

# Biología sintética y de sistemas I

Martín Gutiérrez

August 15, 2024

Ya habiendo visto una gran variedad de elementos que participan en la implementación de circuitos, ahora nos centraremos en analizar los usos principales que se les da a circuitos y sistemas del área.

# Primero... ¿Qué es un sistema?

Un sistema se denomina a un conjunto de organismos o entes que actúan coordinadamente mostrando un comportamiento único y que apunta a un objetivo particular.

Durante la primera parte de esta asignatura, estuvimos viendo componentes y funcionalidades básicas. En particular, mencionamos un sistema durante esas clases: el Repressilator.

Así entonces, la biología programable toca dos áreas de estudio fundamentales: la biología sintética y la biología de sistemas.

Se trata de una rama de la biología que consiste en construir circuitos/sistemas que exhiben un comportamiento que no es natural (en contraposición, es artificial).

Es la ingeniería de la biología. Esta rama de estudio parte en el año 2000 con la publicación de dos circuitos fundacionales: el Repressilator y el Toggle Switch.

**Repressilator:** Elowitz, M B, and S Leibler. “A Synthetic Oscillatory Network of Transcriptional Regulators.” *Nature* 403, no. 6767 (2000): 335–38. <http://dx.doi.org/10.1038/35002125>.

**Toggle Switch:** Gardner, T S, C R Cantor, and J J Collins. “Construction of a Genetic Toggle Switch in *Escherichia Coli*.” *Nature* 403, no. 6767 (2000): 339–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10659857>.

# Repressilator (I)

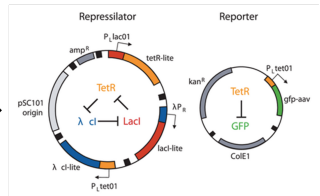
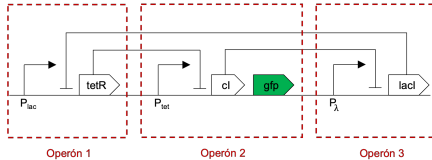
Se trata de un sistema oscilatorio integrado por tres operones que se reprimen en secuencia y generan un periodo de expresión de cada una de las proteínas de cada operón.

Se implementa como un ciclo de feedback negativo de tamaño tres y que, por la estructura del ciclo, produce las oscilaciones autónomas.

Esto es, para un gen Y:

- Un gen Z reprimido “hacia adelante” queda inhibido hasta que desaparezca la represión causada por Y, pero también tenga tiempo para expresarse.
- Más hacia adelante (y detrás de Y), el gen X al ser regulado negativamente por Z, se expresa iniciando la represión de Y, por parte de X, y poniendo en marcha la ola de represiones sucesivas.

# Repressilator (II)



## Repressilator (III)

El sistema exhibe periodos de oscilación de duración aproximada del tiempo de represión (y luego activación) de los otros dos genes.

Algo importante de observar es que la proteína que primero se expresa es indeterminada. Sea cual fuere esa proteína, la dinámica se preserva en el tiempo en forma de una oscilación secuencial.

En el diseño presentado en el artículo correspondiente, se reportan estos periodos asociando la represión de GFP por parte de uno de los tres genes en un plásmido separado (TetR en su forma original).

## Repressilator (IV)

Las características que exhibe este sistema tiene implicancias en varias áreas:

- Autoregulación: si bien se debe pasar por un ciclo de represiones para volver a la represión de un gen determinado, a través del comportamiento oscilatorio, el sistema tiende a un equilibrio de expresión de proteínas.
- Patrones temporales (y a veces espaciales): La oscilación describe un patrón en que cada gen se expresa regularmente después de un periodo de tiempo transcurrido. Por ende, se genera una serie en el tiempo que es reconocible y repetitiva (en este caso). Bajo ciertas condiciones, un repressilator puede también generar un patrón espacial, puesto que si se mantiene una coordinación razonable de los organismos, es posible observar patrones radiales de expresión genética.



Las características que exhibe este sistema tiene implicancias en varias áreas:

- Automatización: El circuito funciona solo una vez que ha iniciado su operación y va cambiando de estado de forma acorde. En gran medida, esto se explica por los tiempos de expresión y represión que proveen de la dinámica necesaria para que el sistema transite entre sus distintos estados.

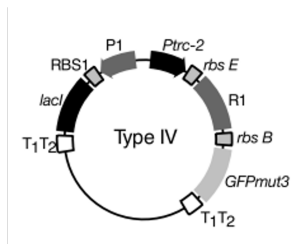
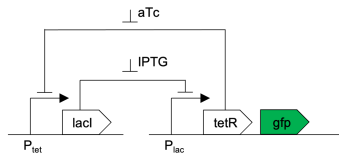
# Toggle Switch (I)

Es el otro circuito fundacional que empezó la biología sintética. Es un interruptor que trabaja con una represión mutua entre dos genes.

Cada una de estas represiones se puede a su vez controlar por medio de una señal del entorno. En resumen, la lógica de operación del circuito es la siguiente, si tenemos los dos genes represores X e Y:

- El gen X es reprimido por el gen Y y éste último es recíprocamente reprimido por el gen X.
- Cada una de las represiones mencionadas pueden ser interrumpidas por una señal del ambiente. Por ejemplo, IPTG interrumpe la represión causada por LacI y anTc se encarga de interrumpir la represión causada por TetR.
- Con ello, se carga el sistema hacia la expresión de uno de los dos genes del circuito.

# Toggle Switch (II)



## Toggle Switch (III)

Dado que el sistema depende de la introducción de señales externas para inducir el sistema hacia un estado específico, se podría ver como un interruptor.

La represión mutua de inicio lleva a una indeterminación del estado inicial que podría incluso conducir a que se llegue a un equilibrio de represión intermedio para ambos genes, como también podría estar sesgado hacia la expresión de uno de los genes en particular.

Las características que exhibe este sistema tiene implicancias en varias áreas:

- Convergencia a biestabilidad: La interacción con el sistema conduce a la expresión de un estado particular, puesto que se diluye una de las dos represiones. Esto favorece la expresión de uno de ellos y convergiendo a uno de los dos posibles estados del sistema.
- Memoria a largo plazo: El sistema mantiene su estado invariable a lo largo del tiempo si es que las condiciones se preservan.

Vemos que estos circuitos fundacionales proponen arquitecturas muy simples y basadas predominantemente en represiones. Esto sucede además porque en la naturaleza, la mayor cantidad de factores transcripcionales y que son más fiables son los represores.

Asimismo, se incluye señales del entorno como inductores, lo que le otorga mayor programabilidad a los modelos.

En definitiva, se provee de un toolkit básico de desarrollo de circuitos (que hemos revisado en las clases pasadas) además de establecer modelos básicos y de operación fundamental para procesamiento de información.

## Próxima clase

Durante la próxima clase, iniciaremos el estudio de circuitos que implementan patrones espaciales.