

Modelización de Sistemas de Computación Distribuida con Bacterias Sintéticas mediante Autómatas Celulares

Diego González-Rodríguez

Grupo de Economía y Complejidad, Universidad de Valencia
xmunch@xmunch.com

RESUMEN

La conjugación es un sistema de comunicación distribuido que permite los intercambios de información genética entre bacterias. Este mecanismo *peer-to-peer* permite a las bacterias compartir estrategias de supervivencia implementadas en plásmidos de ADN. El presente trabajo se centra en la modelización de las dinámicas de conjugación mediante el uso de un autómata celular asíncrono y pretende servir como una aproximación formal y una herramienta de validación conceptual dentro del ámbito de la biología sintética. Este modelo se ha centrado en un caso de uso específico, una colonia heterogénea de bacterias modificadas genéticamente para discriminar plásmidos en base a la afinidad de los promotores y factores de transcripción de dos conjuntos de partida.

Palabras clave: conjugación; computación natural, P2P, biología de sistemas.

ABSTRACT

Conjugation is a distributed communication system which allows exchanges of genetic information among bacteria. This *peer-to-peer* mechanism allows bacteria to share survival strategies implemented in DNA plasmids. This paper focuses on the modeling of conjugation dynamics by using asynchronous cellular automata. It intends to serve in the field of synthetic biology as a formal approach and a conceptual validation tool. This model has been focused on a specific use case, a heterogeneous colony of engineered bacteria that discriminate plasmids by evaluating affinity among pairs of promoters and transcription factors.

Key words: conjugation; natural computing; P2P, systems biology.

1 Introducción

El presente trabajo se centra en la modelización de las dinámicas de conjugación bacteriana mediante el uso de autómatas celulares. Este modelo se presenta como una aproximación formal y una herramienta conceptual dentro del ámbito de la biología sintética, el área multidisciplinar que estudia el diseño y desarrollo de sistemas biológicos. Para la biología sintética los organismos dejan de concebirse como meros objetos de estudio

para pasar a ser sistemas modificables cuyo comportamiento puede condicionarse mediante la reprogramación de su código genético. Una de las bases biológicas de esta nueva disciplina son los circuitos genéticos desarrollados por Weiss et al. (2003). También podemos encontrar desarrollos avanzados de *computación con bacterias* en (R. Padilla et al., 2007; J. Poet et al., 2010; W. Ji et al., 2013).

Uno de los objetivos de la *computación con bacterias* sería el desarrollo de organismos

unicelulares modificados genéticamente para interactuar con otros elementos de su entorno y operar como sistemas distribuidos de procesamiento de información. Las bacterias cuentan con un nivel de complejidad asumible a la hora de ser utilizadas en la implementación de un computador biológico. Su comportamiento está directamente relacionado con la síntesis de proteínas que se codifica en su genoma, por lo que es relativamente sencillo condicionar su conducta social mediante la modificación de su ADN. Las bacterias son capaces de operar en red y participar en el procesamiento distribuido de información mediante distintos sistemas de comunicación. Uno de estos sistemas, denominado “conjugación”, permite el intercambio de información genética mediante la transmisión de plásmidos de ADN.

El estudio de los procesos de comunicación entre bacterias ha despertado un creciente interés en los últimos años. El control de los mecanismos de coordinación de una comunidad bacteriana permitiría la realización de cómputos distribuidos sobre un soporte biológico, esto es, mediante el diseño de redes cuyos nodos serían las células y cuyos arcos tomarían la forma de un plásmido o un péptido. Para el estudio de este tipo de sistemas se han utilizado tradicionalmente modelos basados en ecuaciones diferenciales en los que ciertos fenómenos no han podido explicarse al carecer de resolución espacial. Sin embargo, el modelo descrito en este trabajo intenta aproximarse a las dinámicas de la conjugación bacteriana mediante un autómata celular bidimensional desarrollado a partir de los trabajos de M. Waters (2005), L. Bassler (2006), Brenner et al. (2008), Pai et al. (2009). El autómata aquí descrito sintetiza parte del trabajo realizado en (Gonzalez-Rodriguez, 2011) con un enfoque teórico centrado en la descripción sistémica del modelo original y eliminando los detalles de su implementación. Una mirada sistémica a las comunicaciones entre bacterias nos permitirá no sólo comprender qué mecanismos gobiernan su capacidad de adaptación colectiva sino que además nos ayudará a desarrollar nuevos

modelos de computación bio-inspirados tales como (S. Das et al., 2009; E. Mezura-Montes & B. Hernández-Ocaña, 2009; S. Muller, et al., 2002).

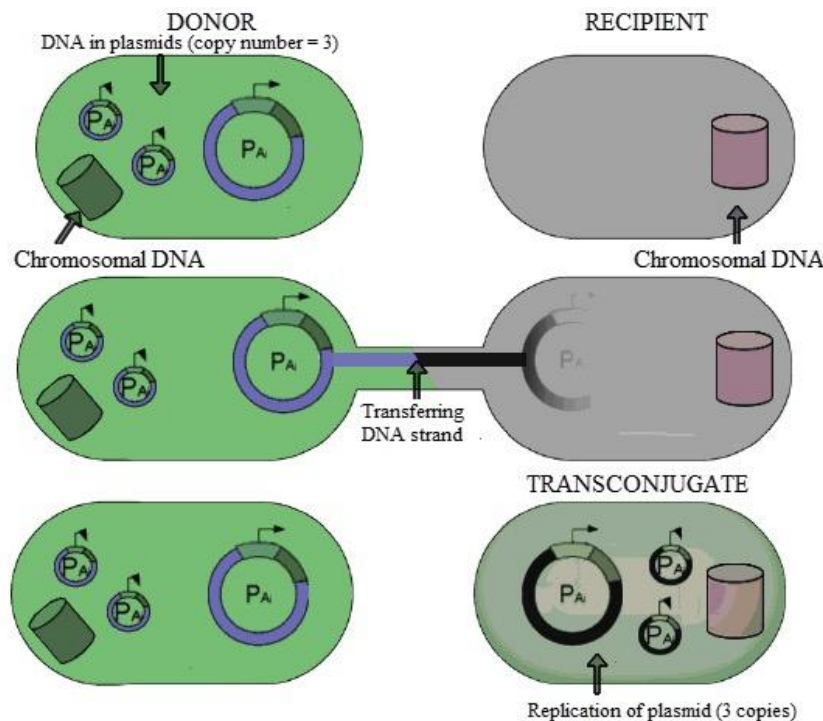
Cuando hablamos de sistemas de comunicación entre bacterias nos referimos generalmente a dos medios de intercambio de información: *quorum sensing* y conjugación. El *quorum sensing* es el proceso mediante el que las bacterias dan a conocer su presencia en un medio (Brenner et al., 2008) y tiene lugar mediante la liberación de un péptido que en la literatura se denomina *autoinductor*. Este péptido suele ser en las bacterias *Gram negativas* una acil-homoserina-lactona que al liberarse actúa como un sistema de notificación bioquímica, permitiendo a cada célula a título individual hacer una estimación del número de bacterias de su entorno. Mediante el *quorum sensing*, cada bacteria evalúa la concentración de *autoinductor* hasta que supera un determinado umbral, esto es, hasta que hay un número considerable de bacterias notificando su presencia. Superado este umbral, las bacterias reaccionan de forma sincronizada y realizan una acción determinada. Podríamos decir por tanto que el *quorum sensing* consiste en una emisión de votos favorables a la acción conjunta, un mecanismo democrático que se basa en la densidad celular y permite que un conjunto de bacterias aparentemente independientes reaccione de forma sincronizada y ejecute una acción colectiva.

La conjugación, sin embargo, es un sistema de comunicación entre bacterias con una mayor complejidad que el *quorum sensing*, ya que permite la transmisión de un volumen de información superior. La conjugación bacteriana consiste en la donación directa de información genética y funciona como un mecanismo *peer-to-peer* (P2P) para compartir estrategias de supervivencia implementadas en ADN. En este caso la información no se transmite a distancia, liberando un determinado compuesto en el entorno, sino que se requiere del contacto directo de un *pilus* como canal de transmisión. Una vez que una bacteria donante transmite su plásmido a una

receptora, generalmente éste se replicará hasta alcanzar lo que se denomina *copy number*, aunque en determinados casos podrá integrarse en el cromosoma bacteriano. Acto seguido, la

bacteria receptora desarrollará nuevas características al incorporar la información recibida a su propio genoma (Fig. 1).

Figura 1. Funcionamiento básico de la conjugación entre dos bacterias. Cada bacteria cuenta con su propio ADN cromosómico. Sin embargo, puede recibir o enviar moléculas circulares de ADN extracromosómico, esto es, plásmidos, al entrar en contacto con otras bacterias. Cuando una bacteria receptora recibe un plásmido de una donante se denomina transconjugada.



Volviendo al contexto de la biología sintética, diremos que si el genoma bacteriano puede modificarse entonces los componentes que dan lugar a la conjugación pueden adaptarse a las necesidades de diseño de un sistema de computación con bacterias. Por ejemplo, si se pretende contar con un grupo de bacterias heterogéneo, que cuente tanto con donantes como con receptoras, habría que especificar en cada secuencia de ADN sintético las características buscadas para cada tipo de bacteria (Gregory et al., 2008). Habría que atender entonces a qué genes es necesario

expresar para enviar plásmidos y cuales para recibirlos, contando con elementos como la *relaxasa* y el *pilus*, fundamentales en la comunicación por conjugación (Llosa et al., 2005). El mecanismo puede ajustarse aún más a las necesidades de diseño y alterar el funcionamiento habitual de la conjugación (Fig. 1) por el que la recepción de un plásmido conjugativo convierte a la bacteria receptora en una nueva bacteria donante. Para ello habría que forzar una transmisión del mensaje que no copiase toda la maquinaria de conjugación en la nueva bacteria, esto es, utilizando *plásmidos*

movilizables. Otro detalle interesante es la posibilidad de direccionar el envío de manera que sólo exista un destino para nuestro plásmido, esto es, implementar mecanismos de conjugación dirigida (Arkin et al., 2006).

2 Descripción del modelo

El presente modelo es un autómata celular asíncrono que toma como base distintos trabajos (M. Krone 2007; Weiss et al., 2004; Basu et al, 2005; Mitavskiy et al., 2009; Norman et al., 2009) para la modelización de comportamientos bacterianos. El objetivo es poder describir sistémicamente las dinámicas de los procesos de conjugación en entornos sintéticos, así como formalizar un caso concreto de selección colectiva de plásmidos. El entorno bacteriano se representa mediante un *grid* bidimensional en el que cada celda activa corresponde a una bacteria y en el que la evolución del sistema se evalúa de acuerdo a una sucesión de eventos aleatorios que constituyen los cambios en la distribución espacial. Como simplificación, se ha supuesto acceso a nutrientes ilimitados y que se ha incorporado la presencia de dos *exclusion proteins* para ajustar la recepción de plásmidos dentro las bacterias denominadas *transmitter*, un tipo de bacterias recipientes que han sido modificadas genéticamente para llevar a cabo evaluaciones y cálculos internos.

Dependiendo de la configuración inicial del sistema podremos evaluar distintas dinámicas, permitiéndonos analizar la interacción entre colonias de bacterias inicialmente aisladas y comparar su comportamiento con colonias bien mezcladas. Un aspecto importante es que contamos con tres tipos de plásmidos, dos de los cuales, además, cuentan con diferentes variaciones. Esto nos permite aproximarnos a la modelización de una librería de promotores y una librería de factores de transcripción.

El sistema que se pretende modelar está formado por dos tipos de bacteria. Por un lado, contamos con *senders*, bacterias donadoras que cuentan con maquinaria de conjugación y que además son portadoras de un *plásmido movilizable* de tipo P_A o P_B , siendo P_A y P_B

librerías formadas por N plásmidos cuya afinidad entre pares se pretende evaluar. Los plásmidos de la librería P_A contienen variantes de un mismo promotor mientras que los de P_B contienen variantes de un factor de transcripción. Esto es, para que un plásmido P_{Ai} transforme su carga en la proteína A que codifica es necesario que un factor de transcripción B se una a su promotor. Este factor de transcripción viene expresado constitutivamente por el plásmido P_{Bi} . Dependiendo de la afinidad entre promotor y factor de transcripción así será la concentración de la proteína A en el medio intracelular.

Además de las bacterias que portan las instancias de promotores y factores de transcripción, contamos con bacterias *transmitter*, recipientes que efectuarán las validaciones de afinidad entre los pares de ambas librerías. Una *transmitter* recibirá por conjugación los *plásmidos movilizables* de las *senders*. A continuación, evaluará la afinidad de una pareja $P_{Ai} + P_{Bi}$ comparando la concentración de la proteína A con la alcanzada por la proteína C, constitutivamente expresada en un plásmido interno P_C . Para ello utilizará un circuito comparador, implementado en su ADN cromosómico. Si el resultado es positivo, se activará la replicación de los plásmidos recibidos mediante la inhibición de la proteína *TetR*, expresada de forma constitutiva. En caso contrario y por defecto, *TetR* permanecerá a un nivel alto, impidiendo la replicación de los plásmidos no aptos, que se degradarán (Fig. 2).

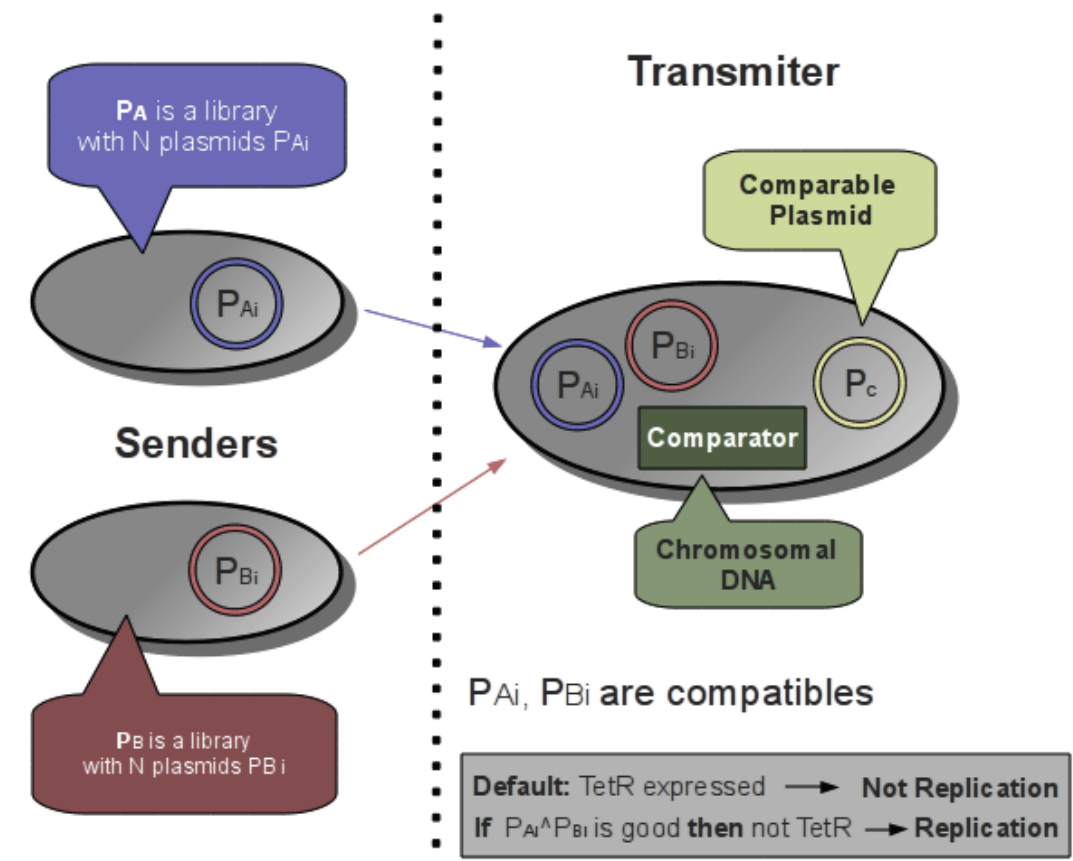
El objetivo de esta comunidad bacteriana es favorecer la presencia en las *transmitters* de parejas $P_{Ai} + P_{Bi}$ cuya afinidad sea positiva respecto a un umbral, con el objetivo de seleccionar los mejores plásmidos del total con el que contábamos inicialmente por cada librería. Dado un sistema como el planteado, habrá que determinar qué características hacen que éste pueda converger a una solución óptima. Para ello no sólo se regularán las tasas de conjugación y reproducción sino también otros parámetros como retardos en la expresión o inhibición de proteínas. Además, se supondrá

la presencia de nutrientes ilimitados para que las bacterias puedan llevar a cabo distintos procesos de cómputo sin limitaciones energéticas. Cada plásmido de tipo P_A tendrá un promotor ligeramente diferente a los demás. Lo mismo ocurrirá con los factores de transcripción de los diversos plásmidos P_B . Habrá que contemplar, por tanto, que dentro de cada plásmido tendremos distintos retardos asociados a la expresión de proteínas y a la activación de promotores. El primero que se ha considerado es el *Computation delay*, definido como la suma de *Prot B delay* y *Prot A delay*.

Prot B delay es el tiempo que tarda el conjunto de plásmidos P_{Bi} de una *transmitter* en expresar constitutivamente la concentración de la

proteína B necesaria para activar suficientemente el promotor de los plásmidos P_{Ai} . Denominamos *binding threshold* a la concentración de proteína B necesaria para que un plásmido P_{Ai} exprese la proteína A en su concentración media. *Prot A delay* es el tiempo que tarda el conjunto de plásmidos P_{Ai} de una *transmitter* en expresar, tras la activación del promotor que permite la transcripción por parte de la proteína B, la concentración de proteína A requerida por el circuito comparador. Dicho de otro modo, es el tiempo que tarda la proteína A en pasar de su concentración media a la concentración requerida por el comparador.

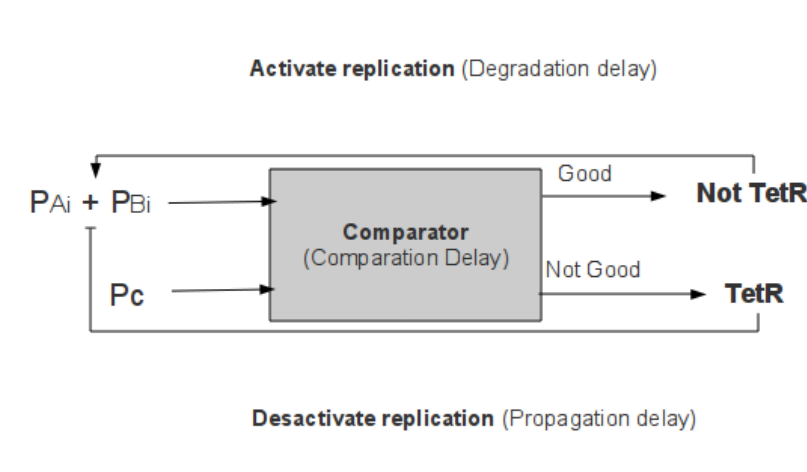
Figura 2. Esquema con los dos tipos de bacteria que intervienen en esta arquitectura.



Desde que una *transmitter* ha recibido al menos un plásmido de cada pareja hasta que los resultados del comparador son apreciables pueden transcurrir dos posibles intervalos de tiempo dependiendo del resultado del cómputo (Fig. 3). Si la comparación es positiva el retardo total es el resultado de la suma de *Computation delay*, *Comparison delay* y *Degradation delay*, siendo *Comparison delay*

el tiempo que tarda el comparador en evaluar las entradas y *Degradation delay* el tiempo de degradación de la proteína *TetR* desde la inhibición de su expresión. Aunque la proteína deje de ser expresada su presencia en el medio persiste hasta que sus moléculas se degradan, de ahí que se contemple su tiempo de degradación.

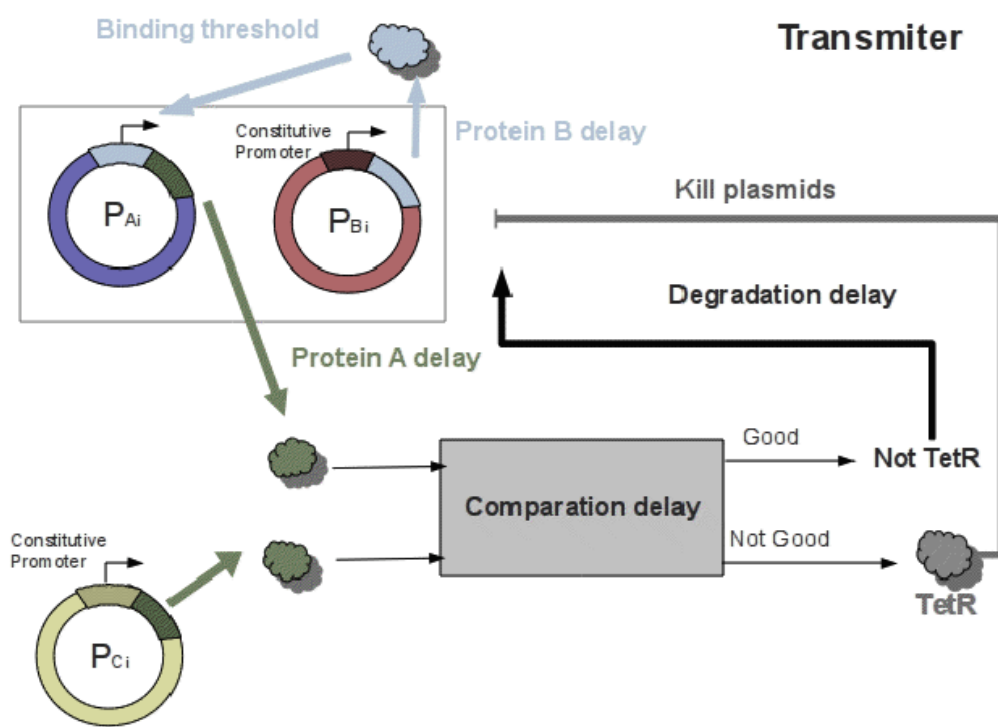
Figura 3. Diagrama con los dos posibles recorridos del comparador. Inhibición de la proteína *TetR* para una comparación positiva y activación de la misma para una negativa.



Si la comparación es negativa, en un principio lo lógico sería considerar este retardo como la suma de *Computation delay*, *Comparison delay* y *Propagation delay*, cuando en lugar de inhibir *TetR* pretendemos activar su expresión y donde *Propagation delay* es el tiempo que la proteína *TetR* necesita para superar el umbral que desactivaría la replicación de los plásmidos. Sin embargo, la expresión de *TetR* es constitutiva en nuestro modelo por lo que no será necesario activarla. Al contrario, debemos suponer que *TetR* se encuentra inhibida, esto

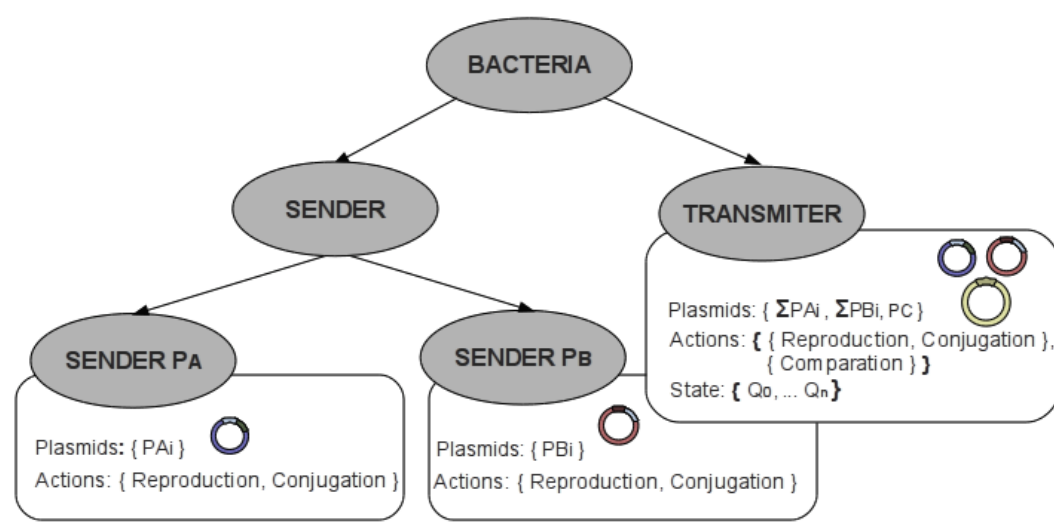
es, no hay replicación por defecto. Para simplificar el modelo consideraremos que el tiempo transcurrido desde que comienza el proceso de computación hasta que finaliza la comparación será suficiente para que los plásmidos empiecen a degradarse. Pasado este intervalo, si la comparación es negativa, los plásmidos se degradarán directamente (Fig. 3). Si la comparación fuera positiva se inhibiría la proteína *TetR* reactivándose la replicación de plásmidos (Fig. 4).

Figura 4. Descripción de los procesos que intervienen en el interior de una *transmitter*.



Dentro de la taxonomía de bacterias del modelo (figura 5), el comportamiento de las *transmitters* durante la comparación se identifica con un conjunto de reglas internas. Las reglas de alto nivel quedarían formalizadas mediante el autómata que muestra la figura 6 en un caso general. En el caso de que se pretenda restringir la entrada de plásmidos mediante el uso de *exclusion protein*, de modo que solo puedan recibirse uno de tipo P_{Ai} y otro de tipo P_{Bi} , el autómata sería el de la figura 7.

Figura 5: Taxonomía de las bacterias del modelo.



Suponiendo como ejemplo un caso en el que la recepción de una pareja de plásmidos es de alta afinidad, la *transmitter* pasaría por varios estados atendiendo a un orden concreto (Fig. 8). Tras el retardo de la proteína B se alcanzaría el *binding threshold* necesario para expresar hasta su nivel medio la proteína A, lo que se consideraría una transición al estado

Q5. Después, tras el tiempo requerido para incrementar los niveles de concentración de proteína A de su nivel medio al requerido por el comparador, el estado sería Q6. Una vez transcurrido el tiempo de comparación y la inhibición de *TetR* los plásmidos podrían replicarse sin restricciones hasta alcanzar el *copy number* (Q7).

Figura 6. Autómata que define los distintos estados de una bacteria *transmitter*. En este caso el ADN de la bacteria no codifica la *exclusion protein*, por lo que se permite la recepción de varios plásmidos de tipo PA y PB.

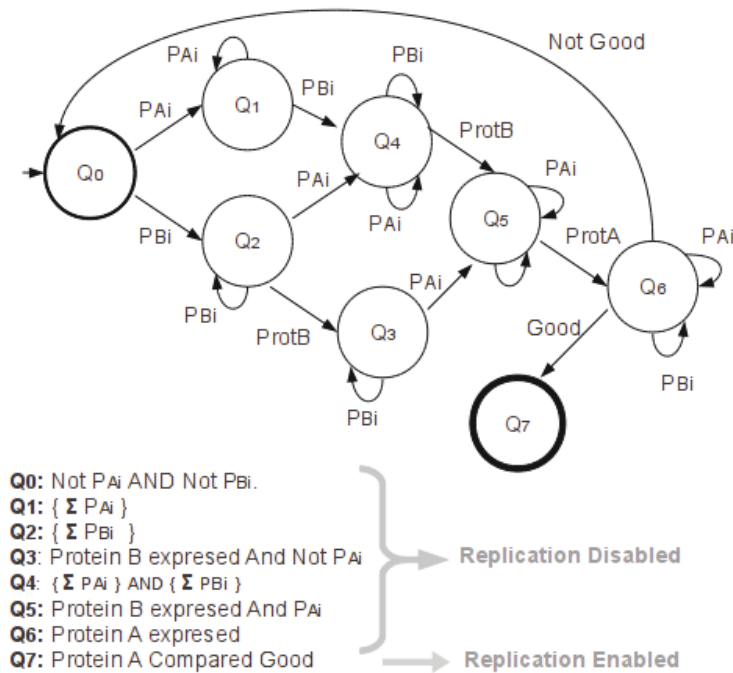


Figura 7. Estados de una bacteria transmittor con exclusion protein.

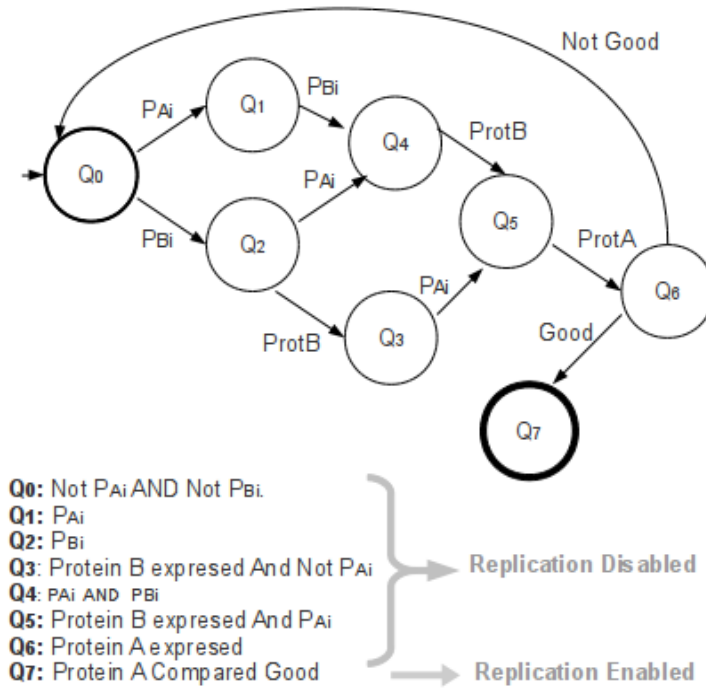
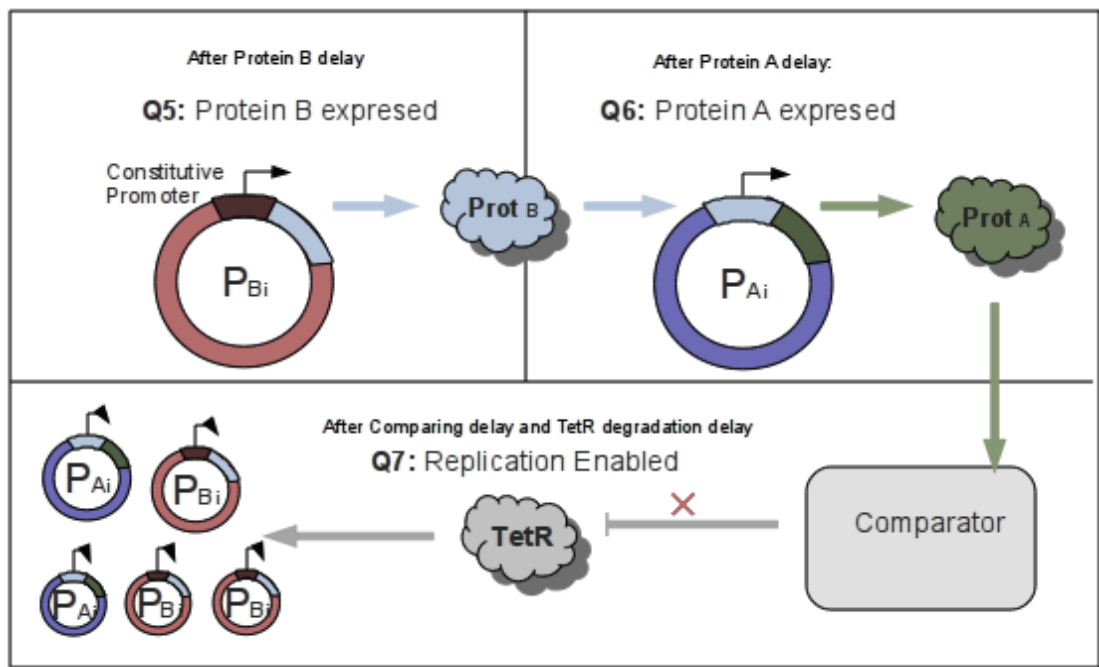


Figura 8. Comparación positiva en una transmittor.



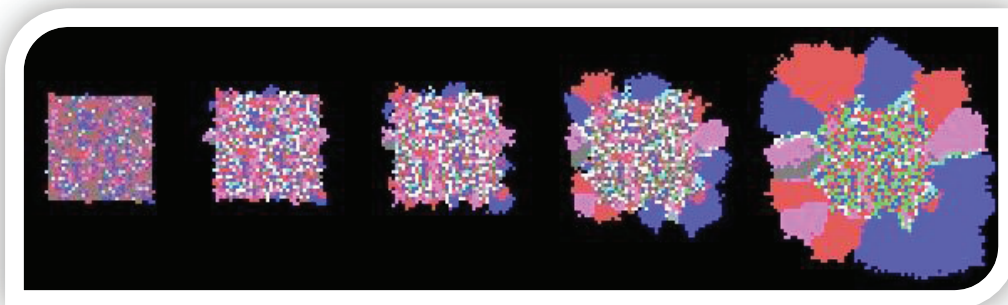
4 Resultados

Este modelo permite evaluar la evolución de una comunidad bacteriana de acuerdo a su distribución espacial. En primera instancia, utilizaremos un único tipo de *transmitter* sin *exclusion protein* (Fig. 6) para evaluar la influencia de los nutrientes en la propagación de plásmidos. Hemos observado que cuando limitamos el número de nutrientes, la conjugación se produce principalmente al comienzo de la simulación. Esto da lugar a que la muestra inicial, ubicada en el centro de la placa, participe en procesos conjugativos. Sin embargo, la frecuencia de los mismos se ve reducida a medida que la colonia avanza y se consumen los nutrientes adyacentes en los procesos de reproducción. En los patrones formados bajo estos condicionantes, las bacterias se reproducen aumentando el radio de la colonia mediante sectores definidos por la presencia de plásmidos conjugativos (Fig. 9), ofreciéndonos resultados similares a los planteados por Top et al. (2007). Para reproducir el modelo en condiciones óptimas el acceso a nutrientes debe ser por tanto ilimitado. En este segundo escenario podemos observar sin restricciones el mecanismo de computación distribuida detallado en la figura 8, esto es, la búsqueda de parejas AB óptimas para evaluar la afinidad de promotores y factores de transcripción. Para ello, partiremos de una colonia bien mezclada de senders P_A , senders P_B y transmitters con *exclusion protein* (Fig. 7).

Figura 9. Comparación de patrones en un entorno con nutrientes limitados. Las celdas rosas representan bacterias que cuentan con algún plásmido conjugativo y las celestes a las que no han sido conjugadas. (1,2) Simulación y resultados biológicos tomados con permiso de **Modelling the spatial dynamics of plasmid transfer and persistence**. Stephen M. Krone, Ruinan Lu, Randal Fox, Haruo Suzuki y Eva M. Top. (3) Resultados de nuestro automata celular tras $\sim 10^3$ iteraciones.



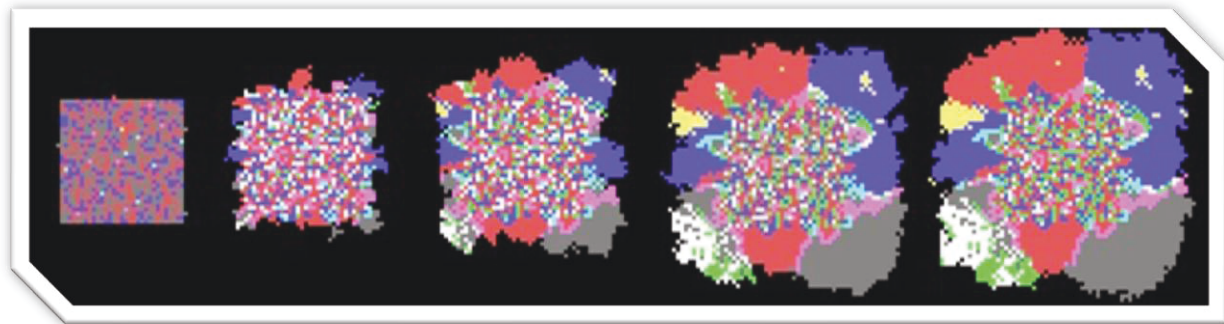
Figura 10. Evolución en tiempo discreto de un escenario bien mezclado durante $\sim 10^4$ iteraciones. Se ha utilizado un antibiótico para eliminar las senders sin plásmido. Rojo: Sender P_B . Azul: Sender P_A . Gris: Transmitter. Celeste: Transmitter con P_A . Magenta: Transmitter con P_B . Blanco: Transmitter con P_A y P_B . Verde: Transmitter con comparación positiva.



Como podemos observar en la figura 10, la mayoría de las *transmitter* que se encuentran en las posiciones centrales de la placa acaban realizando una comparación positiva. Recordemos que se necesita el contacto de cada *transmitter* con al menos una *sender* de cada tipo para que se pueda evaluar la afinidad de una pareja. En el caso de las bacterias periféricas, que son aquellas que surgen como consecuencia de la reproducción, la dinámica conjugativa sólo se mantiene en determinados sectores. En la figura 10 existe un número reducido de *transmitters* no conjugadas, como se observa en la franja gris de la izquierda, pero se pueden apreciar sectores de color magenta, con *transmitters* que han recibido un plásmido P_B , o una pequeña franja celeste, en la que las *transmitters* han recibido plásmidos P_A . Asumimos que la probabilidad de perder un plásmido (*segregative loss*) es de 0.005.

Contemplando el papel del *segregative loss*, se ha considerado la presencia de un antibiótico al que son vulnerables las *senders* que han perdido su plásmido P_A o P_B . La supresión de este antibiótico puede alterar el crecimiento de la colonia pero según se ha observado en primera instancia no tiene un papel excesivamente relevante en la evaluación de plásmidos (Fig. 11). Con esta modificación se puede apreciar una mayor presencia de comparaciones positivas. Sin embargo, la franja verde inferior está definida por un conjunto de bacterias con parejas AB de alta afinidad que se han reproducido hasta tomar una mayor presencia. Esto no implica un número mayor de parejas afines, sino una homogenización sectorial como consecuencia de la reproducción de aquellas que ya habían seleccionado parejas óptimas.

Figura 11. Escenario bien mezclado sin antibiótico ($\sim 10^4$ iteraciones). Además de las regiones amarillas ocupadas por *senders* que han perdido su plásmido, ha aparecido un sector en la región inferior izquierda del grid que puede llevar a falsas interpretaciones. Se trata de un conjunto de *transmitters* que han recibido los dos plásmidos. Las blancas son las que aún no han evaluado la afinidad de su pareja de plásmidos, las verdes las que ya han comparado su pareja y la han considerado buena. Las grises que aparecen dentro del mismo sector son el resultado de una comparación negativa. Se ha mantenido TetR expresada, inhibiéndose la replicación de los plásmidos que progresivamente se han degradado. Rojo: Sender P_B . Azul: Sender P_A . Gris: Transmitter. Celeste: Transmitter con P_A . Magenta: Transmitter con P_B . Blanco: Transmitter con P_A y P_B . Verde: Transmitter con comparación positiva. Amarillo: Sender sin plásmido.



5 Conclusiones

Hemos presentado un modelo que tiene en cuenta características específicas de la conjugación bacteriana y que permite estudiar sociedades sintéticas en las que puedan llevarse a cabo procesos distribuidos de selección de plásmidos. Esta aproximación basada en un autómata celular asíncrono nos ha mostrando el impacto de la heterogeneidad y la distribución espacial a la hora de llevar a cabo estudios de afinidad. Además de ofrecer un punto de partida para el desarrollo de librerías de plásmidos que puedan ser utilizadas en computación natural, cumple con una función descriptiva. Este modelo nos ofrece una mirada sistémica a los mecanismos de comunicación entre bacterias, ayudándonos a entender las dinámicas *peer-to-peer* que permiten la adaptación de las comunidades bacterianas a distintos entornos y sentando las bases de posibles algoritmos bio-inspirados con los que llevar a cabo la modelización de otros sistemas complejos adaptativos.

Referencias

- Arkin A. & Keasling J. D. (2006). Addressable Conjugation in Bacterial Networks. *iGem*.
- Bassler B. L. & Losick R. (2006). Bacterially Speaking. *Cell*. 125(2), 237-246, 21.
- Basu, S., Gerchman Y., Collins C. H., Arnold F. H. & Weiss R. (2005). A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. *Nature*. 434, 1130-1134.
- Brenner K., You L. & Arnold F. (2008). Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology*. 26(9), 483-489.
- Das, S., Chowdhury, A., & Abraham, A. (2009). A bacterial evolutionary algorithm for automatic data clustering. In *Evolutionary Computation, 2009. CEC'09. IEEE Congress on* (pp. 2403-2410). IEEE press.

Gonzalez-Rodriguez, D. (2011). Synthetic bacterial simulator: conjugation as communication protocol between cells. Thesis (Master thesis), Computer Faculty (Technical University of Madrid).

Gregory R., Saunders J.R. & Saunders V.A. (2008). Rule-based modelling of conjugative plasmid transfer and incompatibility. *BioSystems*. 91, 201–215.

Ji, W., Shi, H., Zhang, H., Sun, R., Xi, J., Wen, D., Ouyang, Q. (2013). A formalized design process for bacterial consortia that perform logic computing. *PLoS One*, 8(2).

Krone S. M., Lu R., Fox R., Suzuki H. & Top E. M. (2007). Modelling the spatial dynamics of plasmid transfer and persistence. *Microbiology*. 153, 2803-2816.

Llosa M. & De la Cruz F. (2005). Bacterial Conjugation: A potential tool for genomic engineering. *Research in Microbiology*. 156, 1–6.

Mezura-Montes, E., & Hernández-Ocaña, B. (2009). Modified Bacterial Foraging Optimization for Engineering Design. *Intelligent engineering systems through artificial neural networks*. ASME Press.

Muller, S. D., Marchetto, J., Airaghi, S., & Kournoutsakos, P. (2002). Optimization based on bacterial chemotaxis. *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, 6(1), 16–29.

Mitavskiy B., Chu D., & Zabet R. (2009). Models of transcription factor binding: Sensitivity of activation functions to model assumptions, *Journal of Theoretical Biology*, 257(3), 419-429.

Norman A., Hansen L. H., & Sørensen S. J. (2009). Conjugative plasmids: vessels of the communal gene pool. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 364, 2275–2289.

Padilla, R., Flores, R. B., Sánchez, J. C., & Romero, J. P., Saldaña, U., Salvador, M., &

Hernández, P. (2007). Biological implementation of algorithms and unconventional computing. *IET Synthetic Biology*, 1(1), 59–60.

Pai A., Tanouchi Y., Collins C. H. & You L. (2009). Engineering multicellular systems by cell–cell communication. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(4), 461-470.

Poet, J. L., Campbell, A. M., Eckdahl, T. T., & Heyer, L. J. (2010). Bacterial computing. *XRDS: Crossroads, The ACM Magazine for Students*, 17(1), 10.

Waters C. M. & Bassler B. L. (2005). Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21, 319-46.

Weiss, R., Basu, S., Hooshangi, S., Kalmbach, A., Karig, D., Mehreja, R., & Netravali, I. (2003). Genetic circuit building blocks for cellular computation, communications, and signal processing. *Natural Computing*, 2(1), 47–84.

Weiss R., Knight T. F., & Sussman G. J. (2004). “Genetic Process Engineering” in *Cellular Computing*, Martyn Amos editor, Oxford University Press. 43-73.