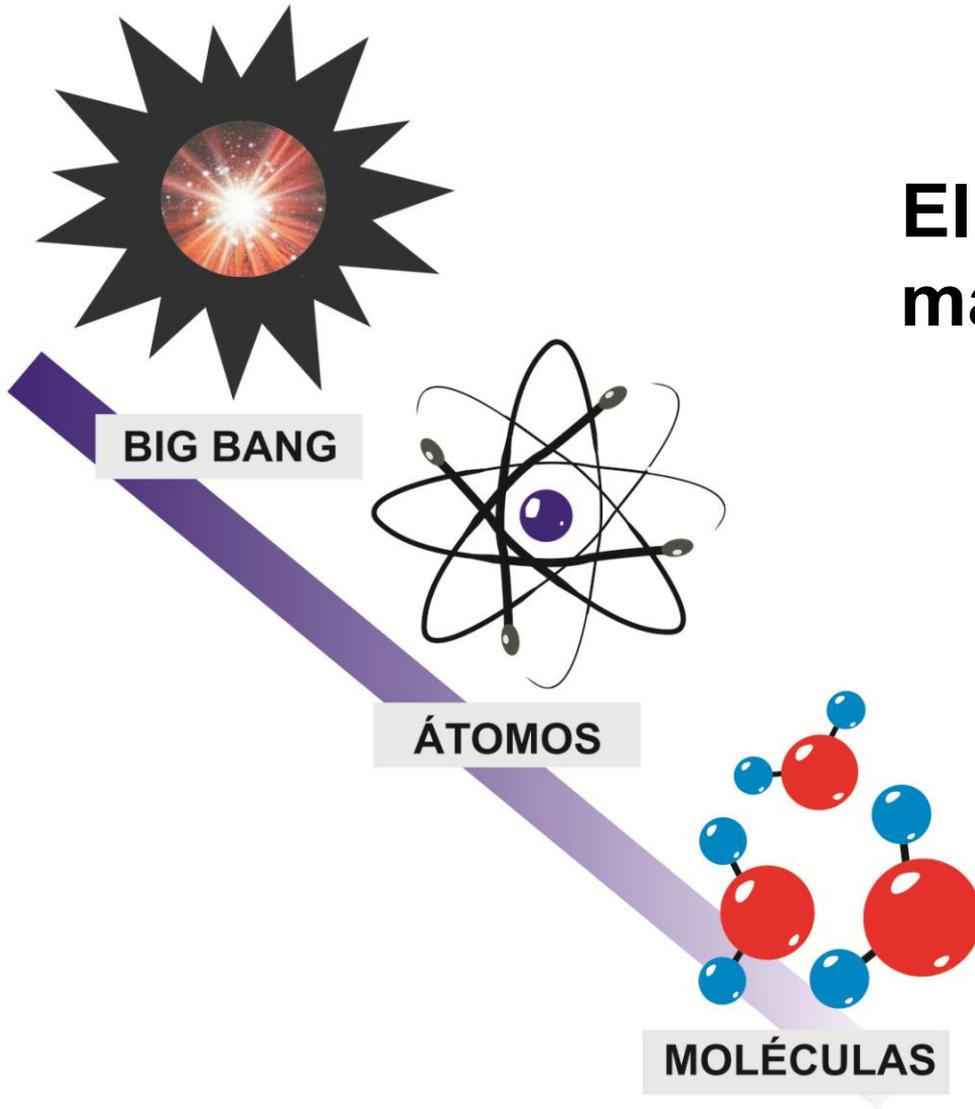


**Biotecnología y Biología sintética,**  
o el **PRESENTE** y el **FUTURO**  
sobre la aplicación de la  
***materia viva*** en la producción de  
***bienes y servicios***

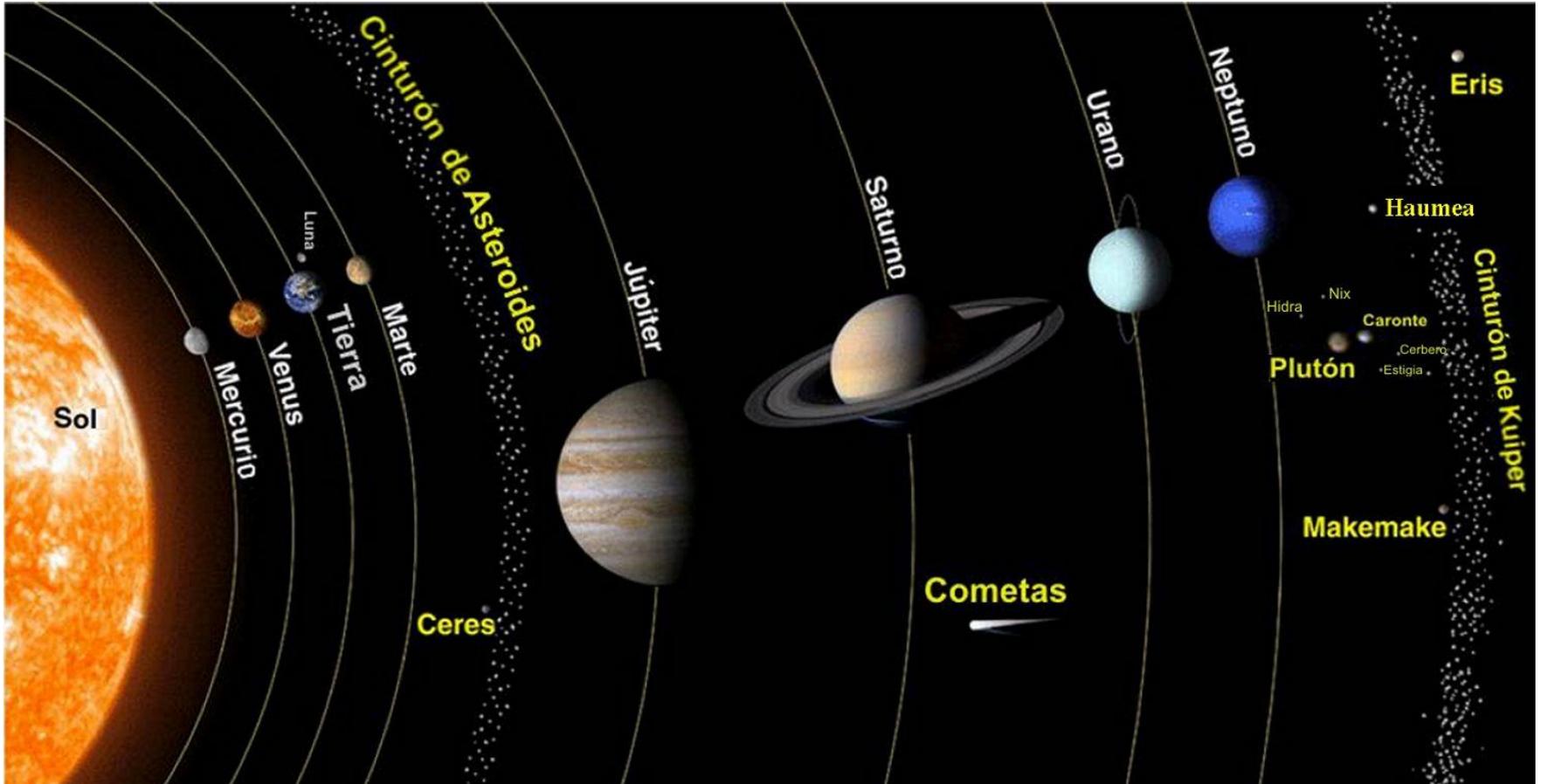
# El camino hacia la materia viva...



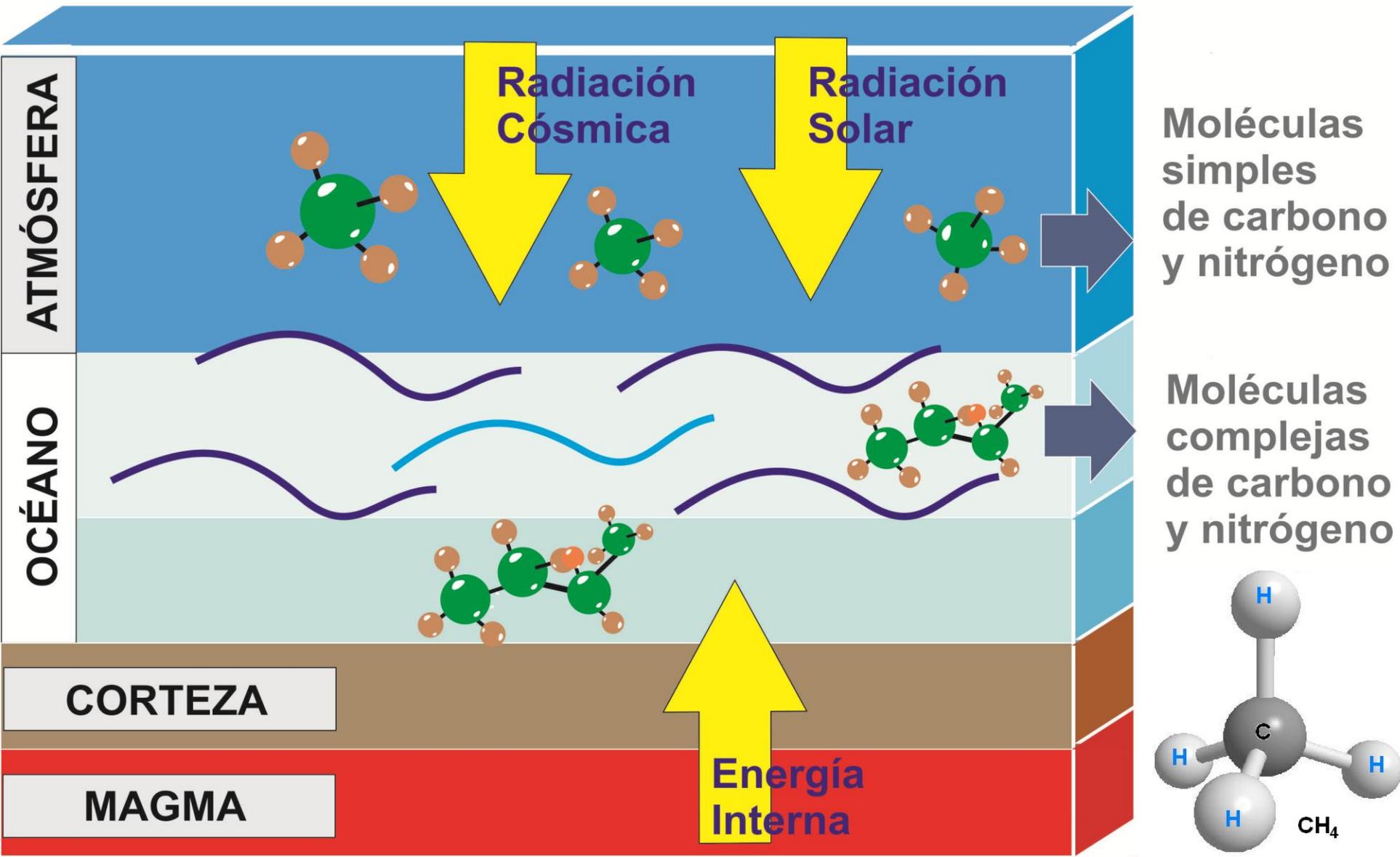
# El camino hacia la materia viva...



Hace alrededor de 4,5 mil millones de años sucede un proceso de **abiogénesis**



# Moléculas basadas en esqueletos de carbono se multimerizan...



Así, en el **planeta Tierra** primitivo abundaban...

## las **MACROMOLÉCULAS**:

**LÍPIDOS**

**CARBOHIDRATOS**

**PROTEÍNAS**

**ÁCIDOS NUCLEICOS**

Moléculas que forman micelas y bicapas en agua

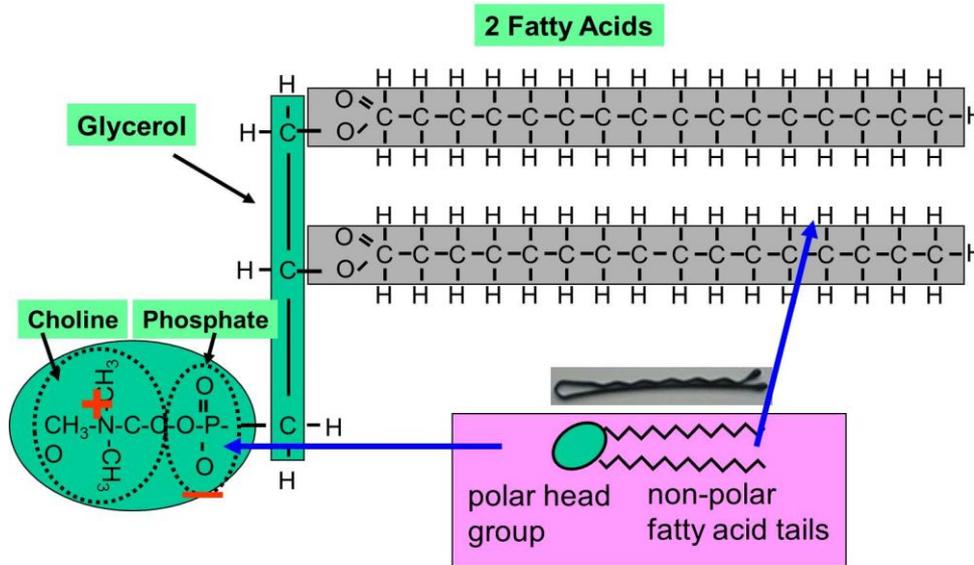
Polímeros que almacenan energía en sus enlaces. También forman estructuras

Polímeros con alto contenido de información. Catalizan procesos químicos

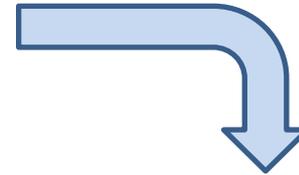
Polímeros con alto contenido de información. Se acoplan a proteínas. ARN y ADN



# Los lípidos...

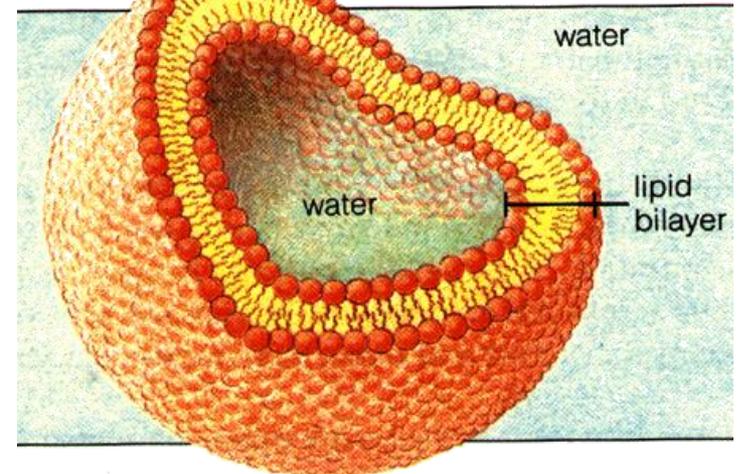


**fosfolípidos**

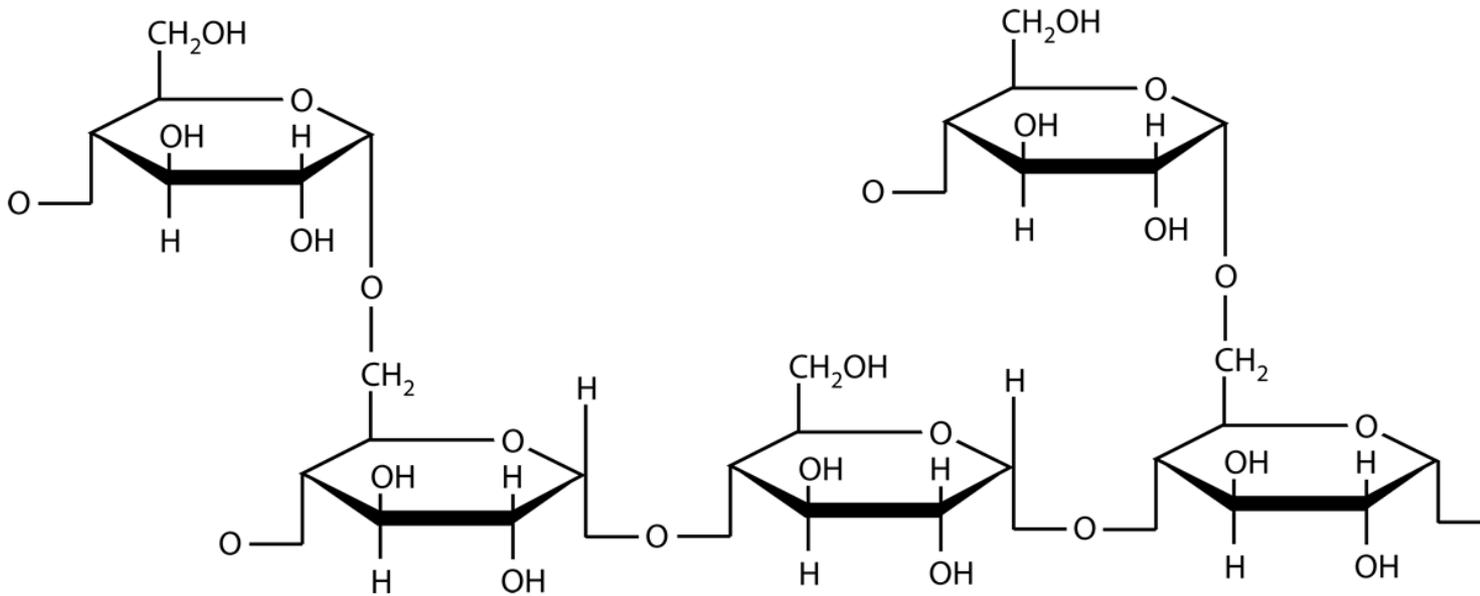
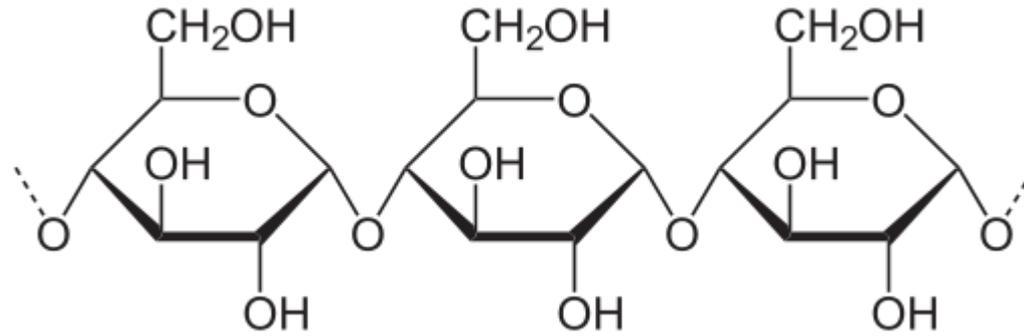


Created by Wayne W. LaMorte, MD, PhD, MPH. Boston University School of Public Health

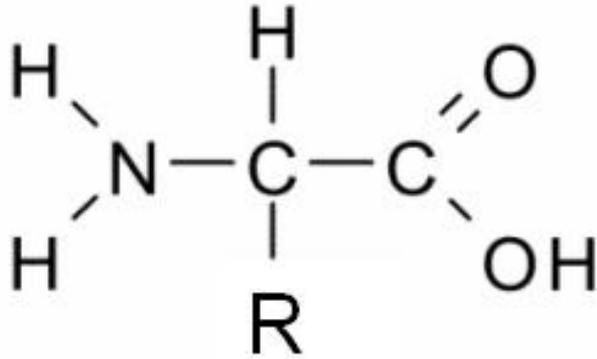
**Bicapas lipídicas**



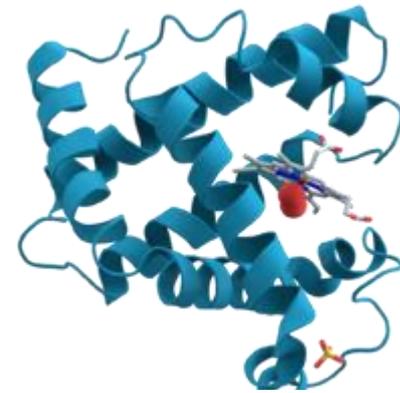
# Los carbohidratos...



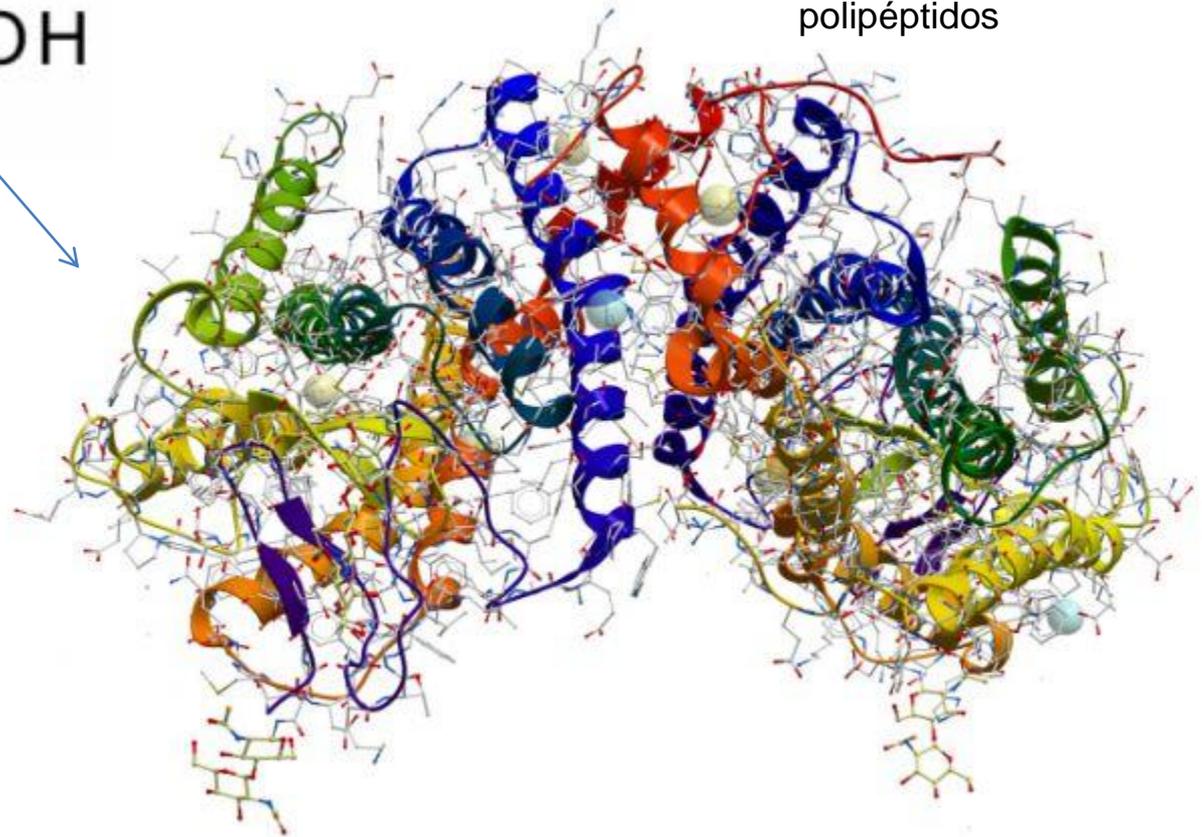
# Las proteínas...



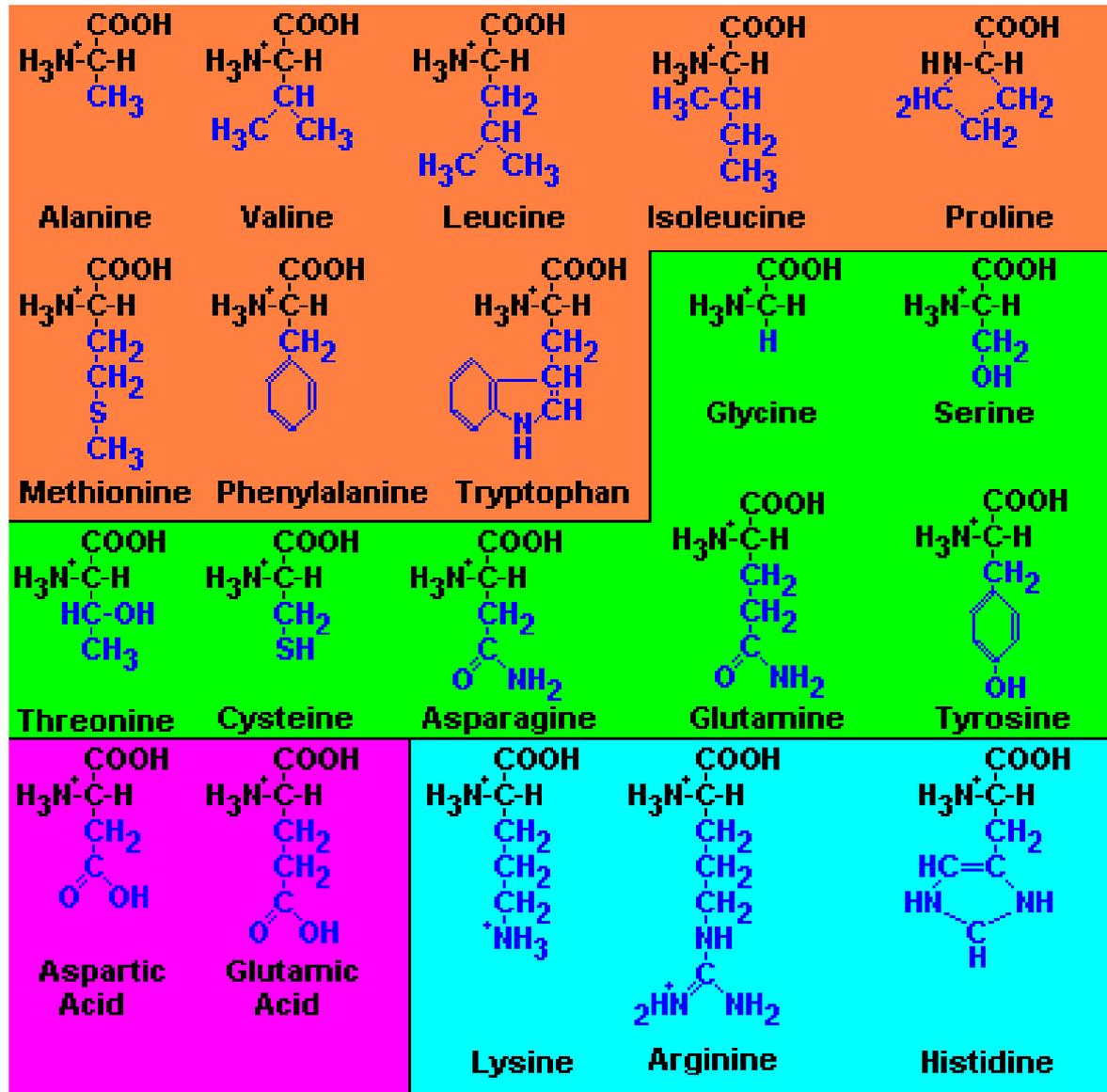
aminoácido



polipéptidos



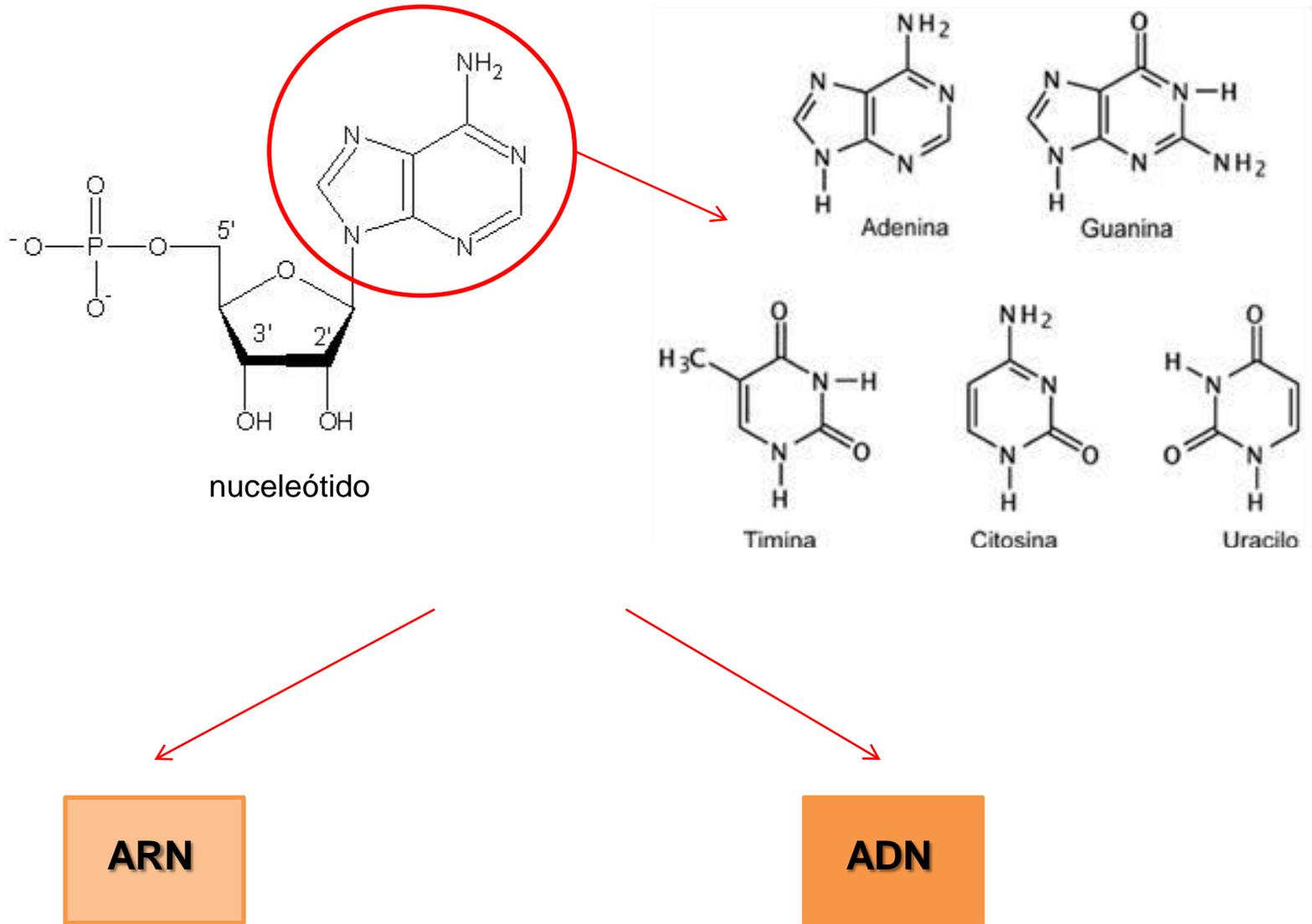
# Los aminoácidos...



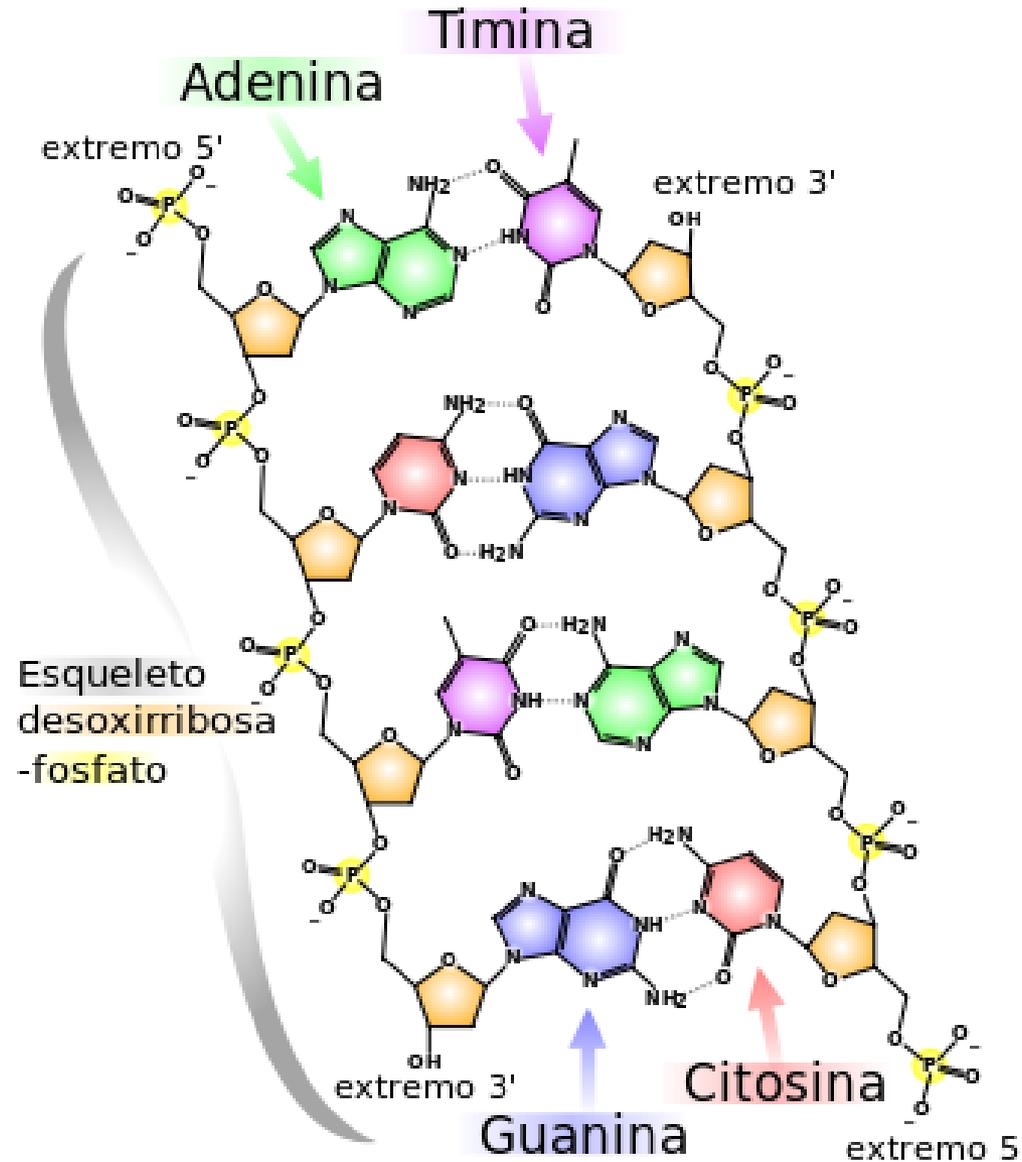
# Las proteínas...

- Las **enzimas** son **catalizadores** que posibilitan que **reacciones termodinámicamente posibles** sucedan a **mayor velocidad**.
- De este modo, una **molécula sustrato** puede ser **modificada** varias veces mediante diferentes **reacciones químicas** generándose **productos** distintos que la molécula de partida.
- Esta **sucesión** de **pasos** químicos, catalizados por diferentes enzimas (cada una con **una actividad**), conforman una **vía enzimática** de modificación (**una función**).

# Los ácidos nucleicos...

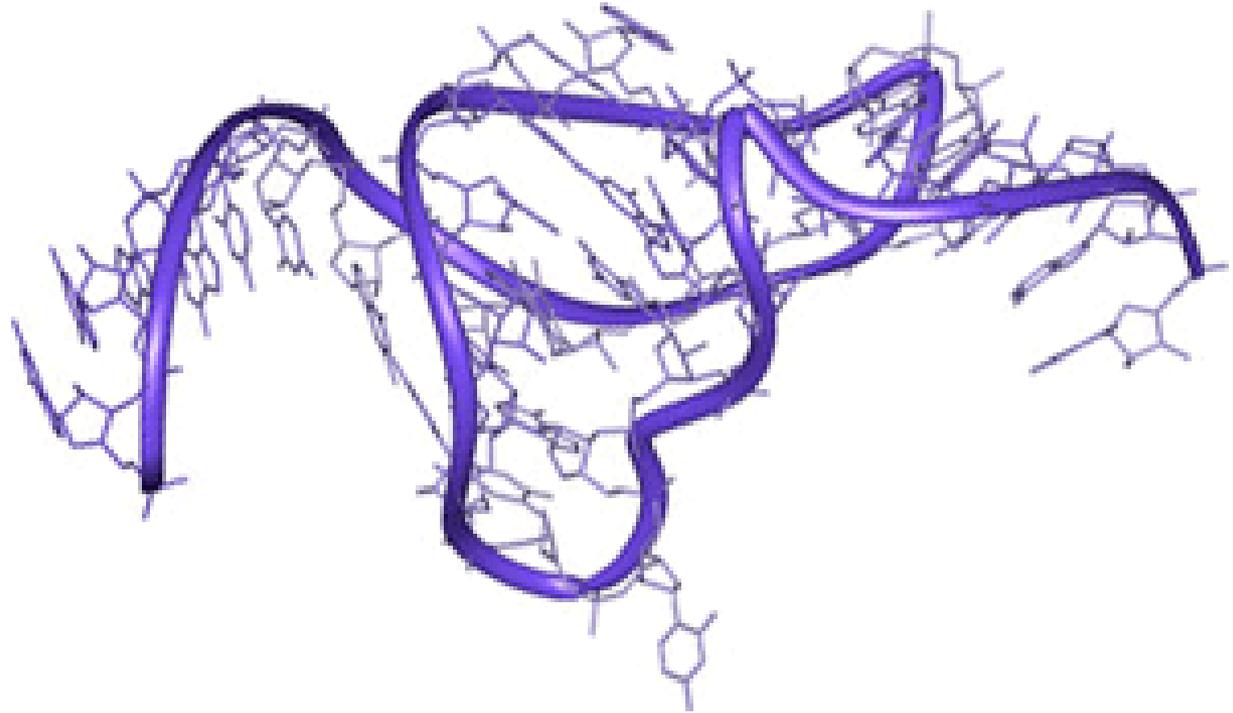


# Los ácidos nucleicos...



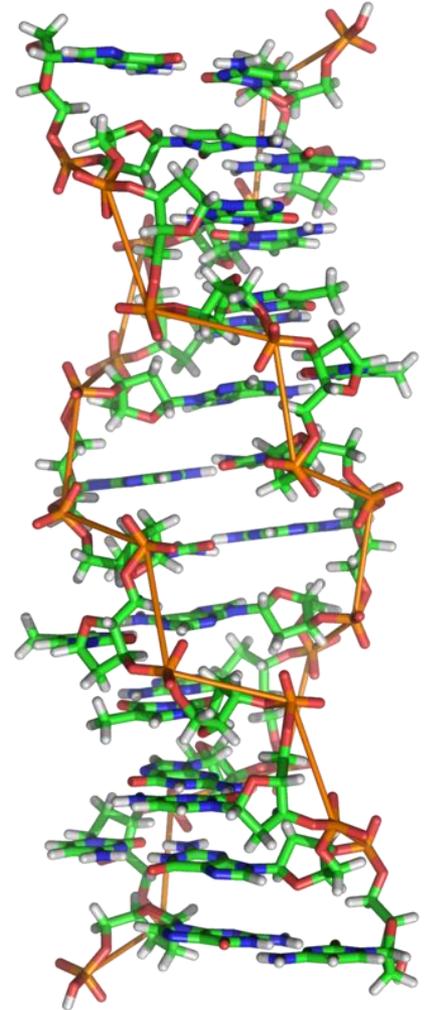
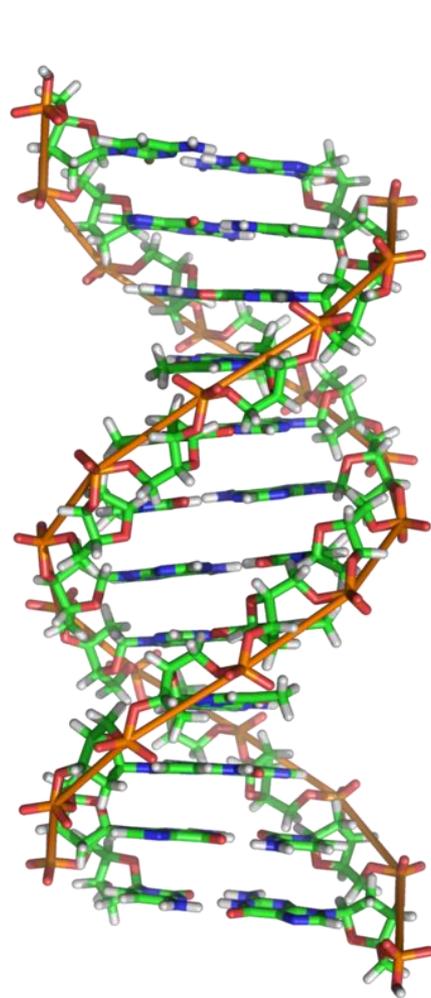
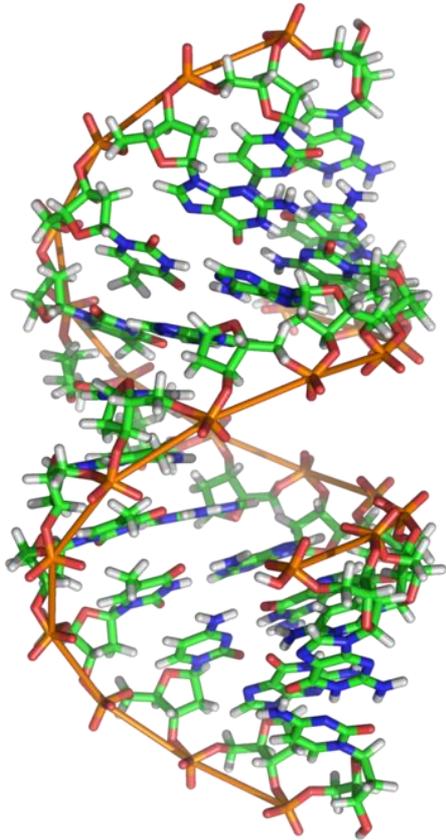
# Los ácidos nucleicos...

ARN



# Los ácidos nucleicos...

ADN

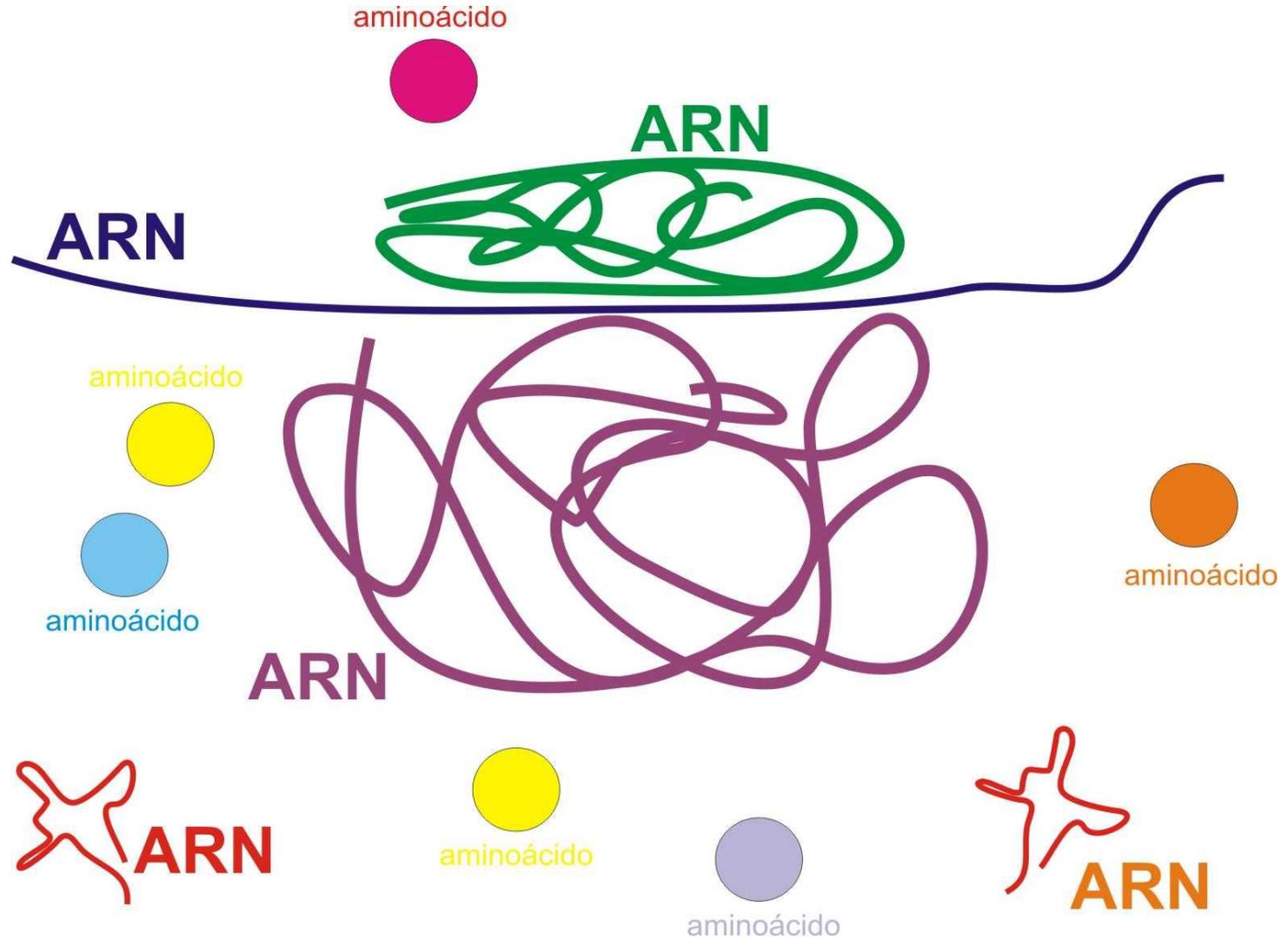


***¿Cómo se habría iniciado  
la materia viva?***

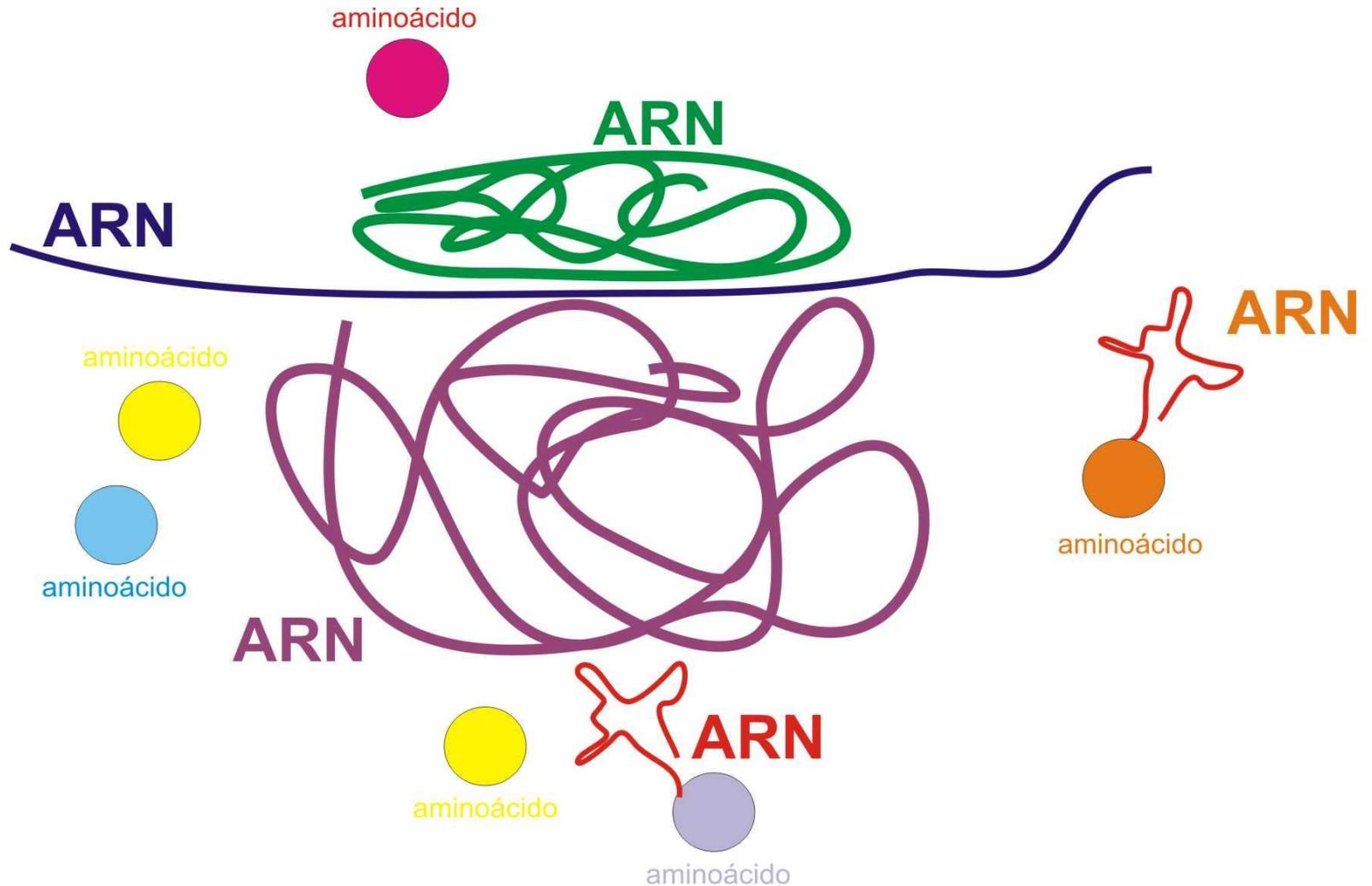
# El mundo de ARN

- El **ARN** es una **macromolécula** que puede tener **actividades catalíticas**.
- Así, moléculas de **ARN** podrían haber comenzado a **autoreplicarse**, tomando monómeros del medio para **sintetizar** las **copias**.
- Como el **ARN** es capaz de **interactuar específicamente** con **proteínas**, los mejores catalizadores biológicos, comenzaron a darse estas asociaciones.
- Luego, mediante **procesos de selección**, las moléculas de **ARN** con **capacidad** de replicación lograron **controlar** la **síntesis de proteínas**, ya que **pueden catalizar** la **unión de aminoácidos** entre sí.

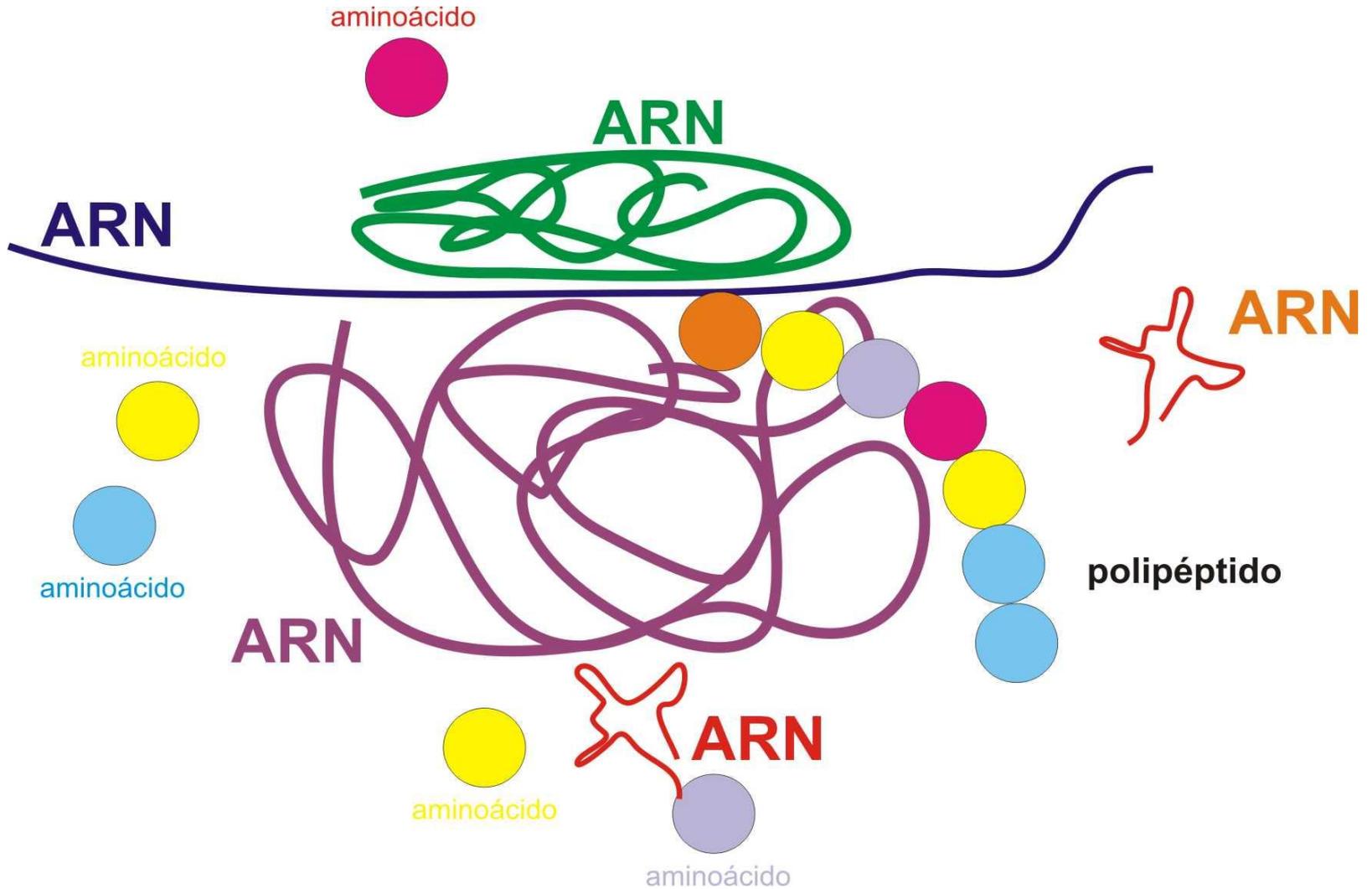
# ARN sintetizando proteínas

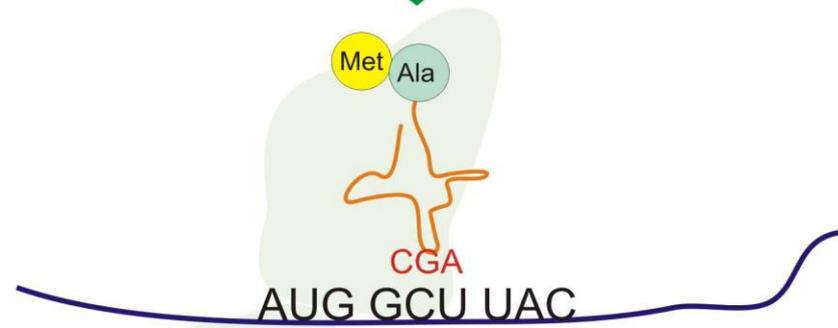
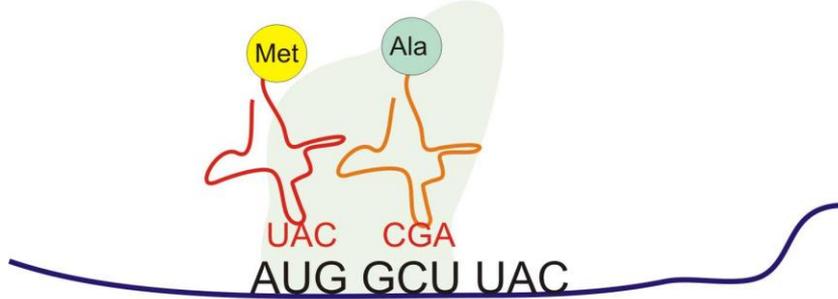


# ARN sintetizando proteínas



# ARN sintetizando proteínas





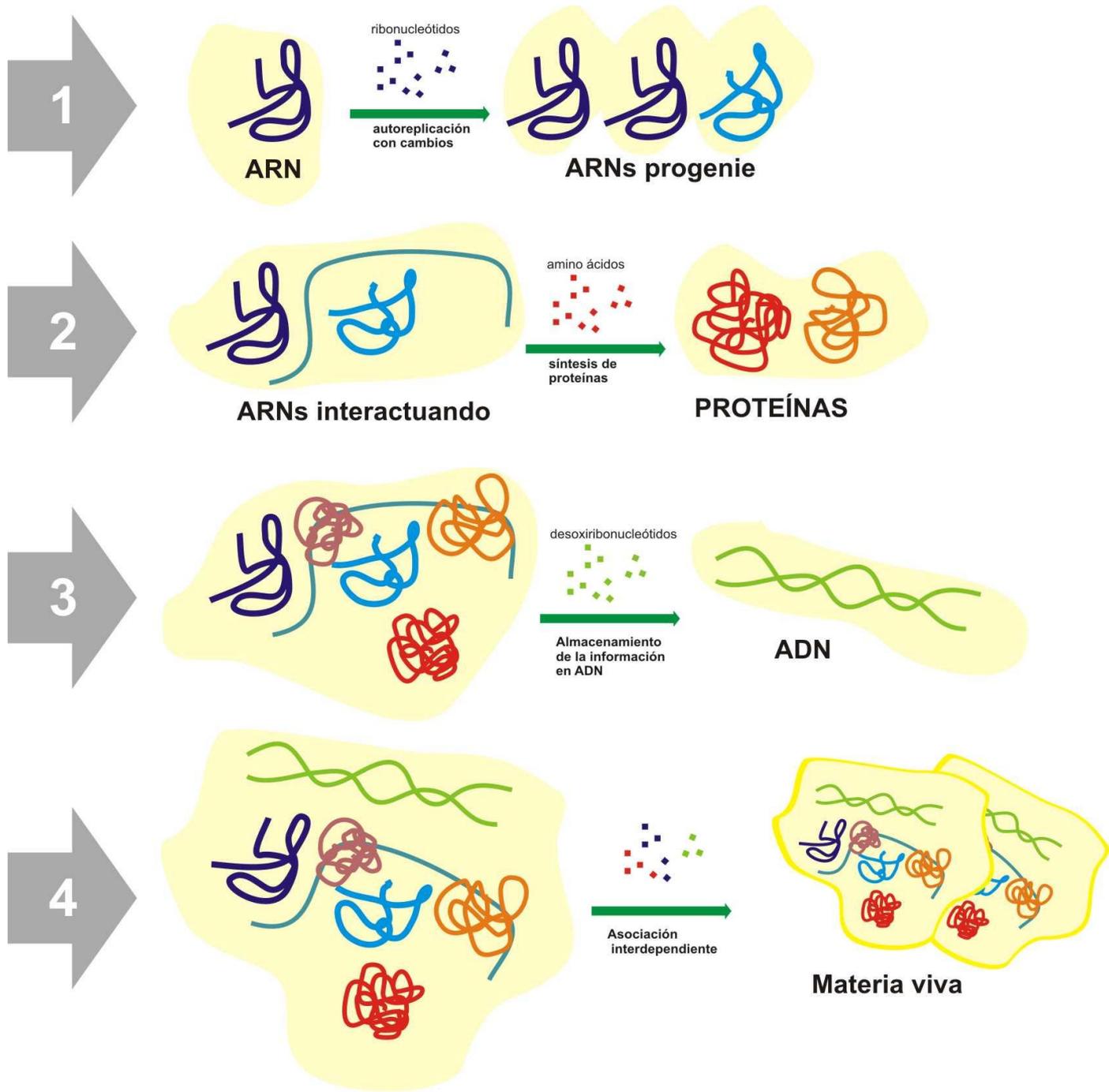
**ARNs  
sintetizando  
proteínas**

# El mundo de ARN

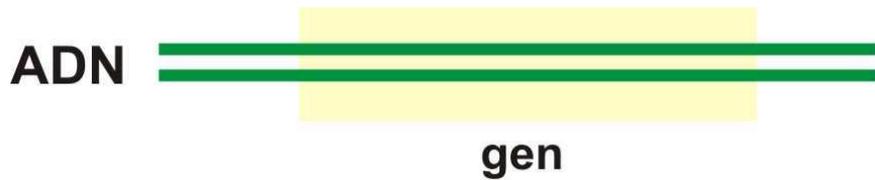
1ª	2ª BASE								3ª	
	U		C		A		G			
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U	
	UUC		UCC		UAC		UGC		C	
	UUA		UCA		UAA		UGA		Stop	A
	UUG		UCG		UAG		UGG		Tyr	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
	CUC		CCC		CAC		CGC		C	
	CUA		CCA		CAA		CGA		A	
	CUG		CCG		CAG		CGG		G	
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
	AUC		ACC		AAC		AGC		C	
	AUA		ACA		AAA		AGA		A	
	AUG	Met	ACG		AAG		Lys		Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
	GUC		GCC		GAC		GGC		C	
	GUA		GCA		GAA		GGA		A	
	GUG		GCG		GAG		GGG		G	

# El mundo de ARN

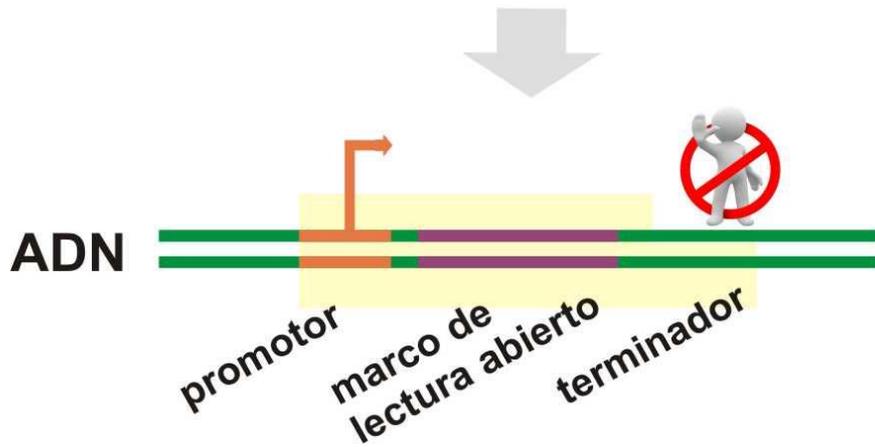
- Con el **tiempo**, cada vez más **proteínas** fueron siendo **sintetizadas** por **ARN**; y a su vez, conjuntos de estas moléculas se fueron aislando al quedar capturadas **dentro de bicapas lipídicas**.
- Estos **sistemas pre-bióticos** continuaron complejizándose e incluso, la **asociación** entre ARN y proteínas se **expandió** al **ADN** (ácido nucleico más estable).
- De este modo, la **información** que **controlaba** la **síntesis de proteínas** pasó al **ADN**, quedando el **ARN** como **intermediario** y **responsable** de la **síntesis de proteínas**, protagonistas de controlar diversos procesos catalíticos.
- Así, se conformaron las **primeras poblaciones de células** (*Last Unified Common Ancestor*, **LUCA**) que dieron lugar a toda la **biodiversidad** del planeta.



# Genes y sintaxis



el gen es la unidad de la información

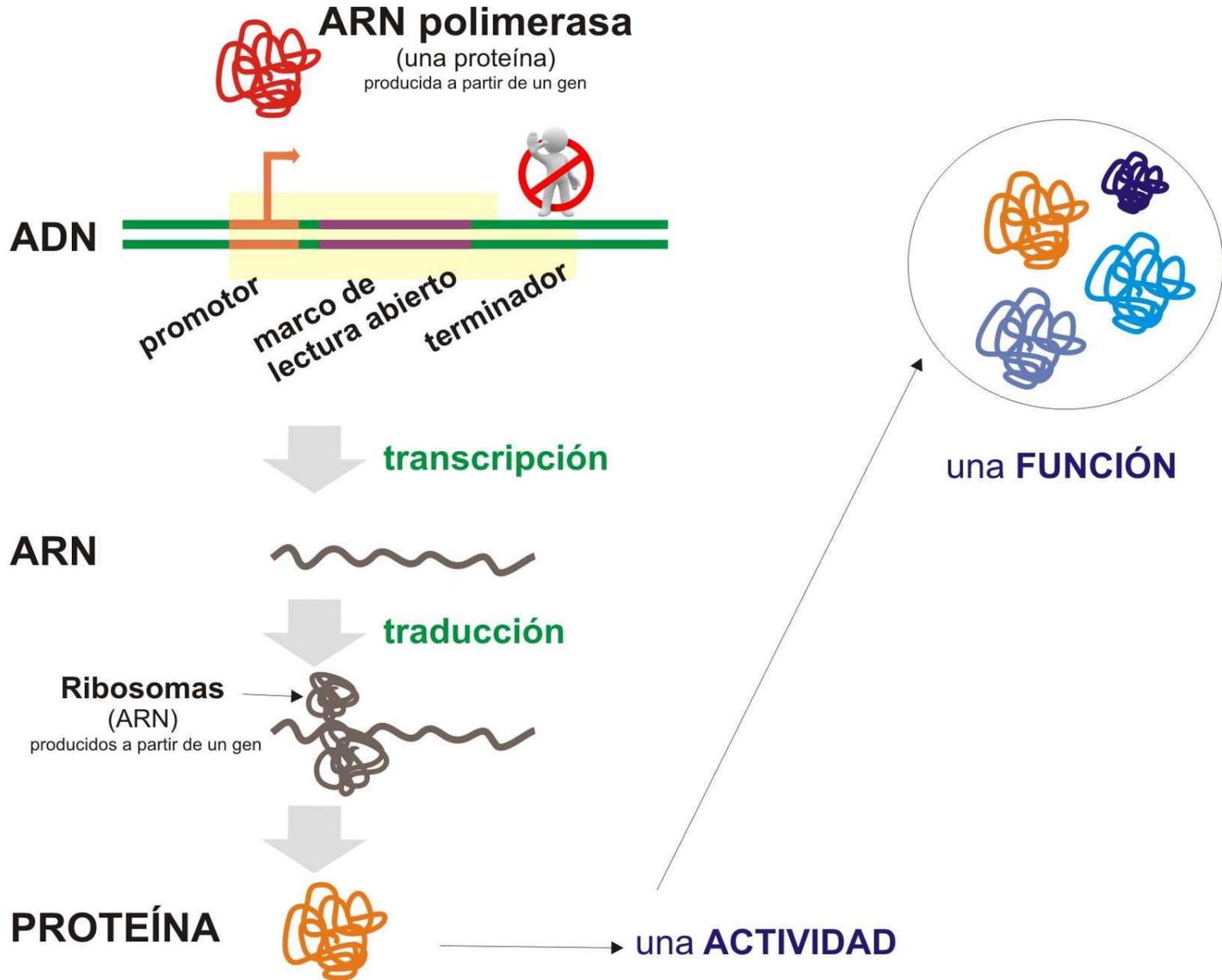


el gen posee una sintaxis

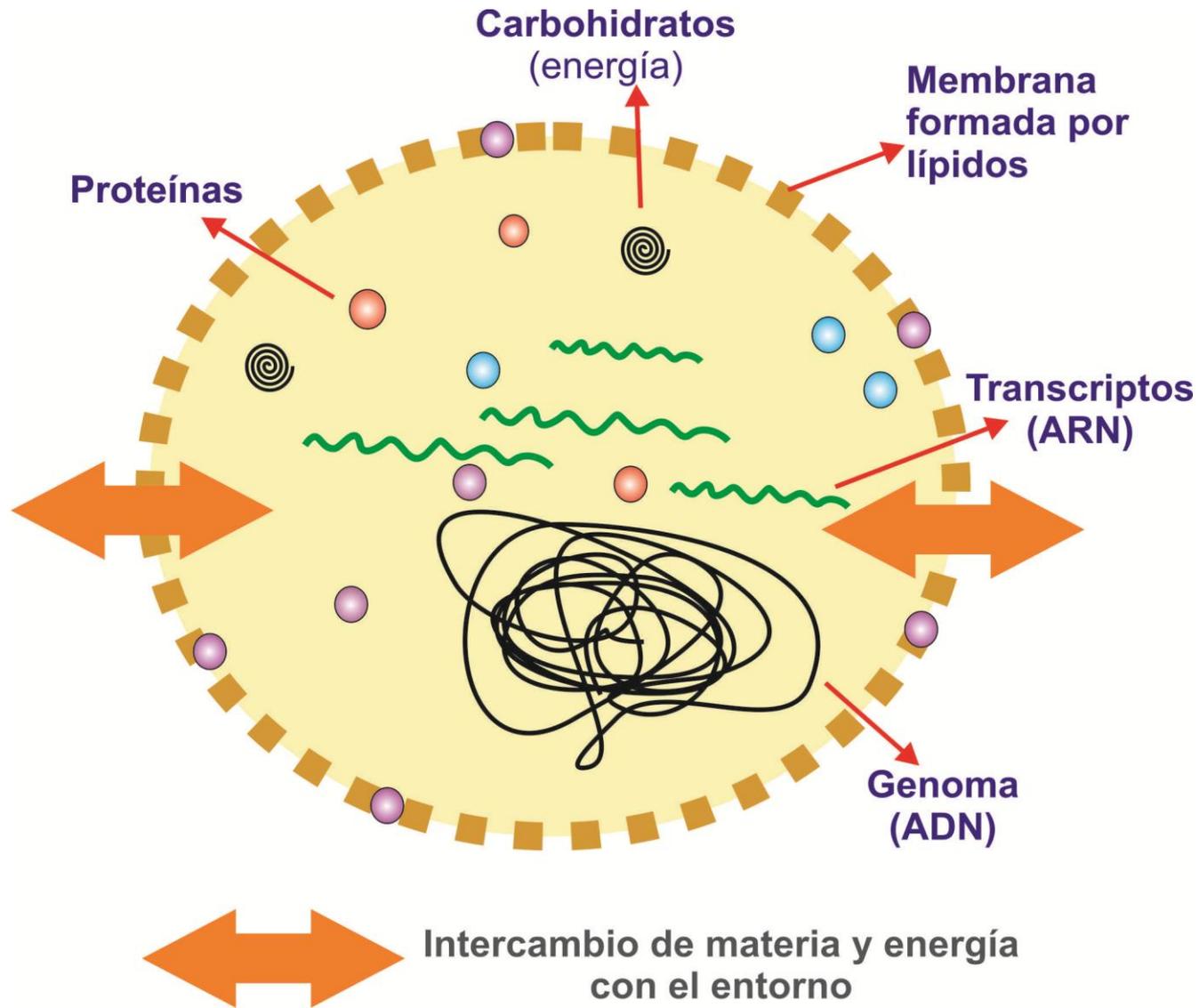
↓

Sucesión de tripletes (codones) codificando aminoácidos

# Genes y sintaxis



# Organización de las células



# Primeras células

La materia viva es un sistema interdependiente de macromoléculas, que posee las siguientes funciones:

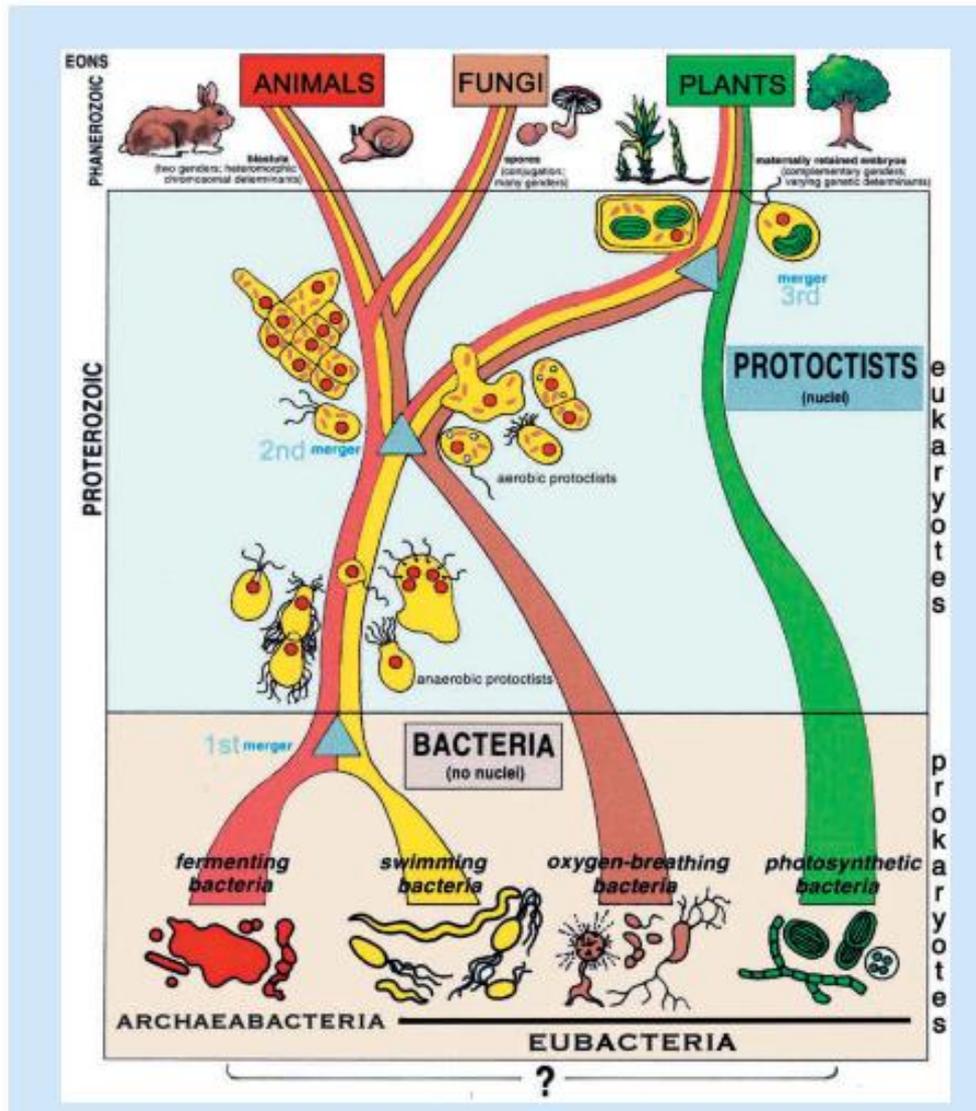
- *Transformación y almacenamiento de energía*
- *Síntesis de materia*
- *Capacidad de perpetuación (con cambios)*
- *Capacidad de respuesta al entorno*

***¿Cómo se diversificó la vida?***

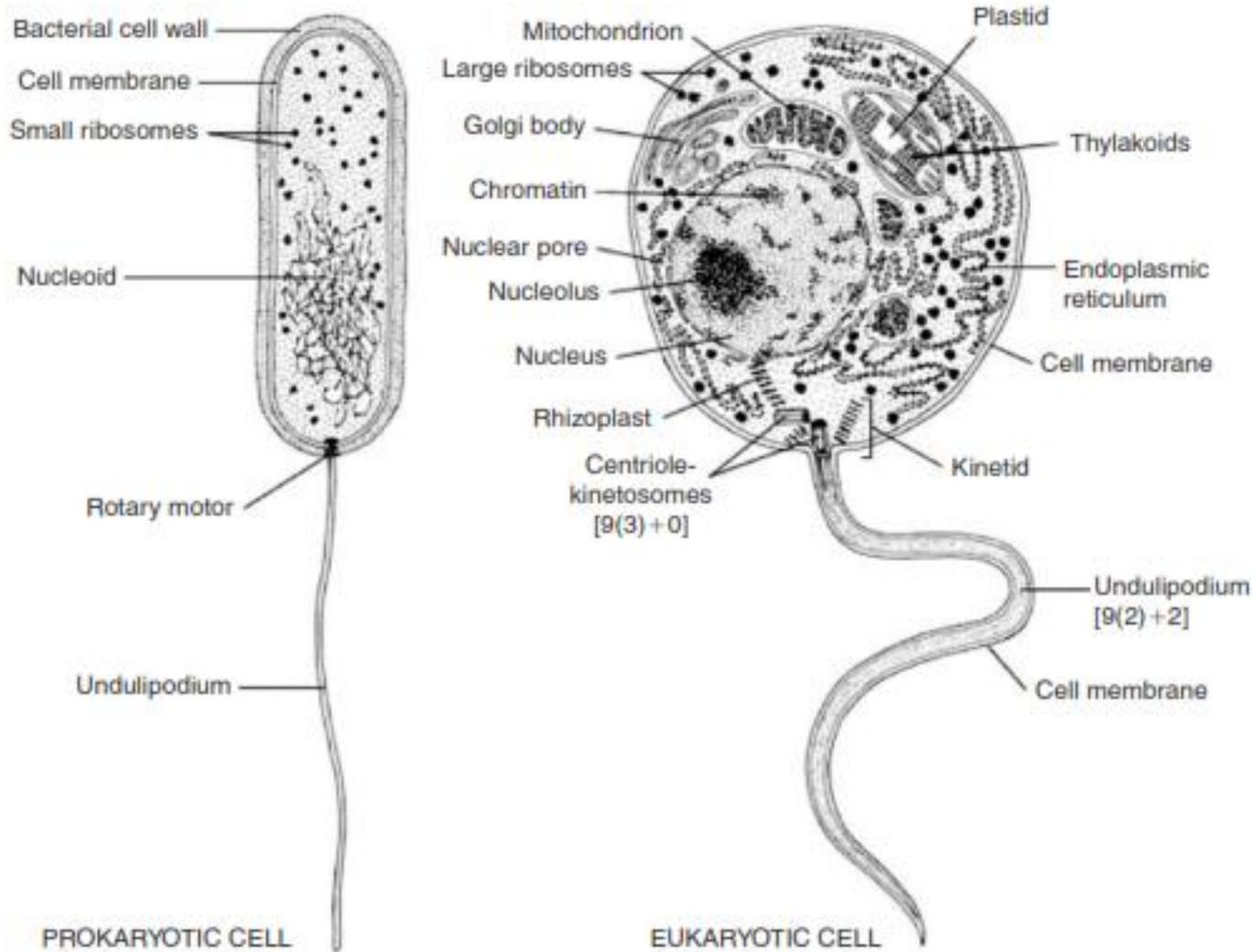
# Evolución

- Las primeras poblaciones de **células**, **interactuando entre sí** y con el **entorno**, fueron **expresando sus diferencias**.
- **Aquellas** con **mayores aptitudes** ante la circunstancia tuvieron un **éxito reproductivo diferencial**.
- Así, mediante este proceso de **selección natural** y **el azar**, la **vida** se fue **diversificándo** y **conquistando todo el planeta**.

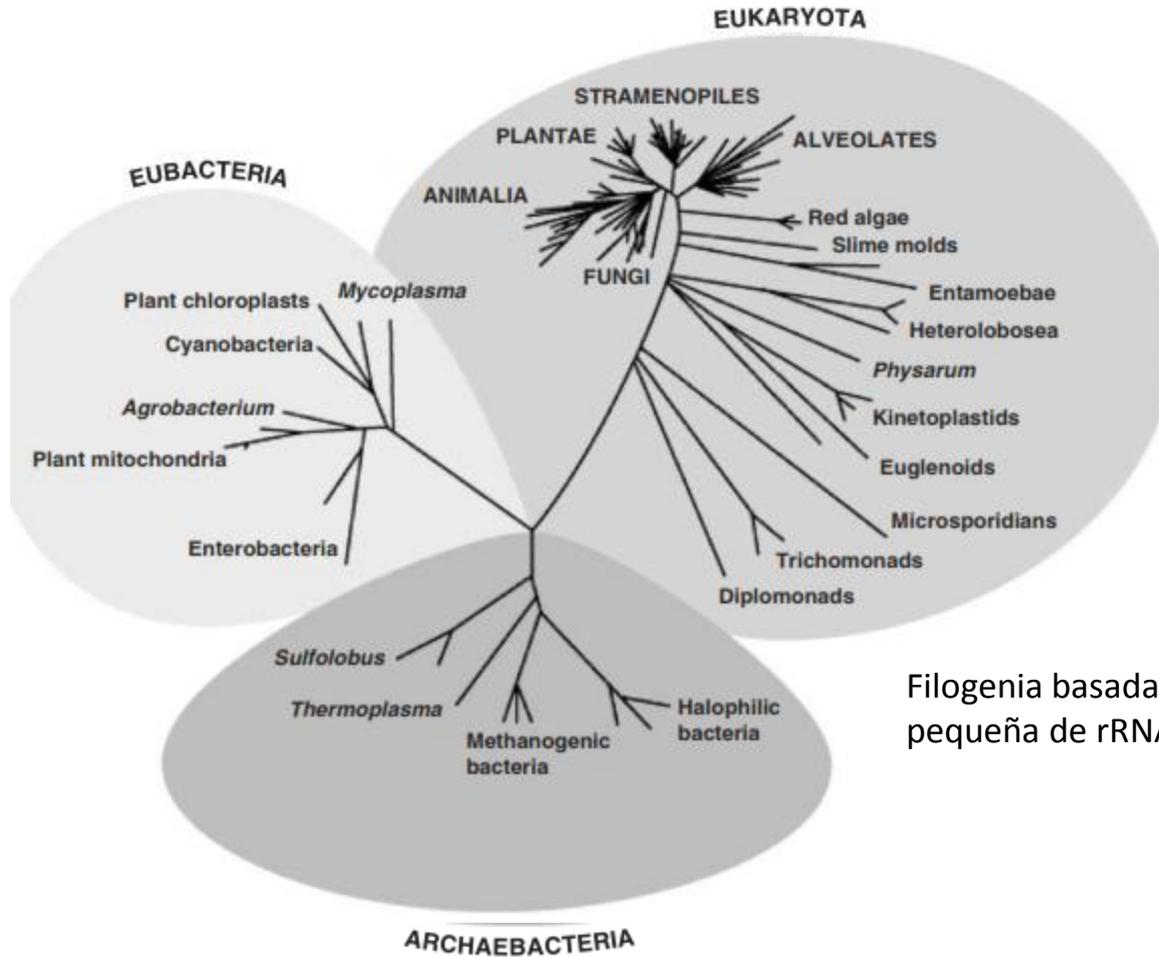
# Biodiversidad



# Biodiversidad



# Biodiversidad



Filogenia basada en la subunidad pequeña de rRNA

# Niveles de información

**Procariotas**

- Secuencia del ADN (**genoma**)

**Eucariotas**

- Secuencia del ADN (**genoma**)
- Compactación del ADN (**epigenoma**)
- Cultura

# Niveles de información

## Genoma

- **Molécula/s de ADN** contenedoras de **genes**
- Los **genes** expresan todas las **funciones celulares**
- Algunos de esos **genes controlan** el **empaquetamiento del ADN** en **eucariotas (epigenoma)**
- Algunos **genes posibilitan** la función de **cultura**.

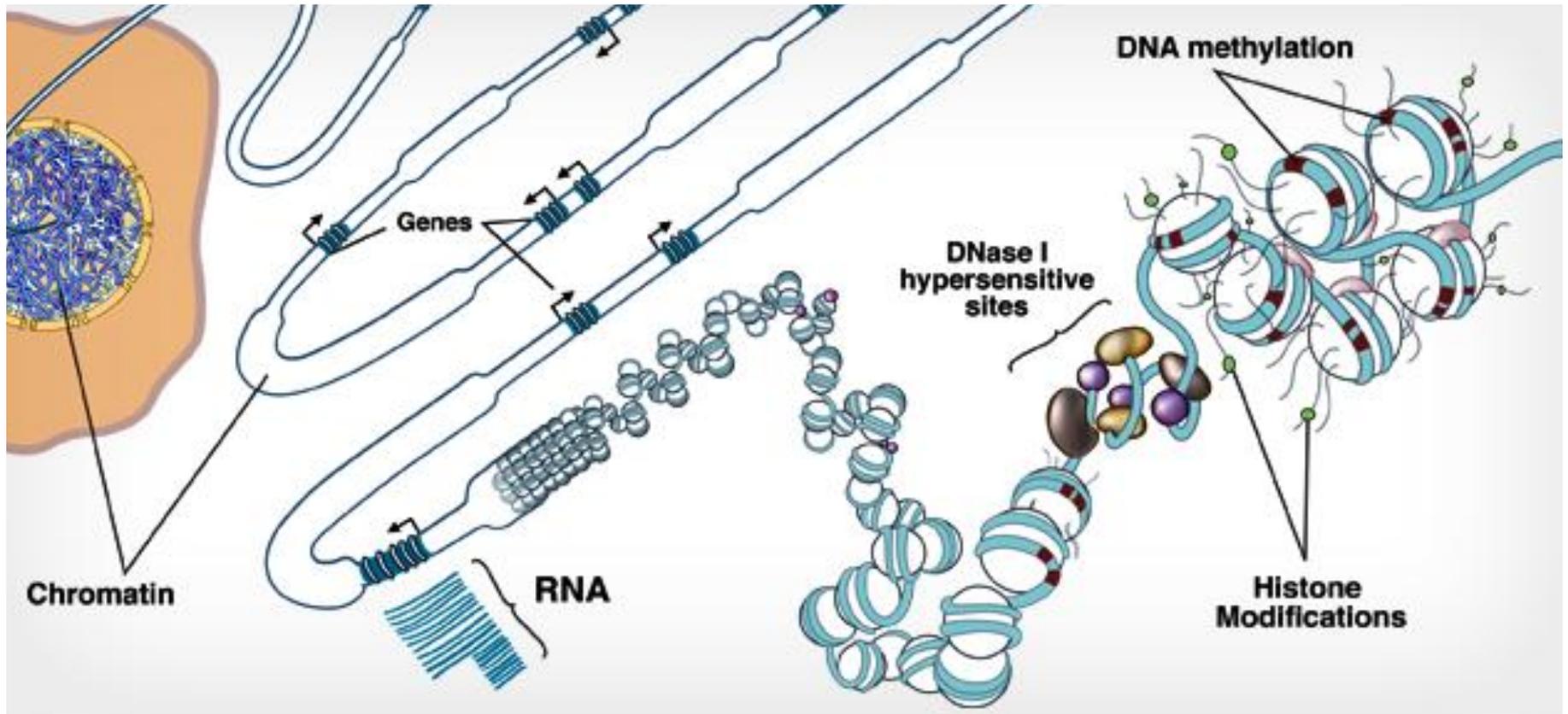
## Epigenoma

- El **empaquetamiento del ADN** pone **disponible** la **información (genes)** para la **transcripción**
- En un **organismo pluricelular**, todas las **células** poseen **igual genoma** pero **distinto epigenoma**.

## Cultura

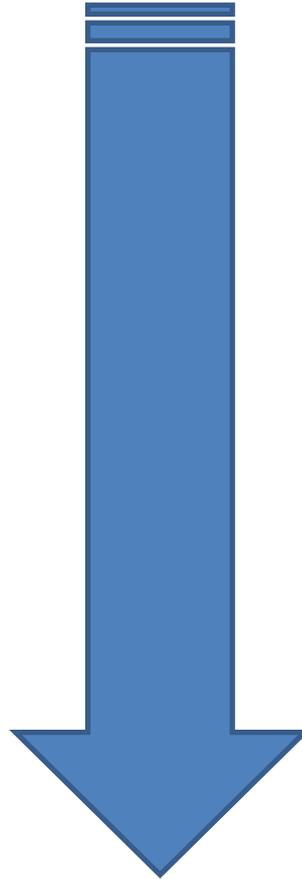
- Es una **función comportamental** con **base genética**.
- Consiste simplícidamente en la **capacidad** de **observar, copiar** el comportamiento y **transmitirlo**.

# Niveles de información en eucariotas



# Flujo de la información

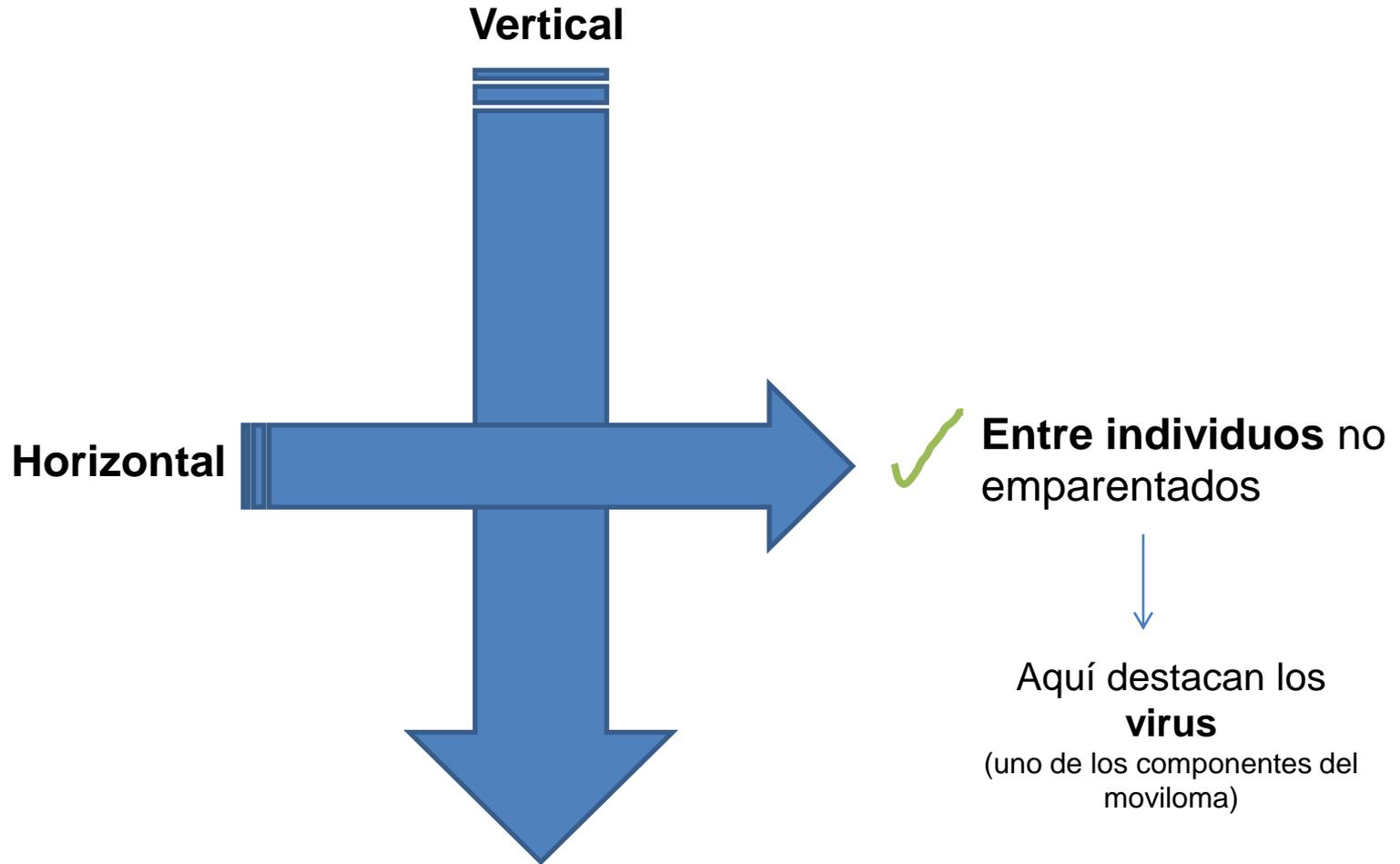
Vertical



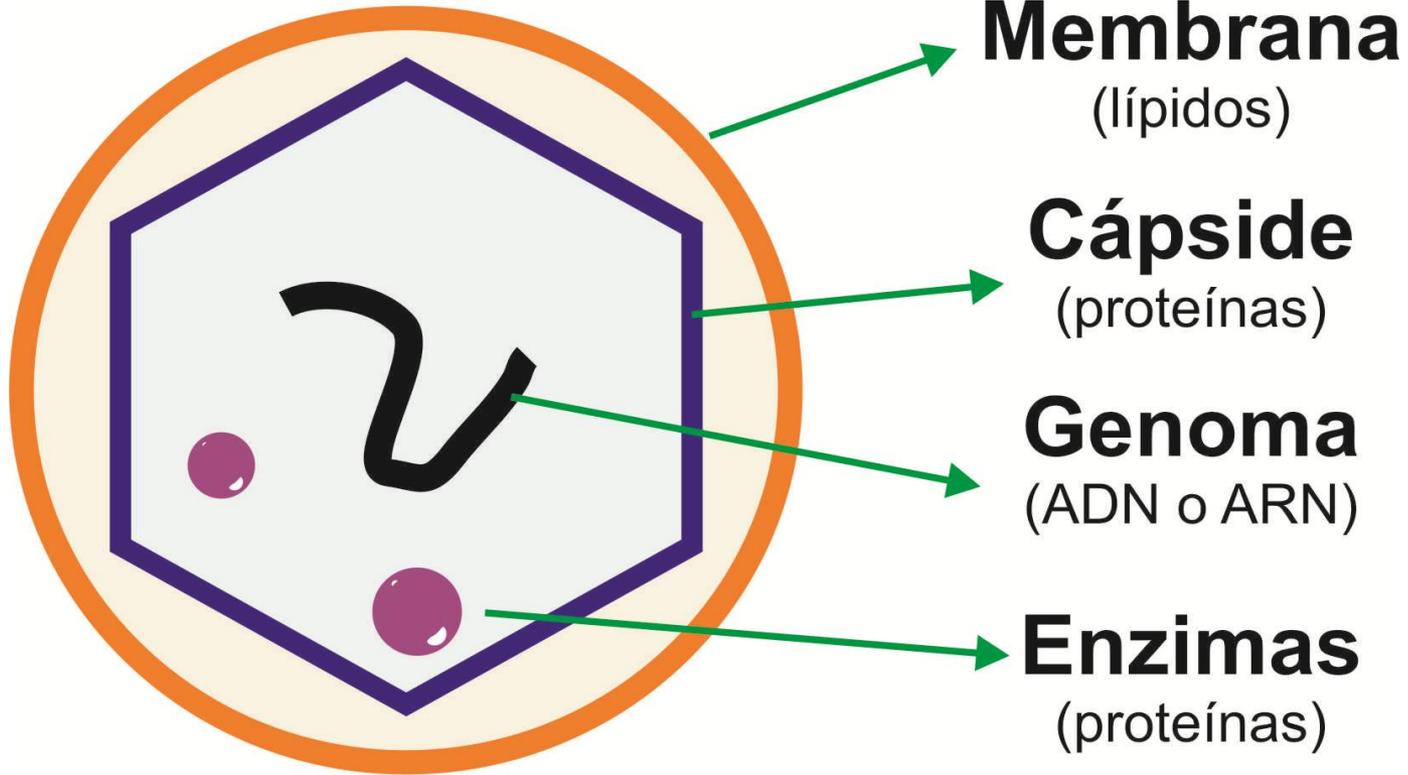
✓ **Generación tras generación**

✓ **Con posibilidad de cambios**

# Flujo de la información



# Virus

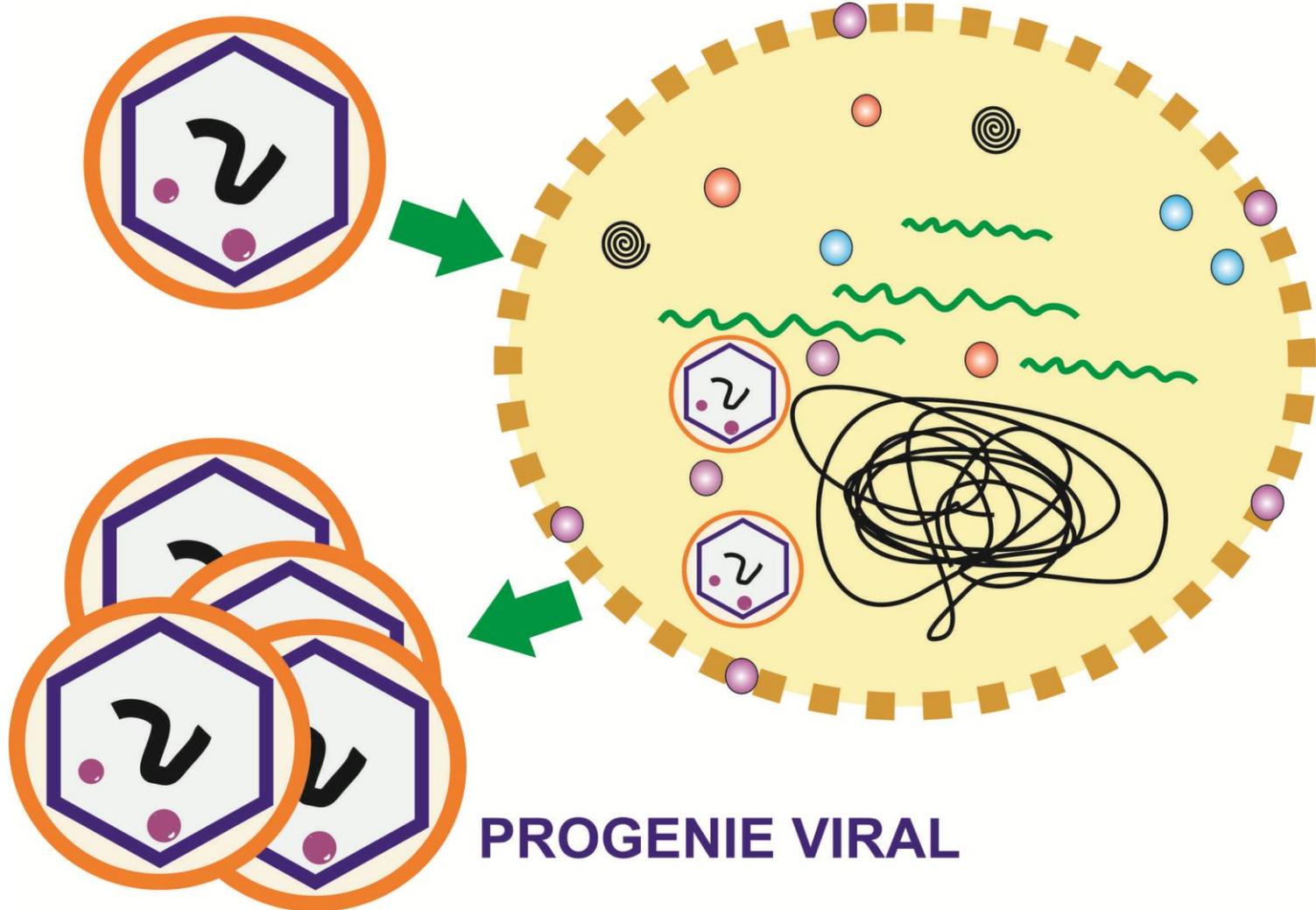


**NO** Intercambia materia y energía  
con el entorno

# Virus

VIRUS

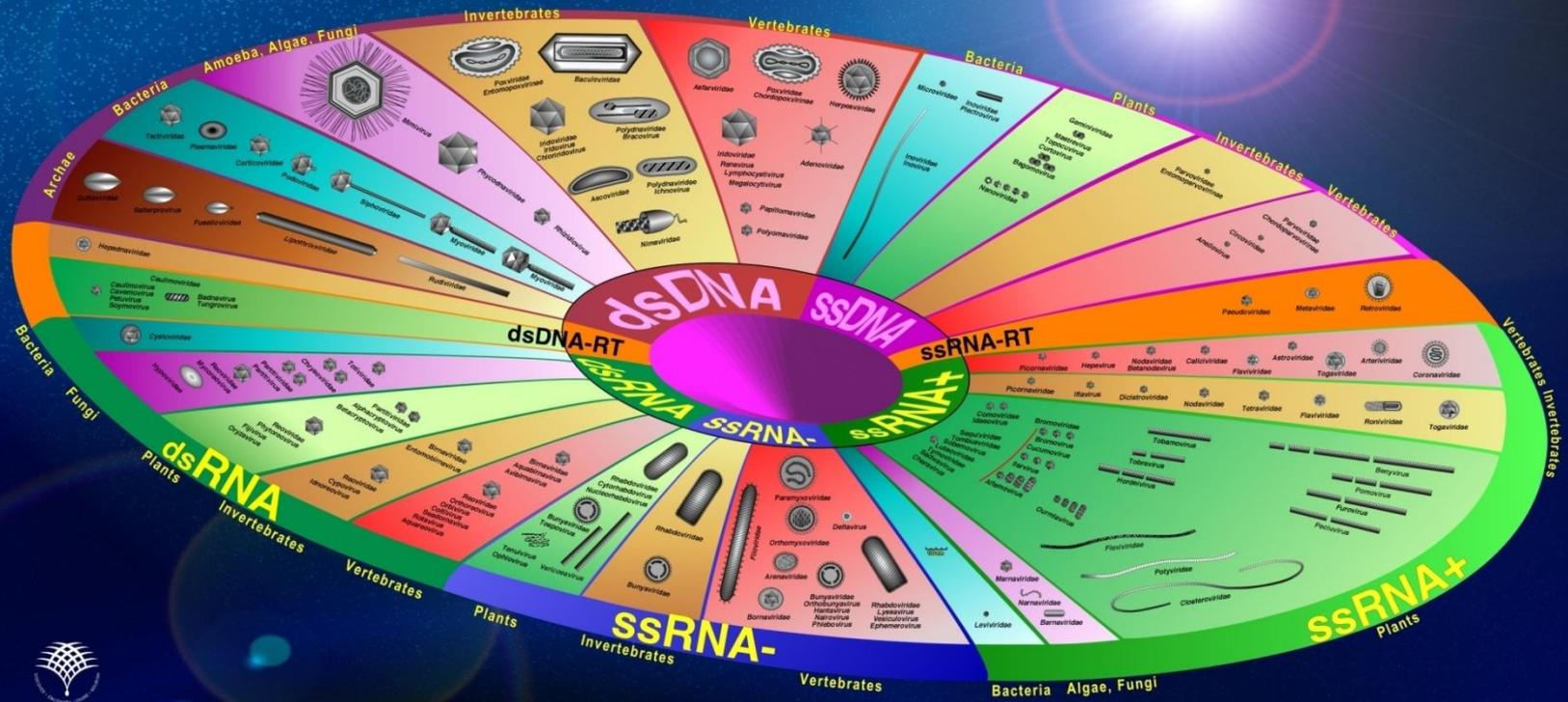
HOSPEDADOR



PROGENIE VIRAL

# Virus

## Virosphere 2005



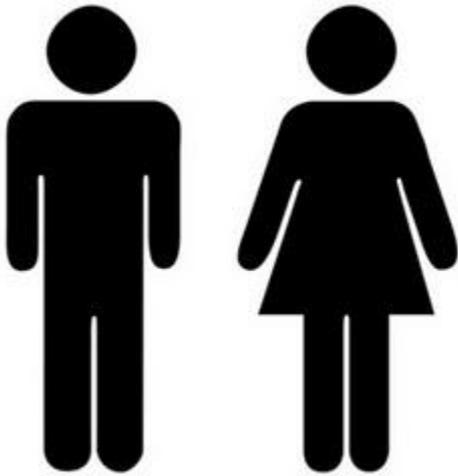
DONALD DANFORTH  
PLANT SCIENCE CENTER

copyright©2005 C.M.Fauquet

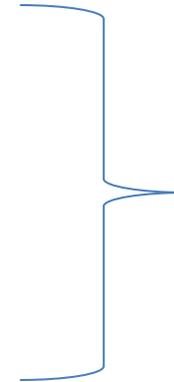
International Committee on Taxonomy of Viruses

***El ser humano dentro de  
la biodiversidad***

# El ser humano



- **Materia viva eucariota multicelular**
- **Genoma**
- **Epigenoma**
- **Cultura**



**Poseemos los 3  
niveles de  
información**

# El ser humano y la cultura

- La **cultura** podemos entenderla como la **habilidad de manipular el entorno** para **desarrollar nuevas capacidades** que **optimicen el uso del hábitat** y la **conquista de nuevos hábitats** (observando, copiando y transmitiendo).
- La **CIENCIA** es un **producto cultural** y es la manera que el ser humano utiliza para **conocer el universo** mediante la **generación de evidencias**.
- La **TECNOLOGÍA** es la **utilización del conocimiento** (la manipulación del entorno) para **colaborar en el desarrollo de nuevas capacidades y funciones**.

# El ser humano y la Ciencia y la Tecnología

- La **CIENCIA** requiere de un **objeto de estudio**. Por ende, se habla de **CIENCIAS de la VIDA** a la disciplina que pretende conocer a la **materia viva**.
- La **TECNOLOGÍA** presenta **objetos de aplicación**. Por ende, se habla de **TECNOLOGÍAS de la VIDA** a la disciplina que aplica a la **materia viva**

# ***La biotecnología***

# ¿Qué es la Biotecnología?

1919, Karl Ereky: primer definición de Biotecnología

**“La ciencia de los métodos que permiten la obtención de productos a partir de materia prima, mediante la intervención de organismos vivos.”**

1982, Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD): **“La aplicación de los principios de la ciencia y la ingeniería al tratamiento de materias por agentes biológicos en la producción de bienes y servicios.”**

1984, Oficina de Evaluación Tecnológica (OTA): **“Biotecnología, en un sentido amplio, incluye cualquier técnica que utiliza organismos vivos (o parte de ellos) para obtener o modificar productos, mejorar plantas y animales, o desarrollar microorganismos para usos específicos.”**

1988, Federación Europea de Biotecnología (EFB): **“Uso integrado de la bioquímica, la microbiología y la ingeniería genética para poder aplicar las capacidades de microorganismos, células cultivadas animales o vegetales o parte de los mismos en la industria, en la salud y en los procesos relacionados con el medio ambiente”**

1989, E.H.Houwink: **“El uso controlado de la información biológica.”**

2003, Organización de la Industria Biotecnológica (BIO): **“En un sentido amplio, biotecnología es “bio” + “tecnología”, es decir, el uso de los procesos biológicos para resolver problemas o hacer productos útiles.”**

## ¿Qué es la biotecnología?

***“empleo de organismos vivos y sus productos o partes para obtener un bien o servicio”***



**Aceite**  
Lecitina  
energía  
aceite



**Carne y huevos**  
La fitasa es una enzima que podría reemplazar al fósforo inorgánico en el alimento animal ayudando a reducir el impacto ambiental de la producción animal. Intensiva

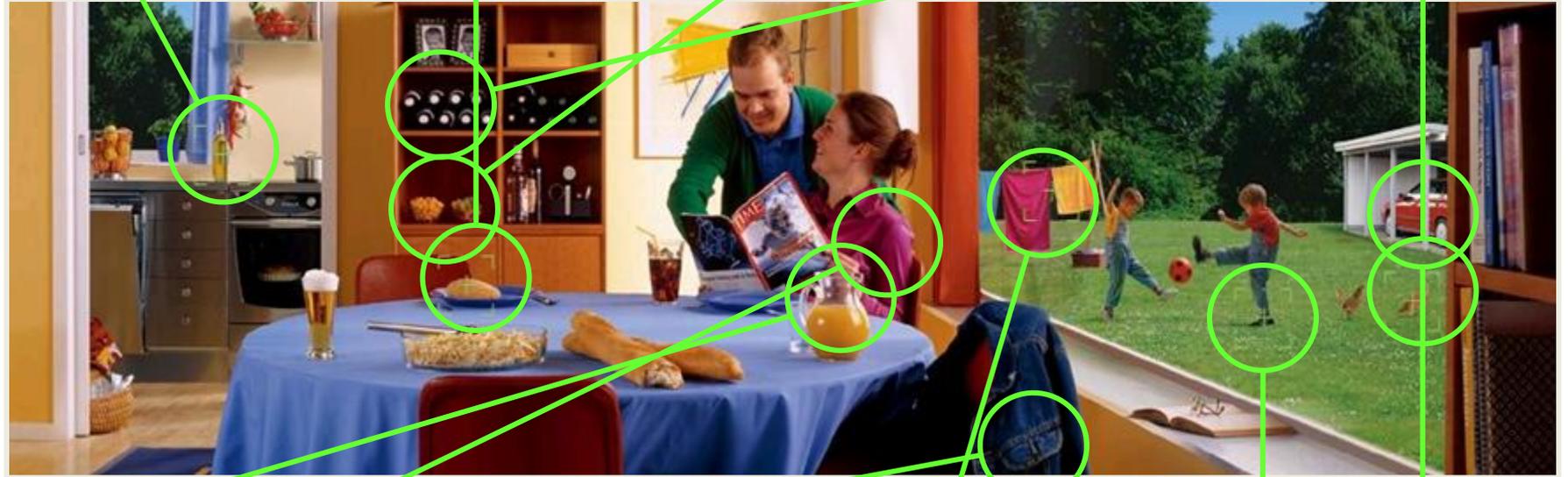
**Pan**  
Enzimas para mejorar aromas más intensos y una mejor digestión.



**Alm**  
Enzim



convertir  
áfrica y p  
de último  
más caro  
s y gase



**Jugos**  
Enzimas para clarificar los jugos



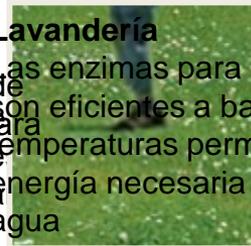
**Detergentes**  
Enzimas (lipasas) capaces de remover manchas de grasas de manera eficiente en el lavado.



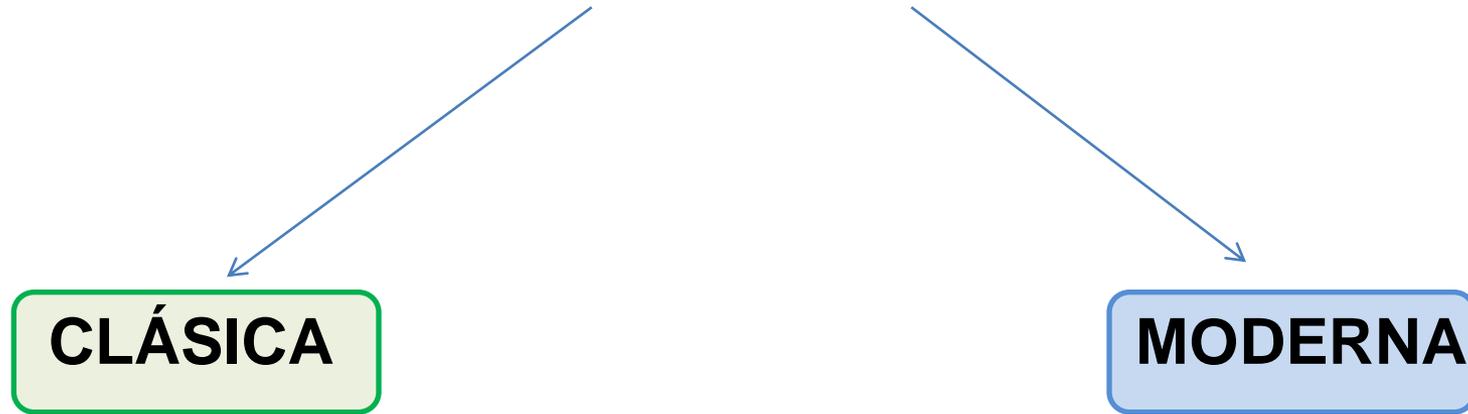
**Textiles**  
Enzimas para el efecto de "stone wash" de los jeans para evitar el proceso con piedras originario



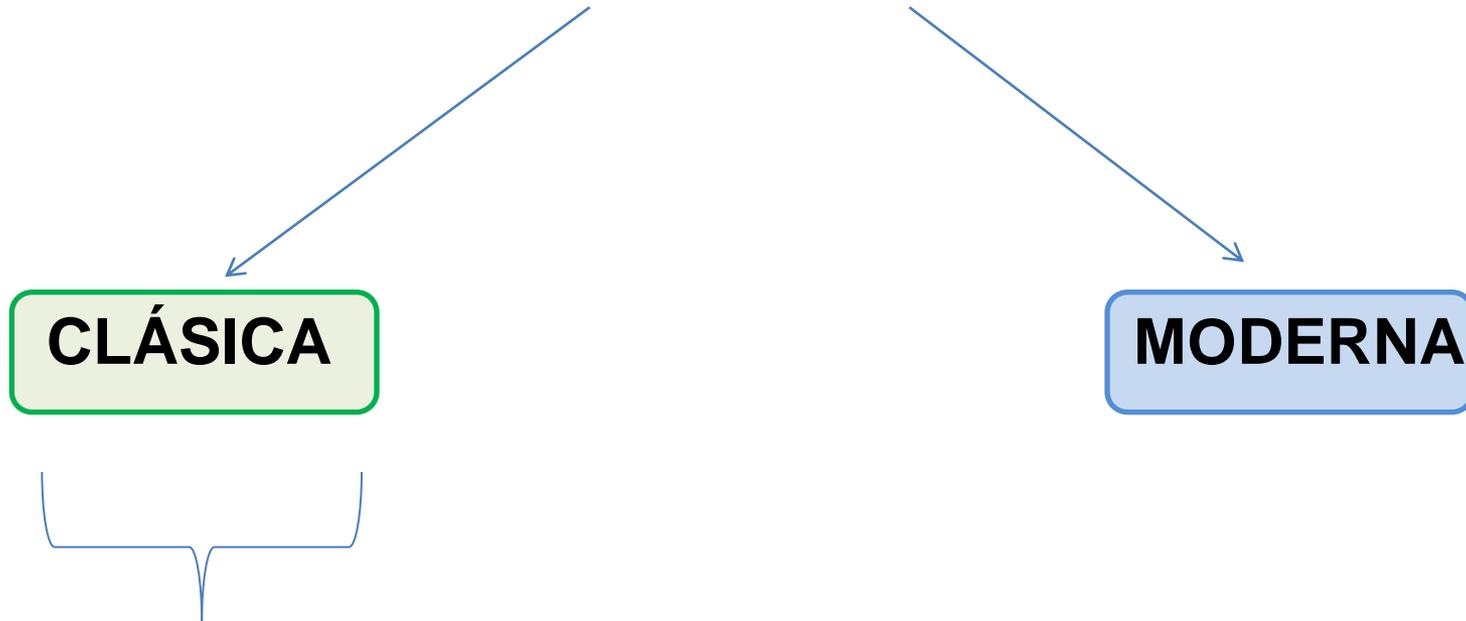
**Lavandería**  
Las enzimas para lavado de ropa son eficientes a bajas temperaturas permitiendo ahorrar energía necesaria para calentar el agua



# Biotecnología



# Biotecnología



- Se basa en el **uso** de **organismos naturales**, sus **productos** o sus **partes**.
- **Ejemplos son:** alimentos y bebidas derivados de fermentaciones; extracción de moléculas de fuente natural (antibióticos, analgésicos, insulina, factores de coagulación, hormonas, etc.), control biológico.

# Biotecnología clásica

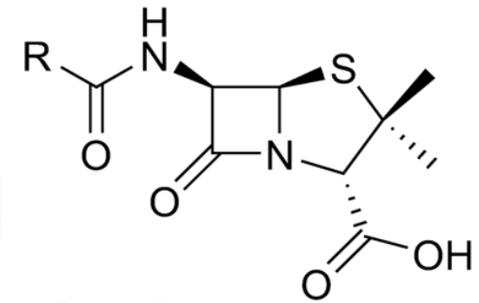
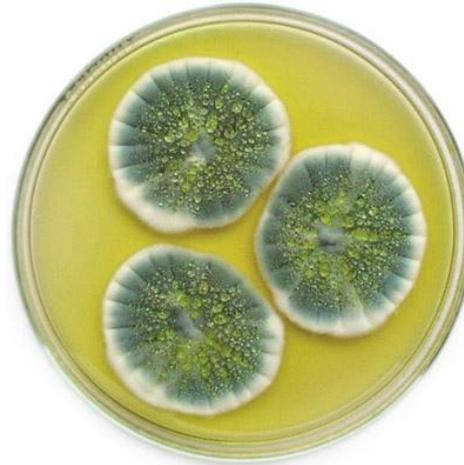
Comidas y  
bebidas



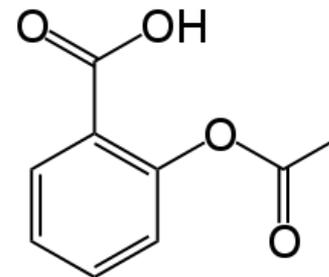
# Biotecnología clásica

## Fármacos

(para actividades que no tenemos)



Penicilina



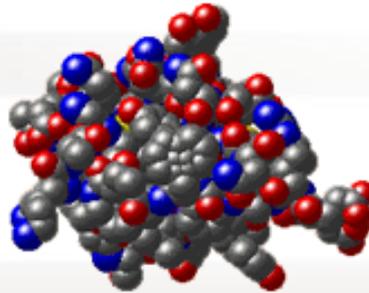
Ácido acetilsalicílico

# Biotecnología clásica

## Fármacos

(para actividades que tenemos pero que fallan)

insulina



Factor VIII de coagulación sanguínea

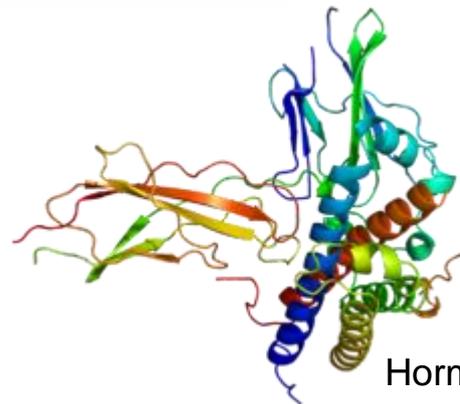
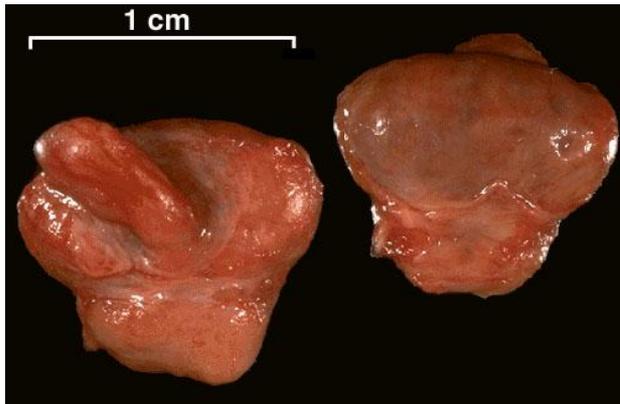
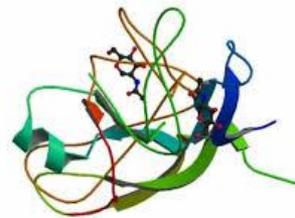
# Biotecnología clásica

## Fármacos

(para actividades que tenemos pero que fallan)



Gonadotropina coriónica humana



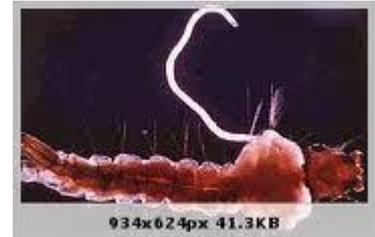
Hormona de crecimiento

# Biotecnología clásica

Control  
biológico



Larva de lepidóptero infectada por virus



Larva de mosquito parasitada por nematodos



Insecto afectado por hongos

# Biotecnología clásica

Control  
biológico



Basado en bacterias



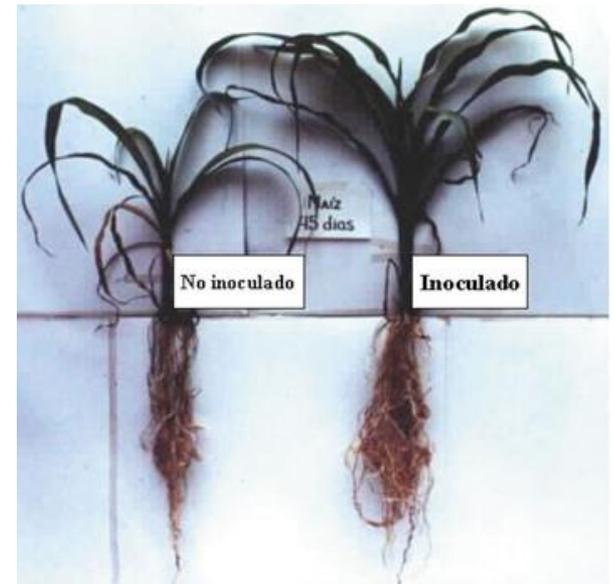
Basado en hongos



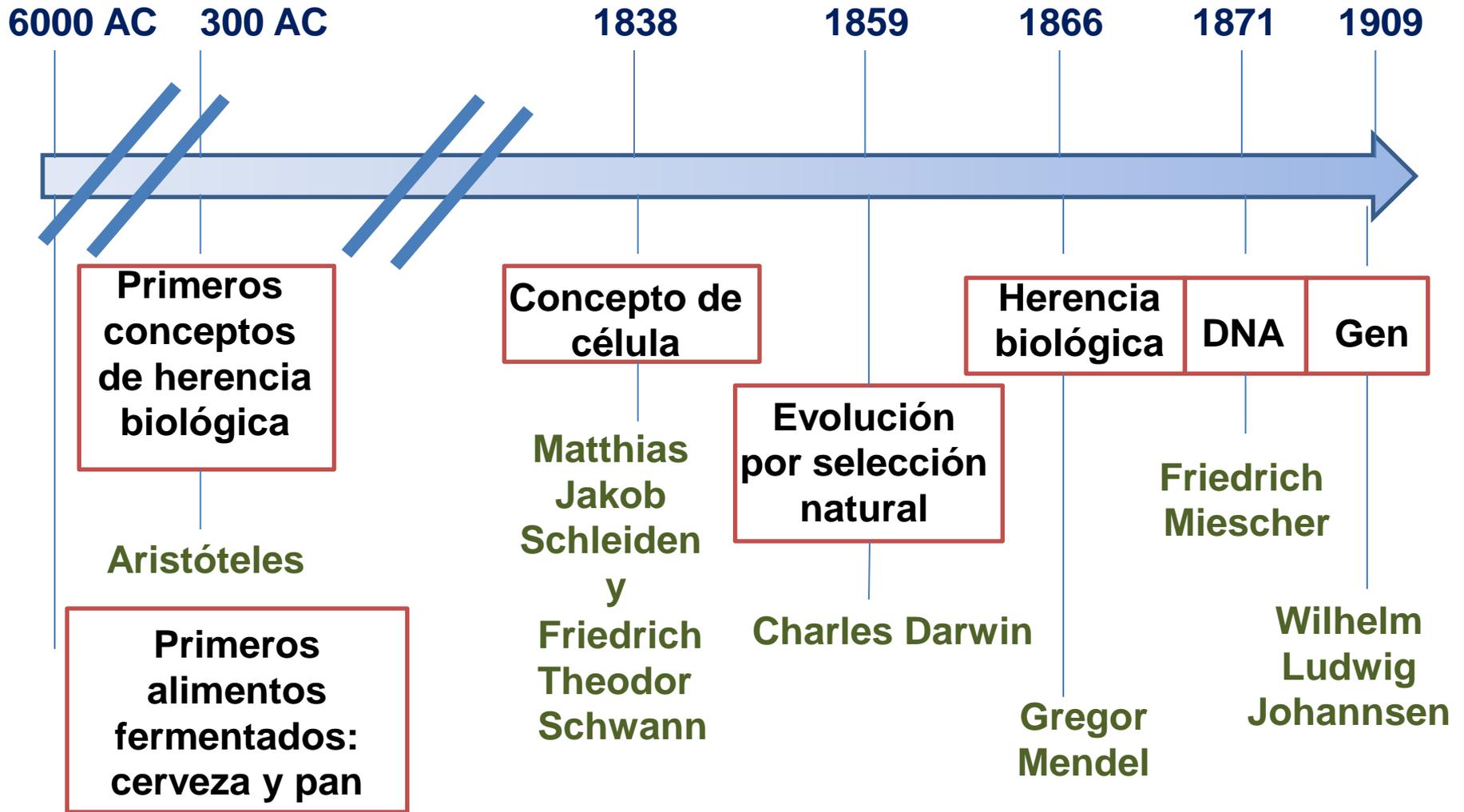
Basado en baculovirus

# Biotecnología clásica

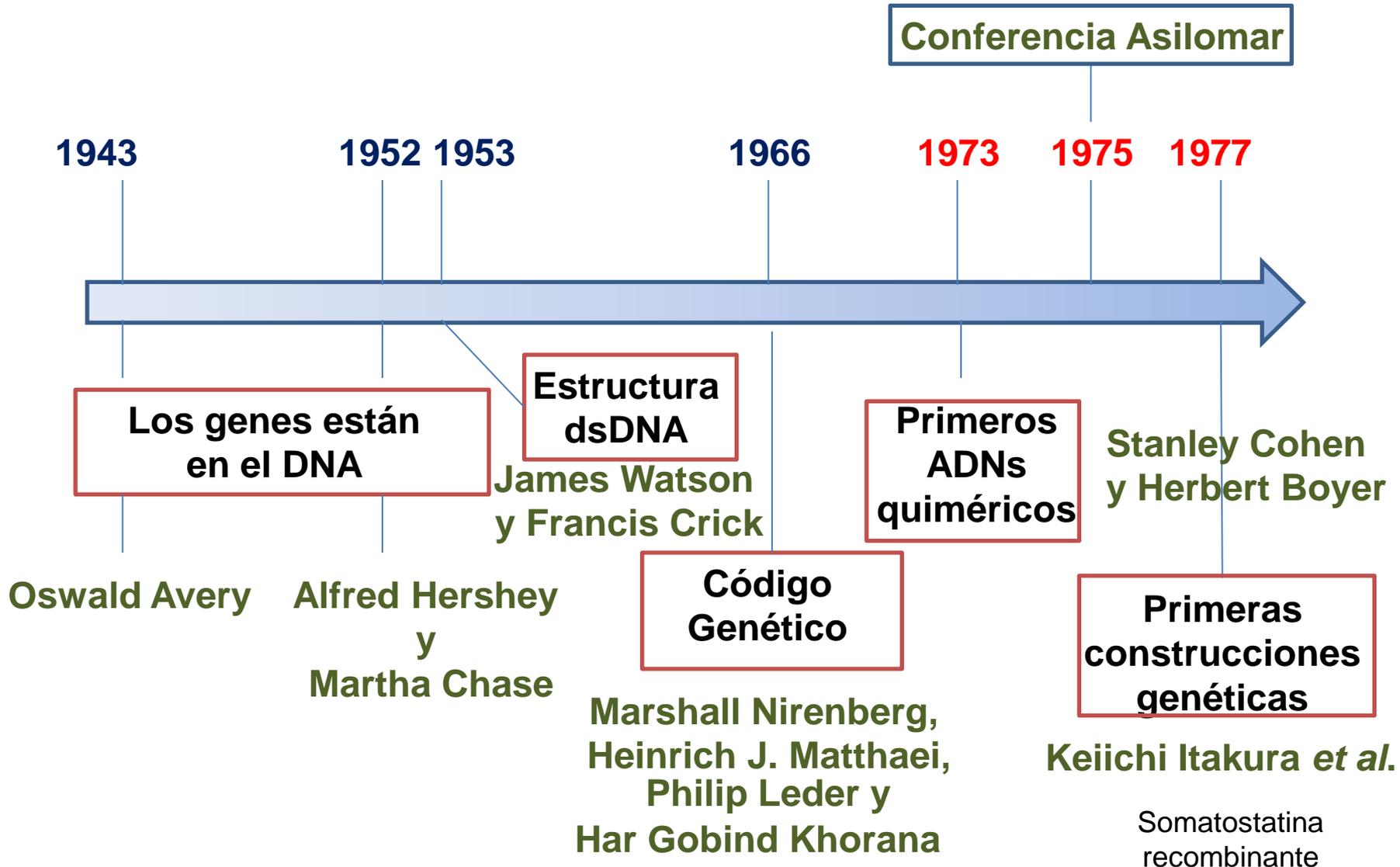
Agrobio-  
insumos



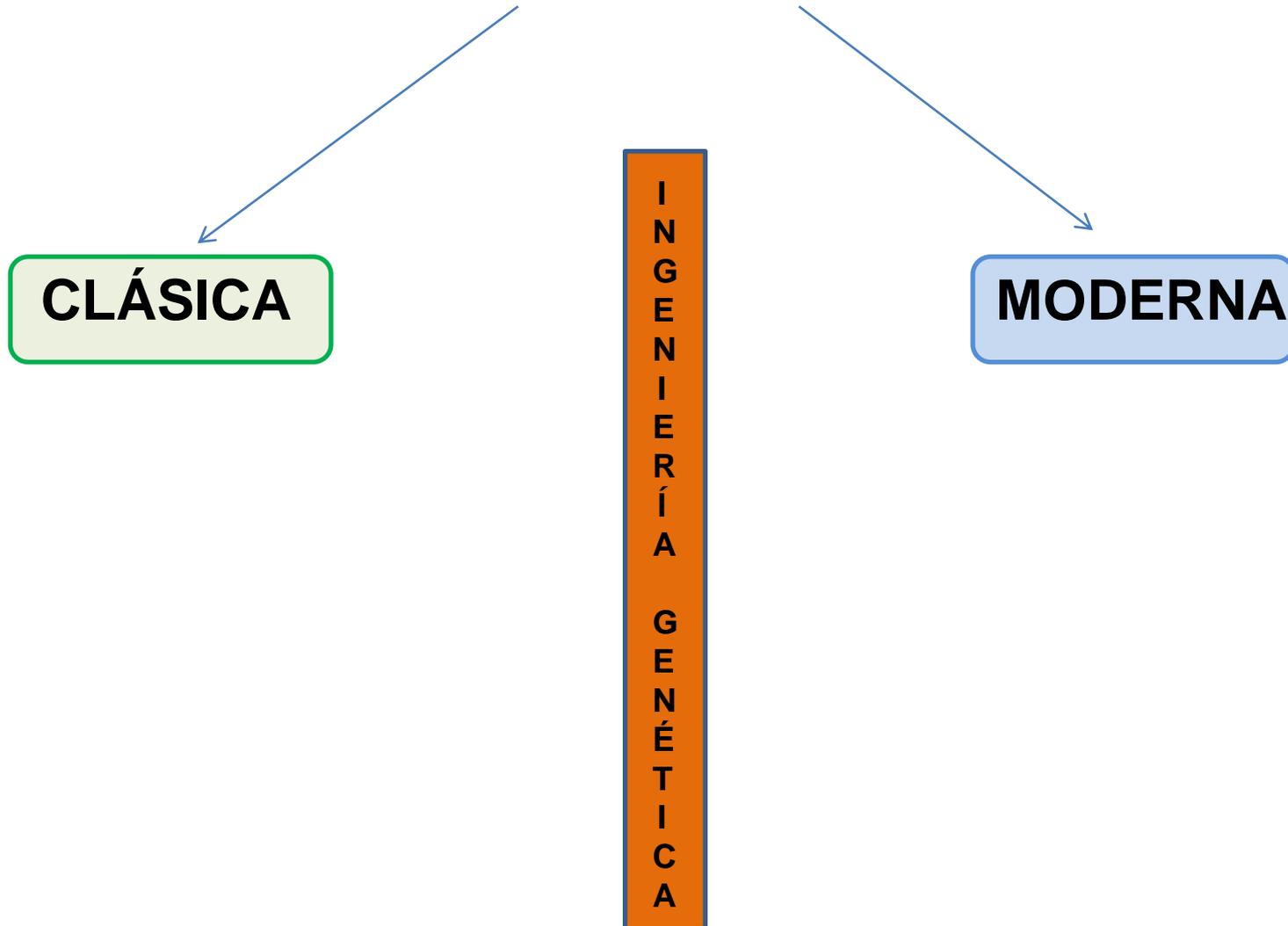
# Biotecnología



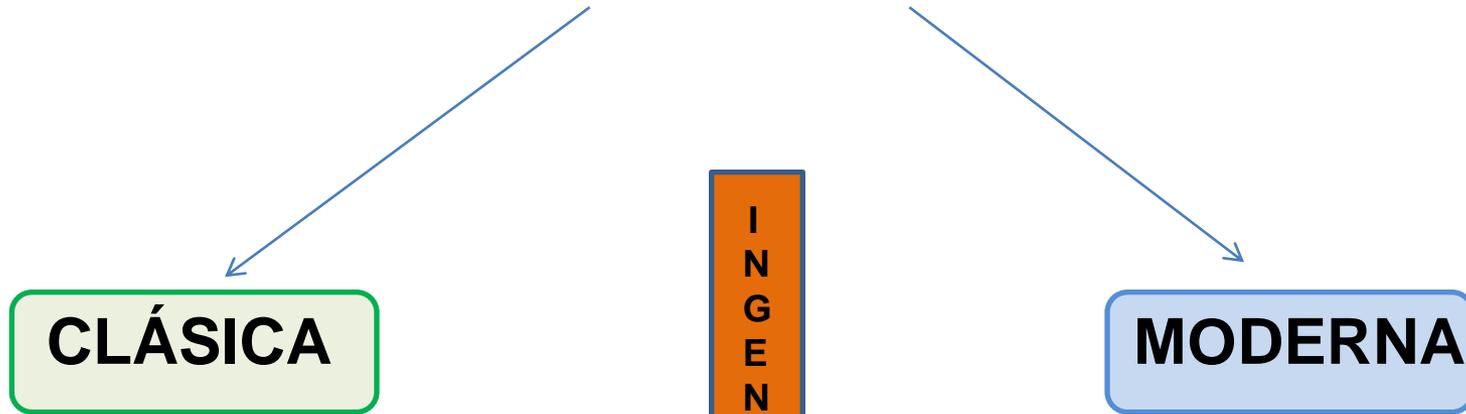
# Biotecnología



# Biotecnología



# Biotecnología



**CLÁSICA**

**MODERNA**

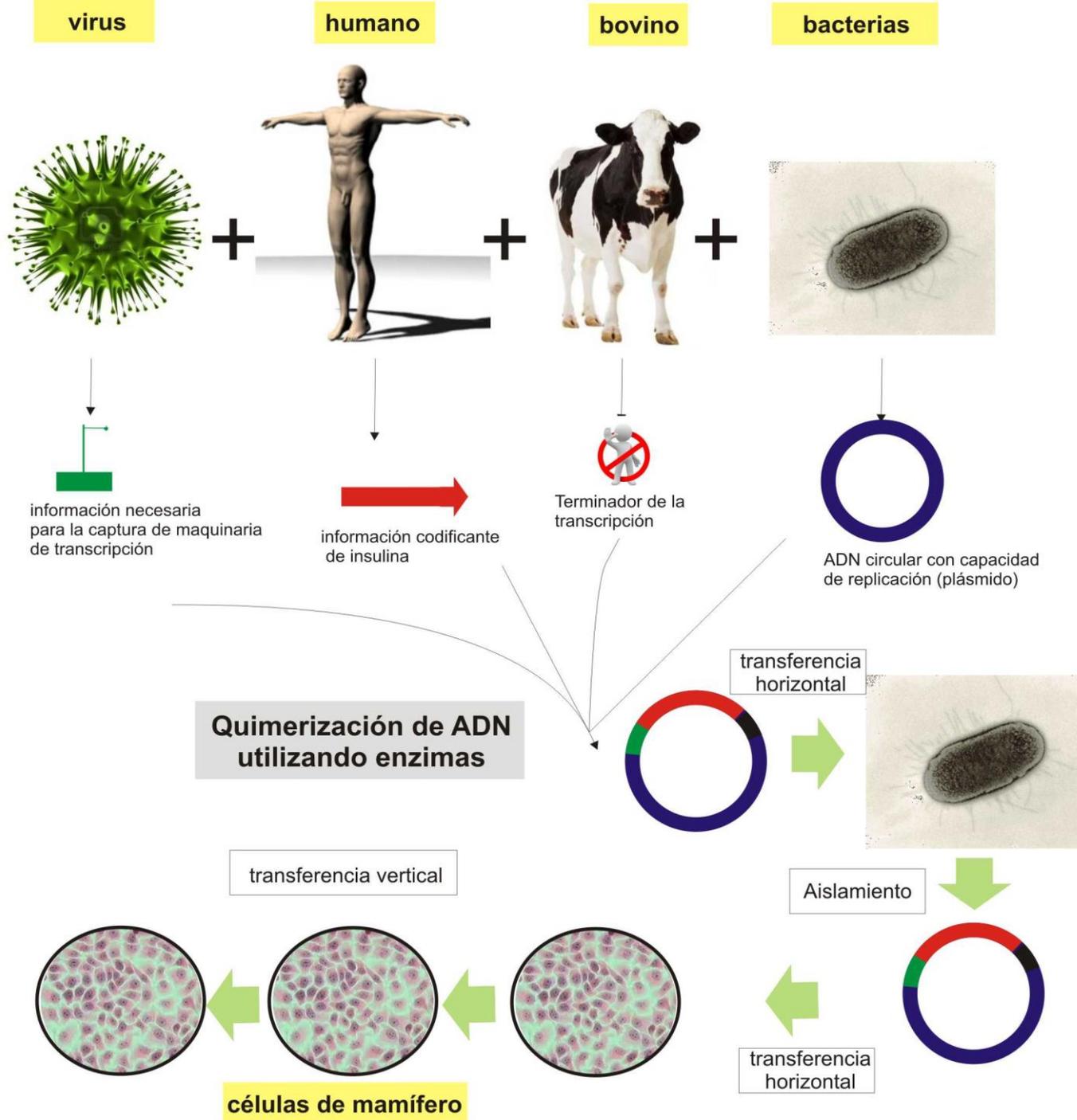
**I  
N  
G  
E  
N  
I  
E  
R  
Í  
A  
  
G  
E  
N  
É  
T  
I  
C  
A**

**Manipulación deliberada de  
la información genética**

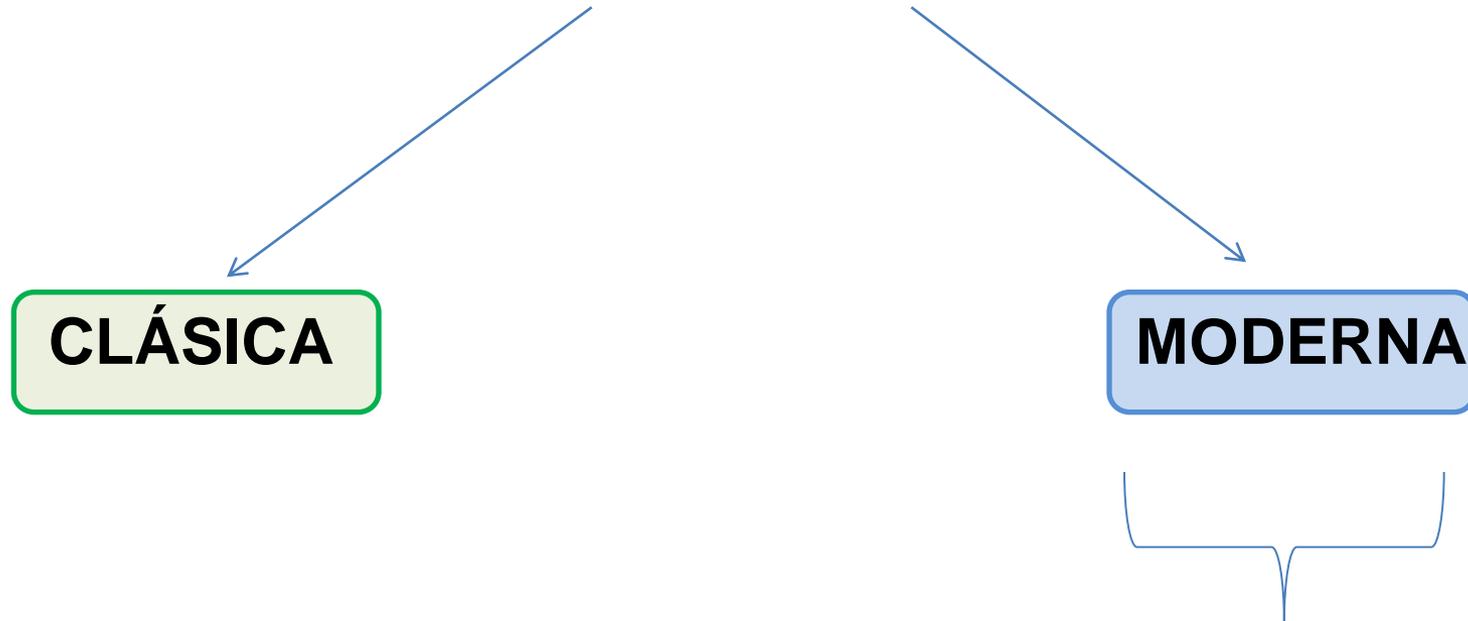
# Biotecnología moderna

## Ingeniería genética

- La **ingeniería genética** incluye un **conjunto de procedimientos**, cuya base es el **clonado molecular**, que involucran las **siguientes etapas**:
  - *Quimerización de fragmentos de ADN in vitro (construcción genética).*
  - *Transferencia horizontal de la construcción a Escherichia coli.*
  - *Recuperación de la construcción y transferencia al organismo de destino (con la posibilidad de verticalización)*



# Biotecnología



- Se basa en el **uso** de **organismos manipulados por ingeniería genética**, sus **productos** o sus **partes**.
- **Ejemplos son:** organismos genéticamente modificados (plantas resistentes a plagas, modelos animales para el estudio de enfermedades humanas, levaduras manipuladas para producir enzimas); vacunas; proteínas recombinantes (fármacos, enzimas); terapia génica.

# Biotecnología moderna

OGMs  
(plantas)



Maíz resistente a plagas

Soja resistente a plagas



Plantas tolerantes al estrés hídrico



Papa resistente a virus

# Biotecnología moderna

OGMs  
(animales)

Rosita Isa  
(lactoferrina y lisozima)



Pampa mansa  
(hormona de crecimiento humano)



Tracy  
(antitripsina)



Tilapias  
(hormona de crecimiento)

# Expresión de proteínas recombinantes

## Sistema OGM

Comparison of the time required to obtain recombinant proteins in different transgenic animal species

	Rabbit	Pig	Sheep	Goat	Cow
Gestation time (months)	1	4	5	5	9
Age at sexual maturity (months)	5	6	8	8	15
Time between gene transfer and first lactation (months)	7	16	18	18	33
Number of offspring	8	10	1–2	1–2	1
Annual milk yield (liters)	15	300	500	800	8000
Recombinant protein per female per year (kg)	0.02	1.5	2.5	4	40

Possible level of recombinant protein production in milk of different transgenic animal species

Protein	Estimated need (kg year <sup>-1</sup> )	Species	Herd size
Human serum albumin	100,000	Cow	5,400
$\alpha$ -1-Antitrypsin	5,000	Sheep	4,300
Monoclonal antibody	100	Goat	58
Anti-thrombin-III	75	Goat	43
Factor IX	2	Pig	4
Protein C1 inhibitor	1	Rabbit	50

# Expresión de proteínas recombinantes

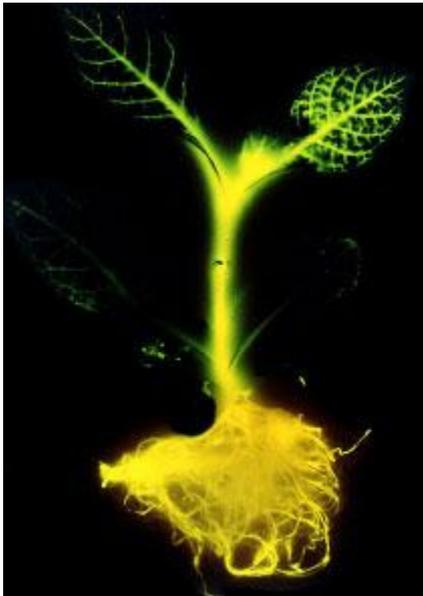
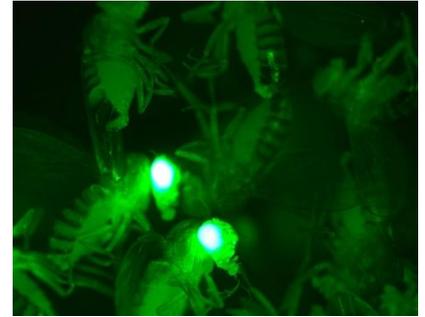
## Sistema OGM

Some of the pharmaceutical proteins under study produced in milk

Proteins	Company	Animal	g/l	Glycosylation	Development
ATryn	GTC	Goat	3	<NANA, >NGNA	EMEA (2006)
InhibitorC1	Pharming	Rabbit	8	<NANA	Phase III
Fibrinogen	Pharming	Rabbit	?		Phase III
Malaria antigen	GTC	Goat	?	No	Clinical
Anti-CD137	GTC	Goat	?	?	Clinical
Albumin	GTC	Goat	?	No	Clinical
$\alpha$ -AT	GTC	Goat	?	?	Clinical
BChE	PhAth	Goat	?	?	Preclinical
Rotavirus VP2/VP6	BPT	Rabbit	0.5	No	Preclinical
Blood factor	BPT	Rabbit	3	<NANA	Preclinical
TNAP	AM Pharma	Rabbit	<0.1	?	Preclinical

# Biotecnología moderna

OGMs  
(modelos)



# Biotecnología moderna

Fármacos  
(proteínas rec)



Bacterias o levaduras modificadas



Células de mamífero modificadas

# Biotecnología moderna

Fármacos  
(proteínas rec)



Hormona de crecimiento recombinante



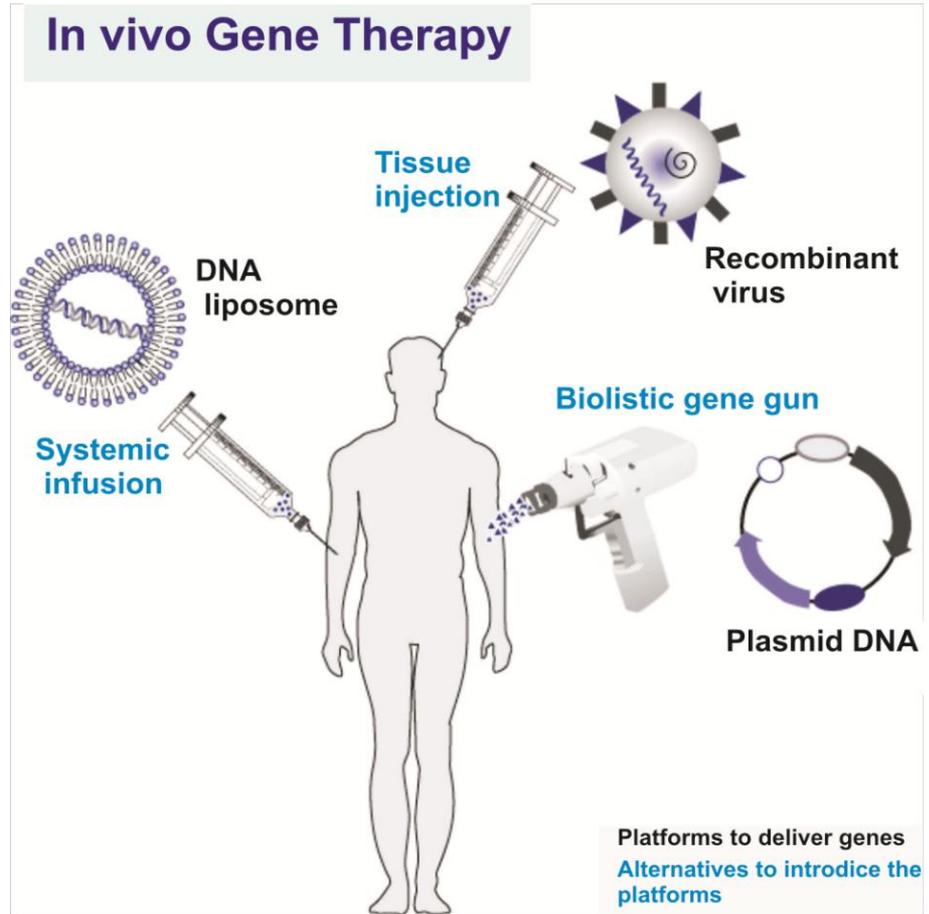
Insulina recombinante



Factor coagulación recombinante

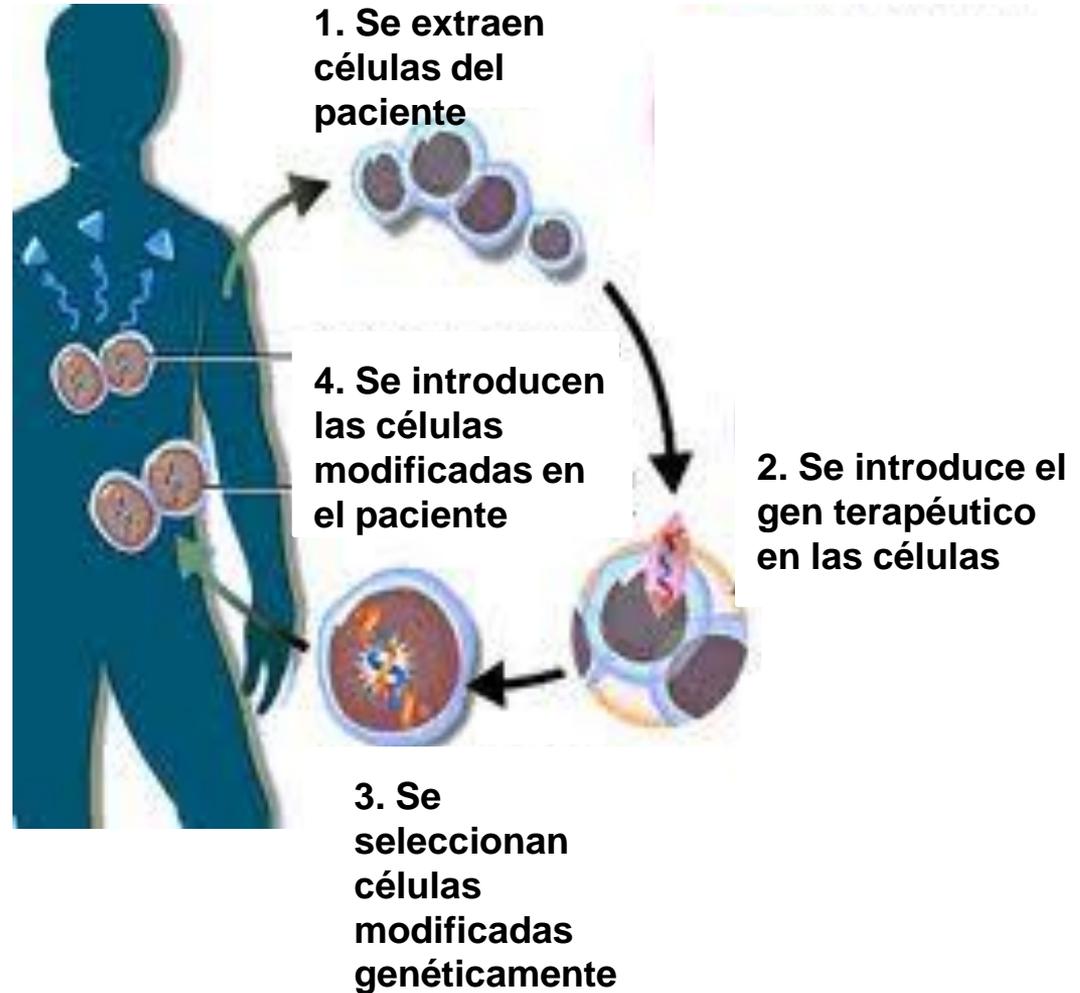
# Biotecnología moderna

Fármacos  
(terapia génica)



# Biotecnología moderna

Fármacos  
(terapia génica)



# Biotecnología moderna

Fármacos  
(terapia génica)



**Glybera** para tratamiento de una enfermedad genética



**Gendicine** para tratamiento oncológico

# Biotecnología moderna

Vacunas



Vacuna para hepatitis B



Vacuna para HPV

# Biotecnología moderna

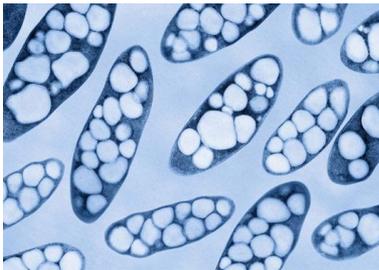
Industria



Biocombustibles



detergentes



Bioplásticos



Industria de la alimentación

# Biotecnología y ambiente

Procesos químicos vs. **Procesos enzimáticos**

Plásticos derivados de petróleo vs. **Bioplásticos**

Combustibles de fuentes no renovables vs. **Biocombustibles**

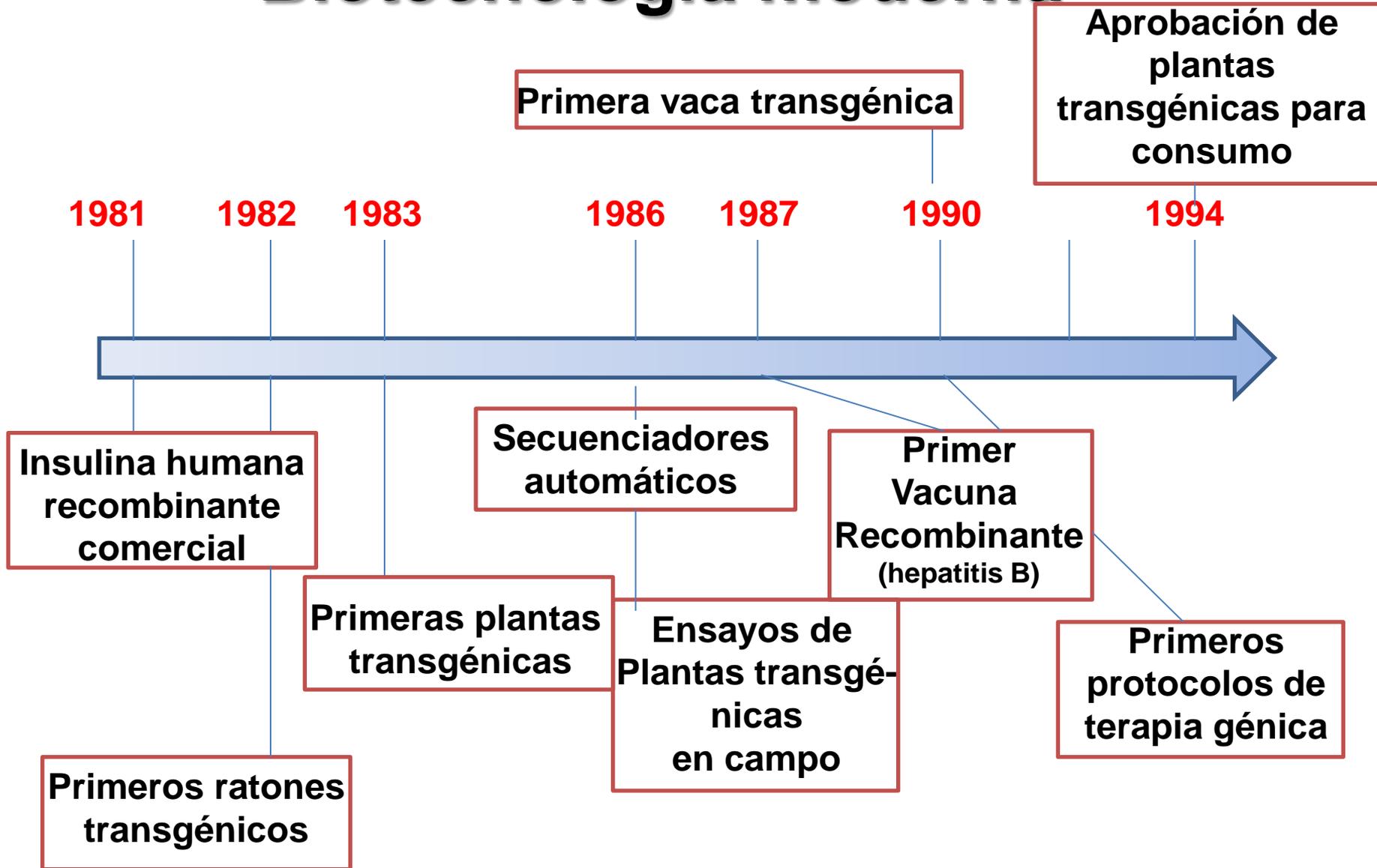
Agroquímicos vs. **Manejo integrado de plagas**

Incineración/basurales vs. **Degradación microbiana de la basura**

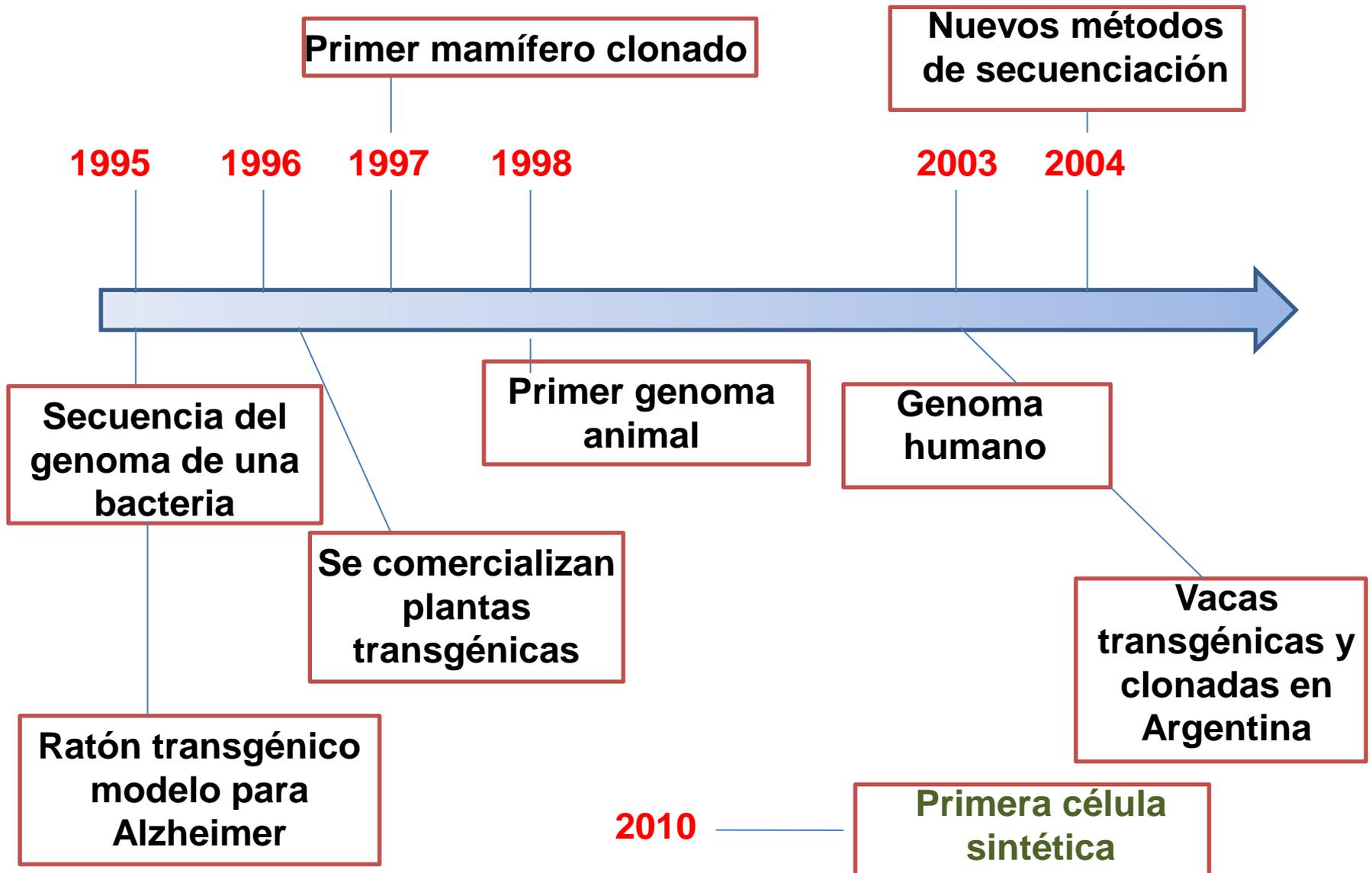
Tratamiento químico de efluentes y derrames vs. **Biorremediación**

Extracción química de metales vs. **Biolixiviación**

# Biotecnología moderna



# Biotecnología moderna



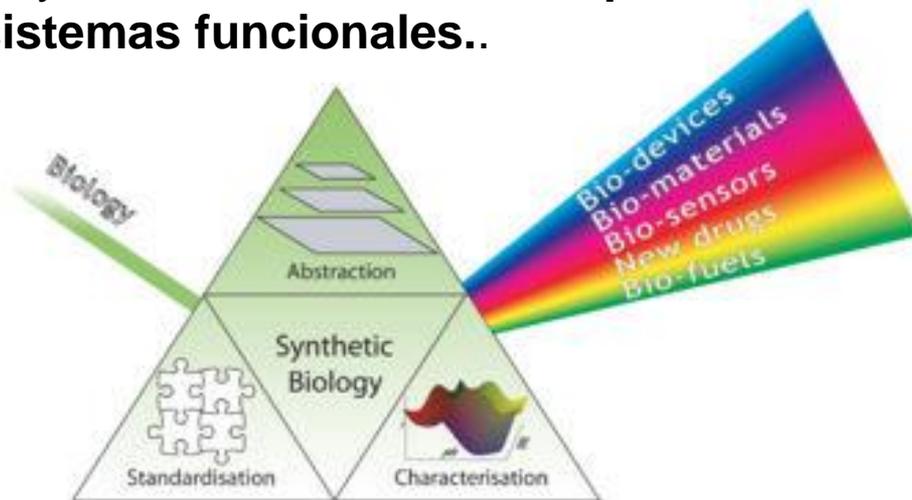
# Biotecnología



***¿Qué es la Biología  
sintética?***

# Biología sintética

- La **biología sintética** es un **nuevo campo científico** que involucra a la *biología*, la *biotecnología*, la *química*, la *ingeniería* y las *ciencias de la computación*, entre otras disciplinas.
- Sus **objetivos** comprenden **el diseño y construcción de dispositivos y sistemas biológicos**, o el **rediseño de sistemas biológicos naturales**, persiguiendo **propósitos útiles** para el ser humano.
- Para la **aplicación** de la **biología sintética** es necesaria la **estandarización y abstracción de componentes biológicos** para **definir nuevos sistemas funcionales**..



# Biología sintética

Algunas **definiciones** sobre este nuevo campo



*“La biología sintética incluye a) el diseño y construcción de nuevas partes, dispositivos y sistemas biológicos y b) el rediseño de sistemas biológicos naturales existentes para propósitos útiles”.*

**Synthetic biology.org**

*“La biología sintética es un área emergente de investigación que en términos generales se puede describir como el diseño y construcción de nuevas vías biológicas artificiales, organismos o dispositivos, o el rediseño de sistemas biológicos naturales existentes”.*

**UK Royal Society**

# Biología sintética

Algunas **definiciones** sobre este nuevo campo



*La biología sintética es la ingeniería de la biología: la síntesis de sistemas complejos basados (o inspirados) en la biología, los cuales presentarán funciones que no existen en la naturaleza. Esta perspectiva ingenieril puede ser aplicada a todos los niveles de la jerarquía de las estructuras biológicas – desde las moléculas individuales a las células, tejidos y organismos. En esencia, la biología sintética permitirá el diseño de ‘sistemas biológicos’ de una manera racional y sistémica”*

**High-level Expert Group European Commission**

# Biología sintética

Algunas **definiciones** sobre este nuevo campo



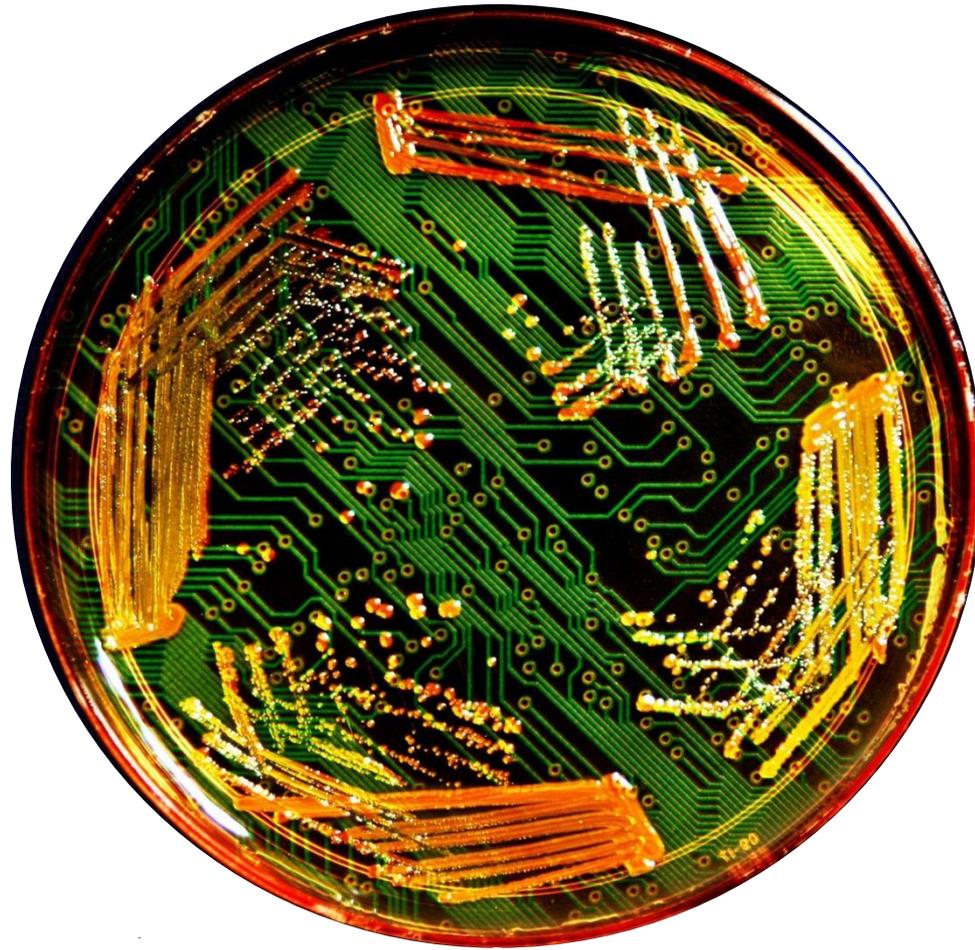
*“La biología sintética es la ingeniería de los componentes y sistemas biológicos que no existen en la naturaleza y la re-ingeniería de elementos biológicos existentes; está determinada por el diseño intencional de sistemas biológicos artificiales, en preferencia que la comprensión de la biología natural”.*

**Synbiology Project**

*“La biología sintética es una forma emergente de ciencia e ingeniería que tiene como objetivo el diseño y construcción de (nuevos) sistemas biológicos”*

**3rd International Conference on synthetic biology**

# Biología sintética



**¿Qué es la biología sintética?**

***“ingeniería que busca crear o recrear funciones biológicas para implantar en materia viva”***

# Algunos conceptos sobre Biología sintética

- La **biología sintética** es una **ingeniería** que busca **crear o recrear funciones biológicas** para implantar en **materia viva**.
- Una **función biológica** es un **sistema ordenado** de **interacciones específicas** entre **macromoléculas**.
- Toda **función biológica** tiene su **biogénesis** en un **circuito genético**.
- La **implantación** de **circuitos genéticos** funcionales en **genomas silvestres** puede **aportarle nuevas funciones** a esa **materia viva**.
- El **ensamblado** de **circuitos genéticos** funcionales puede producir **genomas mínimos**, a partir de los cuales, podría generarse **materia viva sintética**.

# Biología sintética

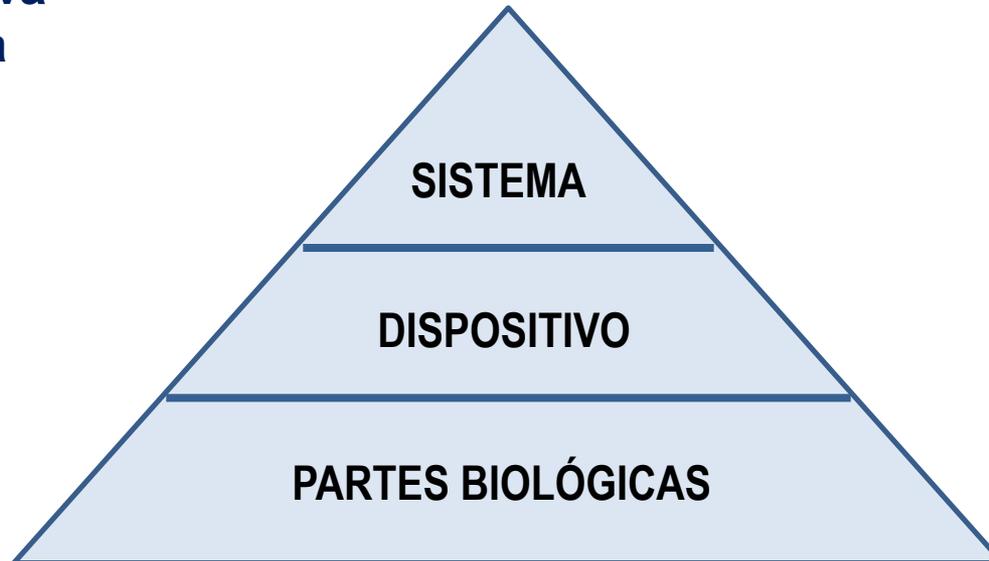
## Componentes

La **biología sintética** se constituye con el siguiente orden de **componentes**:

**Materia viva  
sintética**



**Diseño**



# Biología sintética

## Sistemas

Clasificación general de *sistemas biológicos sintéticos*

- *Sistemas sintetizadores (synthesizer)*
- *Sistemas sensores (sensor)*
- *Sistemas buscadores (seeker)*
- *Sistemas bateadores (striker)*

# Biología sintética

## Sistemas sintetizadores

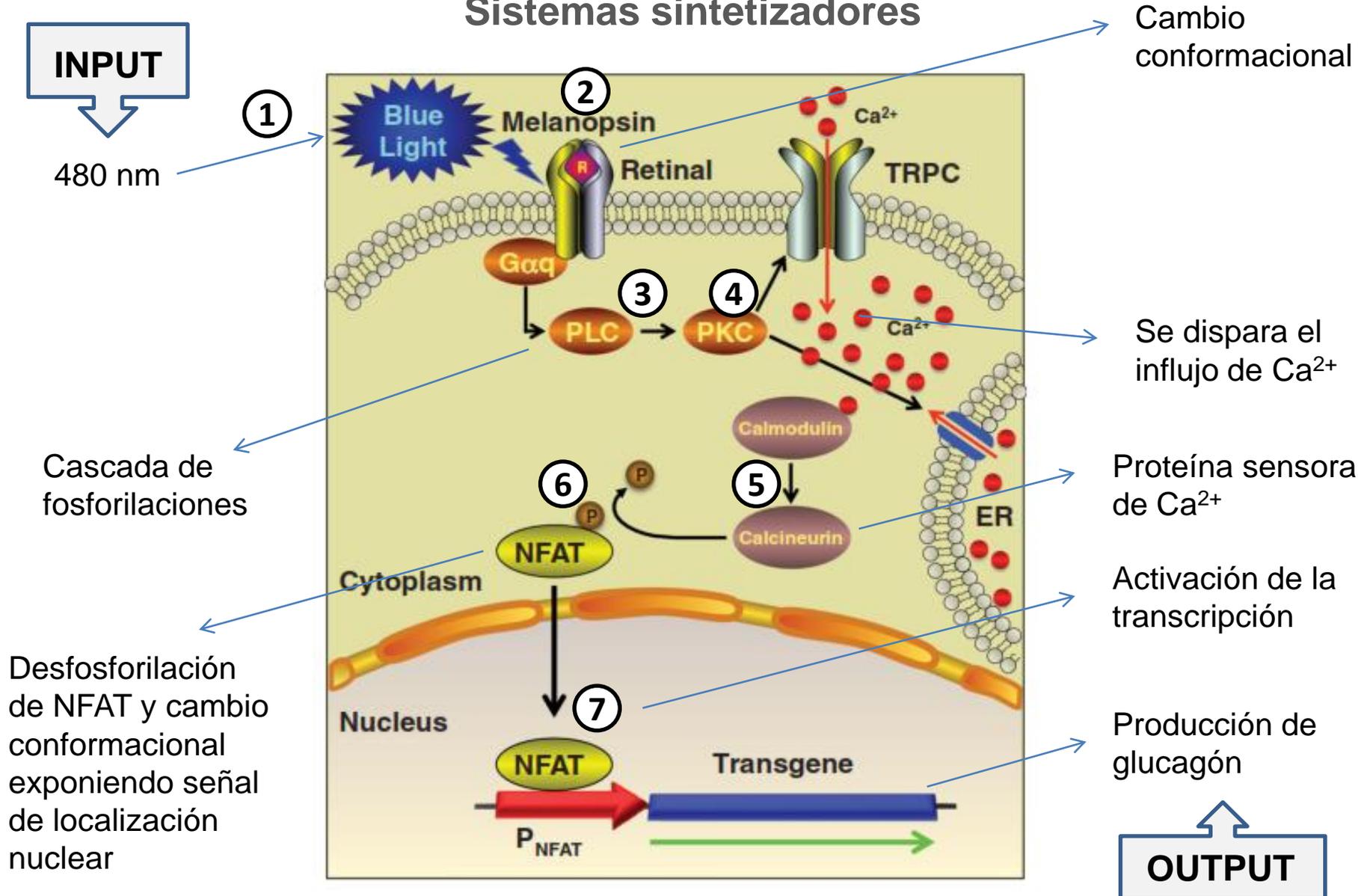
### **A Synthetic Optogenetic Transcription Device Enhances Blood-Glucose Homeostasis in Mice**

Haifeng Ye,<sup>1</sup> Marie Daoud-El Baba,<sup>2</sup> Ren-Wang Peng,<sup>1</sup> Martin Fussenegger<sup>1,3\*</sup>

Synthetic biology has advanced the design of genetic devices that can be used to reprogram metabolic activities in mammalian cells. By functionally linking the signal transduction of melanopsin to the control circuit of the nuclear factor of activated T cells, we have designed a synthetic signaling cascade enabling light-inducible transgene expression in different cell lines grown in culture or bioreactors or implanted into mice. In animals harboring intraperitoneal hollow-fiber or subcutaneous implants containing light-inducible transgenic cells, the serum levels of the human glycoprotein secreted alkaline phosphatase could be remote-controlled with fiber optics or transdermally regulated through direct illumination. Light-controlled expression of the glucagon-like peptide 1 was able to attenuate glycemic excursions in type II diabetic mice. Synthetic light-pulse–transcription converters may have applications in therapeutics and protein expression technology.

# Biología sintética

## Sistemas sintetizadores



# Biología sintética

## Sistemas sensores

Sensor de frecuencia:

# ARTICLE

doi:10.1038/nature10722

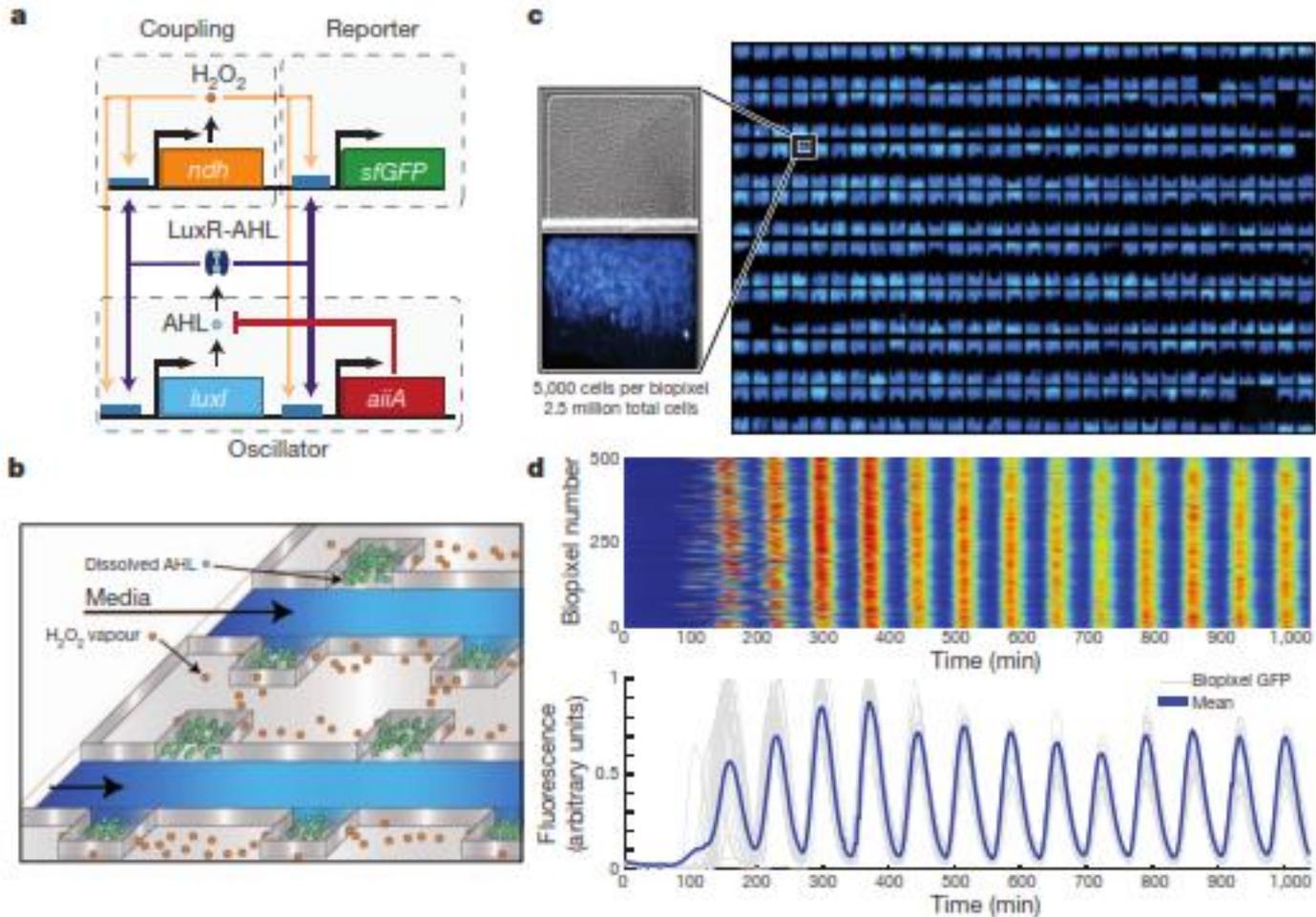
## A sensing array of radically coupled genetic 'biopixels'

Arthur Prindle<sup>1\*</sup>, Phillip Samayoa<sup>2\*</sup>, Ivan Razinkov<sup>1</sup>, Tal Danino<sup>1</sup>, Lev S. Tsimring<sup>3</sup> & Jeff Hasty<sup>1,2,3,4</sup>

Although there has been considerable progress in the development of engineering principles for synthetic biology, a substantial challenge is the construction of robust circuits in a noisy cellular environment. Such an environment leads to considerable intercellular variability in circuit behaviour, which can hinder functionality at the colony level. Here we engineer the synchronization of thousands of oscillating colony 'biopixels' over centimetre-length scales through the use of synergistic intercellular coupling involving quorum sensing within a colony and gas-phase redox signalling between colonies. We use this platform to construct a liquid crystal display (LCD)-like macroscopic clock that can be used to sense arsenic via modulation of the oscillatory period. Given the repertoire of sensing capabilities of bacteria such as *Escherichia coli*, the ability to coordinate their behaviour over large length scales sets the stage for the construction of low cost genetic biosensors that are capable of detecting heavy metals and pathogens in the field.

# Biología sintética

## Sistemas sensores



**Figure 1** | Sensing array of radically coupled genetic biopixels. **a**, Network diagram. The *luxI* promoter drives expression of *luxI*, *ahvA*, *ndh* and *sfGFP* (superfolder variant of GFP) in four identical transcription modules. The quorum-sensing genes *luxI* and *ahvA* generate synchronized oscillations within a colony via AHL. The *ndh* gene codes for NDH-2, an enzyme that generates  $H_2O_2$  vapour, which is an additional activator of the *luxI* promoter.  $H_2O_2$  is capable of migrating between colonies and synchronizing them. **b**, Conceptual

design of the sensing array. AHL diffuses within colonies while  $H_2O_2$  migrates between adjacent colonies through the PDMS. Arsenite-containing media is passed in through the parallel feeding channels. **c**, Fluorescent image of an array of 500 *E. coli* biopixels containing about 2.5 million cells. Inset, bright-field and fluorescent images display a biopixel of 5,000 cells. **d**, Heat map and trajectories depicting time-lapse output of 500 individual biopixels undergoing rapid synchronization. Sampling time is 2 min.

# Biología sintética

## Sistemas sensores

### Sensor de tipo umbral:

#### A Synthetic Genetic Edge Detection Program

Jeffrey J. Tabor<sup>1</sup>, Howard Sallis<sup>1</sup>, Zachary B. Simpson<sup>2</sup>, Aaron A. Chevallier<sup>2</sup>, Anselm Levskaya<sup>1</sup>, Edward M. Marcotte<sup>2,3</sup>, Christopher A. Voigt<sup>1,\*</sup>, and Andrew D. Ellington<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry, University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA, 94158

<sup>2</sup> Center for Systems and Synthetic Biology and Institute for Cell and Molecular Biology, University of Texas, Austin, TX, USA, 78712

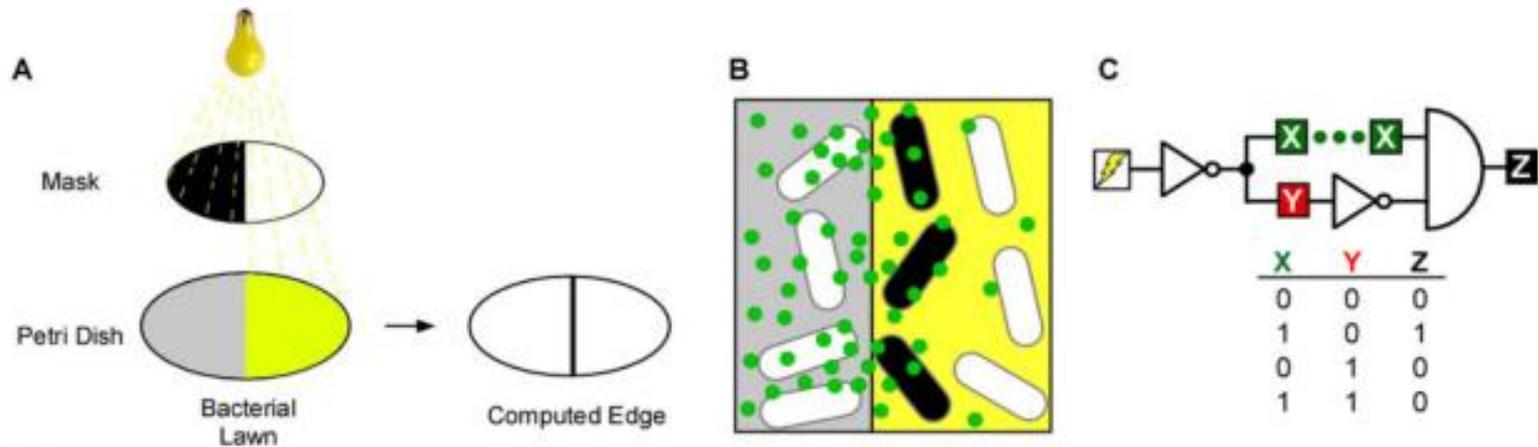
<sup>3</sup> Department of Chemistry and Biochemistry, University of Texas, Austin, TX, USA, 78712

#### Summary

Edge detection is a signal processing algorithm common in artificial intelligence and image recognition programs. We have constructed a genetically encoded edge detection algorithm that programs an isogenic community of *E.coli* to sense an image of light, communicate to identify the light-dark edges, and visually present the result of the computation. The algorithm is implemented using multiple genetic circuits. An engineered light sensor enables cells to distinguish between light and dark regions. In the dark, cells produce a diffusible chemical signal that diffuses into light regions. Genetic logic gates are used so that only cells that sense light and the diffusible signal produce a positive output. A mathematical model constructed from first principles and parameterized with experimental measurements of the component circuits predicts the performance of the complete program. Quantitatively accurate models will facilitate the engineering of more complex biological behaviors and inform bottom-up studies of natural genetic regulatory networks.

# Biología sintética

## Sistemas sensores



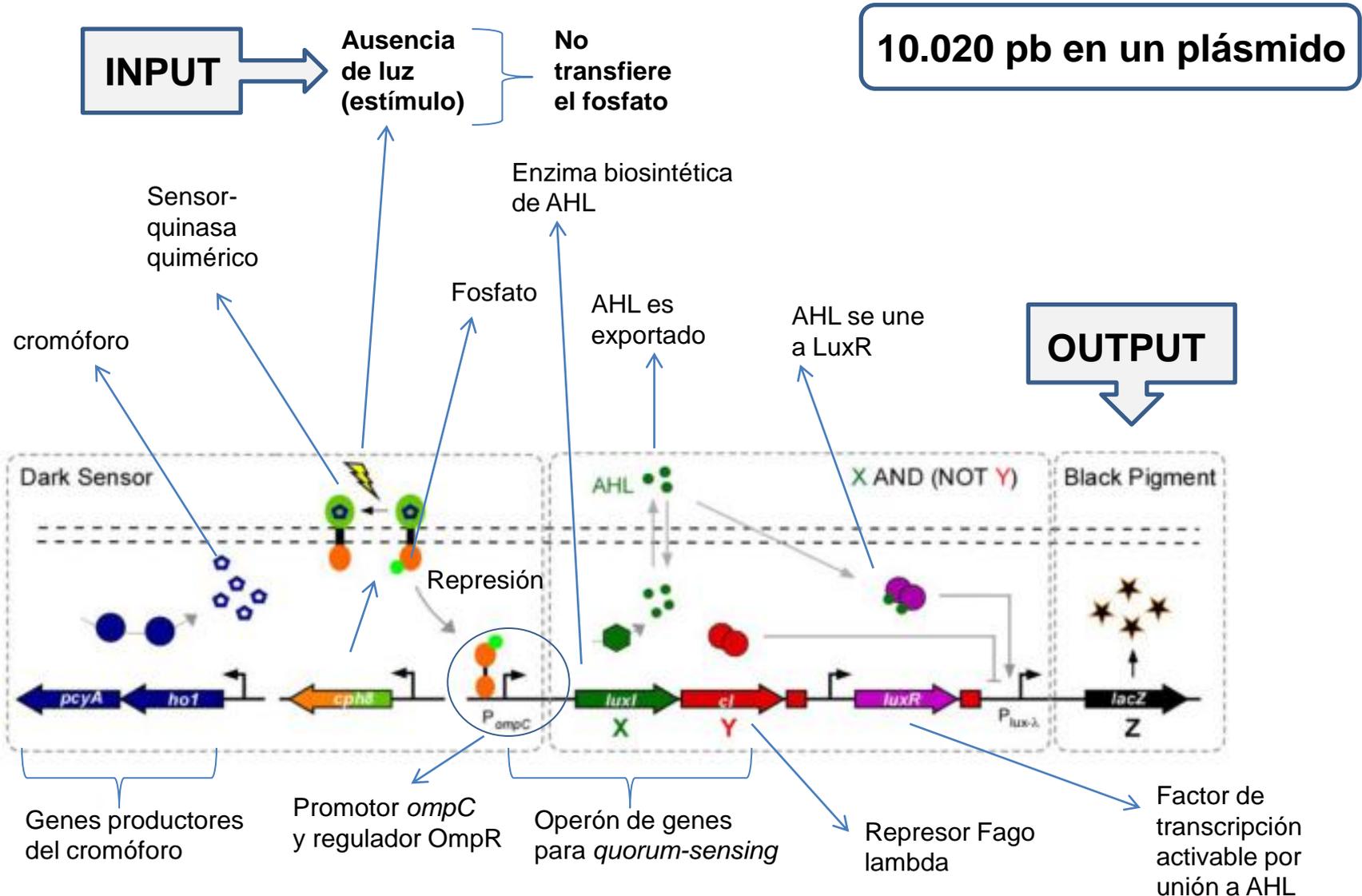
El césped de bacterias es iluminado de manera enmascarada

La respuesta es la pigmentación de las bacterias que se encuentran en el borde entre la luz y la oscuridad

Representación del sistema biológico desarrollado

# Biología sintética

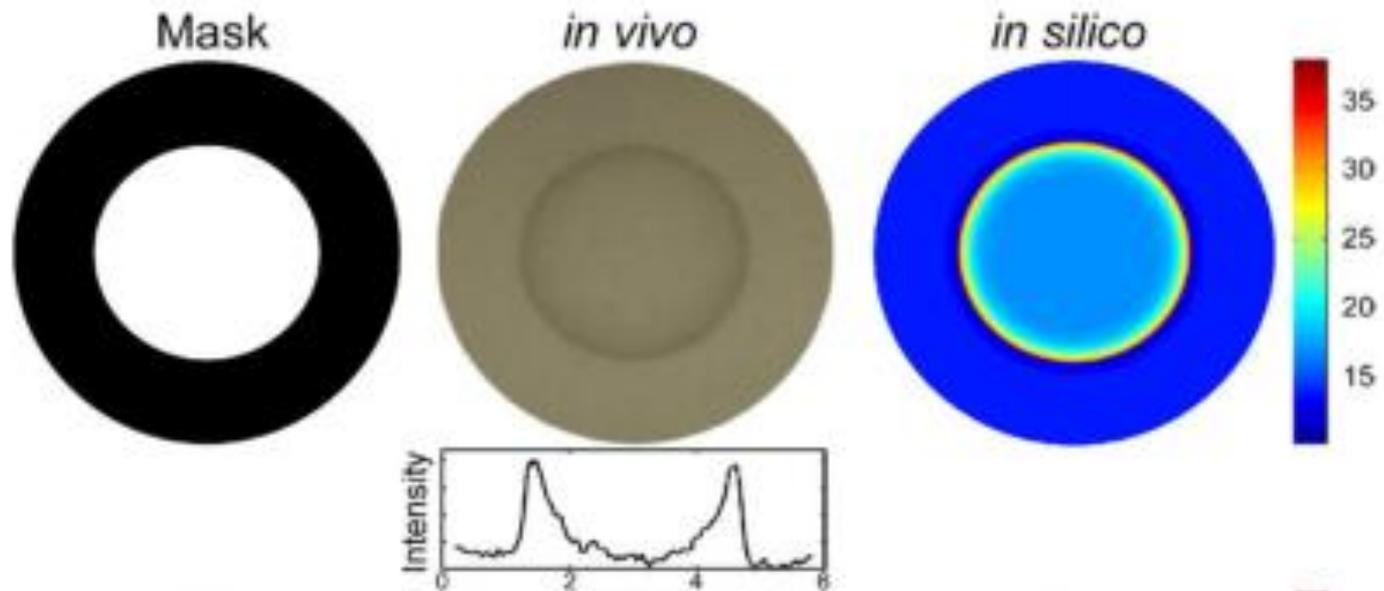
## Sistemas sensores



# Biología sintética

## Sistemas sensores

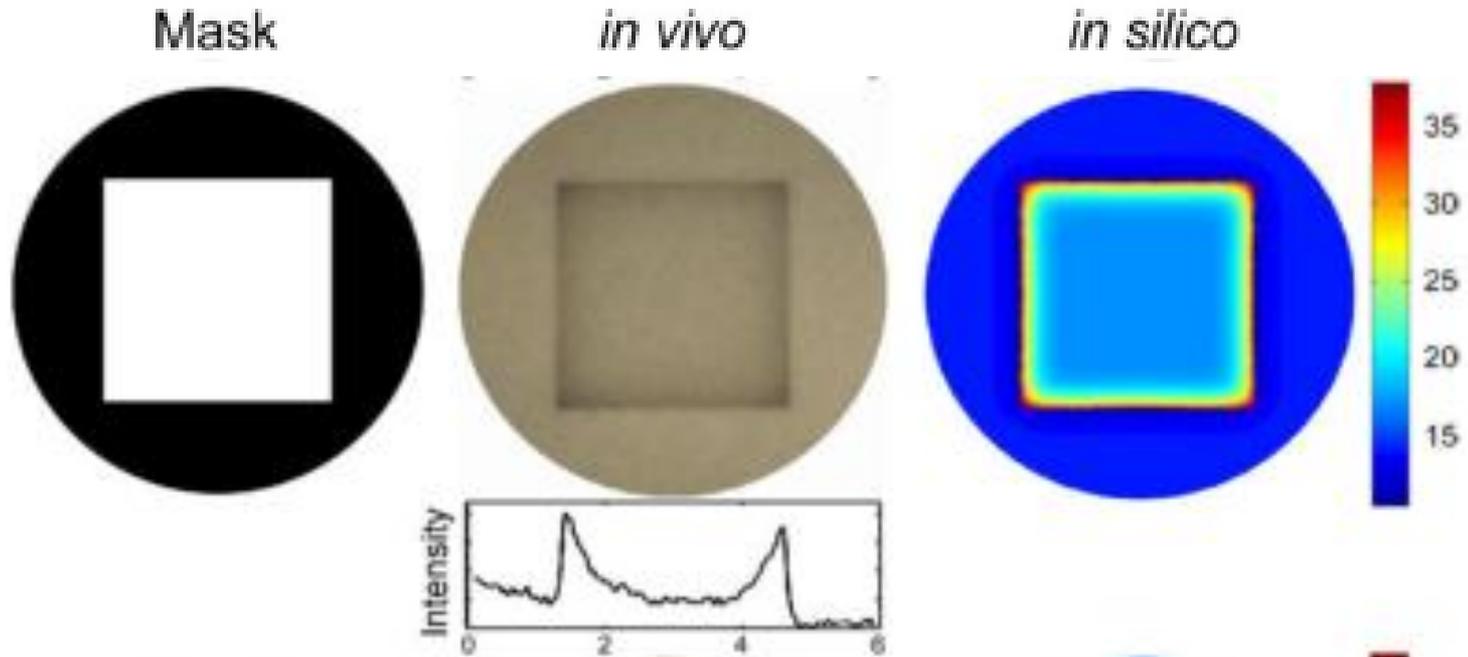
- Ejemplos de cómo funciona el sistema...



# Biología sintética

## Sistemas sensores

- Ejemplos de cómo funciona el sistema...



# Biología sintética

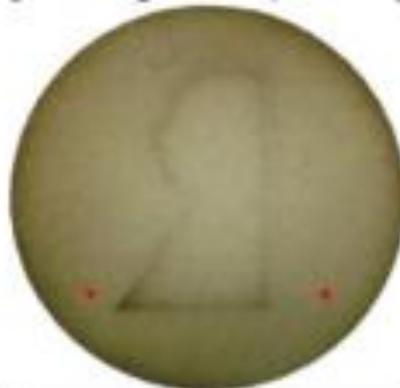
## Sistemas sensores

- Ejemplos de cómo funciona el sistema...

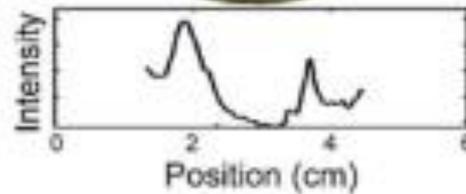
Mask



*in vivo*



*in silico*



# Biología sintética

## Sistemas sensores

- Otros sistemas similares, pero de pintado de áreas...



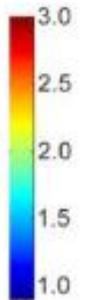
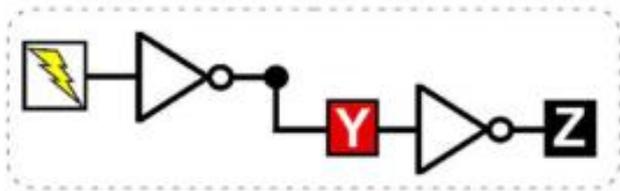
# Biología sintética

## Sistemas sensores

- Otros sistemas similares, pero de pintado de áreas...

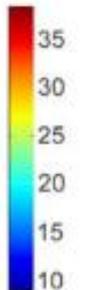
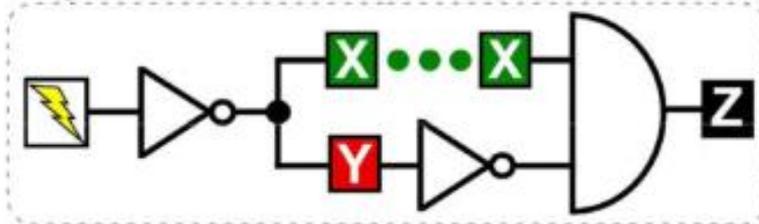
**C**

Inverter



**D**

Edge Detector



# Biología sintética

## Sistemas buscadores

Published in final edited form as:

*Nat Chem Biol.* 2010 June ; 6(6): 464–470. doi:10.1038/nchembio.369.

## Reprogramming Bacteria to Seek and Destroy a Herbicide

Joy Sinha, Samuel J. Reyes, and Justin P. Gallivan\*

Department of Chemistry and Center for Fundamental and Applied Molecular Evolution, Emory University, 1515 Dickey Drive, Atlanta, GA 30322

### Abstract

A major goal of synthetic biology is to reprogram cells to perform complex tasks. Here we show how a combination of in vitro and in vivo selection rapidly identifies a synthetic riboswitch that activates protein translation in response to the herbicide atrazine. We further demonstrate that this riboswitch can reprogram bacteria to migrate in the presence of atrazine. Finally, we show that incorporating a gene from an atrazine catabolic pathway allows these cells to seek and destroy atrazine.

---

# Biología sintética

## Sistemas *striker*

### Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy

Timothy K. Lu<sup>a,b</sup> and James J. Collins<sup>b,1</sup>

<sup>a</sup>Harvard-Massachusetts Institute of Technology Division of Health Sciences and Technology, Cambridge, MA 02139; and <sup>b</sup>Howard Hughes Medical Institute, Center for BioDynamics and Department of Biomedical Engineering, Boston University, Boston, MA 02215

Edited by Arnold L. Demain, Drew University, Madison, NJ, and approved February 3, 2009 (received for review January 16, 2008)

Antimicrobial drug development is increasingly lagging behind the evolution of antibiotic resistance, and as a result, there is a pressing need for new antibacterial therapies that can be readily designed and implemented. In this work, we engineered bacteriophage to overexpress proteins and attack gene networks that are not directly targeted by antibiotics. We show that suppressing the SOS network in *Escherichia coli* with engineered bacteriophage enhances killing by quinolones by several orders of magnitude in vitro and significantly increases survival of infected mice in vivo. In addition, we demonstrate that engineered bacteriophage can enhance the killing of antibiotic-resistant bacteria, persister cells, and biofilm cells, reduce the number of antibiotic-resistant bacteria that arise from an antibiotic-treated population, and act as a strong adjuvant for other bactericidal antibiotics (e.g., aminoglycosides and  $\beta$ -lactams). Furthermore, we show that engineering bacteriophage to target non-SOS gene networks and to overexpress multiple factors also can produce effective antibiotic adjuvants. This work establishes a synthetic biology platform for the rapid translation and integration of identified targets into effective antibiotic adjuvants.

# Biología sintética

Sistemas *striker*

LETTERS

nature  
biotechnology

## Short hairpin RNA–expressing bacteria elicit RNA interference in mammals

Shuanglin Xiang<sup>1,2</sup>, Johannes Fruehauf<sup>1,2</sup> & Chiang J Li<sup>1</sup>

RNA-interference (RNAi) is a potent mechanism, conserved from plants to humans for specific silencing of genes, which holds promise for functional genomics and gene-targeted therapies. Here we show that bacteria engineered to produce a short hairpin RNA (shRNA) targeting a mammalian gene induce trans-kingdom RNAi *in vitro* and *in vivo*. Nonpathogenic *Escherichia coli* were engineered to transcribe shRNAs from a plasmid containing the invasin gene *Inv* and the listeriolysin O gene *HlyA*, which encode two bacterial factors needed for successful transfer of the shRNAs into mammalian cells. Upon oral or intravenous administration, *E. coli* encoding shRNA against *CTNNB1* (catenin  $\beta$ -1) induce significant gene silencing in the intestinal epithelium and in human colon cancer xenografts in mice. These results provide an example of trans-kingdom RNAi in higher organisms and suggest the potential of bacteria-mediated RNAi for functional genomics, therapeutic target validation and development of clinically compatible RNAi-based therapies.

# Biología sintética

Construcción de genomas artificiales

## Complete Chemical Synthesis, Assembly, and Cloning of a *Mycoplasma genitalium* Genome

Daniel G. Gibson, Gwynedd A. Benders, Cynthia Andrews-Pfannkoch, Evgeniya A. Denisova, Holly Baden-Tillson, Jayshree Zaveri, Timothy B. Stockwell, Anushka Brownley, David W. Thomas, Mikkel A. Algire, Chuck Merryman, Lei Young, Vladimir N. Noskov, John I. Glass, J. Craig Venter, Clyde A. Hutchison III, Hamilton O. Smith\*

We have synthesized a 582,970–base pair *Mycoplasma genitalium* genome. This synthetic genome, named *M. genitalium* JCVI-1.0, contains all the genes of wild-type *M. genitalium* G37 except MG408, which was disrupted by an antibiotic marker to block pathogenicity and to allow for selection. To identify the genome as synthetic, we inserted “watermarks” at intergenic sites known to tolerate transposon insertions. Overlapping “cassettes” of 5 to 7 kilobases (kb), assembled from chemically synthesized oligonucleotides, were joined by in vitro recombination to produce intermediate assemblies of approximately 24 kb, 72 kb (“1/8 genome”), and 144 kb (“1/4 genome”), which were all cloned as bacterial artificial chromosomes in *Escherichia coli*. Most of these intermediate clones were sequenced, and clones of all four 1/4 genomes with the correct sequence were identified. The complete synthetic genome was assembled by transformation-associated recombination cloning in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, then isolated and sequenced. A clone with the correct sequence was identified. The methods described here will be generally useful for constructing large DNA molecules from chemically synthesized pieces and also from combinations of natural and synthetic DNA segments.

# Biología sintética

Construcción de genomas artificiales

## Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson,<sup>1</sup> John I. Glass,<sup>1</sup> Carole Lartigue,<sup>1</sup> Vladimir N. Noskov,<sup>1</sup> Ray-Yuan Chuang,<sup>1</sup> Mikkel A. Algire,<sup>1</sup> Gwynedd A. Benders,<sup>2</sup> Michael G. Montague,<sup>1</sup> Li Ma,<sup>1</sup> Monzia M. Moodie,<sup>1</sup> Chuck Merryman,<sup>1</sup> Sanjay Vashee,<sup>1</sup> Radha Krishnakumar,<sup>1</sup> Nacyra Assad-Garcia,<sup>1</sup> Cynthia Andrews-Pfannkoch,<sup>1</sup> Evgeniya A. Denisova,<sup>1</sup> Lei Young,<sup>1</sup> Zhi-Qing Qi,<sup>1</sup> Thomas H. Segall-Shapiro,<sup>1</sup> Christopher H. Calvey,<sup>1</sup> Prashanth P. Parmar,<sup>1</sup> Clyde A. Hutchison III,<sup>2</sup> Hamilton O. Smith,<sup>2</sup> J. Craig Venter<sup>1,2\*</sup>

We report the design, synthesis, and assembly of the 1.08–mega–base pair *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 genome starting from digitized genome sequence information and its transplantation into a *M. capricolum* recipient cell to create new *M. mycoides* cells that are controlled only by the synthetic chromosome. The only DNA in the cells is the designed synthetic DNA sequence, including “watermark” sequences and other designed gene deletions and polymorphisms, and mutations acquired during the building process. The new cells have expected phenotypic properties and are capable of continuous self-replication.

# Biología sintética

Construcción de genomas artificiales

## Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson,<sup>1</sup> John I. Glass,<sup>1</sup> Carole Lartigue,<sup>1</sup> Vladimir N. Noskov,<sup>1</sup> Ray-Yuan Chuang,<sup>1</sup> Mikkel A. Algire,<sup>1</sup> Gwynedd A. Benders,<sup>2</sup> Michael G. Montague,<sup>1</sup> Li Ma,<sup>1</sup> Monzia M. Moodie,<sup>1</sup> Chuck Merryman,<sup>1</sup> Sanjay Vashee,<sup>1</sup> Radha Krishnakumar,<sup>1</sup> Nacyra Assad-Garcia,<sup>1</sup> Cynthia Andrews-Pfannkoch,<sup>1</sup> Evgeniya A. Denisova,<sup>1</sup> Lei Young,<sup>1</sup> Zhi-Qing Qi,<sup>1</sup> Thomas H. Segall-Shapiro,<sup>1</sup> Christopher H. Calvey,<sup>1</sup> Prashanth P. Parmar,<sup>1</sup> Clyde A. Hutchison III,<sup>2</sup> Hamilton O. Smith,<sup>2</sup> J. Craig Venter<sup>1,2\*</sup>

We report the design, synthesis, and assembly of the 1.08–mega–base pair *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 genome starting from digitized genome sequence information and its transplantation into a *M. capricolum* recipient cell to create new *M. mycoides* cells that are controlled only by the synthetic chromosome. The only DNA in the cells is the designed synthetic DNA sequence, including “watermark” sequences and other designed gene deletions and polymorphisms, and mutations acquired during the building process. The new cells have expected phenotypic properties and are capable of continuous self-replication.

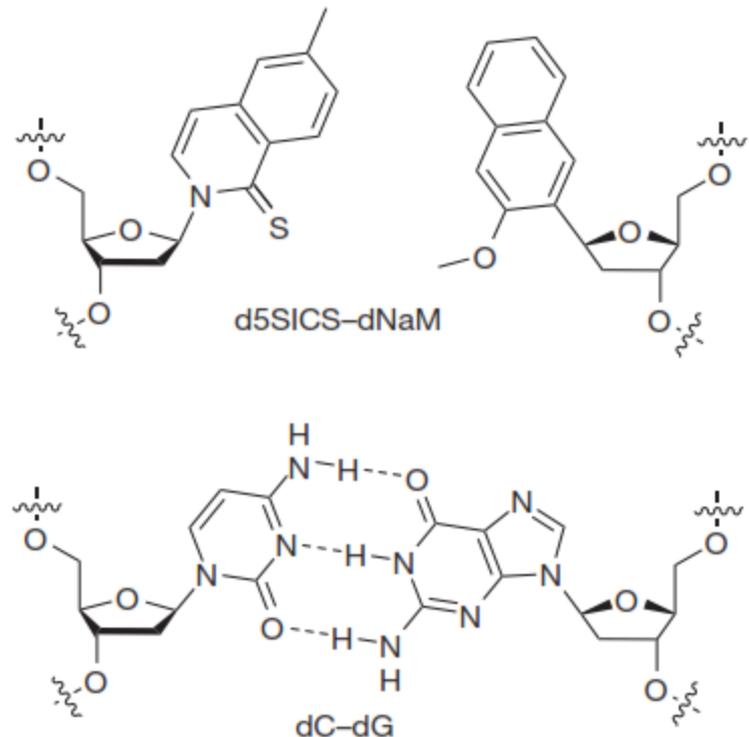
# Biología sintética

## Construcción de genomas artificiales

### A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet

Denis A. Malyshev<sup>1</sup>, Kirandeep Dhama<sup>1</sup>, Thomas Lavergne<sup>1</sup>, Tingjian Chen<sup>1</sup>, Nan Dai<sup>2</sup>, Jeremy M. Foster<sup>2</sup>, Ivan R. Corrêa Jr<sup>2</sup> & Floyd E. Romesberg<sup>1</sup>

Organisms are defined by the information encoded in their genomes, and since the origin of life this information has been encoded using a two-base-pair genetic alphabet (A–T and G–C). *In vitro*, the alphabet has been expanded to include several unnatural base pairs (UBPs)<sup>1–3</sup>. We have developed a class of UBPs formed between nucleotides bearing hydrophobic nucleobases, exemplified by the pair formed between d5SICS and dNaM (d5SICS–dNaM), which is efficiently PCR-amplified<sup>1</sup> and transcribed<sup>4,5</sup> *in vitro*, and whose unique mechanism of replication has been characterized<sup>6,7</sup>. However, expansion of an organism's genetic alphabet presents new and unprecedented challenges: the unnatural nucleoside triphosphates must be available inside the cell; endogenous polymerases must be able to use the unnatural triphosphates to faithfully replicate DNA containing the UBP within the complex cellular milieu; and finally, the UBP must be stable in the presence of pathways that maintain the integrity of DNA. Here we show that an exogenously expressed algal nucleotide triphosphate transporter efficiently imports the triphosphates of both d5SICS and dNaM (d5SICSTP and dNaMTP) into *Escherichia coli*, and that the endogenous replication machinery uses them to accurately replicate a plasmid containing d5SICS–dNaM. Neither the presence of the unnatural triphosphates nor the replication of the UBP introduces a notable growth burden. Lastly, we find that the UBP is not efficiently excised by DNA repair pathways. Thus, the resulting bacterium is the first organism to propagate stably an expanded genetic alphabet.



***Sintetizando...***

# Sintetizando...

- Las **ciencias de la vida** intentan **generar conocimiento** sobre las **funciones de la materia viva**.
- Las **tecnologías de la vida aplican** el **conocimiento** anterior para la **producción de bienes y servicios**.
- La **biotecnología aplica la materia viva en la producción de bienes y servicios, centrándose en la utilización de actividades**.
- La **biología sintética busca la creación o recreación de funciones biológicas para la generación de materia viva funcional para el ser humano**.