

Biología Programable

18 *FAQs* sobre Biología Sintética de un informático

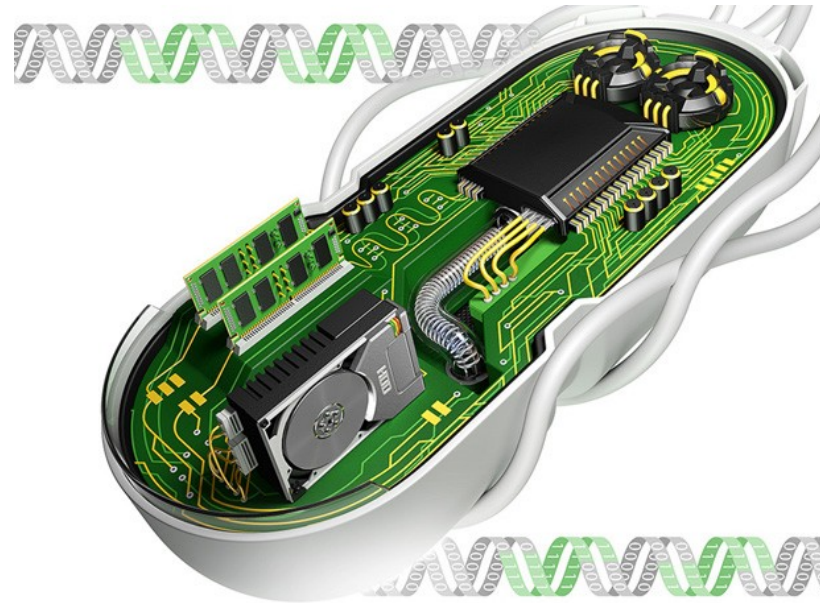


Image Courtesy of Liang Zong and Yan Liang

Alfonso Rodríguez-Patón

Universidad Politécnica de Madrid
Laboratorio de Inteligencia Artificial (LIA)

www.lia.upm.es

arpaton@fi.upm.es

Jornadas Chilenas de Computación 2013
Workshop Computación Natural (WCN)

Temuco, 11/11/2013

Índice (FAQ)

Q1: ¿Qué es la Biología sintética?

Q2: ¿Por qué nace la Biología Sintética?

Q3: ¿Cuándo y dónde comenzó la Biología Sintética?

Pioneros de la Biología Sintética: Collins, Elowitz, Weiss, Benenson

Q4: ¿Qué es la Biología de Sistemas?

Q5: ¿Qué es un gen?

Q6: ¿Qué es un 0 y 1 en Biología Sintética?

Q7: ¿Qué es un circuito genético?

Q8: ¿Cómo se escribe un programa genético?

Q9: ¿Dónde se ejecuta un programa genético?

Circuitos genéticos simples: feedbacks, toggle switch, puerta AND y “repressilator”

Q10: ¿Qué ha pasado desde el 2000? ¿Aplicaciones en el mercado?

Q11: ¿Qué principios de ingeniería se pueden aplicar en BS?

Q12: ¿Hay algo especial en el diseño de sistemas biológicos?

Q13: ¿Hay algún estándar “open-source” para diseñar circuitos genéticos?

Q14: ¿Cuáles son las mayores dificultades a la hora de programar un circuito genético?

Q15: ¿Cómo aumentar la complejidad de los circuitos genéticos?

Q16: ¿Las bacterias hablan?

Q17: ¿Se pueden transmitir programas genéticos entre bacterias? Proyecto PLASWIRES.

Q18: ¿Pueden las bacterias hacer nuestro trabajo de ingenieros? Ingeniería evolutiva de circuitos genéticos: evolución dirigida. Proyecto EVOPROG.

Q1: ¿Qué es la Biología sintética?

“Synthetic biology is the engineering of biology: the synthesis of complex, biologically based (or inspired) systems, which display functions that do not exist in nature.”

“This engineering perspective may be applied at all levels of the hierarchy of biological structures—from individual molecules to whole cells, tissues and organisms.”

“In essence, synthetic biology will enable the design of ‘biological systems’ in a rational and systematic way”.

(Synthetic Biology: Applying Engineering to Biology: Report of a NEST High Level Expert Group).

Q1: ¿Qué es la Biología sintética?

Ingeniería de sistemas biológicos.

La biología como tecnología que se utiliza para fabricar dispositivos y sistemas biológicos sintéticos.

La maquinaria biológica natural como hardware y software con el que construir y fabricar sistemas biológicos artificiales o sintéticos.

Reprogramación de sistemas biológicos naturales

Q2: ¿Por qué nace la Biología sintética?

- Porque ahora conocemos procesadores biológicos fáciles de programar (E. Coli) y los programas genéticos son baratos de escribir.
- Leer y escribir ADN es cada vez más barato.
- La ingeniería genética surgió en los 70 cuando se pudo cortar-pegar y copiar fragmentos de ADN.

Q3: ¿Cuándo y dónde comenzó la Biología Sintética?

Elowitz MB, Leibler S (2000) A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature* 403: 335–338.

Gardner TS, Cantor CR, Collins JJ (2000) Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 403: 339–342.

Becskei A, Serrano L (2000) Engineering stability in gene networks by autoregulation. *Nature* 405: 590–593.

"Engineered Communications for Microbial Robotics" Ron Weiss, Tom Knight. Proceedings of the Sixth International Meeting on DNA Based Computers (DNA6), June 2000

Pioneros de la Biología Sintética: Ron Weiss y Tom Knight. MIT – AI Lab



"Engineered Communications for Microbial Robotics" Ron Weiss,
Tom Knight. Proceedings of the Sixth International Meeting
on DNA Based Computers (DNA6), June 2000

Pioneros de la Biología Sintética: M. Elowitz, J. Collins



Elowitz, M. B., & Leibler, S. (2000). A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature*, 403, 335-338.

Gardner, T. S., Cantor, C. R., & Collins, J. J. (2000). Construction of a genetic toggle switch in *E. coli*. *Nature*, 403, 339-342.

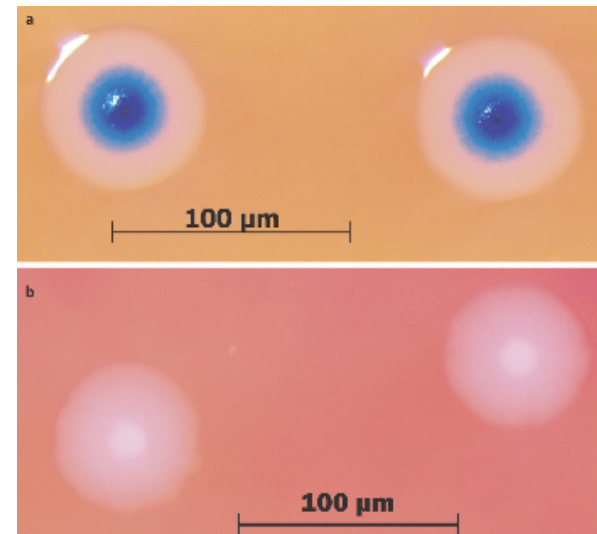
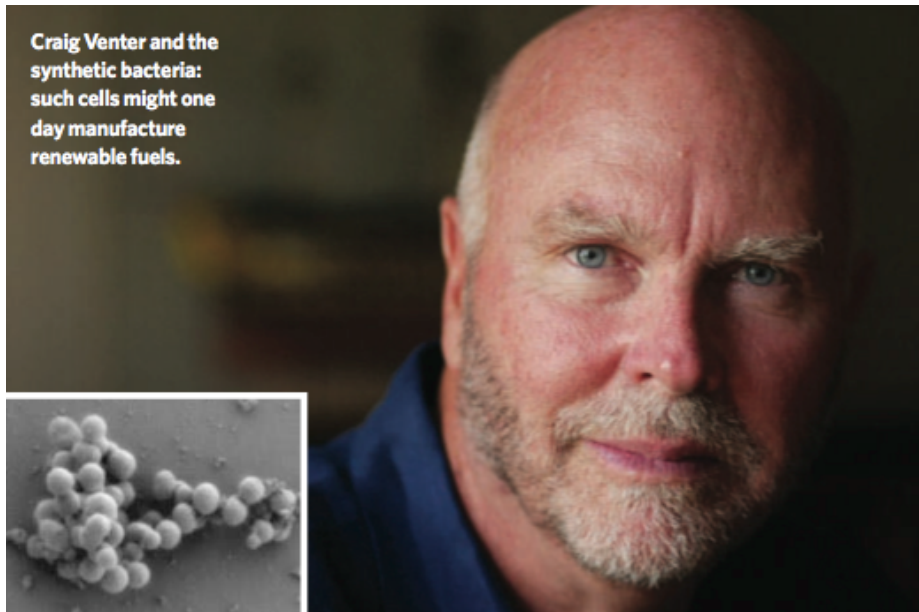
Pioneros de la Computación con ADN y la Biología Sintética: Yaakov Benenson y Ehud Shapiro. Inst. Weizmann. Israel



Benenson, Y., Paz-elizur, T., Adar, R., Keinan, E., Liben, Z., & Shapiro, E. (2001). Programmable and autonomous computing machine made of biomolecules. *Nature*, 414, 430-434.

Benenson, Y., Gil, B., Ben-Dor, U., Adar, R., & Shapiro, E. (2004). An autonomous molecular computer for logical control of gene expression. *Nature*, 429, 423-429.

Pionero de la Biología Sintética: John Craig Venter



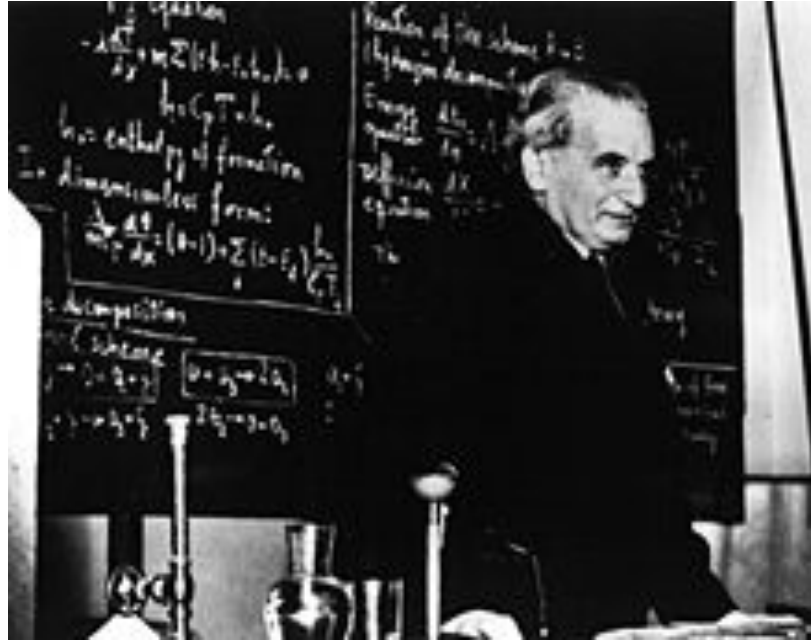
Mycoplasma Mycoides JCVI-syn 1.0

Mycoplasma mycoides JCVI-syn1.0



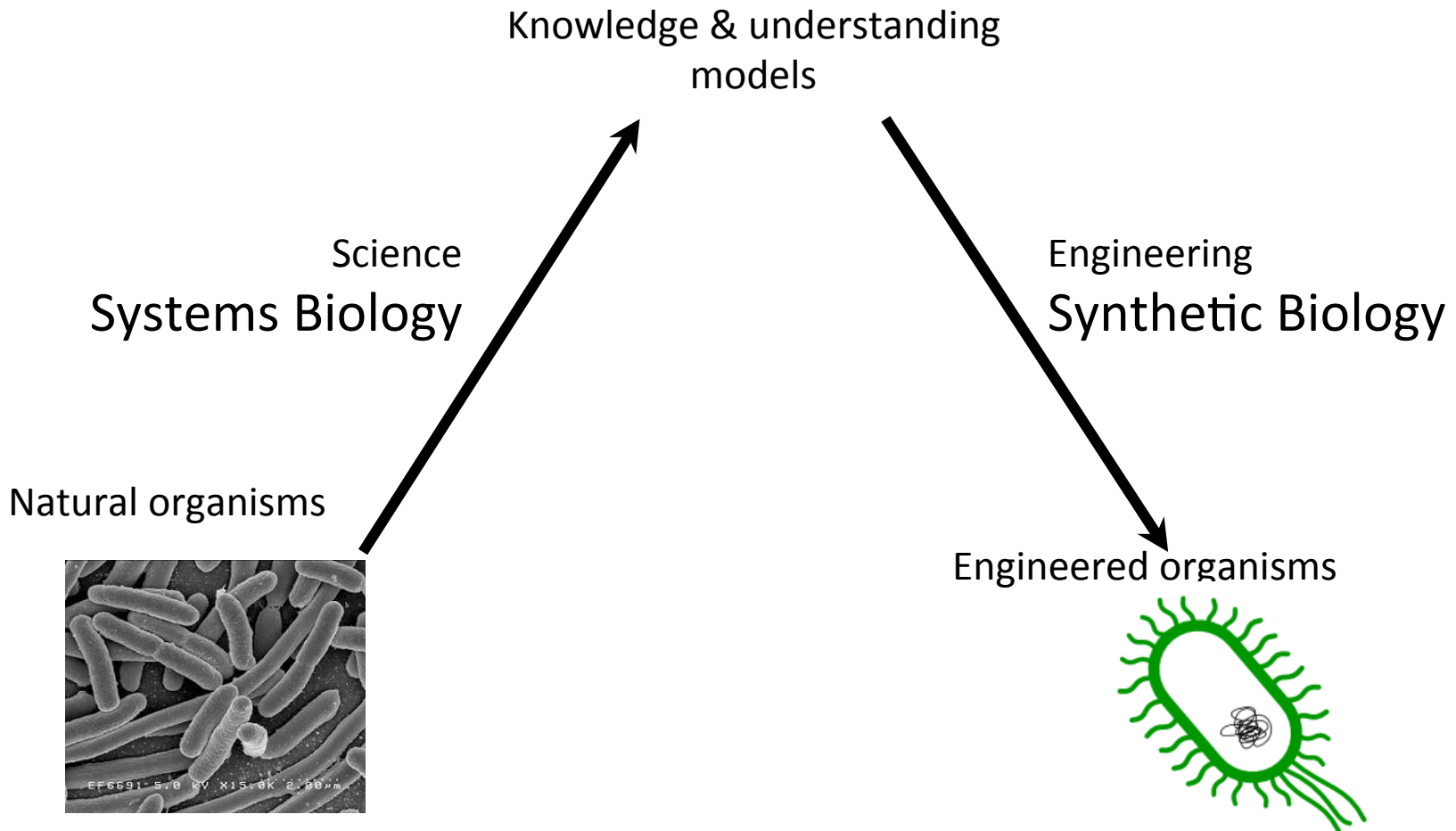
Gibson, D. G., J. I. Glass, C. Lartigue, V. N. Noskov, R.-Y. Chuang, M. A. Algire, G. A. Benders, M. G. Montague, L. Ma, M. M. Moodie, C. Merryman, S. Vashee, R. Krishnakumar, N. Assad-Garcia, C. Andrews-Pfannkoch, E. A. Denisova, L. Young, Z.-Q. Qi, T. H. Segall-Shapiro, C. H. Calvey, P. P. Parmar, C. A. Hutchison III, H. O. Smith, and J. C. Venter. 2010. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, Published online May 20 2010.

Q4: Biología de sistemas y Biología Sintética: Ciencia e Ingeniería. Análisis y Síntesis.



*A Scientist discovers that which exists;
an Engineer creates that which never was.
-- Theodore von Karman*

Biología de sistemas y Biología Sintética: La Biología como Ciencia y como Tecnología Reverse-engineering y Forward engineering Biology



Q5: ¿Qué es un gen?

- Un programa (secuencia de ADN) con las instrucciones para construir una máquina biológica: una proteína. Un gen es el software para fabricar un hardware biológico (una proteína).
- Expresión genética: ADN->ARN->Proteína.
- La activación de un gen (ON/OFF) se puede controlar y regular mediante otras proteínas. Los genes presentan un comportamiento digital, binario.
- La zona de regulación de la activación de un gen se denomina zona promotora. Puede ser activable o reprimible. Podemos combinar genes con diferentes promotores.

Q6: ¿Qué es un 0 y un 1 en biología sintética?

- Baja concentración de una biomolécula = 0
- Alta concentración de una biomolécula = 1

¿Cómo se visualiza el output de un circuito genético?

Con proteínas fluorescentes: GFP, RFP, YFP

Q7: ¿Qué es un circuito genético?

Es un programa genético que se ejecuta en una célula.

Input: Proteínas

Circuito: Uno o más (Promotor+Gen).

Output: Proteína

Los genes presentan un comportamiento digital, binario (ON/OFF). Así que nos sirven los modelos de circuitos digitales o booleanos y puertas lógicas booleanas (NAND, NOR)

¿Qué contiene un circuito genético con una entrada y un gen?

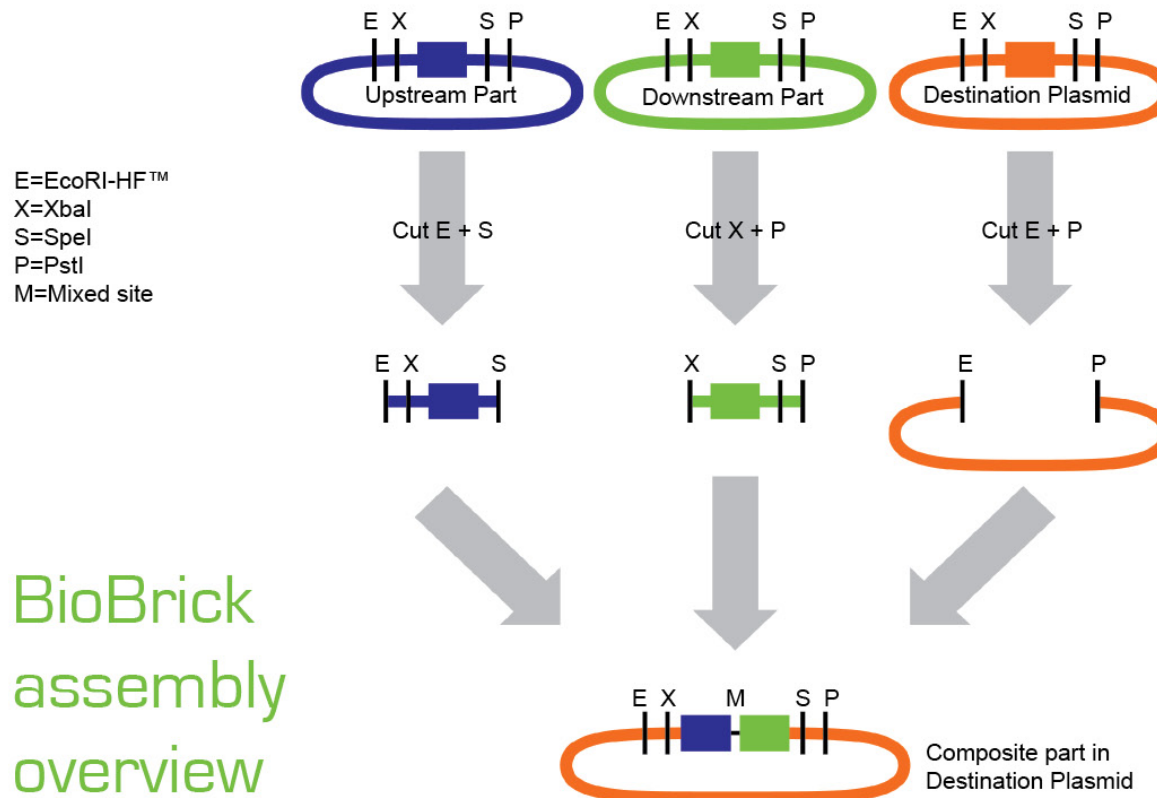
Un gen que se activa o se inhibe en función de una señal de entrada.

La salida es el nivel de proteína (0 o 1) obtenida con la expresión del gen.

Los circuitos genéticos más sencillos son las puertas lógicas de una entrada (YES, NOT gate) y los feedbacks

Q8: ¿Cómo se escribe un programa genético?

- En una hebra de ADN circular denominada plásmido.



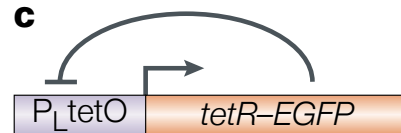
BioBrick
assembly
overview

Q9: ¿Dónde se ejecuta un programa genético?

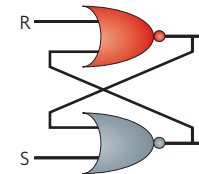
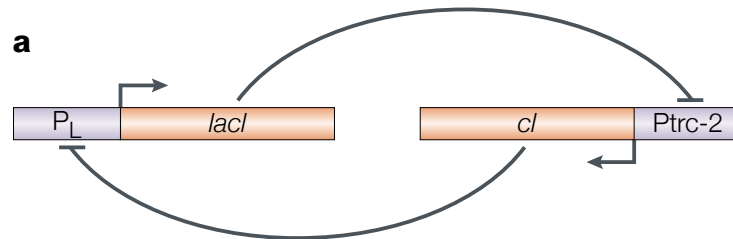
- En un procesador biológico llamado “célula”.
- El PC/Apple de la biología: los biólogos trabajan con unas bacterias llamadas E. Coli. Su sistema operativo (cromosoma) está formado por unos 4.6 M pares de bases y unos 4K genes.

Circuitos genéticos simples: feedbacks, toggle switch, puerta AND y “repressilator”

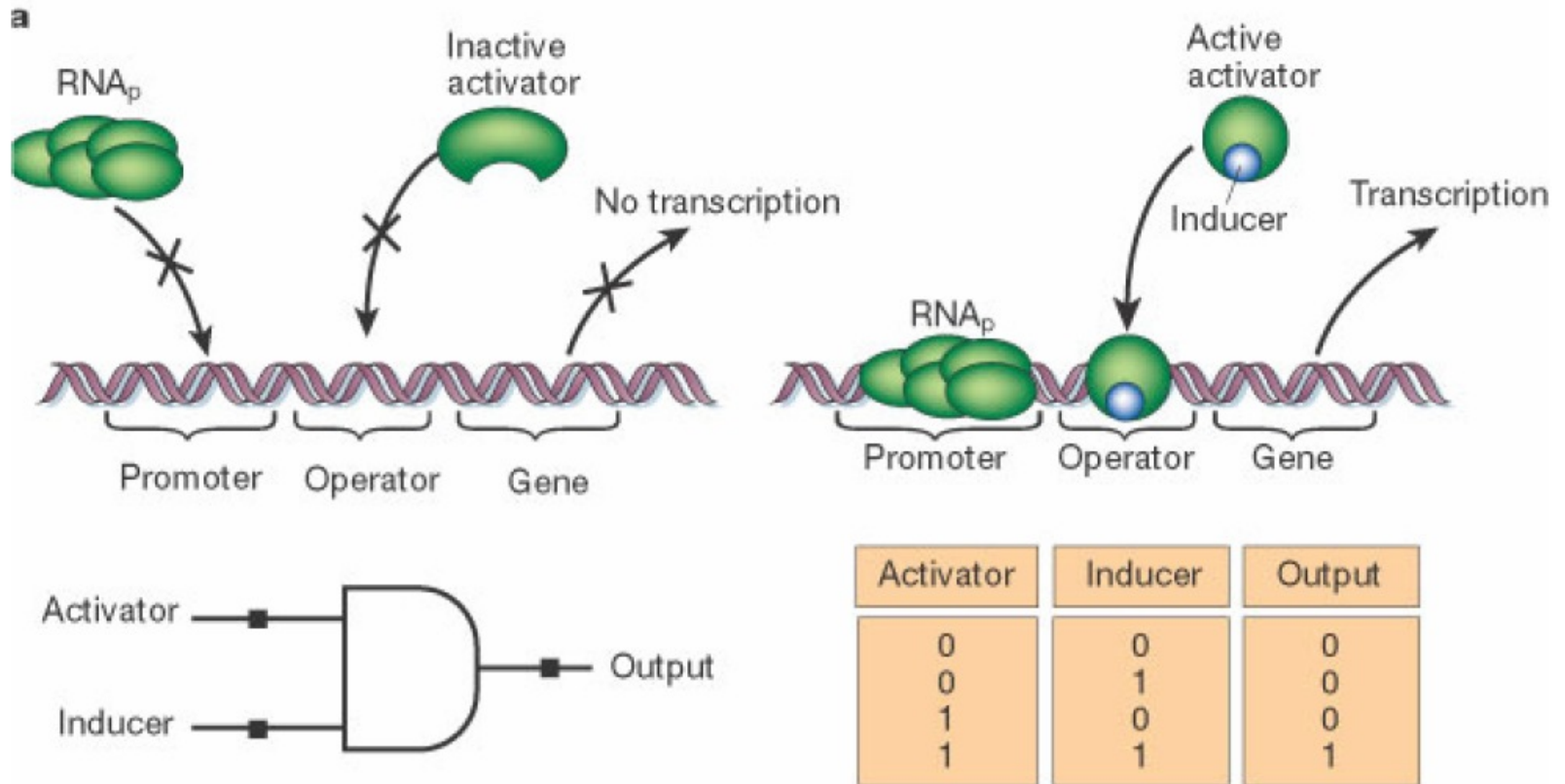
- El gen G_i produce la proteína i ; si esa proteína i regula su propia expresión tenemos: feedback positivo o feedback negativo.



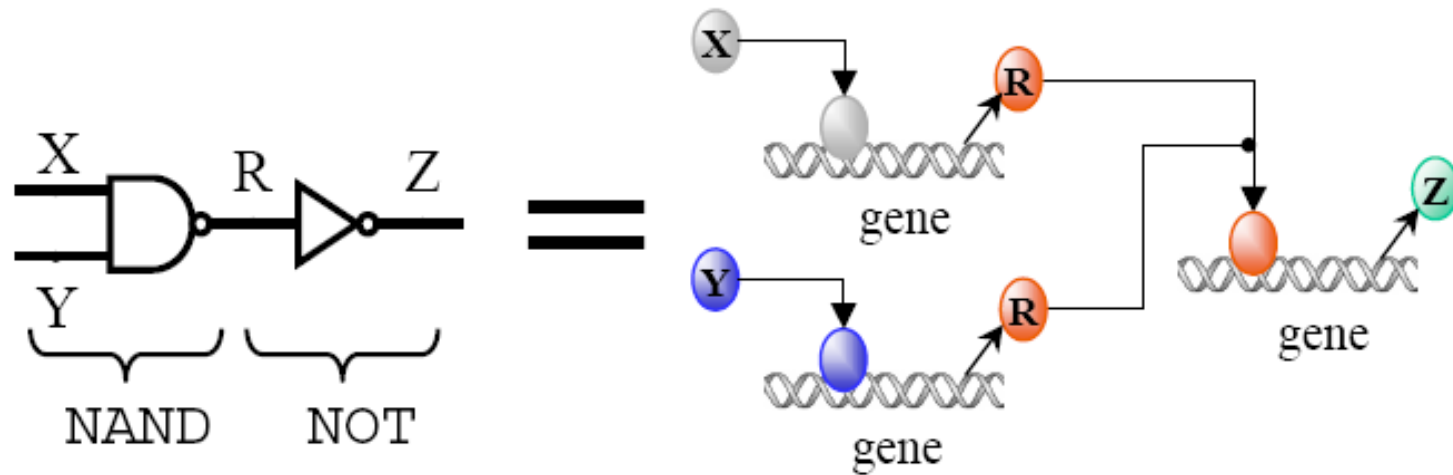
- Toggle switch: El gen i (la proteína i) inhibe el gen j y viceversa: el gen j (su proteína j) inhibe el gen i . Dos genes que se inhiben mutuamente.



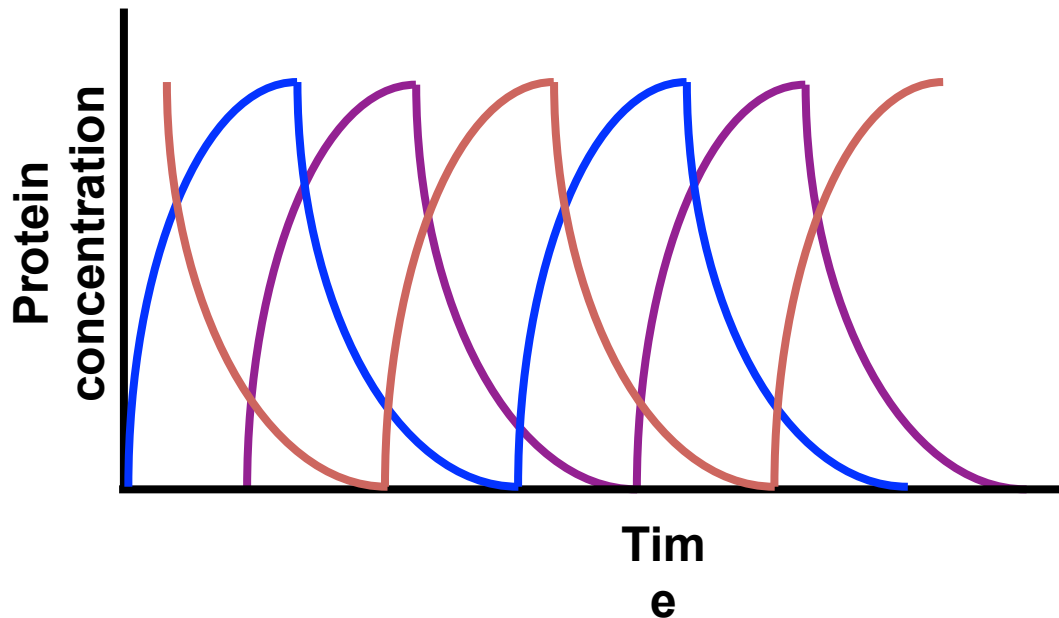
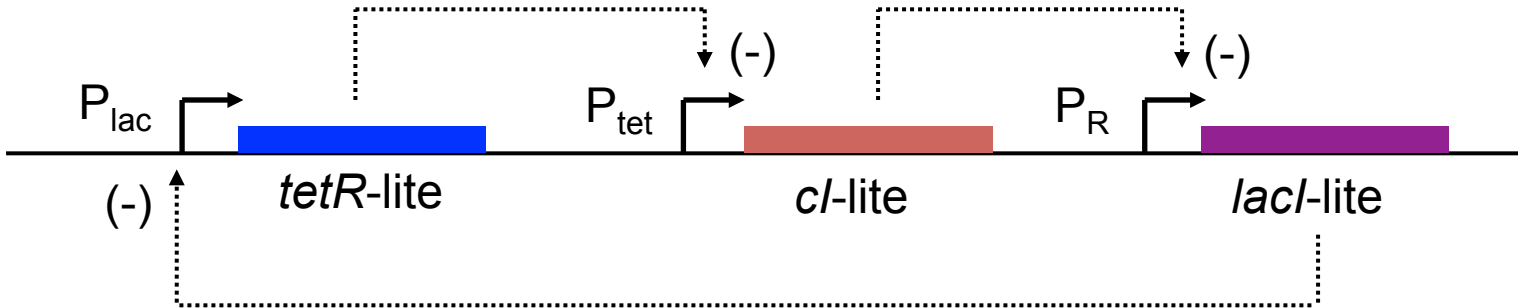
Circuitos genéticos simples: puerta AND



Circuitos genéticos simples: otra puerta AND



Oscilador sintético formado por 3 genes: “Repressilator”



Repressilator



Q10: ¿Hay ya aplicaciones en el mercado?

Vacuna contra la malaria sintética: Artemisia (J. Keasling)

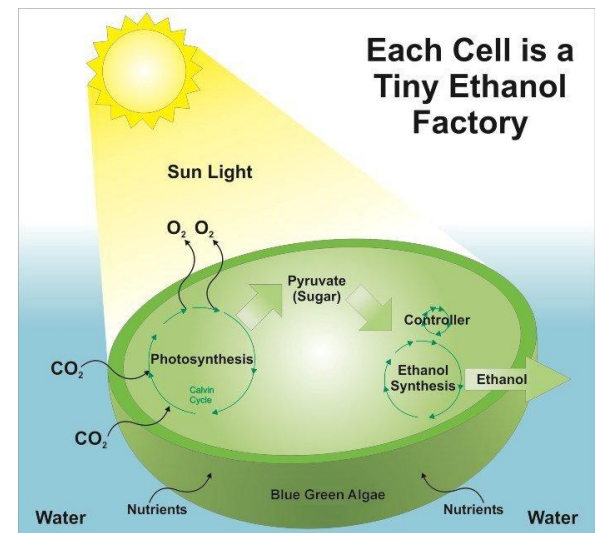
Biofuel: Células que convierten luz/azúcar en etanol.

Diseño de fármacos, química sintética, sensores celulares.

Ingenieros+Biólogos: “Making biology easier to program”.

Futuras aplicaciones.

Jay Keasling: “Todo lo que puede producir una planta se puede producir con un microbio”.



Q11: ¿Qué principios de ingeniería se pueden aplicar en BS?

- abstracción
- Jerarquía
- modularidad
- estandarización
- encapsulamiento
- flexibilidad

Q12: ¿Hay algo especial en el diseño de sistemas biológicos?

Nuevos principios de diseño: Ingeniería Evolutiva



- Los componentes y los dispositivos evolucionan.
- Los dispositivos se reproducen y mueren.
- Se pueden auto-reparar y auto-organizar.

Q13: ¿Hay algún estándar “open-source” para diseñar circuitos genéticos? Sí. Biobrick™



BioBricks
FOUNDATION

Biotechnology in the public interest

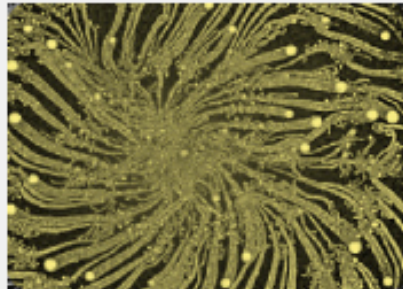
 The Synthetic Biology Network 

OPENWETWARE.ORG



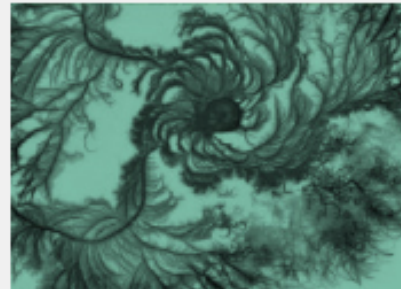
- ▶ Protocols
- ▶ Lab Notebooks
- ▶ Courses

SYNTHETICBIOLOGY.ORG



- ▶ Conferences
- ▶ Labs
- ▶ Courses

PARTSREGISTRY.ORG



- ▶ Catalog of parts & devices
- ▶ DNA repositories
- ▶ Users & groups

IGEM.ORG



- ▶ What is iGEM?
- ▶ Start a team
- ▶ 2011 teams

Q14: ¿Cuáles son la mayores dificultades a la hora de programar un circuito genético?

- Hardware vivo que se reproduce y a veces falla.
- Software que se replica y algunas veces muta.
- Ruido, interferencia: las bacterias se confunden de señales
- Un 1 no es siempre un 1. Un 0 no es siempre un 0.
- “Mismatch impedance problem”.
- Bacterias poco felices: carga metabólica.
- “Cellular Overclocking”.

Q15: ¿Cómo aumentar la complejidad de los circuitos genéticos?

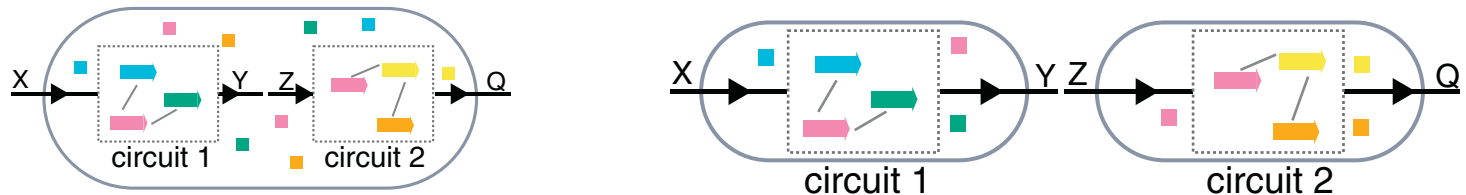
De la biología a la ecología sintética
(de SISD a MIMD)

De circuitos intracelulares a circuitos intercelulares

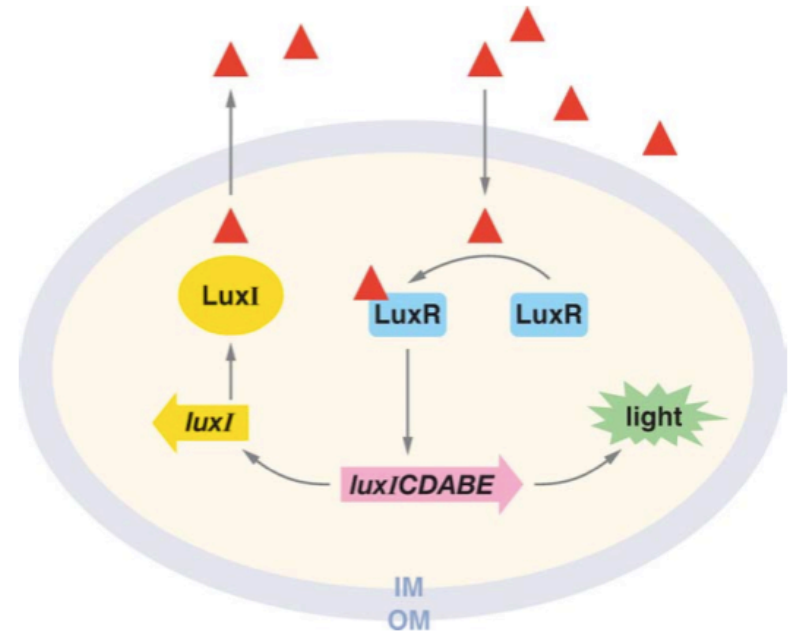
Programación de sistemas multicelulares: comp. paralela y distribuida.

Ingeniería de comunicación intercelular. Protocolos de comunicación bacterianos:

1. Quorum sensing y
2. Conjugación

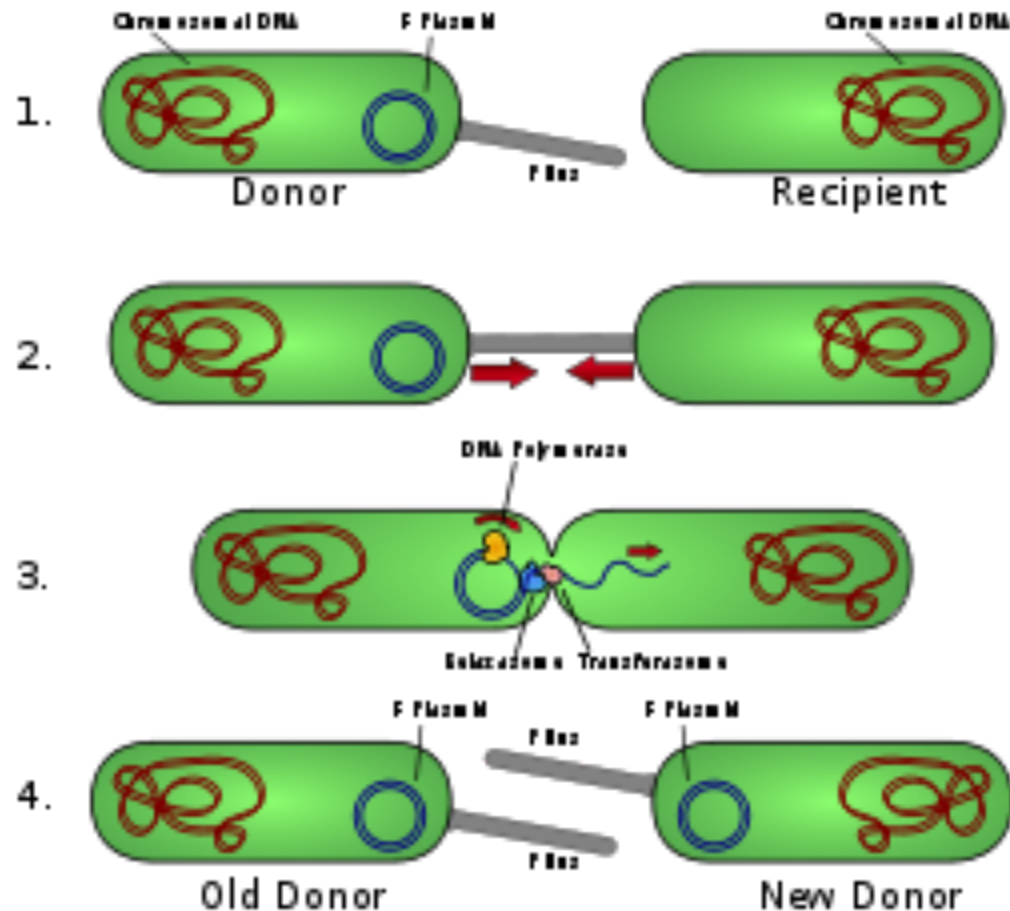


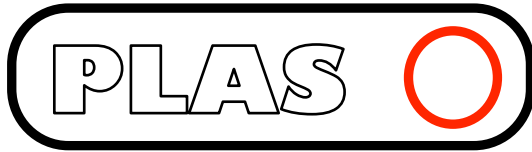
Q16: ¿Las bacterias hablan? Quorum Sensing: V. Fischeri y el calamar de Hawai



Waters, C.M. & Bassler, B.L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annual Review of Cell and Developmental Biology 21, 319-346 (2005).

Q17: ¿Se pueden transmitir programas genéticos entre bacterias? Sí. Mediante conjugación de plásmidos





Proyecto europeo PLASWIRES: “Engineering Multicellular Biocircuits: Programming Cell-Cell Communication Using PLASmids as WIRES” www.plaswires.eu

PLASWIRES' main goal: To show how to program a parallel distributed living computer using conjugative plasmids as wires between cellular processors.

Q18: ¿Pueden las bacterias hacer nuestro trabajo de ingenieros? Ingeniería evolutiva de circuitos genéticos: evolución dirigida

Del diseño racional al diseño evolutivo

Evolución dirigida (“directed evolution”): Evolución en el Lab.

Librería de posibles circuitos genéticos. ¿Cuál es el que mejor comportamiento tiene?

Solución manual: Examinar uno a uno cada circuito genético.

Solución automática: Programar bacterias que de manera autónoma seleccionen los mejores circuitos de entre toda la librería.
(Proyectos BACTOCOM y EVOPROG).

EVOPROG



Proyecto europeo EVOPROG:

“General-Purpose Programmable Evolution Machine on a Chip”

EVOPROG’s main goal

construct a general-purpose programmable evolution machine able to quickly evolve new biomolecules or phenotypes in bacterial cells.

¡Muchas gracias!



www.lia.upm.es

Profesores del LIA: Petr Sosík, Andrei Paun,
Alfonso Rodríguez-Patón.

Estudiantes de doctorado del LIA:

- Martín Gutiérrez
- Willy Pérez del Pulgar
- Vishal Gupta
- Paula Gregorio
- Ismael Gómez
- Antonio García

www.plaswires.eu

www.evoprogram.eu



arpaton@fi.upm.es