

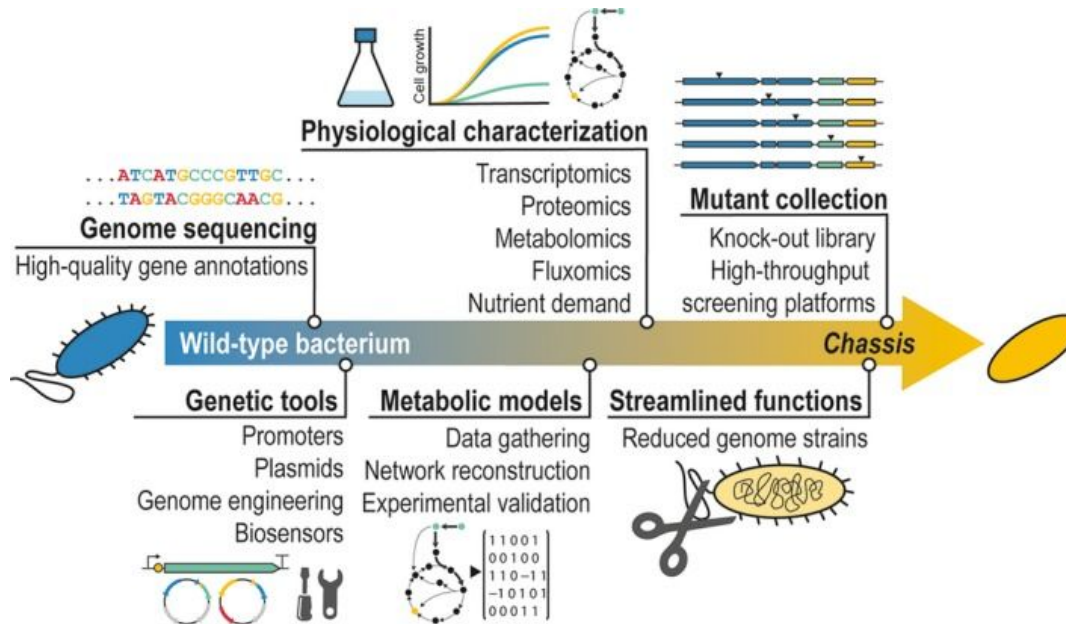
Selección de chasis en biología sintética: ¿qué debo saber?

Club Synbio III Sesión, 2021

Repaso

¿Qué es un organismo modelo?

¿Qué es un chasis?



¿Qué debemos tomar en cuenta al seleccionar un chasis?

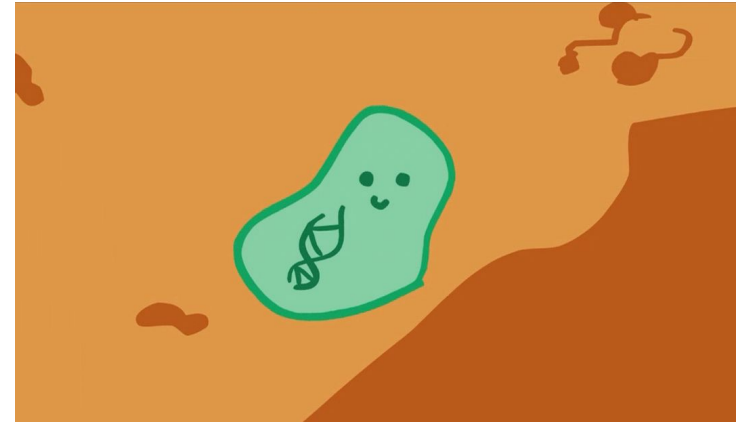
- ¿Qué se quiere obtener de él?
- ¿En qué área se quiere implementar?
- ¿Posee las características necesarias para lo que quiero obtener?
- ¿Qué tan caracterizado está?
- ¿Cuáles herramientas existen para transformarlo, modelarlo y caracterizarlo?
- ¿Ya hay algo similar reportado?
- ¿Cuánto tiempo tomará obtener resultados?
- ¿De cuáles recursos dispongo?
- ¿Es viable?

Ningún chasis es perfecto: costo vs. beneficio






¿Según mis **prioridades**, qué es más importante?

Características básicas de un chasis

- ★ Manejabilidad genética
- ★ Robustez del crecimiento
- ★ Estabilidad genética
- ★ Capacidad de predecir con precisión las interacciones entre el dispositivo sintético y el chasis



Tipos de chasis

	Manipulación genética	Compuestos robustos	Escalabilidad	Costos
	+	✓	✗	++++
	+++	✓	✓	+++
	+++	✗	✓	++
	++	✗	✓ ✗	++
	+++	✓	✓	+

Ejemplo

Microalgal species	Editing method	Application
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942	One plasmid-driven CRISPRi/dCas9 system	Downregulating the expression level of <i>glgc</i> gene
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	One plasmid-driven CRISPRi/dCas9 system	Repression the formation of carbon storage compounds
<i>Synechococcus elongatus</i> UTEX 2973	Two plasmid-driven CRISPR/Cas9 system	Knock-out of the <i>nblA</i> gene
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	Genomic integration CRISPRi/dCas9 system	Downregulating the expression level of carboxysome
<i>Synechococcus</i> sp. PCC7942	One plasmid-driven CRISPR/Cas9 system	Knock-out of the <i>glgc</i> gene and knock-in of <i>gltA/ppc</i> genes, improving succinate production
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-503	One plasmid-driven CRISPR/Cas9 system (<i>C. reinhardtii</i> codon-optimized Cas9)	First successful transient expression of Cas9 and sgRNA genes in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-124	CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins	Mutagenesis of <i>MAA7</i> , <i>CpSRP43</i> and <i>ChlM</i> gene
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins	Knock-out of the <i>CpFTSY</i> and ZEP gene, improving photosynthetic productivity
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-400	Two plasmid-driven CRISPRi/dCas9-KRAB system	Downregulating the expression level of <i>CrPEPC1</i> gene
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-4349	CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins	Knock-out of the zeaxanthin epoxidase gene
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	One plasmid-driven CRISPR/Cas9 system (<i>C. reinhardtii</i> codon-optimized Cas9)	Mutagenesis of the <i>CpSRP54</i> gene
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	One plasmid-driven CRISPR/Cas9 system	A 37 nt deletion in the urease gene
<i>Nannochloropsis oceanica</i> IMET1	CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins	Knock-out of the NR gene
<i>Nannochloropsis oceanica</i> CCMP1779	One plasmid-driven CRISPR/Cas9 system	Knock-out of the NR gene

¿Multi-chasis?

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405805X18300413>

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.09.005>

Dispositivos ortogonales

Ortogonalidad → Dispositivos sintéticos que funcionan independientemente del host

- El hecho de contar con mecanismos sintéticos, no significa que no vayan a interactuar con los componentes endógenos del chasis.
- La complejidad del sistema aumenta exponencialmente las posibilidades de interacciones impredecibles que pueden obstaculizar la salida.
- Busca la racionalización del genoma

Manejo de secuencias de ADN

- Snapgene <https://www.snapgene.com/>
- Benchling www.benchling.com
- Optimización codones <https://www.idtdna.com/CodonOpt>
- Uso de codones <http://www.kazusa.or.jp/codon/>
- Random DNA generator <https://faculty.ucr.edu/~mmaduro/random.htm>
- Masajeador secuencias <http://biomodel.uah.es/en/lab/cybertory/analysis/massager.htm>
- Traducciones <http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/>
- Alineamiento múltiple en línea <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>
- Alineamiento múltiple descargar (en masa) <https://www.megasoftware.net/>

Búsqueda de secuencias

- Blast (ojo, tiene diferentes tipos) <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>

Info sobre genes/proteínas/bichos

- All <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Genes y anotaciones <http://geneontology.org/>
- Proteínas <https://www.uniprot.org/>
- Enzimas <https://www.brenda-enzymes.org/>
- Genomas, ojo que hay varias plataformas <http://bacteria.ensembl.org/index.html>
- Bichos patógenos <https://www.patricbrc.org/>
- Microbioma humano <https://www.hmpdacc.org/HMREFG/>

Rutas metabólicas

- MetaCyc <https://metacyc.org/>
- KEGG <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>

E. coli

- EcoCyc <https://ecocyc.org/>
- Regulación <http://regulondb.ccg.unam.mx/index.jsp>
- Calculadora regulación <https://salislab.net/software/>
- Factores transcripción <https://shigen.nig.ac.jp/ecoli/tec/cytoscape/>
- Visualización rutas metabólicas <https://escher.github.io/#/>

Primers

- Análisis <https://www.idtdna.com/calc/analyser>
- Alineamiento múltiple <https://services.birc.au.dk/prifi/main.py>
- Diseño <http://primer3plus.com/cgi-bin/dev/primer3plus.cgi>
- PCR in silico <http://insilico.ehu.es/PCR/>
- Primer Blast <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>

Anotación genómica

- <https://rast.nmpdr.org/>
- https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/
- <https://www.hsls.pitt.edu/obrc/index.php?page=URL1132678306>

Múltiples herramientas en una

- Bioinfo TEC <https://sites.google.com/site/bionformaticaitcr/home?authuser=0>
- Flujos de trabajo <https://www.kbase.us/> (blast, anotación, flujos metabólicos, etc.)
- Literal de todo <https://www.expasy.org/>
- Varias (secuencias, modelado proteico, etc.) <https://bip.weizmann.ac.il/toolbox/structure/structure.html>

Synbio specific

- SBOL (lenguaje) <https://sbolstandard.org/>
- Repositorio iGEM http://parts.igem.org/Main_Page
- Repositorio ampliado <https://synbiohub.org/>
- Promotores y terminadores <https://molbiol-tools.ca/Promoters.htm>

Lípidos

- <https://www.lipidmaps.org/tools/ms/>

Clonación

- <http://nebcloner.neb.com/#/>

Restricción

- Búsqueda de sitio en una secuencia <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>
- Info sobre enzimas <https://worldwide.promega.com/resources/tools/retool/>
- Herramientas varias https://molbiol-tools.ca/Restriction_endonuclease.htm

Análisis ARN

- <http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>
- <http://unafold.malabany.edu/?q=DINAMelt/Hybrid2>

Genealogía

- MEGA también hace árboles filogenéticos

Data para modelado matemático

- <https://datanator.info/>

Análisis de expresión

- https://www.hsls.pitt.edu/obrc/index.php?page=gene_expression_tools

Herramientas de interés: mi mina de oro

Selección de chasis en biología sintética: ¿qué debo saber?

Club Synbio III Sesión, 2021