lípidos y surfactantes (entre ellos, fosfolípidos, componentes actuales de las membranas celulares) no dieron lugar a los mismos resultados (ver figura 7.8)

Para reforzar la hipótesis de que el efecto podría ser específico de los ácidos grasos y no sólo debido a la presencia de entornos hidrofóbicos, se realizaron experimentos en disolvente orgánico, en el cual estos solubilizan, evitando así la formación de cualquier súper-estructura que genere una fase hidrofóbica. Los resultados de la reacción de oligomerización del péptido en presencia del ácido graso disuelto resultaron ser similares a los obtenidos con las vesículas: el rendimiento de la reacción se vio significativamente incrementada y la ratio estereoespecífica revertida. Además, el tamaño de la cadena hidrofóbica del ácido no pareció variar los resultados

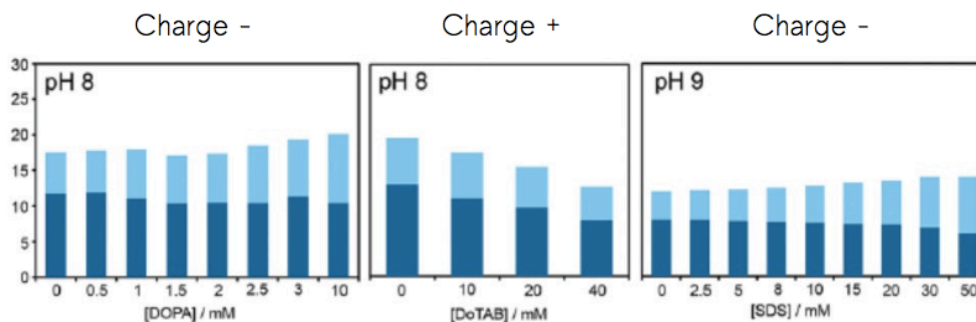


Figura 7.8. Experimentos de control con vesículas hechas con otros surfactantes (con cargas positivas y negativas). El tamaño de las barras indica el rendimiento de la reacción; el color indica la estereoselectividad (oscuro para homoquiral y claro para heteroquiral). Sorprendentemente, la utilización de otros surfactantes con cargas negativas (como el detergente SDS y el fosfolípido DOPA) no resulta en un aumento del rendimiento de la reacción, como sucede en el caso de los ácidos grasos.

(comparar los resultados del ácido decanoico y el ácido acético, éste último con una cadena hidrofóbica prácticamente inexistente, en la figura 7.9) lo cual sugería que la fracción de ácido carboxílico responsable de tal efecto era su cabeza polar.

El mecanismo químico por el cual el grupo carboxílico produce este efecto podría explicarse mediante una catálisis ácido/base. Las importantes variaciones de pK_a de los centros reactivos de las moléculas durante la aminólisis involucrada en el enlace peptídico necesitan de un continuo vaivén de protones. Las condiciones de pH del medio en el cual los ácidos grasos se encuentran formando vesículas conllevan que la mitad de su población molecular se encuentre protonada y la otra mitad en su forma iónica. Ante esta situación característica, los ácidos grasos podrían tener un doble

Solvent	Carboxylic acid	Yield / %	<i>d.r.</i>
CH ₂ Cl ₂	Control without acid	17.4	0.84
CH ₂ Cl ₂	10 mM acetic acid	86.2	0.49
CH ₂ Cl ₂	10 mM DA	86.9	0.54
CH ₃ CN	Control without acid	2.7	0.62
CH ₃ CN	10 mM acetic acid	45.3	0.44
CH ₃ CN	10 mM DA	55.7	0.46

Figura 7.9. Tabla con los resultados de los experimentos llevados a cabo en disolvente orgánico. El rendimiento de la reacción mejora mucho en presencia de un ácido carboxílico sin importar el tamaño de la cola hidrofóbica del mismo.

papel: además de generar un micro-ambiente donde localizar reactivos y productos hidrofóbicos podrían funcionar como ácidos y bases para el continuo juego de protones necesario durante la oligomerización de aminoácidos (y potencialmente durante cualquier otro tipo de proceso químico en el cual es necesaria una transferencia de protones). En cualquier caso, el efecto que la química supramolecular de los ácidos grasos tiene sobre la química de estos péptidos hidrofóbicos está en

línea con una comprensión sistémica de una química enfocada hacia la biología, y con la imposibilidad de reducir esta química a un sólo tipo molecular. Al contrario de lo que proponen los modelos clásicos, en los cuales un biopolímero complejo es el punto de partida para generar el resto de biomoléculas y, en definitiva, la vida, una co-evolución de *colecciones* de moléculas químicas mucho más sencillas pero formando sistemas en interacción y refuerzo mutuo parece una manera más lógica de afrontar el problema en su origen.

El caso-estudio experimental aquí mostrado apoya esta visión alternativa, en la cual los compartimentos y la química prebiótica están enlazados y se refuerzan desde el principio, desde sus formas moleculares más simples. En cualquier caso, en este apartado he hablado sólo de la mitad de esta colaboración: del efecto del compartimento sobre la formación de los péptidos. Pero veremos cómo éstos, a su vez, pueden tener un efecto recíproco sobre la membrana, contribuyendo, por ejemplo a su estabilidad (y, por tanto, a la del sistema global formado por los dos).

7.1.2. Posible contribución del péptido en las propiedades de la membrana

La composición heterogénea de una membrana vesicular ha demostrado tener efectos positivos sobre el mantenimiento de una protocélula, mejorando, principalmente, la estabilidad del compartimento y su habilidad para crecer (en definitiva, su auto-mantenimiento y potencial auto-reproducción). Experimentos de competición entre poblaciones protocelulares de diferentes composiciones han demostrado, en buena medida, este extremo, en lo que ha sido una de las principales líneas de trabajo del grupo de Jack Szostak en Harvard en los últimos años [Budin & Szostak 2011; Budin et al. 2014; Adamala & Szostak 2013; Adamala et al. 2015; Engelhart et al. 2016; Izgu et al. 2016].

Más concretamente, y más cercano al tipo de sistema que nos interesa, este grupo ha comenzado a investigar el efecto global que tienen determinados tipos de péptidos hidrofóbicos sintetizados en el interior del propio compartimento cuando estos se insertan en la membrana del mismo. En un trabajo publicado en el año 2013, la reacción de síntesis de un dipéptido hidrofóbico (AcPhe-LeuNH₂) a partir de sus monómeros aminoacídicos, catalizada por otro dipéptido (Ser-Hys) soluble resultó ser más eficiente cuando ésta se encontraba encapsulada en el interior de vesículas de ácido graso que cuando ésta se encontraba en solución. En línea con los resultados obtenidos por nuestro grupo, el ambiente vesicular favorece el rendimiento de la reacción: por un lado, la membrana hidrofóbica tiene una función protectora ante la hidrólisis del sustrato en contacto con el

agua (tal y como sucede en el centro activo hidrofóbico de determinadas enzimas hoy en día) y, por el otro, la membrana podría bajar el pKa del grupo amino, aumentando su reactividad ante el enlace peptídico. Los autores defienden que este fenómeno de mejora del rendimiento mediante la co-localización de los sustratos de la química peptídica con la bicapa podría haber permitido que en las protocélulas comenzara a darse un metabolismo situado en la membrana o en su entorno próximo [Adamala & Szostak 2013].

Por otro lado, no sólo los sustratos sino también el producto de la reacción (el dipéptido) colocaliza con la membrana y tiene sobre ella algún efecto que, de facto, confiere al sistema protocelular global una ventaja selectiva sobre las vesículas que no encapsulan la reacción en una dinámica de competición entre poblaciones protocelulares. La mezcla de una población de vesículas encapsulando la reacción con otra población de vesículas vacías hizo que las primeras crecieran a merced de las segundas, que encogían hasta desintegrarse. En otro experimento de competición, en el que la mezcla de ambas poblaciones de vesículas fue “alimentada” con micelas del ácido graso, de nuevo las vesículas con la reacción en su interior fueron capaces de integrar las micelas y de crecer más rápidamente (ver figura 7.10).

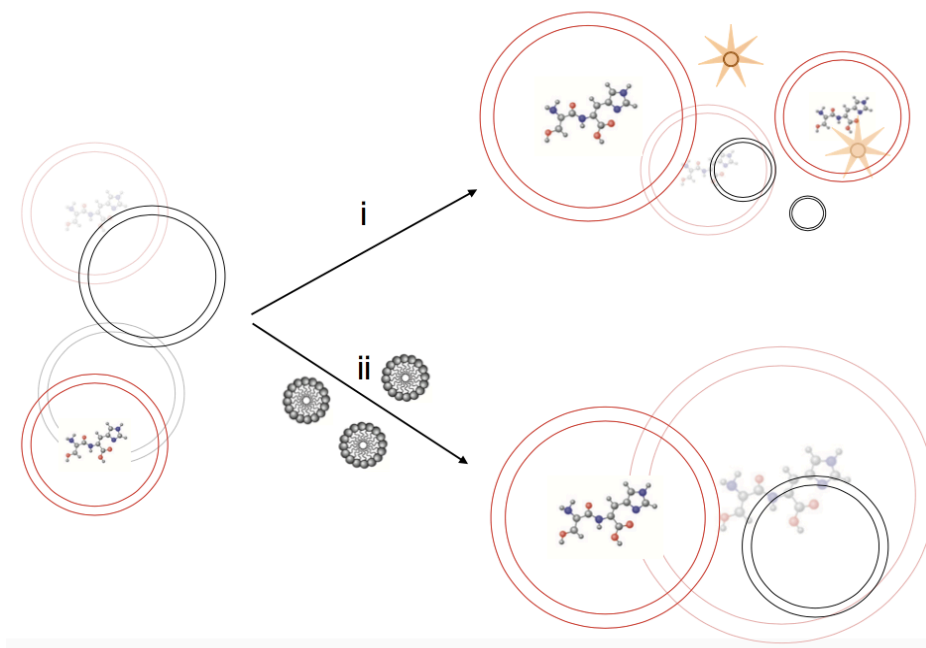


Figura 7.10. Modificada de [Adamala & Szostak 2013]. Experimento de competición entre poblaciones de vesículas encapsulando (rojo) o no (negro) una reacción de oligomerización de un dipéptido. Las vesículas con la reacción crecen a costa de las vesículas sin la reacción (que encogen hasta desaparecer) (i); en otro experimento, la población es “alimentada” con micelas y, aunque ambas vesículas se mantienen, únicamente aquellas que contienen la reacción son capaces de crecer (ii).

Los autores del trabajo atribuyen esta ventaja selectiva a la co-localización del dipéptido hidrofóbico con la membrana, al mejorar el primero la afinidad de la segunda por otros componentes moleculares (a modo de “pegamento molecular”) que la estabilicen y la hagan crecer. En [Budin & Szostak 2011] se muestra un ejemplo de este mecanismo de crecimiento de la membrana en el cual las vesículas conformadas por mezclas de ácidos grasos y fosfolípidos tienden a crecer a expensas de las vesículas que únicamente tienen ácidos grasos en sus membranas. Los fosfolípidos insertos en la membrana funcionan como una suerte de estabilizante o "pegamento molecular" que atrae ácidos grasos presentes en el medio (o procedentes de micelas) haciendo crecer las vesículas. Curiosamente, es necesario una ratio específica de ácido graso/fosfolípido para que los sistemas crezcan eficientemente, sugiriendo una co-evolución molecular por ambas especies. La composición heterogénea de las membranas vesiculares ha demostrado tener otra serie de efectos beneficiosos para la estabilidad de las protocélulas. Por ejemplo, la presencia de Arginina en la membrana de vesículas de ácidos grasos permitió establecer y mantener durante un tiempo considerable un gradiente de pH transmembrana [Chen et al. 2004]; en otro estudio, una composición heterogénea de ácidos grasos consiguió estabilizar las membranas vesiculares ante un mayor rango de pH y fuerza iónica [Namani & Deamer 2008].

La síntesis y oligomerización no-enzimática de aminoácidos favorecida por la presencia de superficies lipídicas es ya conocida en los trabajos clásicos sobre origen de vida. Por ejemplo, la oligomerización de péptidos de hasta 20-30 residuos de alanina fue reportada en presencia de micelas positivamente cargadas hace ya casi 40 años [Amstrong et al. 1978]. La carga de la superficie de micelas y vesículas ha sido utilizada en diversas ocasiones para concentrar monómeros mediante interacciones de carga opuesta y favorecer las reacciones de síntesis de aminoácidos cargados [Bohler et al. 1996; Zepik et al. 2007]. Las membranas lipídicas (liposomas de POPC, en este caso) también han demostrado ser capaces de seleccionar y condensar hasta 25 residuos del aminoácido Trp [Hitz & Luisi 2000]. La posibilidad de ciertos sustratos cargados (como pequeños aminoácidos) de permear la membrana apolar gracias a perturbaciones e hidrataciones transitorias del espacio intermembrana ha sido comprobado mediante la entrada de aminoácidos y la polimerización no-catalítica de péptidos de hasta 14 residuos en el interior de vesículas cargadas positivamente [Zepik et al. 2007]. Este tipo de resultados sustentan la afirmación de que un compartimento prebiótico de composición química simple podría tener acceso a sustratos del medio (como aminoácidos) y ser capaz de polimerizarlos posteriormente sin ayuda de otro catalizador más complejo. Este tipo de oligomerización, llamada en algún otro sitio ‘template independent oligomerization’ [Ruiz-Mirazo et al. 2017] daría lugar a secuencias peptídicas prácticamente aleatorias y moldeadas por algún efecto físico inespecífico (como por ejemplo, la síntesis de

péptidos hidrofóbicos en fases hidrofóbicas). Las funciones que puedan llevar a cabo este tipo de péptidos serán funciones de amplio espectro, bastante inespecíficas y, por tanto, ubicuas y generalizadas (multifunción). Por ejemplo, la inserción de poli-péptidos hidrofóbicos de poli-alanina y poli-leucina en membranas de liposomas demostró formar canales helicoidales para protones, mejorando la permeabilidad de estos hacia el interior del compartimento [Oliver & Deamer 1994]. El escenario que debemos imaginarnos en esta etapa del proceso prebiótico es uno en el cual los primeros catalizadores serían muy simples, con una especificidad muy baja en cuanto al sustrato (ambigüedad de sustrato) y una promiscuidad muy alta en cuanto a su actividad (ver [Peretó 2012] para una reflexión muy interesante sobre este asunto en el contexto de la evolución del metabolismo). Por otro lado, la incapacidad para registrar la especificidad del oligopéptido puede contemplarse también como una ventaja, al ampliar la diversidad y con ello las posibilidades de búsqueda de nuevas funciones.

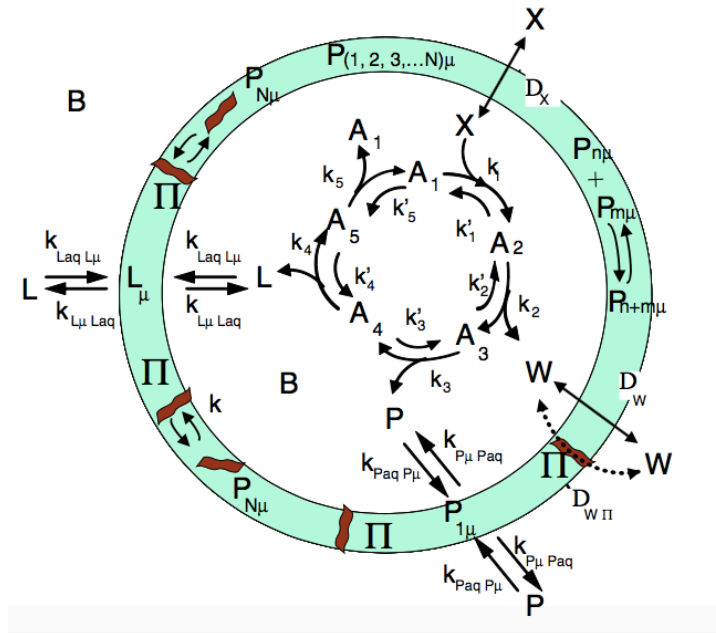


Figura 7.11. De [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2007]. Modelo de membrana lípido-peptídica de una protocélula con autonomía básica. La elasticidad de la membrana dependiente de la inserción de los péptidos auto-fabricados compensa los cambios de volumen derivados de la auto-fabricación, permitiendo controlar el balance osmótico y aumentando sus límites de viabilidad (ver texto para detalles).

La exploración de los efectos sistémicos inespecíficos de un polipéptido inserto en una membrana sobre el auto-mantenimiento de un sistema protocelular ha sido llevada a cabo también mediante modelos computacionales. Mavelli y Ruiz-Mirazo han desarrollado un modelo *in silico* de membrana lípido-peptídica que estudia en detalle los diferentes parámetros en los cuales esta interacción resulta ventajosa para la elasticidad de la membrana (y, consecuentemente, para el control del balance osmótico del sistema) [Ruiz-Mirazo & Mavelli 2007; Mavelli & Ruiz-Mirazo 2007; Ruiz-Mirazo & Mavelli 2008] mediante la adopción de un régimen dinámico *autónomo*

básico (ver figura 7.11). El sistema descrito por estos autores se compone de un compartimento lipídico encapsulando un ciclo metabólico en su interior. Este ciclo metabólico es el responsable de la producción de los componentes protocelulares: por un lado los lípidos, principales agentes estructurales de la membrana y, por el otro, una serie de aminoácidos hidrofóbicos. Estos aminoácidos tienden a agregar en la membrana pudiendo oligomerizar, generando péptidos de diferentes longitudes, que tendrán un efecto sobre la elasticidad del compartimento. Durante la actividad del ciclo metabólico se generan algunos productos de desecho (W) que tenderán a acumularse en el interior protocelular, pudiendo provocar que el compartimento se hinche o no acoja la entrada de más sustratos del medio. Los productos de desecho saldrán del compartimento pasivamente gracias a defectos o perturbaciones temporales en la ordenación de los componentes de la membrana. Las variaciones en la elasticidad del compartimento provocadas por la oligomerización e inserción de los péptidos en la membrana lipídica permitirán que la protocélula sea capaz de diversificar sus posibilidades en torno al balance osmótico y de explorar, así, el control de sus límites de viabilidad. Resumiendo, en las diferentes condiciones probadas, la cadena peptídica auto-producida e inserta en la membrana auto-ensamblada consigue modificar la elasticidad de la misma. La protocélula consigue así tomar cierto control sobre su tolerancia osmótica y, consecuentemente, sobre otros factores como la velocidad y límite de crecimiento, el tiempo de persistencia o el ritmo de división. Aquellos efectos que (en las condiciones adecuadas) consiguen mejorar la robustez y la estabilidad del sistema (en definitiva, su auto-mantenimiento y auto-producción) son definidas aquí como acciones *funcionales*.

Las protocélulas lípido-peptídicas modeladas por Mavelli y Ruiz-Mirazo son sistemas mucho más complejos que aquellos modelos empíricos descritos más arriba en este capítulo. En ellos encontramos un ciclo metabólico encapsulado, encargado de la auto-producción tanto del lípido como de los oligopéptidos que van a parar a la membrana. Los efectos que estos componentes puedan tener sobre el auto-mantenimiento del sistema parece más sencillo imaginarlos como *funciones* a la luz de la definición de [Mossio et al. 2009] pues son componentes auto-producidos que consiguen controlar o modular las condiciones de viabilidad del sistema global, incrementando las posibilidades de persistencia de tal organización. Si volvemos a los sistemas químicos estudiados por el grupo de Szostak o por nuestro grupo nos veremos obligados a flexibilizar esta definición para encajarla en nuestro modelo experimental. En nuestro modelo no todos los componentes del sistema son auto-producidos; los ácidos grasos pueden auto-ensamblar desde que están disponibles a una concentración suficiente; la encapsulación de determinados sustratos puede dar lugar a la síntesis propia de un péptido, pero siempre que los monómeros puedan ser igualmente capturados del exterior. No obstante, la ventaja selectiva del efecto recíproco

entre los dos tipos moleculares en interacción confieren a esta mezcla la denominación de *sistema* (pues trabajan sistémicamente y son seleccionados como tal). Por tanto, desde este punto de vista debemos reconsiderar la posibilidad de encontrar igualmente indicios de alguna *acción funcional*. Por ejemplo, la membrana, pudiendo ser considerada como centro metabólico primitivo al promocionar determinadas reacciones de síntesis, podría considerarse como poseedora de cierto efecto funcional, ya que el producto que sintetiza (el péptido) finalmente va a contribuir a su estabilidad y, globalmente, a la persistencia del sistema. Recíprocamente el péptido, como estabilizante de la membrana o “atractor” de componentes de la misma, podría igualmente *actuar funcionalmente* para mejorar la robustez o la capacidad de crecimiento de las vesículas, asegurando, a su vez, su propio mantenimiento. Por supuesto, la capacidad de estos sistemas para controlar sus umbrales de existencia es prácticamente nula pues, a este nivel, prácticamente toda la producción de componentes se encuentra a merced de la disponibilidad de los sustratos en el ambiente y, derivado de esto, dependen enormemente de él. Sin embargo, en la dinámica global podemos ya empezar a distinguir ciertas características de una autonomía básica (o, al menos, ciertos rasgos que sitúan a estos sistemas en el buen camino para adquirirla).

Por esta razón, un programa de investigación empírico dirigido a la fabricación de compartimentos funcionales que incluyan una vía abierta a la auto-producción a partir de la interacción sistémica de poblaciones moleculares sencillas pero de tipo diverso, aunque constituya un reto complicado, podría resultar eficaz a la hora de naturalizar y fundamentar químicamente las propiedades de los primeros agentes autónomos. Para un ejemplo de este tipo de aproximación pero realizado a partir de una química alternativa, ver el trabajo de Hardy y colaboradores [2015] (comentado ya previamente, ver 4.4 y 6.2.3).

7.2 Acercando los modelos "in-silico" e "in-vitro"

El trabajo de Hardy y colaboradores llevado a cabo a través de una química alternativa, pone de manifiesto, por un lado, la potencial universalización del esquema de la autonomía para la reproducción de propiedades biológicas y, por el otro, la importancia del aspecto artificial como alternativa facilitadora para llevar al laboratorio esta re-producción.

Los modelos de vida artificial *in-silico* son comunes desde los años 1980, cuando se desarrollaron diversos programas de simulación que permitieron imitar computacionalmente algunas propiedades de la vida basadas en algoritmos matemáticos. Este tipo de aproximación fue de utilidad durante mucho tiempo para comprender mejor los sistemas complejos adaptativos, grupo

al que pertenecen los sistemas biológicos. La teoría de los sistemas complejos adaptativos ha permitido ofrecer explicaciones acordes a los procesos embebidos en un contexto histórico como los que moldean los organismos durante la evolución biológica [Juarrero 2000]. Su aplicación se da, mayoritariamente, en el ámbito de la teoría evolutiva, aunque también ha adquirido gran popularidad en los modelos de química artificial y en los estudios en torno al origen de la vida.

No cabe duda de que el trabajo *in-silico* tiene grandes ventajas, la principal es permitir experimentar con sistemas de una complejidad (en términos de composición, número de procesos y condiciones experimentales) que en el laboratorio serían materialmente intratables. La simulación computacional ha contribuido enormemente a moldear no sólo conceptos teóricos sino también a re-conducir ciertos trabajos experimentales, estableciendo parámetros y condiciones de interés a explorar, con el consecuente ahorro de esfuerzo, tiempo y dinero. Como muestra, el trabajo experimental realizado durante esta tesis, basado en el modelo *in-silico* desarrollado por Ruiz-Mirazo & Mavelli [2007; 2008]. No obstante, la recreación de un modelo biológico en un procesador tiene sus limitaciones [Jonas & Kording 2017]. Estas limitaciones se deben a muchas razones: por ejemplo, la naturaleza causal auto-producida emergente en la biología (difícil de captar por un programa de ordenador diseñado por un programador externo), el moldeado de las funciones biológicas a lo largo de su historia evolutiva (imposible de recrear en su totalidad) y, especialmente, la naturaleza *química* de los componentes biológicos. En un sistema físico (como es un procesador, con una base material inalterable y señales eléctricas amplificadas y transmitidas a lo ancho de toda esta superficie) los componentes actúan como entidades discretas. La química, por otro lado, ofrece un dominio material absolutamente diferente y potencialmente mucho más diverso y susceptible a la novedad, al permitir conjugar, modificar y transformar sus componentes. Los componentes de los sistemas biológicos pertenecen a esta segunda clasificación, y por esta razón la definición de sus propiedades fundamentales será imposible de valorar sin una experimentación *in-vitro* con sistemas moleculares reales. La experimentación *in-vitro* supone un reto complicado para los científicos dispuestos a enfrentarse a esta complejidad pero, como hemos visto, existen herramientas teóricas y metodológicas que están volviendo esta tarea más accesible. Para acabar, dejando de lado el intento de re-construir de manera fidedigna el escenario composicional idéntico al que dio lugar a la organización biológica durante el origen de la vida (que por la ausencia de datos se antoja como una difícil tarea), se debe estimular la experimentación con químicas alternativas, con el fin de anteponer el intento de re-construir características universales en los sistemas biológicos (como su organización auto-productiva y auto-mantenida). Con tal objetivo, en una conjunción entre la Química de Sistemas y la Biología Sintética, lo que debe primar es la concepción *bottom-up* (para

cubrir el aspecto *productivo* de la biología) de una química (cualquiera que sea ésta) sencilla, diversa, que permita la diferenciación de fases, el auto-ensamblaje y la auto-organización.

Capítulo 8

IMPLICACIONES CONCEPTUALES, RECAPITULACIÓN Y PERSPECTIVA

8.1 Interpretación en clave filosófica de los resultados empíricos

En el capítulo 6 se definió la identidad *infra-biológica* como aquella que caracteriza una entidad funcionalmente individuada capaz de sostener una organización auto-productiva de forma autónoma. Este esquema organizativo es reforzado a lo largo de las diferentes transiciones prebióticas mediante la redefinición de la dimensión individuatoria y la dimensión funcional (ambas, a su vez, bajo influencia recíproca). No obstante, aunque la organización autónoma pueda alcanzar un grado de robustez y estabilidad considerable, la habilidad de las protocélulas de fijar y transmitir esta robustez a futuras generaciones no es trivial, limitando ampliamente las posibilidades de progresar. La aparición de registros heredables en el esquema organizativo permitió afianzar significativamente las propiedades que producen la autonomía haciendo que los sistemas, por un lado, asegurasen el auto-mantenimiento de la organización en las generaciones venideras y, por el otro, pudiesen superponer novedades sobre estos registros y ampliar su espacio fenotípico; en definitiva, favoreciendo su incursión en un progreso evolutivo y estableciendo una base sobre la

cual crecer en complejidad. La incorporación de registros heredables a la organización autónoma a través de un desacoplamiento fenotipo-genotipo mediado por código supondría, de hecho, el salto hacia la *identidad biológica*, es decir, hacia sistemas autónomos capaces de evolucionar de forma potencialmente indefinida (o lo que es lo mismo, el origen de la vida) (ver figura 8.1). La identidad biológica es una fuerte *identidad dinámica*: en su dimensión autónoma se mantiene siempre alejada del equilibrio y, en su dimensión evolutiva se mantiene siempre en continuo cambio y potencial progreso.

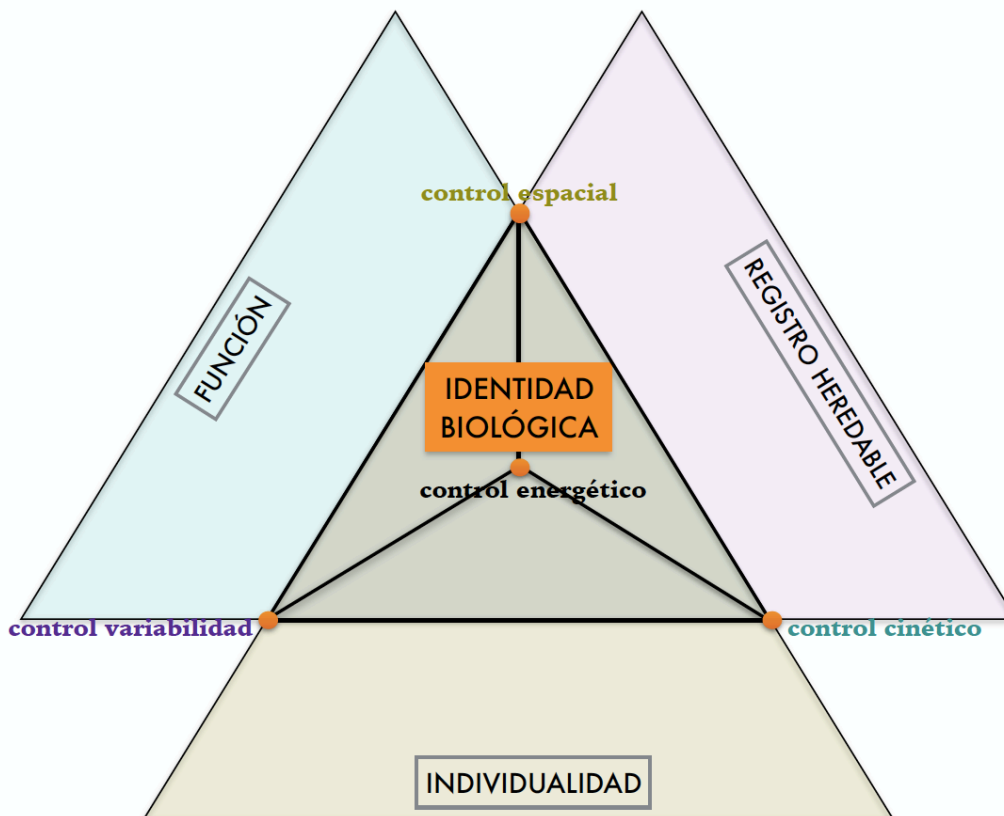


Figura 8.1. La integración de la Identidad Biológica se da una vez los sistemas con una identidad *infra*-biológica autónoma suficientemente robusta añaden a su estructura organizativa un *registro heredable* capaz de re-reproducir ésta de forma fidedigna. Esto asegura la estabilidad y el auto-mantenimiento de tal organización y la dota de una capacidad de evolución abierta. La adquisición de una identidad biológica mínima (en el origen de la vida) coincide con la integración de los cuatro mecanismos de control básicos (cinético, espacial, energético y de la variabilidad).

Como ya se introdujo en 4.3.4, recientemente, Ruiz-Mirazo, Briones & de la Escosura [2017] han publicado una propuesta en torno al desarrollo evolutivo de una entidad físico-química protocelular basada en la incorporación de, al menos, cuatro mecanismos de control. Entre estos mecanismos están: i) un control espacial, ejecutado por diversos compartimentos dinámicos y de permeabilidad selectiva (vesículas, micelas, etc), ii) un control cinético, representado por relaciones de catálisis, iii) un control energético, encargado de acoplar fuentes de energía al resto de

mecanismos y iv) un control de la variabilidad, puesto en práctica por registros y componentes heredables con alta fiabilidad. La actuación integrada de estos cuatro mecanismos de control permitirán que la entidad mantenga indefinida y autónomamente su identidad dinámica, o lo que es lo mismo, su organización funcional diferenciada del entorno (alejada del equilibrio). La hipótesis plantea que, durante el proceso de origen de vida, estos cuatro mecanismos moleculares co-evolucionaron en un proceso evolutivo químico a partir de mezclas moleculares complejas. El escenario prebiótico se propone como un escenario heterogéneo poblado de una enorme diversidad química en la cual diferentes combinaciones moleculares habrían producido multitud de formas cooperativas de algunos de estos mecanismos de control de forma que, en un momento dado, la integración robusta de los cuatro, satisfizo un tipo de organización dinámica capaz de persistir en el tiempo y permitir un aumento en complejidad indefinida (es decir, la vida).

En el capítulo anterior se defendía la experimentación *in-vitro* como esfuerzo epistemológico necesario para llegar al fundamento de los sistemas biológicos. Para ello se mostraron diferentes resultados experimentales basados en el desarrollo de compartimentos funcionalmente autónomos. No obstante, ¿cuán cerca están estos resultados empíricos de alcanzar los requerimientos de la autonomía [Moreno & Mossio 2015] o las propiedades relacionadas con la fenomenología de los seres vivos mencionada por autores como Simondon, Plessner o Jonas, de los que hablamos en el capítulo 6?

El modelo de protocélula lípido-peptídica desarrollado durante esta tesis pretende ser una contribución al tipo de hipótesis presentado en [Ruiz-Mirazo et al. 2017]. A partir de una mezcla química de dos tipos de componentes (lípidos y aminoácidos) se auto-generan sistemas químicos con una suerte de control espacial (compartimentos) y control cinético (catálisis) integrados: la química lipídica con una función topológica y catalítica y, la química peptídica con un potencial funcional que va igualmente en ambos sentidos. A pesar de tratarse de un sistema aún muy sencillo, con él se pretende demostrar el tipo de camino a seguir para la fabricación de protocélulas auto-producidas: la puesta en contacto de diferentes tipos de químicas bio-precursoras que, en interacción, puedan resultar en algún tipo de química colaborativa con un resultado sistémico. Este tipo de aproximación empírica no está exenta de dificultades (ligadas sobre todo al análisis cuantitativo de la mezcla de componentes). La integración de dos o tres de estos mecanismos de control es relativamente asequible con una mezcla de componentes (especialmente aquellos asociados a un control espacial y cinético). No obstante, al tratar de volver este escenario más complejo para acercarnos a un sistema dinámico auto-producido (alejado del equilibrio) la cosa se vuelve exponencialmente más difícil. Uno de los primeros problemas que nos encontramos, aparte de la complejidad composicional, es metodológico. Si observamos el tipo de experimentos

realizados durante esta tesis - y el grueso de experimentos realizados en el campo de origen de vida - veremos que el análisis de los datos está hecho desde un enfoque químico muy clásico. Generalmente, primero se lleva a cabo el experimento y el análisis se realiza sobre el *resultado* del proceso (o los procesos) implicados, una vez estos han sucedido y el sistema se encuentra ya en equilibrio (de hecho, en la mayoría de los casos se necesita destruir el sistema para poder analizarlo). La dinámica que ha dado lugar a los resultados analizados se infiere posteriormente, a partir de las condiciones experimentales establecidas. Este procedimiento experimental es el más extendido por estar al alcance de todos los laboratorios de química; no obstante, no parece ser el más adecuado cuando lo que se quiere comprobar es, de hecho, un *funcionamiento dinámico* específico como el que ocurre en la biología.

Las ideas introducidas por los tres autores revisados en el capítulo 6 dejan también muy en evidencia la importancia de la dinámica a la hora de entender la organización característica de la vida (ver figura 8.2). Todos los conceptos definidos por ellos son únicamente comprensibles en torno a una concepción "procesual" de tal organización: Simondon se basa en la "alagmática" (teoría de las operaciones, de la conversión) para explicar la individuación y la continua re-estructuración de los sistemas vivos; Plessner sitúa su concepto central de posicionalidad en la auto-producción de la frontera, la cual especifica no como un objeto físico sino como un "trámite" (el paso de una cosa a otra); por último, Jonas define el metabolismo (último responsable del fenómeno orgánico) como una "trascendencia" (del ser mediante el *hacer*). La teoría de la autonomía biológica, por su parte, se funda sobre la idea de auto-construcción dinámica basada en un control propio de los flujos energéticos, una generación de patrones que se constriñen mutuamente y generan nuevos patrones. El *proceso, la dinámica*, será, por tanto, la característica fundamental a tener en cuenta a la hora de cuantificar el sistema o los productos del mismo.

La dinámica - el alejamiento del equilibrio - es reflejado por los autores fenomenológicos de diferentes maneras (ver figura 8.2). Simondon lo describe como la conversión de la materia meta-estable en materia indivisible (más estable pero no del todo, siempre con potencial de seguir individuándose). Además, entre la primera y la segunda, existe una recursividad causal conectada a través de la organización, de forma que la materia meta-estable es siempre conservada (conservando el potencial individuante). Plessner, por su parte, entiende una necesidad continua de mantener el aspecto de gestalt (ser cuerpo y tener cuerpo) para no dejar de realizar esa doble interacción con el ambiente que precede a la posicionalidad (la toma del espacio característica de los seres vivos). Por último, el metabolismo, para Jonas, se encuentra en una dualidad que le obliga a ser - a *hacer* - para conservar su estado de libertad (individuación orgánica).

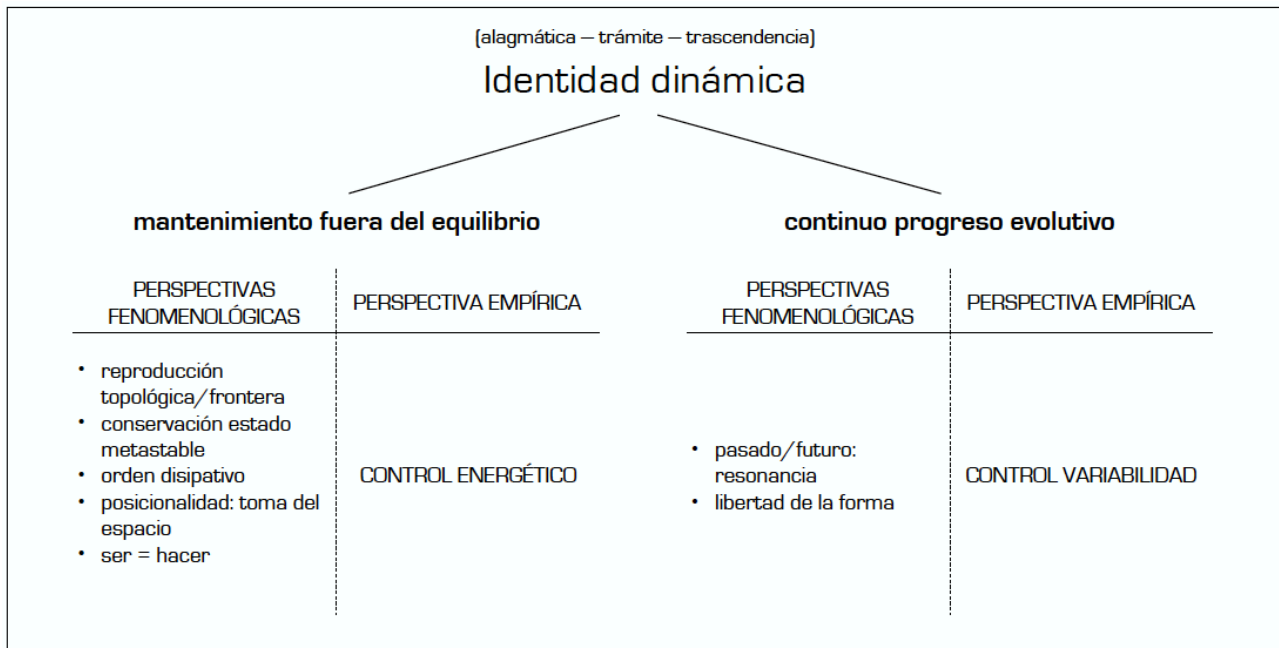


Figura 8.2. La identidad biológica es una identidad dinámica en dos dimensiones espacio-temporales distintas: por un lado se mantiene siempre alejada del equilibrio y, por el otro, está inmersa en un continuo progreso evolutivo. Tanto las perspectivas filosóficas fenomenológicas como las perspectivas empíricas dan cuenta de esto y proponen sus propias formas de enfocar el problema (ver detalles en el texto).

En términos empíricos, estas particularidades tienen múltiples implicaciones, las más fundamentales de las cuales se refiere a la capacidad de auto-mantenimiento de un sistema en condiciones de no-equilibrio. Esto nos lleva a una problemática que no hemos explorado demasiado en este trabajo, y que podría quedar englobada en lo que Ruiz-Mirazo, Briones & de la Escosura [2017] llaman *control energético*, encargado de *acoplar procesos* endergónicos a procesos exergónicos para hacer frente a las barreras termodinámicas que se anteponen a la mayoría de procesos metabólicos de síntesis molecular necesarios durante la auto-producción autónoma. El control energético pudo haber echado mano de diferentes mecanismos funcionales en la época prebiótica: por ejemplo, la generación de gradientes electroquímicos, la acumulación temporal de energía en enlaces moleculares (al estilo del actual ATP pero en forma de pirofosfatos u otros agentes acoplantes capaces de activar sustratos).

Como decía, la inmensa mayoría de los ensayos químicos en torno a la búsqueda de una organización biológica primitiva se realizan en condiciones de equilibrio y, consecuentemente, no tienen en cuenta el *proceso* de control energético que mantiene la dinámica auto-productiva. Actualmente, existen modelos prebióticos que empiezan a tener en cuenta el acoplamiento de otros de los mecanismos de control mínimamente necesarios para la generación de un sistema funcional autónomo [de la Escosura et al. 2015; Ruiz-Mirazo, Briones & de la Escosura 2017]): concretamente el control espacial y el control cinético. En el caso-estudio de esta tesis (capítulo 7) los sistemas muestran particularidades de cierto control espacial (compartimentos) integradas a

particularidades de cierto control cinético (catálisis, péptidos). Esta característica, aunque es interesante para empezar a discriminar sistemas protocelulares con un cierto potencial autónomo, está aún muy lejos de conseguir realizar dicho potencial. Particularmente, es de destacar que en nuestro sistema los mecanismos de control energético autónomos brillan por su ausencia y, por eso, para la integración del resto de los componentes debe de existir una previa activación de los mismos de forma externa. De forma muy similar, en [Izgu et al. 2016] la capacidad catalítica de los componentes del compartimento es activada por moléculas pertenecientes a la mezcla química pero, estas moléculas, son añadidas por el experimentador a la mezcla de forma ya activada.

Dado el papel central que tienen los mecanismos de control energético en los seres vivos, su búsqueda en los sistemas protocelulares suscita un gran interés [Chen & Szostak 2004; Summers et al. 2009; Alpermann et al. 2011; Izgu et al 2016]. Popularmente estos experimentos están más centrados en describir qué tipo de escenario químico puede dar lugar a estos mecanismos que en intentar *integrarlos* en un comportamiento sistémico global. De los sistemas químicos mostrados en la Tabla 6.3 (ver capítulo 6), muy pocos integran el control cinético y espacial con un control energético y, de entre los que lo hacen, pocos cumplen los requisitos de protocelularidad y auto-producción *bottom-up*²⁰. El caso de [Hardy et al. 2015], con sus limitaciones, es un grato intento de superar el problema; aquí es el sistema químico el que produce un ligando auto-catalítico con el cual controlar la auto-producción de los componentes de la membrana. La membrana, por su parte, ofrece el entorno adecuado y favorece los encuentros químicos necesarios para que se den las reacciones. Este sistema auto-producido, aunque necesitado de un aporte continuado de nutrientes al medio, dispone de cierto control espacial (gracias al compartimento), cierto control cinético (gracias a la formación de fases y la química reactiva) y cierto control energético (gracias al ligando auto-catalítico); además, los tres están funcionalmente integrados, de forma que el sistema puede auto-mantenerse durante un tiempo en principio indefinido.

Si tomamos el ejemplo de [Hardy et al. 2015] como uno de los que más se acerca a conseguir mantener el alejamiento del equilibrio en un sistema químico protocelular (y, en cierto sentido, la autonomía de un modo mínimo) y lo comparamos con las propiedades fenomenológicas de la vida destacadas por los autores previamente citados, veremos que puede establecer un paralelismo mayor que con un sistema más simple como el nuestro (un sistema integrado, sí, pero destinado al equilibrio). Para empezar, en términos generales, la *auto-producción* de la frontera, tan importante en la descripción conceptual tanto de Simondon como de Plessner y que engloba también, de forma más amplia y abstracta el *ser=hacer* de Jonas. El sistema de [Hardy et al. 2015]

²⁰ Los bioreactores (Noireaux & Libchaber 2004; Yomo 2004; 2008) incluyen un cierto control energético pero estos son sistemas mucho más complejos, contruidos a partir de maquinaria biológica extraída de organismos actuales.

es porque *hace* su frontera (se auto-produce) pero también *hace* porque *es* (sin tal estructura topológica no funcionaría). En términos más concretos, mecánicos (o de procesos funcionales), el proceso de "conservación del sistema meta-estable" que permite la "individuación indivisible" característica de los seres vivos (Simondon) podría ser comparada con los mecanismos moleculares auto-catalíticos (del propio ligando y del lípido de membrana) que permiten la producción continuada de sustrato (conservan la materia meta-estable) para facilitar la auto-producción del sistema (el sistema individuado-indivisible). Por otro lado, podríamos entender el acoplamiento entre todos los componentes del sistema y el medio - en gran parte debido al ligando común (oligotriazol) que integra la producción - como la "toma del espacio" derivada de la doble interacción: la interacción del sistema consigo mismo (las diferentes auto-catálisis) y con el ambiente (la utilización de los nutrientes para auto-producirse).

Como ya mencionábamos al principio de este capítulo, la organización biológica es una organización dinámica; como también se vio en el capítulo 6, este tipo de organización procede de la integración funcional entre diferentes mecanismos de control de la estructura auto-mantenida que, en forma de identidad infra-biológica al principio, va después re-definiéndose y reforzándose hasta dar lugar a la autonomía propiamente biológica. Este carácter dinámico no sólo hace referencia a su dimensión fisiológica alejada del equilibrio sino también, en una escala temporal distinta, a su *dimensión evolutiva* que encamina esta organización a un progreso continuo asociado un cuarto tipo de control, que no está presente en ninguno de los modelos experimentales mencionados más arriba: *el control de la variabilidad* (ver esquema 8.2). En un sistema protocelular prebiótico, los mecanismos de control de la variabilidad se encargarán de la transmisión más o menos rigurosa de las características ya disponibles, permitiendo conservar aquellas que sean clave para el auto-mantenimiento y la estabilidad de la organización, al tiempo que se favorece el progreso (añadiendo capas de complejidad sobre aquellas ya existentes). Para ello, será necesario sumar a los otros tres tipos de control la integración de oligómeros capaces de funcionar como plantillas para la replicación. La replicación dependiente de plantilla es la primera forma de conseguir una re-producción fiable en los sistemas protocelulares y condición necesaria para el origen del metabolismo genéticamente instruido característico de las células.

Los sistemas a los que hacen referencia en sus escritos Simondon, Plessner y Jonas son sistemas biológicos completamente funcionales, sistemas funcionalmente integrados con una identidad biológica plena. La fenomenología que los caracteriza requiere de una complejidad biológica muy alta que parece difícil de obtener sin formar ya parte de un proceso evolutivo que permita tal aumento en complejidad (un sistema con una identidad *infra*-biológica tendría muy limitado su progreso). Asumiendo esto, se pueden interpretar algunas de las ideas de estos autores

como paralelas a una descripción del fenómeno evolutivo y el control de la variabilidad. Por ejemplo, Jonas define la identidad biológica como "el mantenimiento de la forma a pesar de variar las cualidades de la materia". La forma orgánica - la organización metabólica o la identidad biológica - se mantiene a lo largo del proceso evolutivo aunque cambien (se adapten) los componentes y mecanismos que la conforman. En Simondon se podría incluso dar a entender una descripción algo más concreta de lo que sería un control de la variabilidad mediante su descripción cronológica/topológica de los individuos biológicos. Es especialmente interesante interpretar que esta dimensión evolutiva se derivaría automáticamente de la propia organización dinámica de la entidad individual biológica. Los sistemas vivos, al interiorizar los sustratos procedentes del exterior, convierten éstos en "pasado" o, lo que es lo mismo, en un "registro". Este registro afecta a todo el sistema a través de la resonancia - los efectos del entorno sobre el sistema se amplifican y afectan a su totalidad en forma de cambios estructurales - de manera que estos cambios se acumulan en una suerte de catálogo (memoria) de "soluciones" para que el sistema afronte situaciones futuras con mayor eficacia. El registro estructural funcionaría entonces como una especie de control de la variabilidad, permitiendo exhibir un espacio fenotípico más amplio y dando pie al aumento en complejidad dentro de un proceso evolutivo.

Tanto en Jonas como en Simondon, como en la propuesta de [Ruiz-Mirazo et al. 2017], se recalca la importancia de dicha integración para explicar ambos comportamientos dinámicos (dinámico-fisiológico y dinámico-evolutivo) a partir de la organización interna del sistema. El trabajo con mecanismos de control de la variabilidad prebióticos, hasta la fecha, ha obtenido algunos éxitos al integrar oligómeros auto-replicativos a compartimentos; por ejemplo en [Chen et al. 2004; 2005] donde se demuestra la ventaja selectiva que supone una cooperación química entre auto-replicación de un ARN y crecimiento de un compartimento o en [Kurihara et al. 2011] donde se acopla la auto-replicación de un oligómero de ADN a la auto-reproducción de vesículas. No obstante, entre los modelos empíricos protocelulares, no existe todavía ninguna propuesta dentro de la perspectiva organizacional que incorpore el control de la variabilidad al resto de vértices de dicha organización. La incorporación de este último vértice (que pudo también haber llegado algo más tarde durante el proceso evolutivo prebiótico) añadiría funciones de registro heredable, relacionadas con las funciones transgeneracionales tratadas en el capítulo 2, a la identidad *infra*-biológica - compuesta por entidades individuales y funcionales relativamente estables (sistemas autónomos con un control espacial, cinético y energético) - dando origen a sistemas con una identidad más próxima a la *identidad biológica* (ver figura 8.1).

La integración de los cuatro mecanismos de control resulta todavía una tarea empírica difícil. Esto se debe en parte a la limitación metodológica que supone la práctica empírica más

extendida y accesible ligada al análisis químico en el equilibrio. Otro tipo de metodologías más centradas en la dinámica del proceso deberían ser desarrolladas y utilizadas en el ámbito de origen de vida. En este sentido, los modelos *in-silico* tienen una destacada ventaja sobre los modelos *in-vitro* pues permiten rastrear la dinámica del sistema a través de los algoritmos matemáticos utilizados. Sin embargo, es probable que también pierdan aspectos de importancia relacionados con la implementación material específica de los sistemas naturales. Empíricamente hablando, las químicas combinatorias dinámicas (DCCs) como las presentadas en el capítulo 5 ofrecen características interesantes en esta dirección, pero su uso actual las aleja mucho del objetivo aquí perseguido. Sin embargo, el éxito en términos sistémicos de la integración de algunos de estos mecanismos por separado (como en algunos de los ejemplos que se han mencionado durante éste y el anterior capítulo) ofrece una visión alentadora de esta vía de investigación.

8.2 Prospectiva

La cantidad de retos a superar antes de llegar a tener una comprensión más completa del funcionamiento de los organismos vivos y de cómo pudieron surgir desde un escenario físico-químico no es para nada despreciable. A lo largo de este manuscrito he pretendido hacer un recorrido por el panorama histórico y actual del tipo de interpretación que se le da al fenómeno biológico, resolviendo que el consenso generalizado actualmente es el de entenderlo como una propiedad sistémica (capítulo 3). El carácter de sistema impone, no obstante, una serie de dificultades conceptuales y metodológicas que deben ser asumidas y superadas a través de marcos teóricos y procedimientos experimentales nuevos, como los que ofrecen la teoría de la autonomía y química de sistemas (capítulo 4 y 5). La revisión y reflexión sobre los resultados obtenidos de esta forma puede ayudarnos a comprender partes importantes de la fenomenología celular, como la identidad de su organización dinámica o su carácter agente. A continuación, enumero una serie de compromisos clave a asumir en un trabajo futuro si se pretende adoptar esta vía de investigación.

1. **Producción 'bottom-up' de sistemas protocelulares auto-productivos:** El primero de los retos a afrontar es la re-construcción, a partir de mezclas químicas, de sistemas protocelulares con potencial para un comportamiento autónomo: es decir, que integren componentes que puedan formar parte de un control espacial (compartimentos), cinético (catálisis) y energético (alejamiento del equilibrio) de los procesos involucrados. La fabricación experimental *bottom-up* de este tipo de sistemas es un reto per-se, entre otras cosas por la paradoja que supone fabricar sistemas auto-producidos, sin que la intervención externa influya excesivamente en el

proceso. La puesta en contacto de químicas auto-organizativas y de moléculas capaces de auto-ensamblarse puede ser un escenario químico adecuado para la aparición del tipo de causalidad recíproca que requiere la auto-producción biológica, tal y como se ha destacado a lo largo de este trabajo.

2. ***Diseños experimentales para la búsqueda de dinámicas alejadas del equilibrio.*** El control energético y el alejamiento del equilibrio son propiedades fundamentales para explicar el comportamiento especial de los seres vivos. Por esta razón, debemos centrar nuestros esfuerzos en re-producir esta característica, buscando fabricar las protocélulas dentro de una química dinámica. Hasta ahora, la experimentación (incluyendo los planteamientos *bottom-up*) ha estado generalmente centrada en la caracterización de protocélulas que son analizadas utilizando metodologías clásicas de química en el equilibrio (mediante la comparación entre los reactivos y los productos finales del proceso y la reconstrucción teórica, a posteriori, de cómo ha podido ocurrir dicho proceso). No obstante, la monitorización de la propia (organización) dinámica ha sido hasta ahora pasada por alto en los modelos "in-vitro"²¹. Para hacer esto, será necesario un cambio en el diseño experimental que, en lugar de medir los productos del sistema cuando éste está ya en el equilibrio, deberá consistir en el seguimiento del mismo mientras está alejado del equilibrio, analizando especies intermediarias o algún tipo de "marcador" del proceso. Las químicas dinámicas combinatorias (DCCs) podrían ofrecer un espacio de experimentación adecuado en esta dirección, siempre y cuando se les de un uso diferente al actual, comenzando por tomar en cuenta el problema de la compartimentación. Un ejemplo de auto-producción mediante auto-organización ligada a auto-ensamblaje lo veíamos ya en las DCCs asociado a materiales auto-constructivos y nanomateriales [Busseron et al. 2013; Giuseppone 2011]. Una química de este tipo pero confinada espacialmente mediante la inclusión de compartimentos en el sistema podría ser un buen modelo mediante el cual empezar estudiar la auto-producción protocelular.

3. ***La importancia clave de la limitación metodológica*** para la monitorización y exploración de la dinámica de los sistemas protocelulares pone de manifiesto la necesidad de prestar una atención especial al desarrollo técnico de nuevos métodos o a la adaptación de las metodologías disponibles al ámbito protocelular. La formación de científicos experimentales en el terreno computacional, en torno al diseño y manejo de modelos informáticos de sistemas dinámicos podría ser un buen comienzo. Este tipo de formación no sólo permite modelar los experimentos

²¹ No así en los modelos "in-silico" que en el terreno dinámico son, de hecho, de gran valor. Una de las ventajas de los modelos "in-silico" sobre los modelos "in-vitro" radica, precisamente, en la posibilidad de rastrear la dinámica de la organización a través del análisis matemático de las simulaciones algorítmicas. La desventaja: la abstracción de los requisitos materiales y energéticos implícitos.

actuales o futuros sino que también puede ayudar a dar un giro epistemológico hacia un pensamiento más "procesual" a la hora de interpretar los resultados de tales experimentos. Por otro lado, el esfuerzo técnico debería estar dirigido a formar expertos que a partir de la nueva batería de técnicas analíticas disponibles (mencionadas en el capítulo 5) - microfluídica, secuenciadores de alto rendimiento, análisis combinatorio en micromatrices, evolución in-vitro, etc.- generen metodologías enfocadas al análisis dinámico de protocélulas. Por ejemplo, la microfluídica permite re-construir "laboratorios en miniatura" en los cuales llevar a cabo experimentos sin demasiada intervención externa. El análisis combinatorio resulta especialmente interesante para explorar la emergencia de funciones, permitiendo que una mezcla de componentes químicos que generen módulos interactivos (y de refuerzo mutuo) seleccione de forma autónoma aquella combinación que mejore el auto-mantenimiento de la organización.

4. ***Incorporación del control de la variabilidad.*** Los mecanismos de control de la variabilidad (replicación y registro) debieron ser implementadas antes o después en la evolución protocelular prebiótica. Por esta razón se debe incentivar la búsqueda de oligómeros auto-replicativos sencillos (que puedan originarse en un escenario prebiótico de químicas cooperativas) y capaces de co-evolucionar e integrarse en un sistema protocelular auto-producido. Este es uno de los procesos más complejos y también más importantes en el paso de un mundo químico protocelular a uno biológico (o "cuasi-biológico"). Algunos trabajos están tratando de encontrar un escenario químico protocelular donde poder incorporar integrantes para el control de la variabilidad de tipo ARN [Izgu et al. 2016]; sin embargo, el origen abiótico de esta compleja molécula y su sucesiva incorporación en sistemas protocelulares es controvertido. Los esfuerzos de la investigación empírica podrían centrarse en encontrar otro tipo de química molecular auto-replicativa más sencilla, capaz de co-evolucionar con la química de un sistema protocelular ya suficientemente integrado de manera que, en algún punto de la evolución prebiótica, las moléculas del sistema auto-replicativo, recíprocamente dependientes del resto de componentes funcionales, pudieran funcionar como una plantilla codificadora de algunos de estos, asegurando su re-producción y estableciendo una línea de base sobre la que crecer en complejidad. De nuevo, la química combinatoria junto con la posibilidad de realizar una evolución protocelular "in-vitro" parece una buena herramienta para probar, por ejemplo, diferentes combinaciones moleculares capaces de generar algún tipo de "relación codificante" basada en correlaciones y co-dependencias moleculares en un contexto compartimentado.

5. *Los paralelismos entre la fenomenología de los seres vivos y las químicas dinámicas complejas necesitan una reflexión más profunda.* Las posibilidades que ofrece el comportamiento colaborativo emergente de las mezclas químicas complejas tiene que ser estudiado en mayor detalle, sobre todo a través de un "filtro biológico" que permita investigar qué tipo de mezclas y qué tipo colaboraciones químicas son interesantes para aproximarse a un comportamiento dinámico complejo de tipo biológico. Para ello hará falta estudiar detalladamente las propuestas teóricas en torno a la fenomenología y organización de los seres vivos, en paralelo al estudio de propuestas experimentales y modelos de simulación específicamente desarrollados para su interpretación. El diseño de aproximaciones empíricas para contrastar nociones o suposiciones teóricas conceptuales puede ser altamente enriquecedor en este campo. Plantear experimentos sobre químicas sesgadas por nociones biológicas puede, a su vez, devolver valiosa información con la que completar los modelos teóricos, por ejemplo: las constricciones materiales impuestas por las moléculas del sistema o el comportamiento dependiente de contexto, no predecible teóricamente. Ambos, teoría y análisis empírico, deben ir de la mano y beneficiarse al máximo mutuamente.

6. *Estudio del concepto de identidad / individualidad en sistemas químicos-infra-biológicos y biológicos basado en organizaciones dinámicas.* El concepto de identidad biológica queda sugerido aquí como una forma reforzada y reproducible de la organización autónoma infra-biológica (basada en un entramado de propiedades que hacen de un sistema químico un individuo con funciones). Las características físico-químicas que definen el individuo y, paralelamente, sus funciones, están fundamentadas en la adquisición de una estructura protocelular auto-productiva. No obstante, sería interesante investigar otras posibilidades químicas que pudiesen interpretarse como propiedades de individualidad y función para, bien explorar otras vías posibles de adquisición de una identidad (infra-)biológica, o bien descartarlas. Los conceptos de individualidad y función en química son muy escurridizos; esto ha hecho que la perspectiva pluralista sea la más popularmente aceptada (ver capítulo 2). No obstante, en una química-dirigida-a-la-biología (o una química infra-biológica) podrían encontrarse propiedades sistémicas sobre las que fuera más fácil atribuir una identidad. Aunque su identificación no fuera tarea sencilla (pues deberíamos lidiar con una controversia similar a la encontrada en torno a la definición de identidad e individualidad en biología [di Frisco 2017]) este tipo de química infra-biológica cuenta con la ventaja de la simplicidad (composicional y formal) y la ausencia de una historia evolutiva (al menos en las etapas iniciales del proceso de biogénesis). La problemática a la que se enfrenta la búsqueda de una identidad en sistemas químicos infra-biológicos es, por tanto, conceptualmente nueva así como también lo es el tipo

de aproximación para explorar sus posibles soluciones. Su clarificación requiere de la investigación previa de las problemáticas 1-5 anteriores, para preparar el terreno con una metodología, un marco teórico y unos resultados experimentales robustos sobre los cuales trabajar en una interpretación satisfactoria de la forma organizativa resultante.

8.3. Problemas abiertos

En este ensayo se propone una vía de investigación particular basada en la búsqueda de un tipo de organización dinámica (organización autónoma) en un escenario molecular a caballo entre la química y la biología. La exploración, a partir de la química dinámica de sistemas, de entidades con el tipo de identidad *infra*-biológica planteada durante el capítulo 6 podría ayudar a desenmascarar parte del problema del fenómeno biológico y su origen, pero no todo. La adopción del marco teórico de la autonomía y la utilización de algunos de los conceptos desarrollados dentro del mismo, incluidos aquellos mencionados en este ensayo (identidad, individualidad, función,...) traen a la palestra problemáticas de mayor trascendencia filosófica. Aquí incluyo algunos interrogantes abiertos a futuras discusiones y análisis más profundos que hará falta cuestionarse si se pretende construir una teoría biológica más general y satisfactoria.

1. *Es la identidad un concepto extrapolable a escalas biológicas no-individuales?*

La definición de identidad biológica aquí planteada pretende hacer referencia a entidades con un tipo de organización dinámica característica como instrumento para su posible identificación en una mezcla química compleja. La definición incluye una fuerte idea de individuo: aunque ésta contemple la capacidad de transmitir la organización a otras generaciones, es la idea de unidad fisiológica la que prima en esta descripción de identidad biológica. Esto resulta útil a la hora de explicar las raíces químicas de tal organización: los sistemas químicos protocelulares portadores de esta identidad - en una versión más o menos débil - serán seleccionados durante un proceso evolutivo prebiótico, dada su robustez y durabilidad, para - en su versión genéticamente instruida y re-producible - dar lugar al origen de vida.

No obstante - en términos más amplios y fuera de este carácter instrumentalista - como se mencionó en el capítulo 6, la identidad biológica podría no formar parte únicamente del individuo fisiológico celular sino englobar propiedades que afectan a escalas temporales o espaciales mayores, como es el caso de las funciones trans-generacionales o los organismos multicelulares. ¿Cómo

proyectar el tipo de identidad biológica mínima explorado en este trabajo a escalas espacio-temporales que van más allá del individuo unicelular?

Las funciones trans-generacionales me sirvieron como ejemplo para enseñar que la escala temporal no tiene por qué generar un conflicto en la organización autónoma, según [Saborido et al. 2011 y Mossio & Moreno 2015]. La actividad de este tipo de funciones sigue siendo una contribución particular a la organización auto-mantenida, si ésta se observa a una escala temporal mayor. Lo mismo ocurre con las funciones en un ecosistema, cada una de las cuales actúa sobre la organización total conformada por el nicho ecológico en cuestión. El sistema poseedor de organización auto-mantenida, en estos casos, abarca diferentes generaciones y diferentes entidades individuales; su caracterización material resulta consecuentemente mucho más dificultosa, quedando definida de una forma más abstracta e incompleta. Esta forma inconclusa está patente en la dificultad que encontramos para definir las fronteras de este tipo de sistemas o para definir su carácter "organizacionalmente diferenciado" [Mossio et al 2009]. En el caso de las funciones inter-generacionales, el sistema al cual se hace referencia está, de alguna forma, incompleto, parte de sus rasgos ya no existen (pertenecen al pasado) y, por esto, se puede cuestionar la existencia de un cierre propiamente dicho. En el caso de los ecosistemas (o un sistema multicelular), los elementos que conforman el cierre causal no están tan claros y podríamos preguntarnos qué tipo de parcelamiento del mundo es necesario establecer para atribuir un cierre organizacional en estos sistemas. Por el contrario, la identidad biológica investigada en un modelo químico protocelular está fundamentada en una organización material determinada: entre otras cosas, muy eficaz a la hora de definir sus propias fronteras. La forma de extrapolar este tipo de identidad a aquellas otras de tipo no estrictamente celular supone un reto conceptual nada despreciable.

2. Redundancias funcionales. ¿Cómo llevar a cabo un análisis comparativo adecuado entre organismos vivos para obtener una caracterización mínima consistente?

Otro de los problemas que rodean la definición de una identidad biológica podría estar relacionado con las redundancias funcionales. Como ya explicábamos en el capítulo 5, 6, y en este mismo capítulo, la organización funcionalmente integrada mínima constituye una identidad "de tipo biológico" que progresivamente -a lo largo del proceso evolutivo- va creciendo en complejidad, haciendo que la organización se vuelva más perdurable, robusta, adaptativa y, en definitiva, capaz de auto-mantenerse a escalas temporales y espaciales mayores. Complicar el esquema organizativo trae consigo la emergencia de capas jerárquicas de actividad funcional actuando unas sobre otras de forma recíproca en base a la misma normatividad autónoma, haciendo de la actividad funcional a

menudo un hecho redundante, que incide sobre sí mismo para asegurar sus efectos y su estabilidad. Estas redundancias funcionales son causa y consecuencia del reforzamiento de la identidad biológica y podrían aparecer desde muy temprano en la evolución prebiótica: por ejemplo, se puede entender la adopción de un sistema genéticamente instruido como redundancia funcional para asegurar la re-producción (del esquema organizativo). A partir de ahí y, en los organismos actuales, las redundancias son tremendamente numerosas y diversas (podríamos encontrarlas a escala celular, multicelular, ecológica y hasta social).

La identidad biológica será entonces la forma de organización dinámica fundamental, común a todos los individuos que comparásemos en una población, aunque cada uno de ellos pudiera tener múltiples y diversas redundancias funcionales. La diferenciación de funciones, cuando el entramado es complejo, supone ya un problema considerable (como destacábamos en el capítulo 3). La identificación de capas de complejidad no es fácil de establecer y, diferenciar partes del sistema con contribuciones concretas aún lo es menos en un sistema lleno de efectos causales de grupo y cooperativos. Si dos partes distintas del sistema tienen la misma contribución, ¿podemos diferenciar en ellas funciones? y, si es así, ¿se trata ésta de la misma función?

Entonces el problema es: ¿cómo identificar estas redundancias y cómo librarnos de ellas para dar con el esquema organizativo mínimo (la identidad biológica en sentido más estricto) si éste está fundamentado en el reforzamiento (y la consecuente jerarquía redundante) de un complejo entramado funcional ?

3. Integración del esquema organizacional en la teoría evolutiva. ¿Cómo afecta la perspectiva organizacional al enfrentamiento clásico entre esencialismo y pensamiento poblacional resaltado por Ernst Mayr?

Siendo éste un problema general de la perspectiva organizacional, es importante tenerlo en cuenta desde un enfoque específico como el propuesto en este ensayo (como se ha venido repitiendo: a través de la fabricación de protocélulas funcionalmente integradas que intenta integrar la dimensión fisiológica y la dimensión evolutiva).

Por un lado encontramos el tipo de dificultad asociado al primer punto de esta sección, que concierne por ejemplo a la atribución de funciones trans-generacionales como contribuciones al esquema de auto-mantenimiento del cierre organizacional de un sistema histórico. Pero, a partir de esto, se nos plantean numerosas preguntas adicionales. ¿Cómo diferenciar un cierre causal en una serie de relaciones históricas en las cuales parte del "sistema" no existe? ¿Podemos llamar a esto un

cierre? ¿Podemos atribuir constricciones y funciones (en el sentido organizacional) a un sistema de este tipo? Incluso si aceptáramos que un linaje compuesto por los organismos actuales y pasados constituye un cierre organizacional, ¿tendríamos que incluir también los organismos futuros de ese linaje? ¿Cómo establecer un límite de un sistema que aún no existe? ¿Debemos considerar las funciones trans-generacionales como otro orden de funciones, digamos, funciones evolutivas? ¿Qué relación tendrían estas con las funciones del desarrollo?

Por otro lado, la perspectiva organizacional podría contribuir de una forma peculiar e interesante al debate iniciado por Ernst Mayr con su definición de "pensamiento poblacional" [1959] en oposición al "pensamiento tipológico". El pensamiento esencialista o tipológico trata de encontrar propiedades *esenciales*, compartidas por todos los miembros de una clase o *tipo* que, además, diferencia esta clase de otras clases. La esencia será *real* en el sentido de que será un mecanismo causal que actúe sobre cada miembro de la clase y lo haga ser lo que es. En el pensamiento tipológico tradicional, la clase es definida de forma reduccionista en el sentido de que queda caracterizada estrictamente por las partes que pertenecen a ella (definición constitutiva). Un ejemplo clásico de esencialismo -no sin controversia, como ya mencionaba en el capítulo 2- es la tabla química periódica.

En el pensamiento poblacional, los tipos son únicamente promedios (abstracciones) y únicamente la *variación* es real. La variación es uno de los puntos centrales del debate clásico entre esencialistas y poblacionistas ya que, históricamente, el esencialismo ha considerado la variación como un error, una desviación de la constitución de la clase (aunque, como destaca Sober [1980], se han encontrado formas de explicarla e integrarla en la perspectiva). Los defensores de un triunfo del pensamiento poblacional sobre el pensamiento tipológico defienden que el primero emancipó a la Biología de la necesidad de contar con definiciones constitutivas de las clases, eliminando la necesidad de descubrir la esencia de éstas. De esta forma, subraya Sober [1980], "en lugar de buscar una realidad que *subyace* a la diversidad (esencialista), el poblacionista puede postular una realidad *sostenida* por la diversidad", es decir, una realidad que parece más acorde a la teoría evolutiva.

Este debate podría encontrar un punto de conciliación en la perspectiva organizacional de la teoría de la autonomía biológica. Por un lado, los requisitos exigidos por la autonomía (cierre causal organizacional regulado y agente) podría parecer que sitúan esta teoría dentro de un pensamiento tipológico, incluyendo el aspecto reduccionista-constitutivo del mismo: los sistemas vivos son aquellos en los cuales se cumple un tipo determinado de organización causal por parte de sus componentes. Por el otro, el propio tipo de organización causal característico de la autonomía, que se define a sí mismo y no únicamente a merced de sus partes (concepción fuertemente anti-

reduccionista) rompe con el problema de la definición constitutiva que Sober plantea como solventado por pensamiento poblacional; la vida se identifica por su *tipo de organización* pero ésta no está determinada únicamente por su forma constitutiva sino también por su forma causal-procesual (es decir, por una compleja dinámica auto-productiva y auto-regulativa). Consecuentemente, su realidad cabe dentro de un tipo distinto de explicación, en la cual el problema de la variación dentro de cada clase queda sobrepasado por las diferentes formas que puede adoptar una misma organización causal (la organización autónoma).

Desde la perspectiva organizacional de la autonomía biológica, la vida se define como una "red compleja de agentes autónomos auto-productivos cuya organización básica es instruida por registros materiales generados en un proceso histórico evolutivo abierto dentro del cual la red colectiva evoluciona" [Ruiz-Mirazo, Peretó & Moreno 2010]. El proceso evolutivo abierto no puede ocurrir si no es en un contexto de sistemas autónomos, al igual que el mantenimiento a largo plazo de un sistema autónomo depende del hecho de estar inmerso en un proceso evolutivo abierto [Ruiz-Mirazo et al. 2008] por lo que, en este caso -y al contrario de lo que se espera de un pensamiento en cierta forma tipológico- el tipo de organización autónoma *subyace* a la diversidad, *al tiempo* que es *sostenido* por esa diversidad. Como ya resaltan en [Ruiz-Mirazo et al. 2010], la *integración* de las "causas próximas" (fisiológicas-organizativas) y las "causas últimas" (histórico-evolutivas), establecidas por Mayr, siempre que se entiendan los cambios evolutivos (al menos los principales, las "Major Transitions") como cambios en el tipo de organización, podría ser la clave para romper con este otro enfrentamiento y encontrar conexiones entre las dimensiones fisiológica y evolutiva de los seres vivos.

Estudiar el origen de la vida y las transiciones prebióticas fundamentales es una manera (quién sabe si la única manera) de comprender cómo la vida fue posteriormente capaz de sufrir otras transiciones evolutivas fundamentales que nos han llevado hasta hoy (y hasta este punto final).

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de esta tesis son las siguientes:

1. **La clarificación de algunos conceptos en biología puede ser realizada a partir de un programa de naturalización basado en la búsqueda de las raíces físico-químicas de tales conceptos.** La utilización de determinados conceptos en biología, como aquellos de *individualidad* y *función*, u otros relacionados, como los de autonomía o agencia, se ha llevado a cabo históricamente mediante una extrapolación de su uso en otras disciplinas (ciencias sociales, política). Su *naturalización* permite establecerlas como nociones genuinamente biológicas y dotarlas de un auténtico poder explicativo para responder a cuestiones en Biología. La búsqueda de las raíces materiales, físico-químicas y fenomenológicas de estos conceptos en un escenario prebiótico resulta una buena forma de desarrollar dicho programa de naturalización.
2. **La Química de Sistemas - empleada bajo el marco teórico de la Autonomía Biológica - proporciona en un escenario empírico ideal para explorar el proceso de biogénesis.** La teoría de la autonomía puede ser utilizada como "filtro biológico" que permita seleccionar las dinámicas de aquellos sistemas químicos con posibilidades o potencial de transformarse en biológicos. Esta nueva química-de-tipo-biológico - basada en sistemas protocelulares auto-productivos que contengan mezclas químicas auto-ensambladas y auto-organizativas - abre un campo de investigación muy poco explorado hasta la fecha que podría guardar las claves del origen y la caracterización del fenómeno biológico.
3. **El enfoque genealógico es una buena herramienta para estudiar la organización biológica en sus diferentes capas de complejidad y permite establecer un esquema de transiciones evolutivas prebióticas principales.** La complejidad intrínseca a la organización biológica complica en gran manera su caracterización, teórica y empíricamente. El enfoque genealógico,

basado en la hipótesis de que las diferentes capas de complejidad de dicha organización fueron adquiridas progresivamente durante el proceso de origen de la vida, permite hacer una simplificación del problema. Además, la propuesta realizada en este trabajo sobre una serie de transiciones prebióticas principales permite estudiar los cambios más importantes a los que se sometería tal organización, planteados como una re-estructuración de propiedades sobre un mismo esquema de identidad *infra*-biológica en el que las nociones de función e individualidad van de la mano.

4. **La identidad biológica y los conceptos que la integran (en particular individualidad y función) se erigen sobre una estructura organizativa protocelular que sienta las bases para la emergencia de una dimensión histórico-evolutiva desde muy temprano en el proceso de biogénesis.** Las interacciones sistémicas que, según se ha propuesto en esta tesis, deben establecerse entre los procesos químicos que estructuran el esquema organizativo *infra*-biológico de las primeras entidades protocelulares, hacen factible la apertura de un espacio evolutivo pre-Darwiniano de competición/selección basado en la cohesión, estabilidad y robustez fenotípica de tales interacciones. La re-estructuración funcional de esas arquitecturas organizativas prebióticas a lo largo del proceso de origen de la vida, en etapas de progresiva complejidad (desarrollo de la protocelularidad hacia la celularidad), es precisamente lo que permite, mediante el desacoplamiento fenotipo-genotipo entre sus componentes (vía establecimiento de un código genético), la emergencia de individuos con capacidades evolutivas abiertas.

5. **La aproximación al problema de la definición de conceptos en biología mejora desde un enfoque transdisciplinar que incluya reflexión filosófica, modelos teóricos y experimentación empírica.** Este ensayo es una pequeña contribución a la modalidad epistemológica propuesta (que podría ser descrita como “filosofía *para* la ciencia”) en la cual la experimentación en el laboratorio, el modelado teórico por ordenador y la reflexión filosófica se supervisan y enriquecen entre sí. El caso-estudio experimental de funcionalización de una membrana protocelular lipo-peptídica, basado en un modelo “in-silico” previo, inspirado a su vez en la teoría de la autonomía biológica, sirve aquí para ejemplificar la fertilidad de esta propuesta y animar tanto a investigadores experimentales como teóricos a aunar esfuerzos para encarar un problema tan complejo como el de sentar las bases epistemológicas sobre las que edificar una teoría general de la biología.

Apéndice

ARTÍCULOS PUBLICADOS

- (1) Murillo-Sánchez, S. and Ruiz-Mirazo, K. (2016) 'La biología sintética como desafío para comprender la autonomía de lo vivo', *Isegoría*, (55), p. 551. DOI: [10.3989/isegoria.2016.055.08](https://doi.org/10.3989/isegoria.2016.055.08)
- (2) Murillo-Sánchez, S., Beaufils, D., González Mañas, J. M., Pascal, R. and Ruiz-Mirazo, K. (2016) 'Fatty acids' double role in the prebiotic formation of a hydrophobic dipeptide', *Chem. Sci.*, 7(5), pp. 3406-3413. DOI: [10.1039/c5sc04796j](https://doi.org/10.1039/c5sc04796j)
 - El material suplementario (SI) puede ser encontrado [online](#)

ARTÍCULOS EN PRENSA

- (3) Shirt-Ediss, B.; Murillo-Sánchez, S. and Ruiz-Mirazo, K. (2017) 'Framing major prebiotic transitions as stages of protocell development: three challenges for origins-of-life research', *Beilstein Journal of Organic Chemistry* (en revisión)

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 Attribution* (CC-by) España 3.0

[Recibido: febrero 2016 / Aceptado: septiembre 2016]

551

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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.

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-químicos 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

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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.

En cambio, la química proporciona un mundo de posibilidades dinámicas e interactivas mucho más rico. Al movimiento más o menos controlado/construido 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).

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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]). Bissette 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).

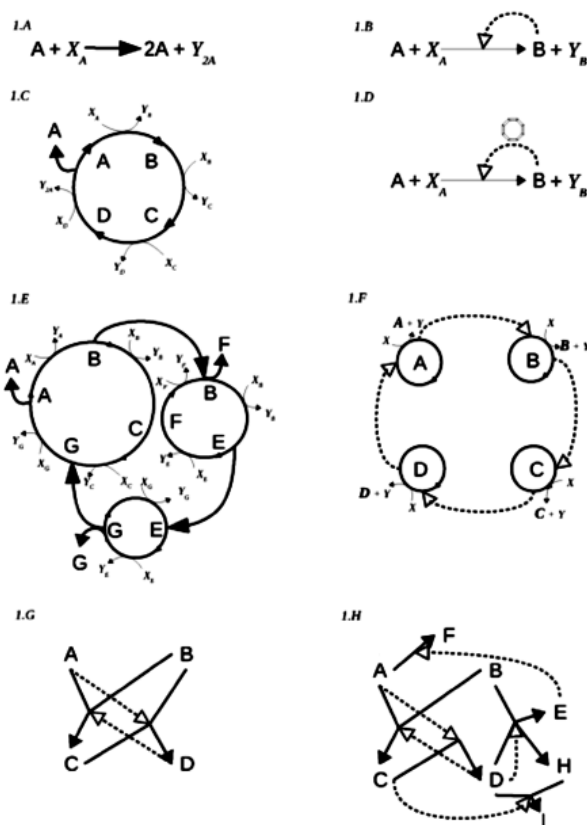
Los sistemas autocatalíticos químicos que más atención han suscitado en el campo de origen de vida, además del clásico ciclo de la formosa (uno de los más plausibles desde un punto de vista prebiótico [Szathmáry et al. 2005]), han sido aquellos en los que se ponen en juego biopolímeros replicativos en 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 ($A+B \rightarrow T$) sea un proceso irreversible y que el complejo resultante (una vez efectuada la acción catalítica) se disocie fácilmente ($2T \rightarrow T+T$). 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 —propriadamente 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

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.

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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

³La 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

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...).

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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 ‘protecelulares’ 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-constituída. Sistemas físico-químicos que comienzan a des-

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 hiper-cíclica, 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-

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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-

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’.

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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 autopoietica [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].

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

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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.

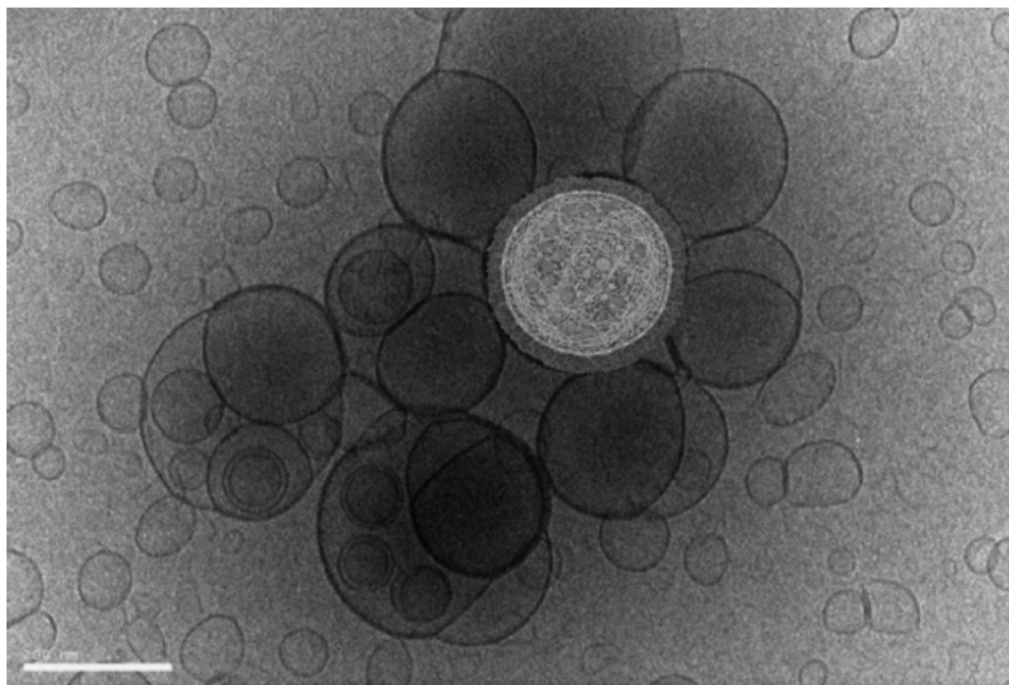


Fig. 2. Contraste entre una imagen de microscopía electrónica (en blanco y negro — tomada en el CIC-Biogune) de vesículas lipídicas sencillas, prebióticamente plausibles, y la representación artística de uno de los procariontes más simples que conocemos (*Mycoplasma mycoides* —por cortesía de D. Goodsell). Las escalas no son necesariamente congruentes, pero tampoco distan mucho de la realidad (existen especies de mycoplasma de tan sólo $0.3\mu\text{m}$ 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-

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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.

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

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

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 galeras: 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

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

- 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, *Angew. 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

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

- 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

Sara Murillo-Sánchez y Kepa Ruiz-Mirazo

- 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

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

- 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



Cite this: DOI: 10.1039/c5sc04796j

Fatty acids' double role in the prebiotic formation of a hydrophobic dipeptide†

 Sara Murillo-Sánchez,^a Damien Beaufile,^b Juan Manuel González Mañas,^c Robert Pascal^{*b} and Kepa Ruiz-Mirazo^{*ad}

In search of a connection between prebiotic peptide chemistry and lipid compartments, the reaction of a 5(4*H*)-oxazolone with leucinamide was extensively explored under buffered aqueous conditions, where diverse amphiphiles and surfactants could form supramolecular assemblies. Significant increases in yield and changes in stereoselectivity were observed when fatty acids exceeded their critical aggregation concentration, self-assembling into vesicles in particular. This effect does not take place below the fatty acid solubility limit, or when other anionic amphiphiles/surfactants are used. Data from fluorimetric and Langmuir trough assays, complementary to the main HPLC results reported here, demonstrate that the dipeptide product co-localizes with fatty acid bilayers and monolayers. Additional experiments in organic solvents suggest that acid–base catalysis operates at the water–aggregate interface, linked to the continuous proton exchange dynamics that fatty acids undergo at pH values around their effective pK_a . These simple amphiphiles could therefore play a dual role as enhancers of peptide chemistry under prebiotic conditions, providing soft and hydrophobic organic domains through self-assembly and actively inducing catalysis at their interface with the aqueous environment. Our results support a systems chemistry approach to life's origin.

 Received 11th December 2015
Accepted 9th February 2016

DOI: 10.1039/c5sc04796j

www.rsc.org/chemicalscience

Introduction

Chemistry today is up to the challenge of working with increasingly diverse combinations of molecules and supramolecular structures, both under quasi-equilibrium and non-equilibrium conditions, providing new means to explain their complex dynamic behaviour. The field of 'systems chemistry' has been launched precisely to address this challenge^{1,2} with strong implications for studies in connection with biology and, in particular, with research on the origins of life.³ In this context, the idea that the chemical roots of biological phenomena cannot be found in the properties of a single type of molecule (often assumed to be a biopolymer, like RNA), but must be approached in a more encompassing way that includes reaction networks made of different bio-molecular precursors, is gaining momentum. This novel view has recently received

further support from evidence that there could be a common prebiotic chemistry underlying the synthesis of a rich variety of these precursors.⁴ The obvious next step would be to determine the way in which some of these initial biomonomers engage in interactions that contribute to producing and maintaining higher levels of molecular complexity and diversity, as we actually observe in biology. Here we report experimental results demonstrating that a primitive synergy of this kind could occur between two such types of molecules, namely those whose prebiotic relevance is better grounded: amino acids, as peptide and protein precursors,^{5,6} and fatty acids, as lipid precursors.^{7,8}

Previous studies have shown that the activation of amino acid monomers or peptides can lead to their oligomerization in aqueous solution.^{9,10} Peptide oligomers are formed by the stepwise polymerization of α -amino acid *N*-carboxyanhydrides (NCAs), as prebiotically plausible activated monomers. In addition to this pathway, the activation of the C-terminus in peptides or acylated amino acids has been shown to proceed through the formation of 5(4*H*)-oxazolones from reagents compatible with early Earth conditions.¹¹ In turn, fatty acids, as single-chain amphiphilic precursors of the standard (but remarkably more complex) phospholipids found in bacterial and eukaryote biomembranes, were long ago shown to self-assemble into vesicles at intermediate pH values.^{12,13} This aggregation state is favoured due to the fact that both the neutral and anionic forms of the fatty acid are present in similar proportions (at $pH \sim pK_a$) and tend to establish H-bonds

^aBiophysics Unit (CSIC, UPV/EHU), University of the Basque Country, Spain. E-mail: kepa.ruiz-mirazo@ehu.eus

^bInstitut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM, UMR 5247, CNRS/Université de Montpellier/ENSCM), Montpellier, France. E-mail: robert.pascal@umontpellier.fr

^cDepartment of Biochemistry and Molecular Biology, University of the Basque Country, Spain

^dDepartment of Logic and Philosophy of Science, University of the Basque Country, Spain

† Electronic supplementary information (ESI) available: Exhaustive data on the outcome of reactions, the aggregation state of the surfactants and the affinity of the dipeptide product for the aggregates. See DOI: 10.1039/c5sc04796j



between them, leading to molecular pairs with cylindrical geometry (see Fig. S1, in the ESI†), which spontaneously assemble into flat bilayers. In recent years, an increasing number of research groups have explored the properties of these supramolecular structures, given their potential as protocellular model systems.^{14–22}

However, relatively little effort has been devoted to putting together these two prebiotic systems. Although the idea of combining peptide chemistry with lipid aggregates is not new, it has been implemented mostly in making use of standard liposomes (*i.e.*, vesicles made of phospholipids). For instance, mixing peptides with lipid aggregates was advocated to improve the stability and functionality of the latter.²³ In addition, the polymerization of aminoacyl adenylates into peptides was claimed to yield increased chain lengths in the presence of vesicles,²⁴ even though the mechanism does not correspond to a direct process, but actually involves a prior conversion into NCAs.^{25,26} Luisi's group also performed a series of investigations demonstrating the role of phospholipid compartments in the efficiency and stereoselectivity of peptide polymerization.^{27–30} In an interesting step forward, liposomes made of cationic surfactants were later shown to favour the oligomerization of encapsulated anionic amino acid monomers.³¹ And, more recently, the formation of tryptophan based dipeptides in the aqueous cavity of phosphatidylcholine vesicles has been reported.³²

Much less is found in the literature regarding the use of fatty acid vesicles to perform similar experiments. As an exception, Matsuno's lab performed some experiments in which they reported the oligomerization of encapsulated glycine, not only in phospholipids but also in fatty acid vesicle compartments.³³ More directly relevant to our approach, a couple of years ago, Szostak's group managed to carry out, within oleic acid vesicles and with the catalytic assistance of a pre-encapsulated dipeptide (Ser–His), the synthesis of a strongly hydrophobic peptide, which spontaneously joined the membrane and, thereby, contributed to its growth.³⁴ In this article we point towards a similar idea but approach it from a complementary angle. We show how a prototypical prebiotic synthesis of a hydrophobic dipeptide (starting from precursors expected to be protected by lipophilic environments)³⁵ is significantly enhanced, without the aid of a soluble catalyst, just in the presence of vesicles made of fatty acids. This effect, which relies on the specific fatty acid nature of the compartments, is also partially detected when reactants are put in organic solvents (indicative of direct chemical catalysis by the fatty acids). Thus, our results give fatty acids wider significance as prebiotic compounds than has been commonly assumed in the field of the origins of life.

Materials and methods

Chemicals and general information

N-Ethyl-*N'*-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide·HCl (EDC), *H*-*L*-Leu-NH₂, *Ac*-*L*-Tyr(Me)-OH and *Boc*-*L*-Tyr(Me)-OH were purchased from Bachem. Piperazine-*N,N'*-bis(3-propanesulfonic acid) (PIPPS) was purchased from CalbioChem. 1,2-Dioleoyl-*sn*-

glycero-phosphate (monosodium salt) was purchased from Avanti Polar Lipids. The rest of the reagents and solvents were purchased from Sigma Aldrich. All compounds were used without further purification. In all experiments pH was monitored using a Thermo Orion 3-STAR pH-meter with a VWR electrode. NMR spectra in DMSO-*d*₆ solution were recorded on a Bruker Avance 300 spectrometer at 300 MHz for ¹H. HPLC analysis (Method A) was carried out on a Waters Alliance system including a E2695 separation module and a 2998 photodiode array detector; column BDS Hypersil C18 (3 μm, 2.1 × 50 mm). The elution method used was: flow 0.2 mL min⁻¹, solvent A 0.1% TFA in H₂O, solvent B 0.1% TFA in CH₃CN, gradient 90% B to 70% over 25 min; detection 273 nm. HPLC-ESI-MS analysis was carried out (Method B) using a Waters Synapt G2-S system connected to Waters Acquity UPLC H-Class apparatus equipped with an Acquity UPLC BEH C18, 1.7 μm 2.1 × 50 mm column; the gradient of solvent A was 0.01% formic acid in H₂O and solvent B: 0.01% formic acid in acetonitrile; flow rate: 0.5 mL min⁻¹; linear gradient 0–100% B over 3 min.

Experimental procedures

4-Methoxybenzyl-2-methyl-5(4*H*)-oxazolone, 2a. The oxazolone was prepared in a racemic form by following a published protocol.³⁶ *Ac*-*L*-Tyr(Me)-OH (500 mg) was dissolved in CH₂Cl₂ (20 mL) under magnetic stirring, at 0 °C. When everything was dissolved, 445 mg of EDC was added and the mixture was stirred for 1 h at 0 °C. The reaction mixture was then diluted with 30 mL of CH₂Cl₂, and washed successively with water (30 mL), saturated aqueous NaHCO₃ (30 mL, twice), and saturated NaCl (30 mL, twice), then dried with Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The solid product crystallized upon storage at –20 °C for 24 hours.

4-Isobutyl-2-methyl-5(4*H*)-oxazolone, 2b. The oxazolone was prepared from *Ac*-*D,L*-Leu-OH using a similar protocol³⁷ and exhibited the 2.0 Hz long range coupling constant already described in the literature between the 2-methyl group and the α-proton.³⁸ ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ_H ppm: 4.34 (m, 1H); 2.15 (d, ⁵*J* = 2.0 Hz, 3H); 1.84 (m, 1H); 1.40–1.58 (m, 2H); 0.93 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

Ac-Tyr(Me)-Leu-NH₂ dipeptides. The dipeptide diastereomers were prepared from either *Boc*-*D*-Tyr(Me)-OH or *Boc*-*L*-Tyr(Me)-OH. A mixture of the selected *Boc*-protected derivative, hydroxybenzotriazole hydrate (HOBt, 1 eq.) and CH₂Cl₂ (10 mL mmol⁻¹) was stirred at 0 °C for 10 min. Then 1,3-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 1 eq.) was introduced and stirring was continued for 15 min at 0 °C. The solid urea by-product was removed by filtration, twice washed with CH₂Cl₂ and the combined filtrates were concentrated under vacuum without heating. The oily residue was diluted in DMF (5 mL mmol⁻¹), *H*-*L*-Leu-NH₂ hydrochloride (1 eq.) was added with *N,N*-diisopropylethylamine (DIEA, 2 eq.) and the mixture was stirred overnight at r.t. The dipeptide product was precipitated upon addition of 1 M Na₂CO₃ solution and collected by filtration, washed with water and dried under vacuum. The *Boc* protecting group was removed using 90 : 10 v/v TFA/water reagent at r.t. for 30 min. The mixture was concentrated under reduced pressure



and the product was precipitated by the addition of cold ethyl ether, filtered off, washed with ethyl ether and dried under vacuum. Acetylation was performed with acetic anhydride (1.5 eq.) and DIEA (2 eq.) in CH_2Cl_2 for 5 h at 0°C . The mixture was diluted with water and extracted with ethyl acetate. The organic layers were washed with saturated Na_2CO_3 solution, then with 1 M KHSO_4 and saturated NaCl and finally dried over anhydrous Na_2SO_4 . The solvent was removed under reduced pressure to yield the product as a white solid.

Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6), δ ppm: 8.05 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.92 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.15–7.18 (m, 3H), 6.99 (s, 1H), 6.82 (d, 2H, $J = 4.8$ Hz), 4.43 (m, 1H), 4.20 (q, 1H, $J = 7.5$ Hz), 3.71 (s, 3H), 2.93 (dd, 1H, $J = 13.8$ Hz, $J = 4.5$ Hz), 2.66 (dd, 1H, $J = 9.9$ Hz, $J = 13.8$ Hz), 1.76 (s, 3H), 1.42–1.58 (m, 3H), 0.88 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.83 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO-d_6), δ ppm: 174.4, 171.6, 169.7, 158.2, 130.6, 130.3, 113.9, 55.4, 54.7, 51.3, 41.4, 36.9, 24.6, 23.5, 22.9, 22.1; HRMS (ESI⁺): calcd: 350.2080 for $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_4$; found: 350.2079.

Ac-D-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6), δ ppm: 8.23 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz), 8.16 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.28 (s, 1H), 7.13 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz), 6.99 (s, 1H), 6.80 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 4.37 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz), 4.05 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.34 (m, 2H), 1.09 (m, 1H), 1.03 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz), 0.83 (d, 2H, $J = 6.3$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO-d_6), δ ppm: 174.7, 171.7, 170.1, 158.3, 130.6, 129.6, 113.9, 55.6, 55.3, 51.1, 37.1, 24.2, 23.6, 22.8, 21.6; HRMS (ESI⁺): calcd: 350.2080 for $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_4$; found: 350.2078.†

Preparation of vesicles/supramolecular aggregates. A poly-disperse suspension of supramolecular aggregates (typically bilayer vesicles, given the pH of the sample) was obtained by simply dissolving the amphiphile/surfactant in aqueous solution, gently stirring and sonicating for 10 min. A concentrated stock solution of the amphiphile/surfactant was prepared in water and adjusted to the pH of the experiment with a 1 M solution of NaOH. In parallel, a concentrated stock solution of the amino acid reactant was prepared in a buffer at the desired pH. The type of buffer used depended on the experimental pH: 2-(*N*-morpholino)ethanesulphonic acid (MES) buffer was used for acidic pH (6.5); 3-(*N*-morpholino)propane sulphonic acid (MOPS) buffer was used for intermediate pHs (7.2–8) and PIPPS buffer for basic pH (9). These two stock solutions were then mixed in convenient proportions to obtain the different concentrations analyzed. The whole process was carried out at the melting temperature (T_m) of the amphiphile/surfactant.

CVC determination. CVC values for decanoic acid were measured using a published protocol.^{16,18,39} A serial dilution of vesicle samples was prepared following the general protocol, starting from a concentrated amphiphile solution of decanoic acid. Merocyanine 570 (hydrophobic dye, 10 μM) was added to every sample after the vesicles were formed and just before spectrophotometric analysis was carried out (using a UV-Vis spectrophotometer Perkin Elmer Lambda 20). Wavelength scanning was performed between 350 and 650 nm, and the CVC was determined as the concentration of amphiphile at which the absorbance ratio between the 570 nm and 530 nm wavelengths increased above the baseline (~ 0.2).

Peptide-forming reactions

Experiments in aqueous media with fatty acids. After the formation of vesicles in the presence of a nucleophilic reagent (5 mM H-L-Leu-NH₂, H-L-Ala-NH₂, H-Gly-NH₂, or H-L-Leu-OH), a 20 mM stock solution of the oxazolone (50 μL) in acetonitrile was added to every sample to give a 1 mM solution and the medium was allowed to react for 2 h at room temperature. Fatty acids were then removed by extraction from the reaction medium with hexane before HPLC analysis. To this aim, samples were acidified with formic acid and then the surfactant was extracted twice with hexane (1 mL). The mixture was gently stirred with a vortex and the upper layer was removed with a pipette. Residual hexane was removed under reduced pressure before analysis by HPLC (Method A).

Experiments in aqueous media with 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphate (DOPA). DOPA containing reaction media were prepared from a 20 mM stock solution of DOPA to yield a 5 mM H-L-Leu-NH₂ solution in a 100 mM MOPS buffer at pH 8. After reaction of the oxazolone (from a 20 mM stock solution in acetonitrile), attempts to remove the surfactant were made by adding tributylammonium bromide and HCl to acidify the samples. Extraction was done following the general protocol, though an extended period was needed for decantation.

Experiments in aqueous media with sodium dodecyl sulfate (SDS). A 100 mM stock solution of SDS in water was mixed with a stock solution of 10 mM H-Leu-NH₂ in 200 mM PIPPS buffer at pH 9. HPLC analysis was performed after dilution of the samples to an SDS concentration below the CMC (10 mM). A similar protocol was used in the case of dodecyl trimethyl ammonium bromide (DoTAB).

Experiments in organic solvents ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$). CH_2Cl_2 and CH_3CN were used in the case of acetic acid (AcA) and decanoic acid (DA), and only CH_3CN in the case of *N*-acetyl-D,L-leucine (Ac-D,L-Leu-OH) and *N*-acetyl-L-leucine (Ac-L-Leu-OH) due to the precipitation of solids in CH_2Cl_2 . After the reaction, 6 mM HCl (1 mL) was added to 1 mL samples withdrawn from the reaction medium, as well as 10 mL of hexane. The mixture was then gently stirred with a vortex and the upper layer was removed with a pipette. Hexane addition and extraction was repeated. Finally, residual hexane was removed by evaporation under reduced pressure.

Experiment with Ac-Leu-oxazolone 2b. A 1 mM Ac-L-Tyr(Me)-OH and 5 mM H-L-Leu-NH₂ solution was prepared in CH_3CN (5 mL). The reaction was initiated by the addition of Ac-Leu oxazolone (2 mM final concentration). 1 mL samples of the reaction medium were withdrawn, acidified with 6 mM HCl (1 mL) and extracted once with hexane before measuring the products of any possible reaction of Ac-Tyr(Me)-OH by HPLC (Method A) and detection at 273 nm. This procedure was repeated after one hour, three days and one week (Fig. S4†) allowing the identification of unchanged Ac-Tyr(Me)-OH (retention time 8.7 min) and Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ (retention time 14.3 min) as a single L,L stereoisomer. The solution was also analyzed using HPLC-MS confirming the identification of the products as the two peaks corresponding to the isomers of Ac-Leu-Leu-NH₂ (m/z 308.20 [$\text{M} + \text{Na}^+$], retention times 1.91 and



Chemical Science

2.01 min; Method B) and that of Ac-Tyr(Me)-Leu-NH₂ (*m/z* 372.19 [M + Na⁺], retention time 1.99 min).

Partition of dipeptide between solution and surfactant

The Langmuir–Blodgett monolayer technique (Kibron Micro-Trough XS) was used to elucidate the interactions between the Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ dipeptide and the lipid. A monolayer of fatty acid was spread on a well with 1 mL of buffer at the corresponding pH registering an initial stabilized pressure (Π_0). 10 μ L of a 5 mM Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ dipeptide stock solution in MeOH was then added from the water face. After MeOH evaporation, any surface pressure increase resulted from a migration of the hydrophobic solute to the monolayer, stabilizing the signal at a new pressure (Π_1). The difference between these two surface pressures ($\Delta\Pi$) was recorded and compared to the Π_0 in every individual experiment.

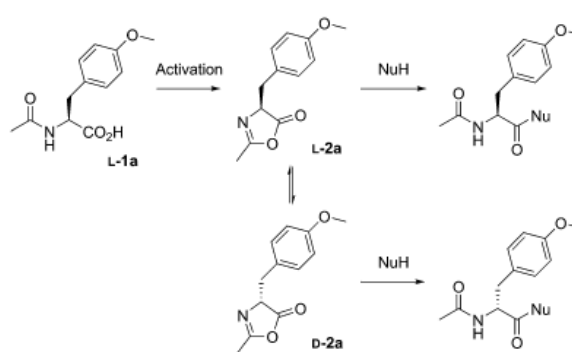
Binding of Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ to the vesicles

This experimental assay is based on the quenching action of acrylamide, which decreases the intrinsic fluorescence of Tyr residues as a function of its local concentration. Acrylamide was taken from a 6.25 M stock solution and added in 4 μ L portions (5 additions, from 0 mM of acrylamide to 250 mM in the final volume) to the control and 1 mL samples containing vesicles (which were previously prepared, following the general procedure, in the presence of 1 μ M Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ dipeptide). Fluorescence was monitored at a single wavelength (ex: 273 nm and em: 340 nm) after every addition. In parallel, a dilution control was carried out, adding the same volume of aqueous buffer instead of acrylamide solution. The fluorescence obtained as a result of the addition of only buffer (F_0) was divided by the fluorescence obtained as a result of the addition of acrylamide (F) and compared against the concentration values of acrylamide added.

Results

Experiments in aqueous media

We extensively studied the outcome of reactions taking place when a racemic mixture of hydrophobic 5(4*H*)-oxazolone enantiomers (L-2a and D-2a), derived from Ac-L-Tyr(Me)-OH L-1a (Scheme 1), was put in contact with H-L-Leu-NH₂ in buffered media. Owing to its chiral instability, the 5(4*H*)-oxazolones undergo a kinetically stereoselective reaction with the nucleophiles, which have a fixed configuration,³⁶ meaning that the timescale of the epimerization process is similar to or faster than the subsequent reaction and that the configuration of products is kinetically controlled. Reactions producing only peptide diastereomers and racemic Ac-Tyr(Me)-OH as a result of hydrolysis were carried out under different pH conditions and in the presence of different amounts of amphiphiles and surfactants. For each case, both the total dipeptide yield (relative to the amount of starting material) and the ratio of diastereomers were determined. Fig. 1 shows the characteristic results obtained when carboxylic acids are employed (in this case: decanoic acid (DA) at pH 7.2, but see Fig. 2 and Table S1 in



Scheme 1 The reactions performed in this work from racemic mixtures of the 5(4*H*)-oxazolone enantiomers (L-2a and D-2a) with nucleophiles (NuH = H-L-Leu-NH₂, H-L-Ala-NH₂, H-Gly-NH₂, or H-L-Leu-OH) in aqueous media, leading to the corresponding dipeptides as mixtures of enantiomers (Ac-L-Tyr(Me)-Gly-NH₂ and Ac-D-Tyr(Me)-Gly-NH₂) or diastereomers (Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ and Ac-D-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂, Ac-L-Tyr(Me)-L-Ala-NH₂ and Ac-D-Tyr(Me)-L-Ala-NH₂, or Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-OH and Ac-D-Tyr(Me)-L-Leu-OH). Although prepared from chiral Ac-L-Tyr(Me)-OH (L-1a), the oxazolone was present in a racemic state due to its chiral instability.³⁶

the ESI† for further data). Typically, there is a 2 to 3-fold increase in the overall yield of dipeptide, together with a reversion in its diastereomeric ratio (from a preference for homo-chiral forms, in solution,³⁶ toward more heterochiral ones).

As is apparent from Fig. 1, this double effect only happens provided that the concentration of fatty acid is above its critical aggregation concentration (CAC) value (the critical vesicular concentration, CVC, in this case), which was measured independently (Fig. S2 in the ESI†), and reaches a plateau soon after that critical value is crossed. Those two independent observations suggest that the reactions in which hydrophobic substrates are involved take place in a different environment, whenever fatty acid aggregates offer this possibility. The double effect may well depend on the fact that the nucleophilic reaction

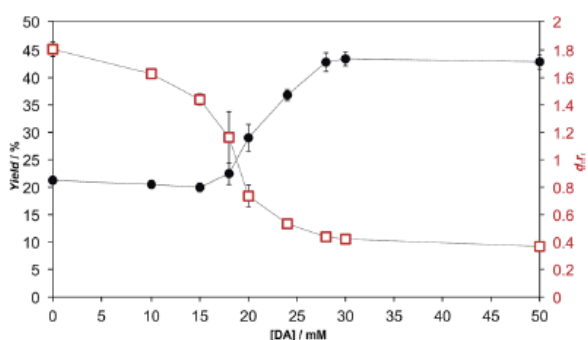


Fig. 1 Formation of peptide diastereomers Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ and Ac-D-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ by the reaction of 1 mM racemic 5(4*H*)-oxazolone 2a with 5 mM H-L-Leu-NH₂ in 100 mM MOPS buffer (pH 7.2), at room temperature, in the presence of different concentrations of decanoic acid (DA). The effects are reported in terms of the relative total yield of the dipeptide (left axis, black filled circles) and of the diastereomeric ratio (right axis, red open squares).



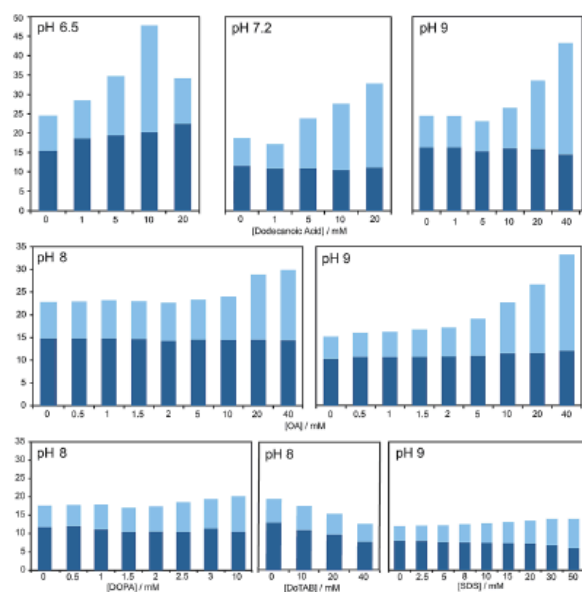


Fig. 2 Bar graph representing the total yield of dipeptide (full bar size) and stereoselectivity (chiral conversion %: Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂, in dark blue; and Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂, in light blue) which are obtained in reactions carried out at room temperature, in aqueous buffer (100 mM) at various pH values, starting from Ac-Tyr(Me) oxazolone (1 mM), in the presence of H-L-Leu-NH₂ (5 mM) and diverse amphiphile/surfactant concentrations. Each bar corresponds to a single experiment; error fluctuation was estimated with the control samples, without amphiphile (based on d.r. data and calculated for each pH value – see Table S1†) and remains within the range of 12–18% for all cases. OA stands for oleic acid. For a more exhaustive report of the results, see main text and Table S1 in the ESI†.

partners have a strong enough affinity for the hydrophobic environment (see data for alaninamide, glycinamide and leucine, instead of leucinamide, at the end of Table S1 in the ESI†). It is difficult to explain, otherwise, how the minimal variations in the chemical nature of the reactants (the reduced aliphatic side-chain in the first two cases, or the higher polarity in the third, zwitterionic one) make such a difference.

Additional assays were carried out to complement the previous results and check whether the product of the reaction co-localizes with the hydrophobic supramolecular domains. More specifically, a series of quenching experiments with acrylamide (Fig. S3 in ESI†) show that when DA vesicles are present in the medium, the fluorescent signal coming from the Tyr ring of the dipeptide could not be screened down, as occurs in free solution. Furthermore, data collected from Langmuir trough experiments (Fig. S4 in the ESI†) also show that the addition of the dipeptide to DA monolayers with different initial surface pressures (π_0) induced an increase in the surface pressure ($\Delta\pi$), which results from the adsorption of the dipeptide to the monolayer.

Our HPLC results were consistent over a relatively wide range of concentrations, carboxylic acid species and pH values (see Fig. 2 and Table S1 in the ESI†). Nevertheless, stronger

effects were typically obtained at pH values that do not largely exceed the pK_a of the corresponding fatty acid in the charged aggregate environment, which suggests that the vesicles had the optimal supra-molecular configuration to achieve a more significant influence on the reaction (at lower pH less reliable results were collected, owing probably to the formation of droplets).

A series of additional control experiments was performed to check the specificity of our results with regard to the type of amphiphilic/surfactant molecule employed. Since fatty acid vesicles are, overall, negatively charged (due to the partial deprotonation of their monomeric units), we tried with negatively charged species containing aliphatic chains of a similar length, like the phosphatidic acid DOPA (1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphoric acid) or sodium dodecyl sulfate (SDS).

As reported in Fig. 2 and Table S1 (ESI†), no detectable effects on the yield of the reaction were found in those cases, even if we did observe changes in the diastereomeric ratios, which were altogether absent if a positively charged surfactant (like dodecyltrimethylammonium bromide, DoTAB) was used. Although an explanation for this inverted trend in the chiral nature of the products (preference for *D*-forms in the majority of cases when supramolecular structures are present) is not within the scope of this study, it is nevertheless useful as an indicator of the environment in which the reaction actually takes place. This view is also supported by the known effect of low polarity solvents favouring heterochiral adducts of 5(4*H*)-oxazolones.⁴⁰ Finally, it should be mentioned that mixtures of decanoic acid with decanol (previously reported to confer higher stability to the resulting vesicles in aqueous solution)¹⁴ were tried, too, but the effects on the reaction were clearly diminished.

Experiments in organic solvents

All the results obtained in aqueous buffered solution indicate that the pathway through which fatty acids play a role does not simply correspond to the usual activity of hydrophobic assemblies on chemical reactivity. Indeed, a specific behaviour of carboxylic acids at pH values inducing the formation of bilayers might be related to the activity of their polar head groups, combined in both the neutral and anionic forms, at the lipid-water interface of the supramolecular structure (Fig. S1 in the ESI†). In order to determine what kind of chemical activity is effectively responsible for this behaviour, our reaction was also studied in organic solvents, in the presence of decanoic acid and acetic acid. Both acids induced a substantial increase in reaction rate in two different solvents, CH₂Cl₂ (Fig. 3) and CH₃CN, and the hydrophobic chain of decanoic acid had no significant additional influence (see Table 1). The more acidic Ac-Leu-OH was studied in CH₃CN to avoid solubility issues and had a slightly improved activity at low concentrations (2 mM), compared to acetic acid and decanoic acid under the same conditions (Table S2 in ESI†). Therefore, the activity of fatty acids does not depend on the presence of a hydrophobic aliphatic chain, which indicates that it is the result of the participation of the carboxylic acid moiety.



Chemical Science

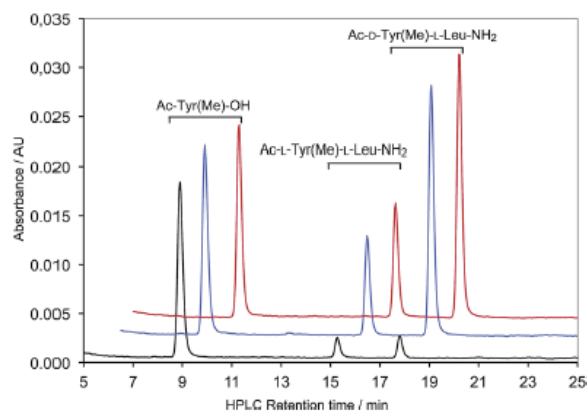


Fig. 3 HPLC monitoring of the reaction (samples withdrawn after 1 h) of Ac-L-Tyr(Me)-5(4*H*)-oxazolone **2a** (ca. 1 mM) with H-L-Leu-NH₂ (5 mM) carried out in CH₂Cl₂ (control, black) or in the presence of added carboxylic acids (2 mM): decanoic acid (red) or acetic acid (blue).

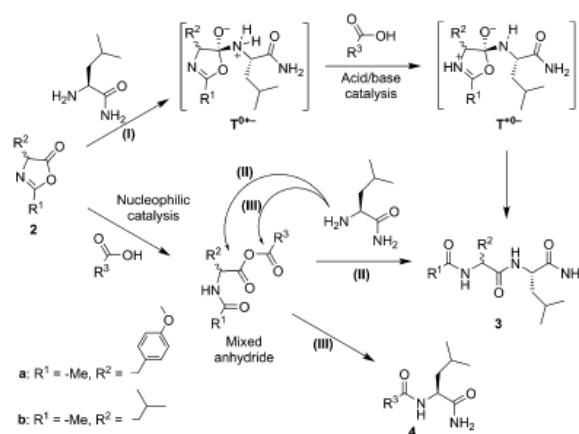
Table 1 Yield and stereoselectivity (shown as diastereomeric ratio, d.r.) in selected reactions carried out in organic solvent for Ac-Tyr(Me) oxazolone (1 mM) in the presence of 5 mM H-Leu-NH₂ and carboxylic acid reagents at room temperature for 1 h. For an exhaustive description of the results see Table S2 of the ESI

Solvent	Carboxylic acid	Yield/%	d.r.
CH ₂ Cl ₂	Control without acid	17.4	0.84
CH ₂ Cl ₂	10 mM acetic acid	86.2	0.49
CH ₂ Cl ₂	10 mM DA	86.9	0.54
CH ₃ CN	Control without acid	2.7	0.62
CH ₃ CN	10 mM acetic acid	45.3	0.44
CH ₃ CN	10 mM DA	55.7	0.46

Discussion

Our experimental survey proves that fatty acid aggregates increase the yield of peptide formation from a hydrophobic 5(4*H*)-oxazolone and leucinamide. The product of the reaction was also demonstrated to have an affinity for the lipid phase. The favourable effect on the yield is specific of surfactants that bear a carboxylic acid moiety. This effect is accompanied by a reversal of stereoselectivity observed only above the CAC, which requires a more elaborate explanation but is beyond the scope of the present work.

In organic solvents a similar preference for heterochiral products was observed, together with a rate enhancement promoted by carboxylic acids. In these media, carboxylic acids can either act as nucleophilic catalysts or acid–base catalysts (Scheme 2). Clues attesting to acid–base catalysis can neither be expected from the accumulation of intermediates nor from the detection of side-products. However, thanks to the presence of two electrophilic sites in the mixed anhydride intermediate, a transfer of activation from the 5(4*H*)-oxazolone **2a** to the carboxylic acid R³-COOH leading to amide side-product **4** (rather than to the dipeptide Ac-Tyr(Me)-Leu-NH₂ **3**) can, in contrast, be predicted during the nucleophilic pathway. This



Scheme 2 Potential chemical pathways of acid–base (I) and nucleophilic (II and III) catalysis (during the aminolysis of 5(4*H*)-oxazolones **2a** and **2b** by leucinamide in organic solvents) suggested as a way to account for the activity of carboxylic acids R³COOH (which include acetic acid, decanoic acid and the acylated α -amino acid Ac-D,L-Leu-OH and optically active Ac-L-Leu-OH and Ac-L-Tyr(Me)-OH).

would come as a result of path (III), in addition to the aminolysis yielding product **3**, as previously obtained from path (II). To assess the extent of nucleophilic catalysis, an experiment was carried out starting from 2 mM leucine 5(4*H*)-oxazolone **2b** in acetonitrile and using 1 mM Ac-L-Tyr(Me)-OH **1a** as a carboxylic acid component (R³COOH). The formation of Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ dipeptide was observed to be limited to 1% (with respect to **1a**) after 1 h, and slowly increased up to 5% after 3 days (Fig. S5 in the ESI†). Importantly, Ac-L-Tyr(Me)-L-Leu-NH₂ dipeptide was formed as a single stereoisomer, ruling out any reaction path occurring through the 5(4*H*)-oxazolone **2a**, and supporting the mixed anhydride pathway (III). This experiment, in fact, suggests that the mixed anhydride pathway is a slowly proceeding process.

The fast and highly efficient increase in the rate (ca. 10-fold) observed by adding 2 mM Ac-Leu-OH (as R³COOH) to 1 mM Ac-Tyr(Me) 5(4*H*)-oxazolone **2a** must therefore be considered to be the result of the acid–base-catalysed path (I). The faster reaction of 5(4*H*)-oxazolone **2a**, compared to that of the mixed anhydride, is not surprising if one takes into account two key points: (i) the lesser importance of steric hindrance for the nucleophilic attack at the 5(4*H*)-oxazolone carbonyl group, relative to that occurring at the two reacting centres of the mixed anhydride; and (ii) the better leaving group ability of the amide oxygen (pK_a ~ -1.0 in water for the conjugate acid) relative to that of a carboxylate group (pK_a ~ 4–5 in water for carboxylic acids – although a significantly higher value is expected in the anionic environment of the aggregate).

The occurrence of acid–base catalysis of any kind is directly connected to the need for proton transfer during the course of the reaction, given the large change in pK_a of the reacting groups involved.^{41,42} In path (I) two proton transfers are needed for conversion into the product. The tetrahedral intermediate T⁰⁺- is produced by the direct addition of the nucleophile to the



5(4*H*)-oxazolone. The need for reaching T^{+0-} by proton transfer before any conversion into products takes place can account for the catalysis by carboxylic acid observed in organic solvents (Scheme 2, path (I)). The most straightforward process is a pathway starting from this intermediate by protonation of the nitrogen atom of the leaving group by the carboxylic acid, thus facilitating breakdown. The alternative possibility of the carboxylate anion acting as a base can be ruled out by the fact that the base, H-Leu-NH₂, present at the same time in the medium (in 5 mM concentration) was not sufficient to promote the reaction (Fig. 3, control). An additional advantage of carboxylic acids could be their ability to act as both an acid and base in a bifunctional way,⁴³ which could make the decomposition of the tetrahedral intermediate easier by the direct conversion of T^{0+-} into T^{+0-} .

The results reported here for the reactions carried out in aqueous media could be explained by the possibility that fatty acid supramolecular aggregates have a catalytic effect similar to the micellar catalysis already demonstrated for bimolecular reactions between hydrophobic substrates (*i.e.*, selective concentration effect in a reduced volume).^{44,45} The need for a concentration of surfactant exceeding the CAC (in order to have an observable effect) indeed supports the involvement of hydrophobic aggregates. However, this explanation is not sufficient to account for the highly specific behaviour that fatty acid aggregates (as compared to other lipid or surfactant aggregates) were observed to have, inducing significant increases in the yield of peptide formation reactions from 5(4*H*)-oxazolones. A more comprehensive explanation of all the data collected in this work, coherent with the results obtained in organic solvents, would include an acid–base type of catalysis taking place at the lipid–water interface of the supramolecular structures (Scheme 3), where the polar heads of the carboxylic acids undergo continuous protonation–deprotonation dynamics. Precisely the same ‘chemical trick’ that enables the stability of fatty acid vesicles as prebiotic compartments or microreactors (a balanced combination of neutral and anionic forms of the monomer) could be the critical feature to account for their catalytic power.

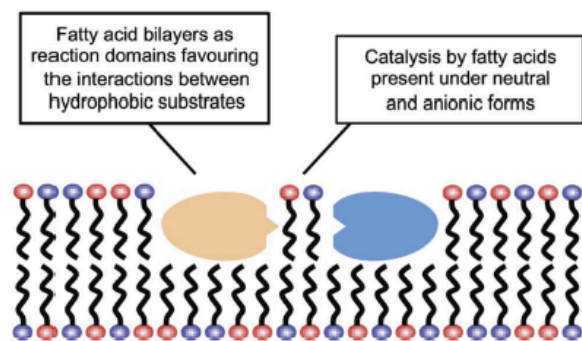
In this context, it is noteworthy that most aminolysis processes required for peptide syntheses involve large changes

in the pK_a of the reacting centres and, therefore, are susceptible to acid–base catalysis in a way similar to the reactions of 5(4*H*)-oxazolones. Bilayers made of fatty acids demonstrate that unique ability at neutral pH, which is not realised for other types of lipid compartments, like the phospholipid-based boundaries of modern cells. So fatty acids, in addition to providing a different local environment for the reaction (through their spontaneous assembly into supramolecular structures), could also act as acid–base catalysts for the formation of hydrophobic peptides, and potentially for any other chemical processes in which rate-determining proton transfer is required. These peptides, in turn, would likely contribute to membrane stability and would foster growth and potential reproduction of the vesicles. Therefore, one can envision a scenario in which lipid and protein precursors (*i.e.* fatty acids and hydrophobic peptides) would come together and mutually reinforce each other, in an integrated approach to the origin of the first functional protocells. This incipient stage is fully congruent with the modern structure of biological membranes, which consist of phospholipids and also of other hydrophobic components, most prominently membrane-associated or transmembrane proteins. Accordingly, heterogeneous compartments, made of much simpler but already diverse kinds of hydrophobic compounds, would be present from the earliest phases of evolution, preceding the selection of current biomembranes.

More broadly speaking, this scenario is in line with recent perspectives on the problem of how chemistry could open the way towards biological phenomena, within a *systems* framework.^{3,4} The main idea underlying this new conception is that life, from its first steps, cannot be reduced to the chemistry of a single type of compound (*e.g.*, nucleotide chemistry). Instead, prebiotic systems (taken as integrated entities, not just ‘populations of molecules’) ought to encompass several types of biomolecules – or rather, biomolecule *precursors* – in continuous interaction. In other words, the whole process of the origins of life would be understood as the evolutionary development of heterogeneous chemical mixtures with diverse emergent functionalities. Complex biopolymers (like the ones making up extant living cells) would be the final outcome of this long evolutionary process, not the starting point. Our results, from experiments carried out precisely with two main kinds of biomolecular precursor, fatty acids and amino acids, support this alternative view of the problem, in line with other recent experimental reports^{32,34} that highlight the importance of connecting peptide chemistry and compartments.

Acknowledgements

SMS and KRM received support from the Basque Government (IT 590-13 Grant) and from the Spanish Ministry of Economía y Competitividad (FFI2014-52173-P Grant). DB and RP thank the Agence Nationale de la Recherche for supporting the PeptiSystems project (grant ANR-14-CE33-0020). The authors also thank COST Action CM1304 (Emergence and Evolution of Complex Chemical Systems) for eliciting the collaboration between our groups and for supporting this project through a Short-Term



Scheme 3 Fatty acids' dual role in peptide bond formation.



Scientific Mission for SMS, who holds a PhD Grant from the University of the Basque Country (UPV/EHU).

Notes and references

‡ HPLC peaks of all the other dipeptide diastereomers used in this work were identified by comparison with authentic samples prepared earlier.¹⁶

- R. F. Ludlow and S. Otto, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, 37, 101–108.
- G. von Kiedrowski, S. Otto and P. J. Herdewijn, *J. Syst. Chem.*, 2010, 1, 1–6.
- K. Ruiz-Mirazo, C. Briones and A. de la Escosura, *Chem. Rev.*, 2014, 114, 285–366.
- B. H. Patel, C. Percivalle, D. J. Ritson, C. D. Duffy and J. D. Sutherland, *Nat. Chem.*, 2015, 7, 301–307.
- S. Pizzarello and E. Shock, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.*, 2010, 2, a002105.
- H. J. Cleaves, J. H. Chalmers, A. Lazcano, S. L. Miller and J. L. Bada, *Origins Life Evol. Biosphere*, 2008, 38, 105–115.
- L. P. Dworkin, D. W. Deamer, S. A. Sandford and L. Allamandola, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2001, 98, 815–819.
- T. M. McCollom, G. Ritter and B. R. Simoneit, *Origins Life Evol. Biospheres*, 1999, 29, 153–166.
- G. Danger, R. Plasson and R. Pascal, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, 41, 5416–5429.
- R. Pascal, L. Boiteau and A. Commeyras, *Top. Curr. Chem.*, 2005, 259, 69–122.
- G. Danger, A. Michaut, M. Bucchi, L. Boiteau, J. Canal, R. Plasson and R. Pascal, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2013, 52, 611–614.
- W. R. Hargreaves and D. W. Deamer, *Biochemistry*, 1978, 17, 3759–3768.
- J. M. Gebicki and M. Hicks, *Nature*, 1973, 243, 232–234.
- C. L. Apel, D. W. Deamer and M. N. Mautner, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 2002, 1559, 1–9.
- M. M. Hanczyc and J. W. Szostak, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2004, 8, 660–664.
- T. Namani and P. Walde, *Langmuir*, 2005, 21, 6210–6219.
- K. Morigaki and P. Walde, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2007, 12, 75–80.
- S. E. Maurer, D. W. Deamer, J. M. Boncella and P.-A. Monnard, *Astrobiology*, 2009, 9, 979–987.
- S. E. Maurer and P.-A. Monnard, *Entropy*, 2011, 13, 466–484.
- I. A. Chen and P. Walde, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.*, 2010, 2, a002170.
- P. Walde, H. Umakoshi, P. Stano and F. Mavelli, *Chem. Commun.*, 2014, 50, 10177–10197.
- J. Blain and J. W. Szostak, *Annu. Rev. Biochem.*, 2014, 83, 615–640.
- H. Yanagawa, Y. Ogawa, K. Kojima and M. Ito, *Origins Life Evol. Biosphere*, 1988, 18, 179–207.
- D. W. Armstrong, R. Seguin, C. J. McNeal, R. D. Macfarlane and J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 4605–4606.
- A. Brack, *Origins Life Evol. Biosphere*, 1987, 17, 367–379.
- Z. Liu, D. Beaufils, J.-C. Rossi and R. Pascal, *Sci. Rep.*, 2014, 4, 7440.
- M. Blocher, D. Liu, P. Walde and P. L. Luisi, *Macromolecules*, 1999, 32, 7332–7334.
- M. Blocher, D. Liu and P. L. Luisi, *Macromolecules*, 2000, 33, 5787–5796.
- M. Blocher, T. Hitz and P. L. Luisi, *Helv. Chim. Acta*, 2001, 84, 842–848.
- T. Hitz, M. Blocher, P. Walde and P. L. Luisi, *Macromolecules*, 2001, 34, 2443–2449.
- H. H. Zepik, S. Rajamani, M.-C. Maurel and D. Deamer, *Origins Life Evol. Biosphere*, 2007, 37, 495–505.
- A. Grochmal, L. Prout, R. Makin-Taylor, R. Prohens and S. Tomas, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137, 12269–12275.
- R. Furuuchi, E. I. Imai, H. Honda, K. Hatori and K. Matsuno, *Origins Life Evol. Biosphere*, 2005, 35, 333–343.
- K. Adamala and J. W. Szostak, *Nat. Chem.*, 2013, 5, 495–501.
- Z. R. Todd and C. H. House, *Astrobiology*, 2014, 14, 859–865.
- D. Beaufils, G. Danger, L. Boiteau, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2014, 50, 3100–3102.
- F. M. F. Chen, K. Kuroda and N. L. Benoiton, *Synthesis*, 1979, 230–232.
- F. M. F. Chen and N. L. Benoiton, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 2009, 30, 683–688.
- J. L. Cape, P.-A. Monnard and J. M. Boncella, *Chem. Sci.*, 2011, 2, 661–671.
- N. L. Benoiton, K. Kuroda and F. M. F. Chen, *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 3361–3364.
- W. P. Jencks, *Acc. Chem. Res.*, 1976, 9, 425–432.
- W. P. Jencks, *Acc. Chem. Res.*, 1980, 13, 161–169.
- A. C. Satterthwait and W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, 96, 7031–7044.
- C. A. Bunton, F. Nome, F. H. Quina and L. S. Romsted, *Acc. Chem. Res.*, 1991, 24, 357–364.
- S. Otto and J. B. F. N. Engberts, *Org. Biomol. Chem.*, 2003, 1, 2809–2820.



**Framing major prebiotic transitions as stages of protocell development:
three challenges for origins-of-life research**

Ben Shirt-Ediss¹, Sara Murillo-Sánchez^{2,3} and Kepa Ruiz-Mirazo^{2,3,*}

¹*Interdisciplinary Computing and Complex BioSystems Group, University of Newcastle, UK*

²*D. Logic and Philosophy of Science, University of the Basque Country, Spain*

³*Biofisika Institute (CSIC, UPV-EHU), Spain*

* Corresponding author: kepa.ruiz-mirazo@ehu.eus

Living beings on Earth, even in their simplest prokaryote versions, are extremely complex systems, made of a great diversity of molecular components in continuous transformation and interaction. At the base level, each cell is sustained by means of an impressive biopolymer apparatus, which essentially consists of proteins and nucleic acids carrying out complementary tasks to orchestrate such an intricate and heterogeneous dynamic organisation with surprising robustness. In addition, this organisation always involves an endogenously synthesized boundary that protects those components/processes from the surrounding milieu and, not less importantly, provides a selective interface that couples them to that external environment. Indeed, all known organisms (genetically-instructed cellular metabolisms) intrinsically depend, both in material and energetic terms, upon a variety of processes that take place across their boundaries -- lipid membranes in/on which highly sophisticated mechanisms of transport and energy transduction reside, making possible the maintenance of the system, as a whole, in open, far-from-equilibrium conditions. In a metaphoric sense, cells are “recurrent nano-factories”: systems that conduct molecular syntheses from simpler precursors and use the outcome of those processes, in turn, to continually fabricate themselves, including their own machinery, production lines, walls, doors, windows, etc.

The problem of origins of life consists in finding a plausible sequence of transitions from abiotic physical and chemical processes towards this level of molecular and organisation complexity, unparalleled by any other phenomena that we observe in the natural world. Therefore, facing this challenge always involves making a strong set of simplifying assumptions, both in terms of the molecular and the organisational features of life as we currently know them. The simplifications tried so far have met with limited success, probably because they represent *oversimplifications*. In historical perspective, one can say that the extraordinary success of molecular biology led a whole generation of origin-of-life researchers to believe that the initial steps towards life could be performed by *molecules of a single kind* (embedded in no --or hardly any-- other chemical organisation). Then, for years, a strong debate was established in the field about, precisely, what kind of molecule (often, what kind of biopolymer) came first, analysing either the abiotic pathway of synthesis that could have brought it about, or the reactive processes that it could have provoked (i.e. the replication or catalytic processes it hypothetically took part in). Fortunately, following the advent of systems biology at the turn of the century, an increasing awareness about the irreducibility of living phenomena to a specific type of molecular mechanism is extending throughout a new generation of scientists, including those interested in the problem of origins [1,2].

In this context, we would like to bring to the fore a fundamental but clearly underappreciated aspect of biological phenomenology: namely, *the diversity of components and phase heterogeneity it involves*. Aqueous solution chemistry is important for life, but one should not forget that all living organisms require additional physicochemical processes that take place in environments where water is excluded, to different extents. Luckily, we are not alone in the recognition of this basic biological feature: researchers exploring ‘molecular crowding’ [3-5] share the view and criticize, on similar grounds, a significant part of the biochemical knowledge inherited from last century. Membrane biophysicists have also repeatedly complained about the traditional imbalance in biochemistry between the attention given to soluble enzymes over membrane proteins, whose physiological tasks have equal relevance, but are carried out at interfaces or in conditions that are radically different from bulk water (see, e.g. [6]). Even stronger claims about the intrinsic ‘vectorial’ character of metabolism have been made by several authors coming from the field of bioenergetics, who underline the role of chemiosmotic mechanisms for the sustainability of any type of cell [7,8]. Furthermore, this more encompassing approach to life is fully congruent with other insights coming from investigations on reaction-diffusion processes in biology, which have revealed, since the pioneering work of Turing [9], the enormous potential of coupling chemistry with the constrained spatial movement of the molecules involved [10,11]. Therefore, given the cellular nature of all life known on our planet, and given the importance of compartmentalized chemistries for understanding many biological phenomena, it may be productive to try origin-of-life simplifications that do not completely erase this aspect at the beginning. The combination of chemical reactions with self-organization and self-assembly processes in heterogeneous, multi-phase conditions could actually be crucial at those first stages: this is the main assumption that most of us working in the ‘protocell camp’ make [12-16].

Under this general hypothesis, one can distinguish two major avenues of research. According to the first, organic compartments of different types (micelles or other colloidal structures) would initially play the role of harbouring surfaces or hydrophobic domains, on which several prebiotic compounds might be adsorbed, in such a way that their chemical reactivity is promoted, leading to more intricate transformation networks and molecular species of various kinds. Several models have been suggested in this direction, from the classical *coacervates* of Oparin’s [17] and more recent versions of it [18], to the *obcell* theory of Cavalier Smith’s [19], based on Blobel’s ideas [20], later also revisited by Griffiths [21]. These proposals do not especially favour vesicle compartments, because the encapsulation of the incipient chemistries within a distinct, aqueous microenvironment is not taken to be an important requisite. Quite the contrary, they actually consider that complex biomolecular machinery could be developed *outside*, to be somehow internalized at subsequent stages [21]. So their main concern is to show how soft hydrophobic clusters and interfaces might have been helpful as aggregating agents, fostering reactions of prebiotic relevance that would be thermodynamically unfeasible in open water solution. In this regard, the former proposals are not very different from other scenarios that have suggested ‘harder’ mineral surfaces as the local settings on which prebiotic chemistry could initially thrive [22-26].

Nevertheless, without denying the role that all these (hard and soft) surface- or interface-chemistry scenarios could play in order to discover reaction pathways to diverse organic compounds, the majority of ‘compartment-first’ approaches have focused on a second research objective: capturing cell-like behaviours by means of vesicle model systems. Compartmentalization could initially be tried with a two-phase system (e.g., droplets or micro-emulsions) but liposome

research techniques developed during the twentieth century allowed the *in vitro* exploration of many --both structural and dynamic-- properties of supramolecular assemblies that involve, at least, three-phases (water-membrane-water) and show a striking resemblance to biomembranes, despite their much simpler composition and functional capacities (see [15] for a review). In particular, fatty acid vesicles have become the standard protocell model, not just because of their prebiotic plausibility [27,28], but also because of their remarkable stability as compartments [29,30]; their rapid self-assembly kinetics and amenability to be grown and multiplied under lab conditions [31]; their rich inherent dynamics [32]; and the competition-selection experiments they make possible, if mixed with different liposome populations [33-36]. Thus, the interest of working with these model systems stems from the fact that they provide a very natural connection to real cells, which is attractive both for research groups investigating the chemical roots of biological *organisation* and for others trying to determine the first steps of biological *evolution*.

This commentary is aimed at providing a global vision of how these two fundamental aspects of biological phenomenology (the *organisational* and *evolutionary* aspects) can be brought together by means of a general scheme of prebiotic transitions that puts 'protocells' at the very centre, as the prime axis of the process of biogenesis (see Fig. 1). Furthermore, we will defend the view that in order to reconstruct this process a strict 'bottom-up' approach should be pursued, starting with chemical *precursors* of biomolecules, rather than with fully functional biomolecules. The encapsulation of biopolymers (DNA, RNA, proteins) or cell extracts in self-assembling vesicles of different composition [for instance: 37-39] constitutes an important proof of principle that biochemistry can be carried out within this strongly simplified compartments. However, those experiments tell us very little about the actual process of origins. A major challenge that must be tackled in order to move the field of origins of life forward would be to couple simple chemistry to prebiotic vesicle dynamics: chemical reactions provide the power for *endogenous synthesis* and vesicles the adequate scaffolding for the *functional integration* of what is synthesized. We will proceed briefly with the issue of functional integration below, but the main point to highlight here is that both for reactive processes to become proto-metabolic and for vesicles to become proto-cellular, their mutual, dynamic engagement could well be an early, unavoidable requirement [40].

As Szostak [41] has also noted, the longer we postpone the appearance of chemical encapsulated systems, the more intractable the problem of compartmentalization will surely become. Indeed, if reaction networks could develop their catalytic efficiency in compartment-free scenarios, their eventual encapsulation within lipid vesicles would most probably drive them to self-suffocation, simply because they would run too fast in relation to the (passive) accessibility of nutrients to the internal milieu [42]. The management of osmotic imbalances would be another obvious difficulty, if already developed reaction networks suddenly became incorporated inside semi-permeable membranes [43]. For these reasons, an early 'co-evolutionary' scenario in which membranes and internal chemistries develop 'hand-in-hand', strongly linked and supportive to each other, makes more sense (see also [44]). Hence our first corollary, expressed in terms of a challenge for the field:

Challenge 1: coupling chemistry with vesicle dynamics. A special effort should be made to discover simple reaction networks whose products include amphiphiles or surfactant molecules that can be spontaneously absorbed by pre-existing vesicles, modifying their basic properties (e.g., their stability, the permeability/fluidity of their membranes) and displacing them, as a result, from their primary quasi-equilibrium states (e.g. inducing their growth and potential reproduction). In turn, vesicle dynamics should prove supportive of --or at least compatible with-- that chemistry.

Cell physiology shows us that endogenous synthesis is a necessary condition to consider a molecular component *functional* in the most basic biological sense: that is, functional with regard to the (proto-metabolic) organisation that it belongs to. According to this organisational conception, more extensively argued for in [45], a component is functional in so far as it contributes in a specific, distinctive way to the overall maintenance of the far-from-equilibrium system that brought it about. Thus, a molecule, taken in isolation, should not be ascribed a function (however tempted one may be to attribute one to it). Autonomous functionality (orthogonal to the engineering conception of functionality -- linked, one way or another, to external human goals) ought to be understood as a *relational* property to be established and characterized in the context of a dynamic, self-maintaining/self-producing system, in which a diversity of components and processes of interaction come together. In fact, it is most likely that several *different* types of components/processes be involved in the constitution of the most basic systems with functional parts (in this naturalized, autonomous sense). Determining the minimal number and the specific nature of these prebiotic components/processes (i.e., that ‘irreducible core’ required for functional emergence) remains an open empirical question. One needs to try different combinations of precursors, taking part in various reactive and self-assembling processes, and study their mutual compatibility and overall integration dynamics. We will refer to this as the problem of minimal *functional integration* in a prebiotic context. So what are the sufficient conditions to implement the simplest --but at the same time sufficiently robust-- natural systems with functional components/attributions? Arguably, this could be the most urgent question that the field of origins of life should tackle in the near future (also possibly related to what Sutherland [46] calls, in a recent review, the first ‘major system innovation’).

Compartmentalized chemistry, fortunately, is very rich in terms of possibilities for coupling different types of processes and, thereby, its careful exploration is bound to lead us towards proper proto-cellular and proto-metabolic systems (‘a-to-b’ transition in Fig.1). In addition to direct reaction couplings and negative and positive feedback loops (autocatalytic cycles) that can take place within the internal water pool, the presence of closed lipid bilayers strongly restricts the free diffusion of the various soluble species involved, allows the selective passage of precursors and excludes water in limited areas in which an alternative reaction domain is offered (especially for hydrophobic species to interact, or for water-producing reactions to proceed). In recent years, evidence is accumulating to support various potential functions that these self-assembling supramolecular structures could have as reactor promoters and regulators [47-49], i.e., beyond their traditionally ascribed role as selectively permeable enclosures that keep concentrations above critical threshold values. One could mention here, for instance, their catalytic effects on diverse reactive processes (like peptide formation -- [50,51]) or the dynamic changes they could provoke in the basic conditions under

which the chemistry takes place (e.g., volume changes and correlated ‘osmotic couplings’ among internal molecular species -- see: [52]).

In any case, all these projected or hypothetical functions would only turn real if vesicle compartments effectively contributed to maintain internal chemistries which, in turn, produced a reinforcing effect on the compartments (on their dynamic robustness and/or on their capacity for growth and reproduction). The degree of inter-specificity and functional integration achieved in a first protocellular scenario may be modest, but it is important that both kinetic control and spatial control mechanisms are included in the equation from the beginning, so that they can complement each other in their development. For an interesting synthetic biology example of how this can be approached, see: [53].

Challenge 2: finding conditions and mechanisms for minimal functional integration.

A focused search for the specific experimental conditions and the set of molecular interaction mechanisms (physicochemical couplings) that lead to minimal functional systems should be pushed forward. The proto-cellular scenario proposed in this commentary makes explicit the need to combine, at least, kinetic and spatial control mechanisms in order to achieve this goal -- which would certainly be a major breakthrough, even if the robustness of those initial functional systems proved relatively modest with regard to extant cells.

Only through time and selection pressure may those initial elementary functions become more refined and inter-molecularly specific, leading to stronger modes of functional integration. But in order to walk that pathway natural selection (NS) and evolutionary dynamics must come to the picture, too. Obviously, it is not legitimate to assume that the exquisite molecular machinery currently responsible for matter transport or energy transduction in cells (for example, ATP-synthases), even if they constitute a common feature across all living domains [7], could be present at the first stages of biogenesis. Such complex membrane mechanisms were, no doubt, latecomers -- highly optimized products of evolution. However, any plausible evolutionary explanation of their emergence should begin with simpler lipid compartments and with less efficient, precursor (transport/transduction) mechanisms embedded in them.

Competition-selection experiments carried out among different vesicle populations [33-35] have shown that interactions at that global collective level may be highly relevant from very early stages, long before macromolecular structures, like proteins or nucleic acids, took control of metabolic dynamics. In fact, although the mainstream way to experimentally investigate protocells and their evolutionary capacity has been to take a ‘semi-synthetic’ approach (encapsulating populations of RNA or DNA molecules inside lipid compartments [54-56] or in droplets [57]), we will here propose a more strict ‘bottom-up’ strategy to face this issue, as well. So to speak, everything must come in the same package: i.e., a deep conceptual shift must also take place to account for the origins of natural selection and proper Darwinian evolution (as explained in more detail in [58]). Instead of using compartmentalization as a way to segregate populations of nucleic acids (with the aim to avoid problems like parasitism [59]), the idea here is that protocells constitute the actual units of evolutionary change from the very beginning of the process. Thus, the various stages of vesicle/protocell development should be envisioned in close correlation with differences in the potential for evolution of the populations involved, as schematically shown in Fig. 1. In other words,

the organisational and evolutionary dimensions of biological phenomena must intermingle very early, feeding on each other, in a scenario where biopolymers come much later. This opens widely the question of when should the evolutionary process be called Darwinian (i.e., when NS actually emerges as an operational mechanism), but the debate ought to be established from an adequate characterization of ‘pre-Darwinian’ competitive/selective dynamics, which remain largely unexplored.

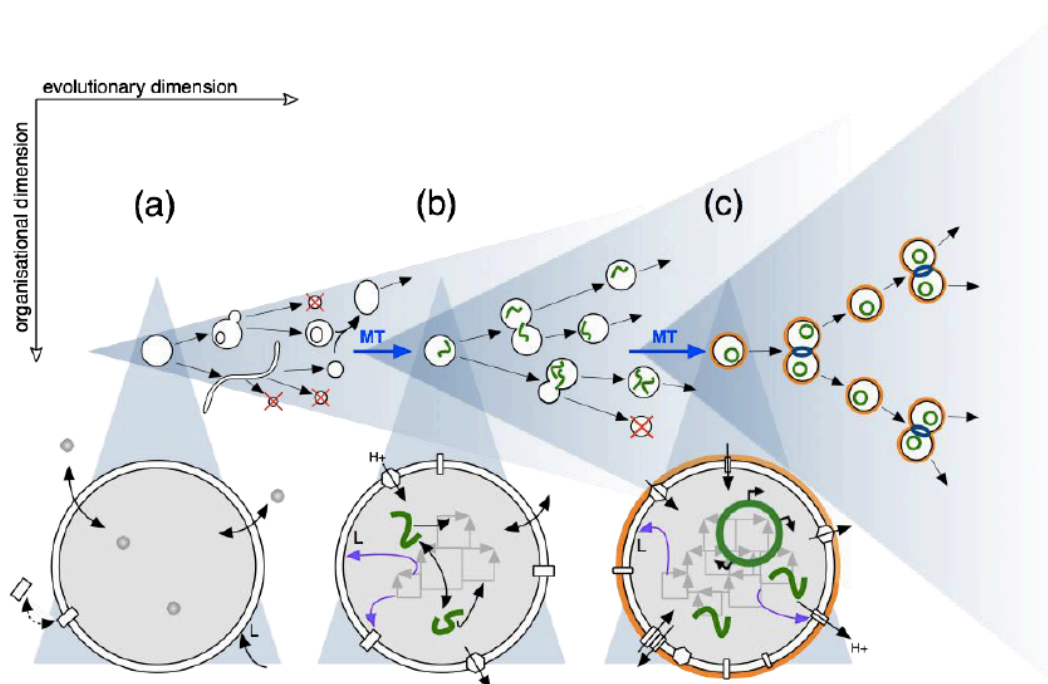


Figure 1: The effect of protocellular organisation on evolutionary capacity. Adapted from [43]. (a) Self-assembled (poly-disperse and likely multilamellar) fatty acid vesicles first start to grow and divide in an unregulated and error-prone way, relying extensively on environmental conditions and external stimuli. (b) After a major prebiotic transition (blue arrow), the first self-producing protocells appeared, able to endogenously synthesise membrane lipids and other membrane components. These protocells, with a metabolism that incorporated oligonucleotides and oligopeptides (to become RNA and proteins only at a later stage), could activate growth and --still not fully reliable-- division cycles more independently of the environment. (c) After a further major prebiotic transition, protocells evolved towards LUCA. Metabolism now operated on the basis of a ‘genotype-phenotype’ decoupling, with the development of DNA and coding, to enable an open-ended search for new functionalities. The invention of the cell wall and complex protein machinery controlling cell division made reproduction cycles much more coordinated and reliable.

The main advantage of a scheme of transitions like the one portrayed in Fig. 1, looking at it from an evolutionary perspective, is that the individuals that lead the process are protocellular systems whose phenotypic space is intrinsically wider than that associated to replicating molecular entities. Protocells constitute ‘scaffolds’ in which a high diversity functional components may be hooked (including those very replicating molecules but possibly many other simpler ones), leading to multiple state variables and dynamic behaviours for each unit of selection. That endows these systems with the potential to become real Darwinian entities, i.e., organisms (or ‘proto-organisms’) on which natural selection effectively operates [58]. Therefore, the major evolutionary bottlenecks in this scenario would be related to the capacity of such systems to reproduce reliably. In practice, this

entails [60] achieving regularity in the actual process of protocell division, as well as developing mechanisms of heredity (i.e., control of trans-generational variation). A possible narrative would proceed as follows: initially, (Fig 1a) fatty acid vesicles could grow through the acquisition of external lipid molecules, or by fusing with neighbours, and then divide through a number of pathways, including budding (internal and external) and filamentous intermediates [61]. These division pathways would be largely at the mercy of prevailing environmental conditions and often would lead to a decrease in the mean size of the offspring. Then (Fig 1b) protocells would develop an inner chemistry helping them activate growth and division cycles more independently of environmental factors and avoiding the tendency to decrease in volume at each generation. Nevertheless, such division would be still stochastic, producing a significant amount of non-viable progeny, in a context in which protocell fusion and mixing would still be rife. At later stages (Fig 1c) protocells getting closer to LUCA would emerge, with metabolism running on the basis of more complex (code-mediated) ‘genotype-phenotype’ mappings, and surrounded by a primitive cell wall. Under these conditions, (i) the space for exploration of new functionalities would widen enormously (getting progressively closer to open-endedness) and (ii) reproduction cycles would become much more reliable, by means of complex protein machinery specifically devoted to control division processes.

Challenge 3: characterizing the evolutionary dynamics of pre-Darwinian protocells.

Rather than focusing on the evolutionary dynamics of populations of naked nucleic acid molecules (the core idea underlying the ‘RNA world’ hypothesis), or even compartmentalised chemistries run by poly-nucleotides (e.g., the ‘ribocell’ model), protocell systems with molecular components of lower complexity should be investigated as units of pre-Darwinian evolution. The overarching question then becomes: how can far-from-equilibrium chemical assemblies that involve low-molecular-weight species be launched in the lab, so that they manage to divide with regularity, explore an ample range of --sufficiently robust-- phenotypes, and have potential to set up mechanisms for reliable heredity and open-ended evolution?

The molecular and organisational innovations leading to major transitions in the process of origins of life (indicated with a blue ‘MT’ in Fig. 1) are not easy to determine and their elucidation will require the effort of many research groups in the future. Overcoming such prebiotic evolutionary bottlenecks surely involved complex processes of functional re-organisation and re-integration by the individuals involved. On these lines, we would like to end this commentary highlighting the idea that ‘protocell population dynamics’, so necessary for the progressive unfolding of phylogenetic (i.e., reliable trans-generational) pathways, are bound to have other, more immediate *proto-ecological* implications that could turn very relevant in order to understand those bottleneck transitions. The generation of competitive relationships among different kinds of protocells, surely leading to primitive food-webs and diverse modes of selective pressure, could also be accompanied by other types of symbiotic or collaborative interactions that probably played non-trivial roles in that sense. In fact, those collective dynamics could trigger (through protocell fusion and recombination of complementary components) functional (re-)integration events beyond the minimal compartmentalized chemistries that we have mostly focused on here. Still regretting Harold Morowitz’s recent decease, we consider that his intuition that «sustained life is a property of an ecological system rather than a single organism or species» [62] should guide future scientific attempts to bring light into the fascinating riddle of biogenesis.

Acknowledgements

BS-E is a postdoctoral fellow at the Interdisciplinary Computing and Complex BioSystems Group, supported by EPSRC grant no. EP/N031962/1. SM-S, PhD student of the University of the Basque Country (UPV-EHU), is temporarily working at the Konrad Lorenz Institute for Evolution and Cognition Research (KLI), thanks to a 'KLI Writing-up Fellowship 2016/2017'. KR-M's research received financial support from the Basque Government (IT 590-13 Grant) and from the Spanish Ministry of Economía y Competitividad (MINECO, grant FFI2014-52173-P). Authors also acknowledge the help for European networking and interactions provided by COST Actions CM1304 ('Emergence and evolution of complex chemical systems') and TD1308 ('Origins and evolution of life on Earth and in the Universe').

References

1. Ruiz-Mirazo, K.; Briones, C.; de la Escosura, A. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (1), 285.
2. de la Escosura, A.; Briones, C.; Ruiz-Mirazo, K. *J. Theor. Biol.* **2015**, *381*, 11.
3. Zimmerman, S. B.; Minton, A. P. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1993**, *22* (1), 27.
4. Zhou, H.-X.; Rivas, G.; Minton, A. P. *Annu. Rev. Biophys.* **2008**, *37* (1), 375.
5. Spitzer, J.; Poolman, B. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2009**, *73* (2), 371.
6. Zimmerberg, J. *Curr. Biol.* **2006**, *16* (8), R272.
7. Skulachev, V. P. *Eur. J. Biochem.* **1992**, *208* (2), 203.
8. Harold, F. *The Way of the Cell: Molecules, Organisms, and the Order of Life*; Oxford University Press, **2001**.
9. Turing, A. M. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **1952**, *237* (641), 37.
10. Kondo, S.; Miura, T. *Science* (80-.). **2010**, *329* (5999), 1616.
11. Vanag, V. K.; Epstein, I. R. *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87* (22), 228301.
12. Segré, D.; Ben-Eli, D.; Deamer, D. W.; Lancet, D. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, *31* (1–2), 119.
13. Luisi, P. L.; Ferri, F.; Stano, P. *Naturwissenschaften* **2006**, *93* (1), 1.
14. Chen, I. A.; Walde, P. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2* (7), a002170.
15. Stano, P.; Carrara, P.; Kuruma, Y.; Pereira de Souza, T.; Luisi, P. L. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21* (47), 18887.
16. Ruiz-Mirazo, K. In *Encyclopedia of Astrobiology* (Gargaud, M., Amils, R., Cernicharo Quintanilla, J., Cleaves, H.J., Irvine, W.M., Pinti, D., Viso, M., Eds.). Springer. Heidelberg, Germany.; **2011**; pp 1353–1354.
17. Oparin, A. I. *Life: its nature, origin and development*; Oliver and Boyd, Edinburgh, **1961**.

18. Tang T-Y., D.; Hak C., R. C.; Thompson, A. J.; Kuimova, M. K.; S., W.; Perriman, A. W.; Mann, S. *Nat Chem* **2014**, *6* (6), 527.
19. Cavalier-Smith, T. *J. Mol. Evol.* **2001**, *53* (4–5), 555.
20. Blobel, G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1980**, *77* (3), 1496.
21. Griffiths, G. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8* (12), 1018.
22. Bernal, J. *The physical basis of life*; Routledge and Paul, London **1951**.
23. Cairns-Smith, A. *Genetic takeover and the mineral origins of life*; Cambridge University Press, New York, **1982**.
24. Wächtershäuser, G. *Microbiol. Rev.* **1988**, *52* (4), 452.
25. Ferris, J. P.; Ertem, G. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1992**, *22* (6), 369.
26. Martin, W.; Russell, M. J. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **2003**, *358* (1429), 59.
27. Dworkin, J. P.; Deamer, D. W.; Sandford, S. A.; Allamandola, L. J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98* (3), 815.
28. Rushdi, A. I.; Simoneit, B. R. T. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, *31* (1/2), 103.
29. Namani, T.; Deamer, D. W. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2008**, *38* (4), 329.
30. Mansy, S. S.; Szostak, J. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105* (36), 13351.
31. Chen, I. A.; Szostak, J. W. *Biophys. J.* **2004**, *87* (2), 988.
32. Ho, J. C. S.; Rangamani, P.; Liedberg, B.; Parikh, A. N. *Langmuir* **2016**, *32* (9), 2151.
33. Cheng, Z.; Luisi, P. L. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (39), 10940.
34. Chen, I. A.; Roberts, R. W.; Szostak, J. W. *Science*. **2004**, *305* (5689), 1474.
35. Budin, I.; Szostak, J. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108* (13), 5249.
36. Shirt-Ediss, B.; Ruiz-Mirazo, K.; Mavelli, F.; Solé, R. V. *Sci. Rep.* **2014**, *4*.
37. Shimizu, Y.; Inoue, A.; Tomari, Y.; Suzuki, T.; Yokogawa, T.; Nishikawa, K.; Ueda, T. *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19* (8), 751.
38. Ishikawa, K.; Sato, K.; Shima, Y.; Urabe, I.; Yomo, T. *FEBS Lett.* **2004**, *576* (3), 387.
39. Noireaux, V.; Libchaber, A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101* (51), 17669.
40. Ruiz-Mirazo, K.; Moreno, A. *Artif. Life* **2004**, *10* (3), 235.
41. Szostak, J. W. *J. Syst. Chem.* **2012**, *3* (1), 2.
42. Piedrafita, G.; Ruiz-Mirazo, K.; Monnard, P.-A.; Cornish-Bowden, A.; Montero, F. *PLoS One* **2012**, *7* (6), e39480.
43. Shirt-Ediss, B., Modelling Early Transitions Toward Autonomous Protocells. Ph.D. Thesis; ArXiv Preprint. <https://arxiv.org/abs/1606.03620> **2016**
44. Szathmary, E. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2007**, *362* (1486), 1781.
45. Mossio, M.; Moreno, A. *Hist. Philos. Life Sci.* **2010**, *32* (2–3), 269.

46. Sutherland, J. D. *Nat. Rev. Chem.* **2017**, *1*, 12.
47. Walde, P.; Umakoshi, H.; Stano, P.; Mavelli, F. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (71), 10177.
48. Ichihashi, N.; Yomo, T. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *22*, 12.
49. Grochmal, A.; Prout, L.; Makin-Taylor, R.; Prohens, R.; Tomas, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (38), 12269.
50. Murillo-Sánchez, S.; Beaufils, D.; González Mañas, J. M.; Pascal, R.; Ruiz-Mirazo, K. *Chem. Sci.* **2016**, *7* (5), 3406.
51. Izgu, E. C.; Björkbohm, A.; Kamat, N. P.; Lelyveld, V. S.; Zhang, W.; Jia, T. Z.; Szostak, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (51), 16669.
52. Shirt-Ediss, B.; Solé, R.; Ruiz-Mirazo, K. *Life* **2015**, *5* (1), 181.
53. Hardy, M. D.; Yang, J.; Selimkhanov, J.; Cole, C. M.; Tsimring, L. S.; Devaraj, N. K. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, *112* (27), 8187.
54. Szostak, J. W.; Bartel, D. P.; Luisi, P. L. *Nature* **2001**, *409* (6818), 387.
55. Mansy, S. S.; Schrum, J. P.; Krishnamurthy, M.; Tobé, S.; Treco, D. A.; Szostak, J. W. *Nature* **2008**, *454* (7200), 122.
56. Kurihara, K.; Okura, Y.; Matsuo, M.; Toyota, T.; Suzuki, K.; Sugawara, T. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8352.
57. Ichihashi, N.; Usui, K.; Kazuta, Y.; Sunami, T.; Matsuura, T.; Yomo, T. *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2494.
58. Moreno, A.; Ruiz-Mirazo, K. *Biol. Philos.* **2009**, *24* (5), 585.
59. Matsumura, S.; Kun, A.; Ryckelynck, M.; Coldren, F.; Szilagyi, A.; Jossinet, F.; Rick, C.; Nghe, P.; Szathmary, E.; Griffiths, A. D. *Science* (80-). **2016**, *354* (6317), 1293.
60. Mavelli, F.; Ruiz-Mirazo, K. *Integr. Biol.* **2013**, *5* (2), 324.
61. Zhu, T. F.; Szostak, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5705.
62. Morowitz, H. *Beginnings of Cellular Life: Metabolism Recapitulates Biogenesis*; Yale Univ. Press, New Haven, London, **1992**

Bibliografía

- Adamala, K., Engelhart, A. E. and Szostak, J. W. (2015) 'Generation of functional RNAs from inactive oligonucleotide complexes by non-enzymatic primer extension.', *Journal of the American Chemical Society*, 137(1), pp. 483–9
- Adamala, K. and Szostak, J. W. (2013) 'Competition between model protocells driven by an encapsulated catalyst.', *Nature Chemistry*, 5(6), pp. 495–501
- Alpermann, T., Rüdell, K., Rüger, R., Steiniger, F., Nietzsche, S., Filiz, V., Förster, S., Fahr, A. and Weigand, W. (2011) 'Polymersomes Containing Iron Sulfide (FeS) as Primordial Cell Model', *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 41(2), pp. 103–119
- Arnellos, A., Moreno, A. and Ruiz-Mirazo, K. (2014) 'Organizational requirements for multicellular autonomy: insights from a comparative case study', *Biology & Philosophy*, 29(6), pp. 851–884
- Armstrong, D. W., Seguin, R., McNeal, C. J., Macfarlane, R. D. and Fendler, J. H. (1978) 'Spontaneous polypeptide formation from amino acyl adenylates in surfactant aggregates', *Journal of the American Chemical Society*, 100(14), pp. 4605–4606
- Ashkenasy, G., Jagasia, R., Yadav, M. and Ghadiri, M. R. (2004) 'Design of a directed molecular network.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(30), pp. 10872–7
- Atamer, E. (2011) 'Dissipative Individuation', *Parrhesia*, 12, pp. 57–70
- Barandiaran, X. E. and Egbert, M. D. (2014) 'Norm-Establishing and Norm-Following in Autonomous Agency', *Artificial Life*, 20(1), pp. 5–28
- Bartel, D. P. and Szostak, J. W. (1993) 'Isolation of new ribozymes from a large pool of random sequences', *Science (New York, N.Y.)*, 261(5127), pp. 1411–8
- Batten, D., Salthe, S. and Boschetti, F. (2008) 'Visions of Evolution: Self-organization Proposes What Natural Selection Disposes', *Biological Theory*, 3(1), pp. 17–29
- Bedau, M. A., McCaskill, J. S., Packard, N. H. and Rasmussen, S. (2010) 'Living Technology: Exploiting Life's Principles in Technology', *Artificial Life*, 16(1), pp. 89–97
- Behe, M. (2001) 'Response to reviews of Darwin's Black Box: the biochemical challenge to evolution', *Biology and Philosophy*, 16, pp. 685–709
- Belowich, M. E., Valente, C. and Stoddart, J. F. (2010) 'Template-directed syntheses of rigid oligorotaxanes under thermodynamic control.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 49(40), pp. 7208–12

- Belowich, M. E., Valente, C., Smaldone, R. A., Friedman, D. C., Thiel, J., Cronin, L. and Stoddart, J. F. (2012) 'Positive cooperativity in the template-directed synthesis of monodisperse macromolecules.', *Journal of the American Chemical Society*, 134(11), pp. 5243–61
- Besenius, P., Cormack, P. A. G., Ludlow, R. F., Otto, S. and Sherrington, D. C. (2008) 'Polymer-supported cationic templates for molecular recognition of anionic hosts in water.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, (24), pp. 2809–11
- Besenius, P., Cormack, P. A. G., Ludlow, R. F., Otto, S. and Sherrington, D. C. (2010) 'Affinity chromatography in dynamic combinatorial libraries: one-pot amplification and isolation of a strongly binding receptor.', *Organic & biomolecular chemistry*, 8(10), pp. 2414–8
- Bich, L., Mossio, M., Ruiz-Mirazo, K. and Moreno, A. (2016) 'Biological regulation: controlling the system from within', *Biology & Philosophy*, 31(2), pp. 237–265
- Bich, L. and Moreno, A. (2016) 'The role of regulation in the origin and synthetic modelling of minimal cognition.', *Bio Systems*, 148, pp. 12–21
- Bickhard, M. H. (2004) 'Process and Emergence: Normative Function and Representation', in "Process Theories", Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 121–155
- Bigelow, J. and Pargetter, R. (1987) 'Functions', *The Journal of Philosophy*, 84(4), p. 181
- Bishop, R. C. (2012) 'Fluid convection, constraint and causation', *Interface Focus*, 2(1), pp. 4–12
- Blain, J. C. and Szostak, J. W. (2014) 'Progress toward synthetic cells.', *Annual review of biochemistry*, 83, pp. 615–40
- Blocher, M., Walde, P. and Dunn, I. J. (1999) 'Modeling of enzymatic reactions in vesicles: the case of alpha-chymotrypsin.', *Biotechnology and bioengineering*, 62(1), pp. 36–43
- Blocher, M., Hitz, T. and Luisi, P. L. (2001) 'Stereoselectivity in the Oligomerization of Racemic TryptophanN-Carboxyanhydride (NCA-Trp) as Determined by Isotope Labeling and Mass Spectrometry', *Helvetica Chimica Acta*, 84(4), pp. 842–848
- Blöchl, E., Keller, M., Wachtershäuser, G. and Stetter, K. O. (1992) 'Reactions depending on iron sulfide and linking geochemistry with biochemistry', *PNAS*, 89, pp. 8117–8120
- Bock, W. J. and von Wahlert, G. (1965) 'Adaptation and the Form-Function Complex', *Evolution*, 19(3), p. 269
- Bohler, C., Hill, A. R. and Orgel, L. E. (1996) 'Catalysis of the oligomerization of O-phospho-serine, aspartic acid, or glutamic acid by cationic micelles.', in *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 26(1), pp. 1–5
- Boorse, C. (2002) 'A rebuttal on functions', *Oxford University Press*
- van Brakel, J. (2012) 'Substances: the ontology of chemistry', in "Philosophy of chemistry: Handbook of the philosophy of Science", *Elsevier*. 6, pp. 191–229
- Briones, C., Domingo, E. and Molina-París, C. (2003) 'Memory in retroviral quasispecies: experimental evidence and theoretical model for human immunodeficiency virus.', *Journal of molecular biology* 331(1), pp. 213–29
- Budin, I., Prwyys, N., Zhang, N. and Szostak, J. W. (2014) 'Chain-length heterogeneity allows for the assembly of fatty acid vesicles in dilute solutions.', *Biophysical journal*, 107(7), pp. 1582–90
- Budin, I. and Szostak, J. W. (2011) 'Physical effects underlying the transition from primitive to modern cell membranes.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(13), pp. 5249–54

- Bugaut, A., Jantos, K., Wietor, J.-L., Rodriguez, R., Sanders, J. K. M. and Balasubramanian, S. (2008) 'Exploring the differential recognition of DNA G-quadruplex targets by small molecules using dynamic combinatorial chemistry.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 47(14), pp. 2677–80
- Bugaut, A., Toulmé, J.-J. and Rayner, B. (2006) 'SELEX and dynamic combinatorial chemistry interplay for the selection of conjugated RNA aptamers.', *Organic & biomolecular chemistry*, 4(22), pp. 4082–8
- Buller, D. J. (1998) 'Ethiological theories of function: a geographical survey', *Biology and Philosophy*, 13(4), pp. 505–527
- Buss, L. (1987) 'The Evolution of Individuality', *Princeton University Press*
- Busseron, E., Ruff, Y., Moulin, E. and Giuseppone, N. (2013) 'Supramolecular self-assemblies as functional nanomaterials', *Nanoscale*, 5(16), p. 7098
- Callahan, H. S., Pigliucci, M. and Schlichting, C. D. (1997) 'Developmental phenotypic plasticity: Where ecology and evolution meet molecular biology', *BioEssays*, 19(6), pp. 519–525
- Campaña, A. G., Carlone, A., Chen, K., Dryden, D. T. F., Leigh, D. A., Lewandowska, U. and Mullen, K. M. (2012) 'A small molecule that walks non-directionally along a track without external intervention.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 51(22), pp. 5480–3
- Campbell, V. E., de Hatten, X., Delsuc, N., Kauffmann, B., Huc, I. and Nitschke, J. R. (2010) 'Cascading transformations within a dynamic self-assembled system.', *Nature chemistry*, 2(8), pp. 684–7
- Canfield, J. (1965) 'Teleological explanation in Biology: A Reply', *The British Journal for the Philosophy of Science*, XV(60), pp. 327–331
- Carnall, J. M. A., Waudby, C. A., Belenguer, A. M., Stuart, M. C. A., Peyralans, J. J.-P. and Otto, S. (2010) 'Mechanosensitive self-replication driven by self-organization.', *Science (New York, N.Y.)*, 327(5972), pp. 1502–6
- Caschera, F., Sunami, T., Matsuura, T., Suzuki, H., Hanczyc, M. M. and Yomo, T. (2011) 'Programmed vesicle fusion triggers gene expression.', *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 27(21), pp. 13082–90
- Cech, T. R. (1986) 'A model for the RNA-catalyzed replication of RNA', *PNAS*, 83, pp. 4360–4363
- Chabot, P. (2002) 'La Philosophie de Simondon', *Vrin (ed)*
- Chaur, M. N., Collado, D. and Lehn, J.-M. (2011) 'Configurational and constitutional information storage: multiple dynamics in systems based on pyridyl and acyl hydrazones.', *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 17(1), pp. 248–58
- Chen, I. A., Roberts, R. W. and Szostak, J. W. (2004) 'The Emergence of Competition Between Model protocells', *Science*, 305(5689), pp. 1474–1476
- Chen, I. A. and Szostak, J. W. (2004) 'Membrane growth can generate a transmembrane pH gradient in fatty acid vesicles.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), pp. 7965–70
- Chen, I. A., Salehi-Ashtiani, K. and Szostak, J. W. (2005) 'RNA catalysis in model protocell vesicles.', *Journal of the American Chemical Society*, 127(38), pp. 13213–9
- Chen, I. A. and Nowak, M. A. (2012) 'From Prolife to Life: How Chemical Kinetics Become Evolutionary Dynamics', *Accounts of Chemical Research*, 45(12), pp. 2088–2096
- Cheng, Z. and Luisi, P. L. (2003) 'Coexistence and Mutual Competition of Vesicles with Different Size Distributions', *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(39), pp. 10940–10945

- Christensen, W. D. and Bickhard, M. H. (2002) 'The Process Dynamics of Normative Function', *The Monist*, 901, pp. 280–291
- Chung, M.-K., White, P. S., Lee, S. J. and Gagné, M. R. (2009) 'Synthesis of interlocked 56-membered rings by dynamic self-templating.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 48(46), pp. 8683–6
- Chung, M.-K., Lee, S. J., Waters, M. L. and Gagné, M. R. (2012) 'Self-Assembled Multi-Component Catenanes: The Effect of Multivalency and Cooperativity on Structure and Stability', *Journal of the American Chemical Society*, 134(28), pp. 11430–11443
- Clarke, E. (2013) 'The Multiple Realizability of Biological Individuals', *Journal of Philosophy*, 110(8), pp. 413–435
- Collier, J. (2000) 'Autonomy and process closure as the basis for functionality', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 901, pp. 280–90
- Collier, J. (2004) 'Self-organization, Individuation and Identity', *Revue Internationale de Philosophie*, 58(228), pp. 151–172
- Copley, S. D., Smith, E. and Morowitz, H. J. (2007) 'The origin of the RNA world: Co-evolution of genes and metabolism', *Bioorganic Chemistry*, 35(6), pp. 430–443
- Craver, C. F. (2001) 'Role Functions, Mechanisms, and Hierarchy', *Philosophy of Science*, 68(1), pp. 53–74
- Cummins, R. (1975) 'Functional Analysis', *The Journal of Philosophy*, 72(20), p. 741
- Cummins, R. C. (2002) 'Neo-teleology', *Oxford University Press*
- Dadon, Z., Samiappan, M., Wagner, N. and Ashkenasy, G. (2012) 'Chemical and light triggering of peptide networks under partial thermodynamic control.', *Chemical communications (Cambridge, England)* 48(10), pp. 1419–21
- Dadon, Z., Wagner, N. and Ashkenasy, G. (2008) 'The road to non-enzymatic molecular networks.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 47(33), pp. 6128–36
- Danger, G., Plasson, R. and Pascal, R. (2012) 'Pathways for the formation and evolution of peptides in prebiotic environments.', *Chemical Society reviews*, 41(16), pp. 5416–29
- Danger, G., Michaut, A., Bucchi, M., Boiteau, L., Canal, J., Plasson, R. and Pascal, R. (2013) '5(4H)-oxazolones as intermediates in the carbodiimide- and cyanamide-promoted peptide activations in aqueous solution.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 52(2), pp. 611–4
- Davies, P. S. (1994) 'Troubles For Direct Proper Functions', *Noûs*, 28(3), p. 363
- Davies, P. S. (2001) 'Malfunctions', *Biology and Philosophy*, 15(1), pp. 19–38
- Dawkins, R. (1982) 'The extended phenotype', *Oxford University Press*
- Daza, E. E. and Bernal, A. (2010) 'On the Epistemological and Ontological Status of Chemical Relations', *HYLE, International Journal for Philosophy of Chemistry*, 16(2), pp. 80–103
- Deamer, D. W. (1985) 'Boundary structures are formed by organic components of the Murchison carbonaceous chondrite', *Nature*, 317(6040), pp. 792–794
- Deamer, D. W. (2008) 'Origins of life: How leaky were primitive cells?', *Nature*, 454(7200), pp. 37–8
- Delancey, C. S. (2006) 'Ontology and Teleofunctions: A Defense and Revision of the Systematic Account of Teleological Explanation', *Synthese*, 150(1), pp. 69–98

- von Delius, M., Geertsema, E. M., Leigh, D. A. and Tang, D.-T. D. (2010) 'Design, synthesis, and operation of small molecules that walk along tracks.', *Journal of the American Chemical Society*, 132(45), pp. 16134–45
- Depew, D. J. and Weber, B. H. (1995) 'Darwinism Evolving'
- Díaz Arenas, C. and Lehman, N. (2010) 'Quasispecies-like behavior observed in catalytic RNA populations evolving in a test tube.', *BMC evolutionary biology*, 10, p. 80
- Diéguez, A. J. (1995) 'Realismo y Antirrealismo en la discusión sobre la existencia de los átomos', *Philosophica Malacitana*, 8, pp. 49–65
- DiFrisco, J. (2014) 'Hylomorphism and the Metabolic Closure Conception of Life', *Acta Biotheoretica*, 62(4), pp. 499–525
- DiFrisco, J. (2017) 'Kinds of biological individuals: sortals, projectibility, and selection', *British Journal for the Philosophy of Science* (bajo revisión)
- Dobzhansky, T. (1973) 'Nothing in Biology Makes Sense except in the Light of Evolution', *The American Biology Teacher*, 35(3), pp. 125–129
- Domingo, E., Sabo, D., Taniguchi, T. and Weissmann, C. (1978) 'Nucleotide sequence heterogeneity of an RNA phage population.', *Cell*, 13(4), pp. 735–44
- Domingo, E. (2000) 'Viruses at the Edge of Adaptation', *Virology*, 270(2), pp. 251–253
- Domingo, E., Mas, A., Yuste, E., Pariente, N., Sierra, S., Gutiérrez-Riva, M. and Menéndez-Arias, L. (2001) 'Virus population dynamics, fitness variations and the control of viral disease: an update.', *Progress in drug research*, 57, pp. 77–115
- Drobner, E., Huber, H., Wächtershäuser, G., Rose, D. and Stetter, K. O. (1990) 'Pyrite formation linked with hydrogen evolution under anaerobic conditions', *Nature*, 346(6286), pp. 742–744
- Dyson, F. J. (1985) 'Origins of Life', *Cambridge University Press U.K.*
- Earley, J. E. (2005) 'Why there is No Salt in the Sea', *Foundations of Chemistry*, 7(1), pp. 85–102
- Edin, B. B. (2008) 'Assigning biological functions: making sense of causal chains', *Synthese*, 161(2), pp. 203–218
- Eigen, M. (1971) 'Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules.', *Die Naturwissenschaften*, 58(10), pp. 465–523
- Eigen, M. and Schuster, P. (1977) 'The hypercycle. A principle of natural self-organization.', (1st ed.) *Springer*
- Elani, Y., Law, R. V and Ces, O. (2014) 'Vesicle-based artificial cells as chemical microreactors with spatially segregated reaction pathways.', *Nature communications*, 5, p. 5305
- Ellington, A. D. and Szostak, J. W. (1990) 'In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands.', *Nature*, 346(6287), pp. 818–22
- Ellis, R. J. (2001) 'Macromolecular crowding: obvious but underappreciated.', *Trends in biochemical sciences*, 26(10), pp. 597–604
- Engelhart, A. E., Adamala, K. P. and Szostak, J. W. (2016) 'A simple physical mechanism enables homeostasis in primitive cells.', *Nature chemistry*, 8(5), pp. 448–53
- Epstein, I. R. (2014) 'Coupled chemical oscillators and emergent system properties', *Chemical Communications*, 50(74), p. 10758

- de la Escosura, A., Briones, C. and Ruiz-Mirazo, K. (2015) ‘The systems perspective at the crossroads between chemistry and biology’, *Journal of Theoretical Biology*, 381
- Etzeberria, A. and Nuño-de la Rosa, L. (2009) ‘A world of opportunity within constraint: Pere Alberch’s early EvoDevo’, en “Pere Alberch. The creative trajectory of an evo-devo biologist”, *Publicacions Universitat de València*
- Fallah-Araghi, A., Meguellati, K., Baret, J.-C., El Harrak, A., Mangeat, T., Karplus, M., Ladame, S., Marques, C. M. and Griffiths, A. D. (2014) ‘Enhanced chemical synthesis at soft interfaces: a universal reaction-adsorption mechanism in microcompartments.’, *Physical review letters*, 112(2), p. 28301
- Faramarzi, V., Niess, F., Moulin, E., Maaloum, M., Dayen, J.-F., Beaufrand, J.-B., Zanettini, S., Doudin, B. and Giuseppone, N. (2012) ‘Light-triggered self-construction of supramolecular organic nanowires as metallic interconnects’, *Nature Chemistry*, 4(6), pp. 485–490
- Fell, D. A. (2007) ‘How can we understand metabolism?’, on “Systems Biology: Philosophical Foundations”. Boogerd FC, Bruggeman FJ, Hofmeyr J-HS, Westerhoff HV (Eds); Amsterdam
- Folse, H. J. and Roughgarden, J. (2010) ‘What is an individual organism? A multilevel selection perspective.’, *The Quarterly review of biology*, 85(4), pp. 447–72
- Frank, S. A. (1997) ‘Models of Symbiosis’, *The American Naturalist*, 150(S1), pp. S80–S99
- Frank, S. A. (2003) ‘Perspective: repression of competition and the evolution of cooperation.’, *Evolution; international journal of organic evolution*, 57(4), pp. 693–705
- Furuuchi, R., Imai, E.-I., Honda, H., Hatori, K. and Matsuno, K. (2005) ‘Evolving lipid vesicles in prebiotic hydrothermal environments.’, *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 35(4), pp. 333–43
- Gánti, T. (1997) ‘Biogenesis Itself’, *Journal of Theoretical Biology*, 187(4), pp. 583–593
- Ganti, T. (2003) ‘The Principles of Life’, *Oxford University Press*
- Gasparini, G., Molin, M. D. and Prins, L. (2010) ‘Dynamic Approaches Towards Catalyst Discovery’, *European Journal of Organic Chemistry*, 13, pp. 2429–2440
- Gibson, D. G., Glass, J. I., Lartigue, C., Noskov, V. N., Chuang, R.-Y., Algire, M. A., Benders, G. A., Montague, M. G., Ma, L., Moodie, M. M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E. A., Young, L., Qi, Z.-Q., Segall-Shapiro, T. H., Calvey, C. H., Parmar, P. P., Hutchison, C. A., Smith, H. O. and Venter, J. C. (2010) ‘Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome’, *Science*, 329(5987), pp. 52–56
- Gilbert, W. (1986) ‘Origin of life: The RNA world’, *Nature*, 319(6055), pp. 618–618
- Giuseppone, N. (2012) ‘Toward self-constructing materials: a systems chemistry approach.’, *Accounts of chemical research*, 45(12), pp. 2178–88
- Godfrey-Smith, P. (1994) ‘A Modern History Theory of Functions’, *Noûs*, 28(3), p. 344
- Godfrey-Smith, P. (2009) Darwinian Populations and Natural Selection
- Gould, S. J. and Vrba, E. S. (1982) ‘Exaptation—a Missing Term in the Science of Form’, *Paleobiology*, 8(1), pp. 4–15
- Grene, M. (1966) ‘Positionality in the Philosophy of Helmuth Plessner’, *The Review of Metaphysics*, 20, pp. 250–277
- Griesemer, J. (2008) ‘Philosophy and tinkering’, *Biology & Philosophy*, 26(2), pp. 269–279

- Griffiths, P. E. (1993) 'Functional Analysis and Proper Functions', *The British Journal for the Philosophy of Science*, 44(3), pp. 409–422
- Grimm, V. and Railsback, S. F. (2005) 'Individual-based modeling and Ecology', *Princeton University Press*
- Grochmal, A., Prout, L., Makin-Taylor, R., Prohens, R. and Tomas, S. (2015) 'Modulation of reactivity in the cavity of liposomes promotes the formation of peptide bonds.', *Journal of the American Chemical Society*, 137(38), pp. 12269–75
- Guerrier-Takada, C., McClain, W. H. and Altman, S. (1984) 'Cleavage of tRNA precursors by the RNA subunit of E. coli ribonuclease P (M1 RNA) is influenced by 3'-proximal CCA in the substrates.', *Cell*, 38(1), pp. 219–24
- Hanczyc, M. M. (2011) 'Metabolism and motility in prebiotic structures.', *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 366(1580), pp. 2885–93
- Hardcastle, V. G. (2002) 'On the normativity of functions', *New Essays in the Philosophy of Psychology and Biology*. *Oxford University Press*, pp. 144–156
- Hardy, M. D., Yang, J., Selimkhanov, J., Cole, C. M., Tsimring, L. S. and Devaraj, N. K. (2015) 'Self-reproducing catalyst drives repeated phospholipid synthesis and membrane growth', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), pp. 8187–8192
- Harré, R. and Llored, J.-P. (2013) 'Molecules and mereology', *Foundations of Chemistry*, 15(2), pp. 127–144
- Hartwell, L. H., Hopfield, J. J., Leibler, S. and Murray, A. W. (1999) 'From molecular to modular cell biology', *Nature*, 402(supp), pp. C47–C52
- Heinrich, R. and Rapoport, T. A. (1974) 'A linear steady-state treatment of enzymatic chains. General properties, control and effector strength.', *European journal of biochemistry*, 42(1), pp. 89–95
- Hempel, C. (1959) 'The Logic of Functional Analysis', *Symposium on Sociological Theory*
- Hitz, T., Blocher, M., Walde, P. and Luisi, P. L. (2001) 'Stereoselectivity Aspects in the Condensation of Racemic NCA–Amino Acids in the Presence and Absence of Liposomes', *Macromolecules*, 34(8), pp. 2443–2449
- Hitz, T. and Luisi, P. L. (2000) 'Liposome-assisted selective polycondensation of alpha-amino acids and peptides.', *Biopolymers*, 55(5), pp. 381–90
- Hoelzer, G. A., Smith, E. and Pepper, J. W. (2006) 'On the logical relationship between natural selection and self-organization', *Journal of Evolutionary Biology*, 19(6), pp. 1785–1794
- Hofmeyr, J.-H. S. (2017) 'Basic Biological Anticipation', *Book chapter*
- Horan, B. L. (1989) 'Functional explanations in sociobiology', *Biology and Philosophy*, 4(2), pp. 131–158
- Hordijk, W., Steel, M. and Kauffman, S. A. (2013) 'The Origin of Life, Evolution, and Functional Organization', *Evolutionary Biology: Exobiology and Evolutionary Mechanisms*, pp. 49–60
- Hordijk, W. and Steel, M. (2004) 'Detecting autocatalytic, self-sustaining sets in chemical reaction systems', *Journal of Theoretical Biology*, 227(4), pp. 451–461
- Horning, D. P. and Joyce, G. F. (2016) 'Amplification of RNA by an RNA polymerase ribozyme.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(35), pp. 9786–91
- Hull, D. L. (1980) 'Individuality and Selection', *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11(1), pp. 311–332

- Hutchison, C. A., Chuang, R.-Y., Noskov, V. N., Assad-Garcia, N., Deerinck, T. J., Ellisman, M. H., Gill, J., Kannan, K., Karas, B. J., Ma, L., Pelletier, J. F., Qi, Z.-Q., Richter, R. A., Strychalski, E. A., Sun, L., Suzuki, Y., Tsvetanova, B., Wise, K. S., Smith, H. O., Glass, J. I., Merryman, C., Gibson, D. G. and Venter, J. C. (2016) 'Design and synthesis of a minimal bacterial genome', *Science*, 351(6280), p. aad6253-aad6253
- Iwasawa, N. and Takahagi, H. (2007) 'Boronic esters as a system for crystallization-induced dynamic self-assembly equipped with an "on-off" switch for equilibration.', *Journal of the American Chemical Society*, 129(25), pp. 7754–5
- Izgu, E. C., Björkbom, A., Kamat, N. P., Lelyveld, V. S., Zhang, W., Jia, T. Z. and Szostak, J. W. (2016) 'N-Carboxyanhydride-Mediated Fatty Acylation of Amino Acids and Peptides for Functionalization of protocell membranes.', *Journal of the American Chemical Society*, 138(51), pp. 16669–16676
- Jonas, E. and Kording, K. P. (2017) 'Could a Neuroscientist Understand a Microprocessor?', *PLOS Computational Biology*
- Jonas, H. (1966) 'The Phenomenon of Life: Toward a Philosophical Biology', *Studies in Phenomenology and Existential Philosophy*
- Joyce, G. F. (1994) 'Foreword', In D. W. Deamer & G. R. Fleischker (Eds.), *Origins of Life: The Central Concepts* (pp. xi – xii)
- Juarrero, A. (1999) 'Dynamics in Action: Intentional Behavior as a Complex System', *MIT Press*, p. 228
- Juarrero, A. (2000) 'Dynamics in Action: Intentional Behavior as a Complex System', *Emergence*, 2(2), pp. 24–57
- Kacser, H. and Burns, J. A. (1973) 'The control of flux.', *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 27, pp. 65–104
- Karlsson, M., Davidson, M., Karlsson, R., Karlsson, A., Bergenholtz, J., Konkoli, Z., Jesorka, A., Lobovkina, T., Hurtig, J., Voinova, M. and Orwar, O. (2004) 'Biomimetic Nanoscale Reactors and Networks', *Annual Review of Physical Chemistry*, 55(1), pp. 613–649
- Karsenti, E. (2008) 'Self-organization in cell biology: a brief history.', *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(3), pp. 255–62
- Kauffman, S. A. (1986) 'Autocatalytic sets of proteins.', *Journal of theoretical biology*, 119(1), pp. 1–24
- Kauffman, S. A. (2000) 'Investigations', *Oxford University Press*
- Kholodenko, B. N. (2006) 'Cell-signalling dynamics in time and space', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(3), pp. 165–176
- von Kiedrowski, G. (1986) 'A Self-Replicating Hexadeoxynucleotide', *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(10), pp. 932–935
- von Kiedrowski, G., Wlotzka, B., Helbing, J., Matzen, M. and Jordan, S. (1991) 'Parabolic Growth of a Self-Replicating Hexadeoxynucleotide Bearing a 3'-5'-Phosphoamidate Linkage', *Angewandte Chemie International Edition in English*, 30(4), pp. 423–426
- von Kiedrowski, G. (1996) 'Origins of life. Primordial soup or crêpes?', *Nature*, 381(6577), pp. 20–1
- von Kiedrowski, G. (2005) 'Public Communication in Systems Chemistry Workshop', *Venice International University*, pp. 3–4
- von Kiedrowski, G., Otto, S. and Herdewijn, P. (2010) 'Welcome Home, Systems Chemists!', *Journal of Systems Chemistry*, 1(1), p. 1
- Kitano, H. (2002) 'Computational systems biology', *Nature*, 420(6912), pp. 206–210

- Kitcher, P. (1993) 'Function and Design', *Midwest Studies in Philosophy*, 18(1), pp. 379–397
- Kittleson, J. T., Wu, G. C. and Anderson, J. C. (2012) 'Successes and failures in modular genetic engineering', *Current Opinion in Chemical Biology*, 16(3–4), pp. 329–336
- Klekota, B., Hammond, M. H. and Miller, B. L. (1997) 'Generation of novel DNA-binding compounds by selection and amplification from self-assembled combinatorial libraries', *Tetrahedron Letters*, 38(50), pp. 8639–8642
- Kohs, U. and Callebaut, W. (2007) 'Data without models merging with models without data', en "Systems Biology: Philosophical Foundations". Boogerd FC, Bruggeman FJ, Hofmeyr J-HS, Westerhoff HV (Eds); Amsterdam, *Elsevier*, pp. 181–213
- Kondo, S. and Miura, T. (2010) 'Reaction-Diffusion Model as a Framework for Understanding Biological Pattern Formation', *Science*, 329(5999), pp. 1616–1620
- Kováříček, P. and Lehn, J.-M. (2012) 'Merging constitutional and motional covalent dynamics in reversible imine formation and exchange processes.', *Journal of the American Chemical Society*, 134(22), pp. 9446–55
- Krishnan, M., Mojarad, N., Kukura, P. and Sandoghdar, V. (2010) 'Geometry-induced electrostatic trapping of nanometric objects in a fluid', *Nature*, 467(7316), pp. 692–695
- Kurihara, K., Tamura, M., Shohda, K.-I., Toyota, T., Suzuki, K. and Sugawara, T. (2011) 'Self-reproduction of supramolecular giant vesicles combined with the amplification of encapsulated DNA.', *Nature chemistry*, 3(10), pp. 775–81
- Kurihara, K., Okura, Y., Matsuo, M., Toyota, T., Suzuki, K. and Sugawara, T. (2015) 'A recursive vesicle-based model protocell with a primitive model cell cycle', *Nature Communications*, 6, p. 8352
- Kwok, R. (2010) 'Five hard truths for synthetic biology', *Nature*, 463(7279), pp. 288–290
- Laland, K. N., Odling-Smee, J., Hoppitt, W. and Uller, T. (2013) 'More on how and why: cause and effect in biology revisited', *Biology & Philosophy*, 28(5), pp. 719–745
- Laland, K. N., Sterelny, K., Odling-Smee, J., Hoppitt, W. and Uller, T. (2011) 'Cause and Effect in Biology Revisited: Is Mayr's Proximate-Ultimate Dichotomy Still Useful?', *Science*, 334(6062), pp. 1512–1516
- Leclaire, J., Vial, L., Otto, S. and Sanders, J. K. M. (2005) 'Expanding diversity in dynamic combinatorial libraries: simultaneous exchange of disulfide and thioester linkages.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, (15), pp. 1959–61
- Lee, D. H., Granja, J. R., Martinez, J. A., Severin, K. and Ghadiri, M. R. (1996) 'A self-replicating peptide', *Nature*, 382(6591), pp. 525–528
- Lehn, J.-M. (1995) *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*.
- Lehn, J.-M. (1999) 'Dynamic Combinatorial Chemistry and Virtual Combinatorial Libraries', *Chemistry - A European Journal*, 5(9), pp. 2455–2463
- Letelier, J.-C., Soto-Andrade, J., Guíñez Abarzúa, F., Cornish-Bowden, A. and Luz Cárdenas, M. (2006) 'Organizational invariance and metabolic closure: Analysis in terms of systems', *Journal of Theoretical Biology*, 238(4), pp. 949–961
- Lewontin, R. C. (1970) 'The Units of Selection', *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1(1), pp. 1–18
- Li, J., Nowak, P. and Otto, S. (2013) 'Dynamic Combinatorial Libraries: From Exploring Molecular Recognition to Systems Chemistry', *Journal of the American Chemical Society*, 135(25), pp. 9222–9239

- Ludlow, R. F. and Otto, S. (2008) 'Systems chemistry.', *Chemical Society reviews*, 37(1), pp. 101–8
- Luisi, P. L. (2002) 'Emergence in Chemistry: Chemistry as the Embodiment of Emergence', *Foundations of Chemistry*, 4(3), pp. 183–200
- Mansy, S. S. (2010) 'Membrane transport in primitive cells.', *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(8), p. a002188
- Mansy, S. S., Schrum, J. P., Krishnamurthy, M., Tobé, S., Treco, D. A. and Szostak, J. W. (2008) 'Template directed synthesis of a genetic polymer in a model protocell.', *Nature*, 454(7200), pp. 122–5
- Matsumoto, Y., Ito, Y., Tsuru, S., Ying, B.-W. and Yomo, T. (2011) 'Bacterial cells carrying synthetic dual function operon survived starvation.', *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, p. 489265
- Matsuura, T., Hosoda, K., Kazuta, Y., Ichihashi, N., Suzuki, H. and Yomo, T. (2012) 'Effects of compartment size on the kinetics of intracompartamental multimeric protein synthesis.', *ACS synthetic biology*, 1(9), pp. 431–7
- Maturana, H. and Varela, F. (1980) 'Autopoiesis and Cognition: The Realization of the Living', *Boston Studies in the Philosophy of Science*, 42, p. 171
- Maturana, H. and Varela, F. (1995) 'De máquinas y seres vivos: autopoiesis, la organización de lo viviente' (1ª ed. de 1973)
- Mavelli, F. and Ruiz-Mirazo, K. (2007) 'Stochastic simulations of minimal self-reproducing cellular systems.', *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 362(1486), pp. 1789–802
- Mavelli, F. and Ruiz-Mirazo, K. (2013) 'Theoretical conditions for the stationary reproduction of model protocells', *Integr. Biol.*, 5(2), pp. 324–341
- Mayr, E. (1959) "'Typological versus Population Thinking'", *Evolution and Anthropology: A Centennial Appraisal*, pp. 409–412
- Mayr, E. (1961) 'Cause and Effect in Biology: Kinds of causes, predictability, and teleology are viewed by a practicing biologist', *Science*, 134(3489), pp. 1501–1506
- McNaughton, B. R., Gareiss, P. C. and Miller, B. L. (2007) 'Identification of a selective small-molecule ligand for HIV-1 frameshift-inducing stem-loop RNA from an 11,325 member resin bound dynamic combinatorial library.', *Journal of the American Chemical Society*, 129(37), pp. 11306–7
- McLaughlin, P. (2001) 'What Functions Explain'
- McLaughlin, P. (2009) 'Functions and norms', en "Functions in Biological and Artificial Worlds: Comparative Philosophical Perspectives", *MIT Press*
- Michellini, F. (2011) 'Il Vivente e la Mancanza (Scritti sulla teleologia)', *Mimesis*.
- Millikan, R. G. (1989) 'In Defense of Proper Functions', *Philosophy of Science*, 56(2), pp. 288–302
- Mills, D. R., Peterson, R. L. and Spiegelman, S. (1967) 'An Extracellular Darwinian Experiment With a Self-Duplicating Nucleic Acid Molecule', *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 58, pp. 217–224
- Minkenberg, C. B., Florusse, L., Eelkema, R., Koper, G. J. M. and van Esch, J. H. (2009) 'Triggered self-assembly of simple dynamic covalent surfactants.', *Journal of the American Chemical Society*, 131(32), pp. 11274–5
- Montévil, M. and Mossio, M. (2015) 'Biological organisation as closure of constraints.', *Journal of theoretical biology*, 372, pp. 179–91

- Moreno, A., Etxeberria, A. and Umerez, J. (2008) 'The autonomy of biological individuals and artificial models.', *Bio Systems*, 91(2), pp. 309–19
- Moreno, A. and Mossio, M. (2015) 'Biological Autonomy', *Springer*
- Moreno, A. and Ruiz-Mirazo, K. (2009) 'The problem of the emergence of functional diversity in prebiotic evolution', *Biology & Philosophy*, 24(5), pp. 585–605
- Morowitz, H. J. (1981) 'Phase separation, charge separation and biogenesis.', *Bio Systems*, 14(1), pp. 41–7
- Morowitz, H. J., Heinz, B. and Deamer, D. W. (1988) 'The chemical logic of a minimum protocell.', *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 18(3), pp. 281–7
- Morowitz, H. J. (1992) 'Beginnings of Cellular Life: Metabolism Recapitulates Biogenesis'
- Morowitz, H. J., Kostelnik, J. D., Yang, J. and Cody, G. D. (2000) 'The origin of intermediary metabolism', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(14), pp. 7704–7708
- Morowitz, H. and Smith, E. (2007) 'Energy flow and the organization of life', *Complexity*, 13(1), pp. 51–59
- Mossio, M. (2013) 'Closure, causal', on "Encyclopedia of Systems Biology" (Dubitzky, W.; Wolkenhauer, O.; Yokota, H.; Cho, K.-H.; Eds.). *Springer. Heidelberg, Germany*, pp. 415–418.
- Mossio, M. and Moreno, A. (2010) 'Organisational closure in biological organisms.', *History and philosophy of the life sciences*, 32(2–3), pp. 269–88
- Mossio, M., Saborido, C. and Moreno, A. (2009) 'An Organizational Account of Biological Functions', *The British Journal for the Philosophy of Science*, 60(4), pp. 813–841
- Moulin, E., Niess, F., Maaloum, M., Buhler, E., Nyrkova, I. and Giuseppone, N. (2010) 'The Hierarchical Self-Assembly of Charge Nanocarriers: A Highly Cooperative Process Promoted by Visible Light', *Angewandte Chemie International Edition*, 49(39), pp. 6974–6978
- Mullen, L. (2013) 'Forming a Definition for Life': Entrevista con Gerald Joyce, *Astrobiology Magazine*. Retrieved 2015-11-29
- Murillo-Sánchez, S., Beaufils, D., González Mañas, J. M., Pascal, R. and Ruiz-Mirazo, K. (2016) 'Fatty acids' double role in the prebiotic formation of a hydrophobic dipeptide', *Chem. Sci.*, 7(5), pp. 3406-3413
- Murillo-Sánchez, S. and Ruiz-Mirazo, K. (2016) 'La biología sintética como desafío para comprender la autonomía de lo vivo', *Isegoría*, (55), p. 551
- Nagel, E. (1961) 'The Structure of Science: Problems in the Logic of Scientific Explanation.', *The Philosophical Review*, 73(1), p. 104
- Namani, T. and Deamer, D. W. (2008) 'Stability of Model Membranes in Extreme Environments', *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 38(4), pp. 329–341
- Nanay, B. (2010) 'Population thinking as trope nominalism', *Synthese*, 177(1), pp. 91–109
- Neander, K. (1991) 'Functions as Selected Effects: The Conceptual Analyst's Defense', *Philosophy of Science*, 58(2), pp. 168–184
- Nguyen, R., Allouche, L., Buhler, E. and Giuseppone, N. (2009) 'Dynamic combinatorial evolution within self-replicating supramolecular assemblies.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 48(6), pp. 1093–6

- Nicholson, D. J. (2012) 'The concept of mechanism in biology', *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 43(1), pp. 152–163
- Nicholson, D. J. (2013) 'Organisms≠Machines', *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 44(4), pp. 669–678
- Nicolis, G. (1989) 'Physics of far-from-equilibrium systems and self-organization'
- Nicolis, G. and Prigogine, I. (1977) 'Self-organization in nonequilibrium systems: From dissipative structures to order through fluctuations', *Advances in chemical Physics*, 2
- Nielsen, M. C. and Ulven, T. (2008) 'Selective extraction of G-quadruplex ligands from a rationally designed scaffold-based dynamic combinatorial library.', *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 14(31), pp. 9487–90
- Nitschke, J. R. (2007) 'Construction, substitution, and sorting of metallo-organic structures via subcomponent self-assembly.', *Accounts of chemical research*, 40(2), pp. 103–12
- Noireaux, V. and Libchaber, A. (2004) 'A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(51), pp. 17669–17674
- Oehlenschläger, F. and Eigen, M. (1997) '30 years later--a new approach to Sol Spiegelman's and Leslie Orgel's in vitro evolutionary studies. Dedicated to Leslie Orgel on the occasion of his 70th birthday.', *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 27(5–6), pp. 437–57
- Oliver, A. E. and Deamer, D. W. (1994) 'Alpha-helical hydrophobic polypeptides form proton-selective channels in lipid bilayers.', *Biophysical journal*, 66(5), pp. 1364–79
- O'Malley, M. A. (2012) 'Evolutionary Systems Biology: Historical and Philosophical Perspectives on an Emerging Synthesis', in, pp. 1–28
- O'Malley, M. A., Soyer, O. S. and Siegal, M. L. (2015) 'A Philosophical Perspective on Evolutionary Systems Biology', *Biological Theory*, 10(1), pp. 6–17
- Orgel, L. and Joyce, G. F. (1999) 'Prospects for Understanding the Origin of the RNA World', *Cold Spring Harbor Press*
- Oseen, C. W. (1965) 'Nobel Lectures, Physics 1922-1941', *Elsevier Publishing Company*
- Otto, S. and Kubik, S. (2003) 'Dynamic combinatorial optimization of a neutral receptor that binds inorganic anions in aqueous solution.', *Journal of the American Chemical Society*, 125(26), pp. 7804–5
- Pascal, R., Boiteau, L. and Commeyras, A. (2005) 'From the Prebiotic Synthesis of α -Amino Acids Towards a Primitive Translation Apparatus for the Synthesis of Peptides', in *Prebiotic Chemistry*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, pp. 69–122
- Patel, B. H., Percivalle, C., Ritson, D. J., Duffy, C. D. and Sutherland, J. D. (2015) 'Common origins of RNA, protein and lipid precursors in a cyanosulfidic protometabolism.', *Nature chemistry*, 7(4), pp. 301–7
- Penas López, M. (2014) 'Individuación, Individuo y Relación en el Pensamiento de Simondon', *Tesis Doctoral*.
- Peretó, J. (2012) 'Out of fuzzy chemistry: from prebiotic chemistry to metabolic networks.', *Chemical Society reviews*, 41(16), pp. 5394–403
- Peretó, J., Bada, J. L. and Lazcano, A. (2009) 'Charles Darwin and the Origin of Life', *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 39(5), pp. 395–406

- Pérez-Fernández, R., Pittelkow, M., Belenguer, A. M., Lane, L. A., Robinson, C. V and Sanders, J. K. M. (2009) 'Two-phase dynamic combinatorial discovery of a spermine transporter.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, (25), pp. 3708–10
- Piedrafitra, G., Monnard, P.-A., Mavelli, F. and Ruiz-Mirazo, K. (2017) 'Permeability-driven selection in a semi-empirical protocell model: the roots of prebiotic systems evolution', *Scientific Reports*
- Pigliucci, M. (2007) 'Do we need an extended evolutionary synthesis?', *Evolution*, 61(12), pp. 2743–2749
- Pigliucci, M. and Müller, G. B. (2010) 'Evolution, the Extended Synthesis'. Edited por M. Pigliucci and G. B. Müller. *The MIT Press*
- Powner, M. W., Gerland, B. and Sutherland, J. D. (2009) 'Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions.', *Nature*, 459(7244), pp. 239–42
- Price, C. (2001) 'Functions in Mind'. *Oxford University Press*
- Prigogine, I. and Stengers, I. (1984) 'Order out of chaos', *London: Heinemann*
- Prins, L. J. and Scrimin, P. (2009) 'Covalent capture: merging covalent and noncovalent synthesis.', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 48(13), pp. 2288–306
- Pross, A. and Pascal, R. (2017) 'How and why kinetics, thermodynamics, and chemistry induce the logic of biological evolution', *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 13, pp. 665–674
- Purdy, K. J., Hurd, P. J., Moya-Larraño, J., Trimmer, M., Oakley, B. B. and Woodward, G. (2010) 'Systems Biology for Ecology: from Molecules to Ecosystems', *Advances in Ecological Research*, 43
- Queller, D. C. and Strassmann, J. E. (2009) 'Beyond society: the evolution of organismality', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1533), pp. 3143–3155
- Rasi, S., Mavelli, F. and Luisi, P. L. (2003) 'Cooperative Micelle Binding and Matrix Effect in Oleate Vesicle Formation', *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(50), pp. 14068–14076
- Rasmussen, S., Bedau, M. A., Chen, L., Deamer, D., Krakauer, D. C., Packard, N. H. and Stadler, P. H. (2009) *Protocells: Bridging Nonliving and Living Matter*. Edited by S. Rasmussen, M. A. Bedau, L., Chen, D. Deamer, D. C. Krakauer, N. H. Packard, and P. F. Stadler. *The MIT Press*
- Riddell, I. A., Smulders, M. M. J., Clegg, J. K., Hristova, Y. R., Breiner, B., Thoburn, J. D. and Nitschke, J.R. (2012) 'Anion-induced reconstitution of a self-assembling system to express a chloride-binding Co10L15 pentagonal prism.', *Nature chemistry*, 4(9), pp. 751–6
- Rosen, R. (1991) 'Life Itself: A Comprehensive Inquiry into the Nature, Origin and Fabrication of Life', *Columbia University Press*
- Rossi, F., Budroni, M. A., Marchettini, N. and Carballido-Landeira, J. (2012) 'Segmented waves in a reaction-diffusion-convection system', *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 22(3), p. 37109
- Ruiz-Jarabo, C. M., Arias, A., Baranowski, E., Escarmís, C. and Domingo, E. (2000) 'Memory in viral quasispecies.', *Journal of virology*, 74(8), pp. 3543–7
- Ruiz-Jarabo, C. M., Arias, A., Molina-París, C., Briones, C., Baranowski, E., Escarmís, C. and Domingo, E. (2002) 'Duration and fitness dependence of quasispecies memory.', *Journal of molecular biology*, 315(3), pp. 285–96
- Ruiz-Mirazo, K., Etxeberria, A., Moreno, A. and Ibáñez, J. (2000) 'Organisms and their place in biology', *Theory in Biosciences*, 119(3–4), pp. 209–233

- Ruiz-Mirazo, K. (2011) 'Protocell', en "Encyclopedia of Astrobiology" (Gargaud, M., Amils, R., Cernicharo Quintanilla, J., Cleaves, H.J., Irvine, W.M., Pinti, D., Viso, M., Eds.). *Springer*. Heidelberg, Germany., pp. 1353–1354.
- Ruiz-Mirazo, K., Briones, C. and de la Escosura, A. (2014) 'Prebiotic Systems Chemistry: New Perspectives for the Origins of Life', *Chemical Reviews*, 114(1), pp. 285–366
- Ruiz-Mirazo, K., Briones, C. and de la Escosura, A. (2017) 'Chemical roots of biological evolution: the origins of life as a process of development of autonomous functional systems', *Open Biology*, 7(4), p . 170050
- Ruiz-Mirazo, K. and Mavelli, F. (2008) 'On the way towards "basic autonomous agents": stochastic simulations of minimal lipid-peptide cells.', *Bio Systems*, 91(2), pp. 374–87
- Ruiz-Mirazo, K. and Mavelli, F. (2007) 'Simulation Model for Functionalized Vesicles: Lipid-Peptide Integration in Minimal Protocells', en *Advances in Artificial Life*. Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg*, pp. 32–41
- Ruiz-Mirazo, K. and Moreno, A. (2004) 'Basic Autonomy as a Fundamental Step in the Synthesis of Life', *Artificial Life*, 10(3), pp. 235–259
- Ruiz-Mirazo, K. and Moreno, A. (2012) 'Autonomy in evolution: from minimal to complex life', *Synthese*, 185(1), pp. 21–52
- Ruiz-Mirazo, K. and Moreno, A. (2013) 'Synthetic Biology: Challenging Life in Order to Grasp, Use, or Extend It', *Biological Theory*, 8(4), pp. 376–382
- Ruiz-Mirazo, K., Peretó, J. and Moreno, A. (2004) 'A universal definition of life: autonomy and open-ended evolution', *Orig Life Evol Biosph*, 34(4)
- Ruiz-Mirazo, K., Peretó, J. and Moreno, A. (2010) 'Defining Life or Bringing Biology to Life', *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 40(2), pp. 203–213
- Ruiz-Mirazo, K., Piedrafita, G., Ciriaco, F. and Mavelli, F. (2011) 'Stochastic Simulations of Mixed-Lipid Compartments: From Self-Assembling Vesicles to Self-Producing Protocells', en "Software Tools and Algorithms for Biological Systems", *Springer*, pp. 689–696
- Saborido, C., Mossio, M. and Moreno, A. (2010) 'La dimensión teleológica del concepto de función biológica', *Teorema: International Journal of Philosophy*, 29(3), pp. 31–56
- Saborido, C., Mossio, M. and Moreno, A. (2011) 'Biological Organization and Cross-Generation Functions', *The British Journal for the Philosophy of Science*, 62(3), pp. 583–606
- Saggiomo, V. and Lüning, U. (2009) 'Transport of calcium ions through a bulk membrane by use of a dynamic combinatorial library.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, (25), pp. 3711–3
- Sakai, N. and Matile, S. (2011) 'Stack exchange strategies for the synthesis of covalent double-channel photosystems by self-organizing surface-initiated polymerization.', *Journal of the American Chemical Society*, 133(46), pp. 18542–5
- Scerri, E. and McIntyre, L. (2015) *Philosophy of Chemistry*. Edited by E. Scerri and L. McIntyre. Dordrecht: Springer Netherlands (Boston Studies in the Philosophy and History of Science)
- Schlosser, G. (1998) 'Self-re-production and functionality', *Synthese*, 116(3), pp. 303–354
- Schummer, J. (1998) 'The Chemical Core of Chemistry: A Conceptual Approach', *HYLE. International Journal for Philosophy of Chemistry*, 4(2), pp. 129–162

- Segré, D., Ben-Eli, D., Deamer, D. W. and Lancet, D. (2001) 'The lipid world.', *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 31(1–2), pp. 119–45
- Semenov, S. N., Kraft, L. J., Ainla, A., Zhao, M., Baghbanzadeh, M., Campbell, V. E., Kang, K., Fox, J. M. and Whitesides, G. M. (2016) 'Autocatalytic, bistable, oscillatory networks of biologically relevant organic reactions', *Nature*, 537(7622), pp. 656–660
- Serrano, L. (2007) 'Synthetic biology: promises and challenges', *Molecular Systems Biology*, 3
- Shapiro, R. (2000) 'A replicator was not involved in the origin of life.', *IUBMB life*, 49(3), pp. 173–6
- Shirt-Ediss, B., Solé, R. V and Ruiz-Mirazo, K. (2015) 'Emergent chemical behavior in variable-volume protocells.', *Life (Basel, Switzerland)*, 5(1), pp. 181–211
- Shirt-Ediss, B. (2016) 'Modelling Early Transitions Towards Autonomous Protocells', Ph.D., (*ArXiv Preprint*. <https://arxiv.org/abs/1606.03620>)
- Simondon, G. (1995) 'L'individu et sa genèse physico-biologique', *Presses Universitaires de France*.
- Simondon, G. (2005) 'L'individuation à la lumière des notions de forme et d'information', *Jérôme Millon*.
- Simondon, G. (2007) 'L'individuation psychique et collective', *Aubier*.
- Singer, S. J. and Nicolson, G. L. (1972) 'The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.', *Science (New York, N.Y.)*, 175(4023), pp. 720–31
- Smith, E. and Morowitz, H. J. (2004) 'Universality in intermediary metabolism', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(36), pp. 13168–13173
- Sober, E. (1980) 'Evolution, Population Thinking, and Essentialism', (*Philosophy of Science*) Versión en español en *LUDUS VITALIS* vol XII, num. 21 (2004), 47(3), pp. 350–383
- Sokolova, E., Spruijt, E., Hansen, M. M. K., Dubuc, E., Groen, J., Chokkalingam, V., Piruska, A., Heus, H. A. and Huck, W. T. S. (2013) 'Enhanced transcription rates in membrane-free protocells formed by coacervation of cell lysate.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), pp. 11692–7
- Stano, P. and Luisi, P. L. (2010) 'Achievements and open questions in the self-reproduction of vesicles and synthetic minimal cells.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, 46(21), pp. 3639–53
- Stefankiewicz, A. R., Sambrook, M. R. and Sanders, J. K. M. (2012) 'Template-directed synthesis of multi-component organic cages in water', *Chemical Science*, 3(7), p. 2326
- Stengers, I. (2002) 'Comment hériter de Simondon?', *Roux*, pp. 299–323
- Stengers, I. (2004) 'Résister à Simondon?', *Multitudes*, 18, pp. 55–62
- Sukumar, N. (2013) 'The atom in a molecule as a mereological construct in chemistry', *Foundations of Chemistry*, 15(3), pp. 303–309
- Summers, D. P., Noveron, J. and Basa, R. C. B. (2009) 'Energy Transduction Inside of Amphiphilic Vesicles: Encapsulation of Photochemically Active Semiconducting Particles', *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 39(2), pp. 127–140
- Szathmáry, E. and Maynard-Smith, J. (1995) 'The major evolutionary transitions', *Nature*, 374(6519), pp. 227–232
- Szathmáry, E., Santos, M. and Fernando, C. (2005) 'Evolutionary Potential and Requirements for Minimal Protocells', *Top Curr Chem*, 259, pp. 167–211

- Szostak, J. W., Bartel, D. P. and Luisi, P. L. (2001) 'Synthesizing life.', *Nature*, 409(6818), pp. 387–90
- Szostak, J. W. (2012) 'Attempts to Define Life Do Not Help to Understand the Origin of Life', *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 29(4), pp. 599–600
- Takahagi, H., Fujibe, S. and Iwasawa, N. (2009) 'Guest-induced dynamic self-assembly of two diastereomeric cage-like boronic esters.', *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 15(48), pp. 13327–30
- Tauk, L., Schröder, A. P., Decher, G. and Giuseppone, N. (2009) 'Hierarchical functional gradients of pH-responsive self-assembled monolayers using dynamic covalent chemistry on surfaces.', *Nature chemistry*, 1(8), pp. 649–56
- Thompson, N. S. (1987) 'The Misappropriation of Teleonomy', *Perspectives in Ethology*. P.P.G.B. Bateson and P.Klopfer (eds), 7, pp. 259–274
- Thompson, N. S. and Lipton, P. (1988) 'Comparative Psychology and the Recursive Structure of Filter Explanations', *International Journal of Comparative Psychology*, 1(4), pp. 238–244
- Tinbergen, N. (1963) 'On aims and methods of Ethology', *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 20, pp. 410–433
- Toledano, S., Williams, R. J., Jayawarna, V. and Ulijn, R. V (2006) 'Enzyme-triggered self-assembly of peptide hydrogels via reversed hydrolysis.', *Journal of the American Chemical Society*, 128(4), pp. 1070–1
- Turing, A. M. (1952) 'The Chemical Basis of Morphogenesis', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 237(641), pp. 37–72
- Ura, Y., Beierle, J. M., Leman, L. J., Orgel, L. E. and Ghadiri, M. R. (2009) 'Self-assembling sequence-adaptive peptide nucleic acids.', *Science (New York, N.Y.)*, 325(5936), pp. 73–7
- Vaidya, N., Manapat, M. L., Chen, I. A., Xulvi-Brunet, R., Hayden, E. J. and Lehman, N. (2012), 'Spontaneous network formation among cooperative RNA replicators.', *Nature*, 491(7422), pp. 72–7
- Varela, F., Maturana, H. and Uribe, R. (1974) 'Autopoiesis: the organization of living systems, its characterization and a model', *ByoSystems*, 5(4), pp. 187–96
- Vial, L., Ludlow, R. F., Leclaire, J., Pérez-Fernandez, R. and Otto, S. (2006) 'Controlling the biological effects of spermine using a synthetic receptor.', *Journal of the American Chemical Society*, 128(31), pp. 10253–7
- Walde, P., Umakoshi, H., Stano, P. and Mavelli, F. (2014) 'Emergent properties arising from the assembly of amphiphiles. Artificial vesicle membranes as reaction promoters and regulators.', *Chemical communications (Cambridge, England)*, 50(71), pp. 10177–97
- Walsh, D. (2008) 'Teleology', en "The Oxford Handbook of Philosophy of Biology". *Oxford University Press*, Michael Ru, pp. 113–137
- Wang, G., Wang, C., Wang, Z. and Zhang, X. (2011) 'Bolaform superamphiphile based on a dynamic covalent bond and its self-assembly in water.', *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 27(20), pp. 12375–80
- Wächtershäuser, G. (1988) 'Before enzymes and templates: theory of surface metabolism.', *Microbiological reviews*, 52(4), pp. 452–84
- Watson, J. D. and Crick, F. H. C. (1953) 'A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid', *Nature*, 171, pp. 737-738
- Weber, A. and Varela, F. J. (2002) 'Life after Kant: Natural purposes and the autopoietic foundations of biological individuality', *Phenomenology and the Cognitive Sciences*, 1(2), pp. 97–125

- Westerhoff, H. V. and Kell, D. B. (2007) 'The methodologies of systems biology', en *Systems Biology, Philosophical Foundations*
- Wimsatt, W. C. (2007) 'Re-Engineering Philosophy for Limited Beings: Piecewise Approximations to Reality', *Harvard University Press*, p. 450
- Wouters, A. G. (2003) 'Four notions of biological function', *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 34(4), pp. 633–668
- Wright, L. (1973) 'Functions', *The Philosophical Review*, 82(2), p. 139
- Yanagawa, H., Ogawa, Y., Furuta, H. and Tsuno, K. (1989) 'Spontaneous formation of helical strands from nucleic acid-lipid conjugates.', *Nucleic acids symposium series*, (21), pp. 87–8
- Zepik, H. H., Blöchliger, E. and Luisi, P. L. (2001) 'A Chemical Model of Homeostasis', *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 40(1), pp. 199–202
- Zepik, H. H., Rajamani, S., Maurel, M.-C. and Deamer, D. (2007) 'Oligomerization of thioglutamic acid: encapsulated reactions and lipid catalysis.', *Origins of life and evolution of the biosphere: the journal of the International Society for the Study of the Origin of Life*, 37(6), pp. 495–505

