

**Práctica GRO:  
Búsqueda de colonias cercanas a una colonia  
principal**

Sandra Gómez Gálvez

Biología programable: Computación con ADN e Ingeniería de Biocircuitos  
Universidad Politécnica de Madrid  
2020/21

24 de enero de 2021

# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>4</b>
1.1. Comenzando con GRO . . . . .	4
<b>2. Simulación principal</b>	<b>16</b>
2.1. Problema a simular y objetivos . . . . .	16
2.2. Proceso . . . . .	17
2.2.1. Colonia principal y señal ahl . . . . .	17
2.2.2. Colonia principal y GFP . . . . .	19
2.2.3. Otras colonias y sus señales . . . . .	23
<b>3. Resultados y conclusiones</b>	<b>27</b>
3.1. Resultados y conclusiones . . . . .	27

# Índice de figuras

1.1. Inicio de la simulación . . . . .	5
1.2. Final de la simulación . . . . .	5
1.3. Inicio de la simulación . . . . .	6
1.4. Mitad de la simulación 1 . . . . .	6
1.5. Mitad de la simulación 2 . . . . .	6
1.6. Final de la simulación . . . . .	7
1.7. Mitad de la simulación con una bacteria marcada y mostrando mensajes . . . . .	7
1.8. Inicio de la simulación . . . . .	8
1.9. Mitad de la simulación . . . . .	8
1.10. Final de la simulación . . . . .	8
1.11. Inicio de la simulación . . . . .	9
1.12. Mitad de la simulación . . . . .	9
1.13. Final de la simulación . . . . .	10
1.14. Inicio de la simulación . . . . .	10
1.15. Mitad de la simulación . . . . .	11
1.16. Final de la simulación . . . . .	11
1.17. Inicio de la simulación . . . . .	12
1.18. Mitad de la simulación 1 . . . . .	12
1.19. Mitad de la simulación 2 . . . . .	13
1.20. Final de la simulación . . . . .	13
1.21. Inicio de la simulación . . . . .	14
1.22. Mitad de la simulación . . . . .	14
1.23. Final de la simulación . . . . .	14
2.1. Código - Parte 1 . . . . .	17
2.2. Código - Parte 2 . . . . .	17
2.3. Inicio de la simulación . . . . .	18
2.4. Mitad de la simulación - 1 . . . . .	18
2.5. Mitad de la simulación - 2 . . . . .	18
2.6. Mitad de la simulación - 3 . . . . .	19
2.7. Final de la simulación . . . . .	19
2.8. Código - Parte 1 . . . . .	20
2.9. Código - Parte 2 . . . . .	20
2.10. Inicio de la simulación . . . . .	21
2.11. Mitad de la simulación - 1 . . . . .	21
2.12. Mitad de la simulación - 2 . . . . .	21
2.13. Mitad de la simulación - 3 . . . . .	22

2.14. Mitad de la simulación - 4 . . . . .	22
2.15. Final de la simulación . . . . .	22
2.16. Código Final - Parte 1 . . . . .	23
2.17. Código Final - Parte 2 . . . . .	24
2.18. Código Final - Parte 3 . . . . .	24
2.19. Código Final - Parte 4 . . . . .	24
2.20. Inicio de la simulación . . . . .	25
2.21. Mitad de la simulación - 1 . . . . .	25
2.22. Mitad de la simulación - 2 . . . . .	25
2.23. Final de la simulación . . . . .	26
3.1. Inicio de la simulación Final . . . . .	27
3.2. Mitad de la simulación Final - 1 . . . . .	28
3.3. Mitad de la simulación Final - 2 . . . . .	28
3.4. Mitad de la simulación Final - 3 . . . . .	29
3.5. Mitad de la simulación Final - 4 . . . . .	29
3.6. Mitad de la simulación Final - 5 . . . . .	30
3.7. Mitad de la simulación Final - 6 . . . . .	30
3.8. Final de la simulación Final . . . . .	31

# Capítulo 1

## Introducción

Este trabajo consistirá en utilizar el simulador GRO de programación de células para tratar de detectar colonias cercanas a una colonia principal. Para ello, se segregarán señales que se detectarán y se producirán señales luminiscentes GFP. Todo esto se realizará bajo determinadas restricciones que se detallan en el capítulo 2.

Antes de comenzar a desarrollar el problema principal se ha descargado el simulador en la web <http://depts.washington.edu/soslab/gro/download.php>, y se han seguido los tutoriales que se muestran en la documentación de GRO. Los resultados de estos tutoriales se pueden observar en la siguiente sección 1.1.

En el capítulo 2 se explicará el problema y se desarrollará. Y finalmente en el capítulo 3 se abordarán los resultados y las conclusiones.

### 1.1. Comenzando con GRO

Antes de simular el problema pensado se ha tratado de aprender a programar programas GRO para el simulador GRO.

Para ello, se ha seguido la documentación de GRO que se puede encontrar en el enlace <http://depts.washington.edu/soslab/gro/docview.html> y se han completado los tutoriales.

En primer lugar se ha realizado el tutorial de crecimiento (*Growth*) en el que una célula E-coli crece y se divide.

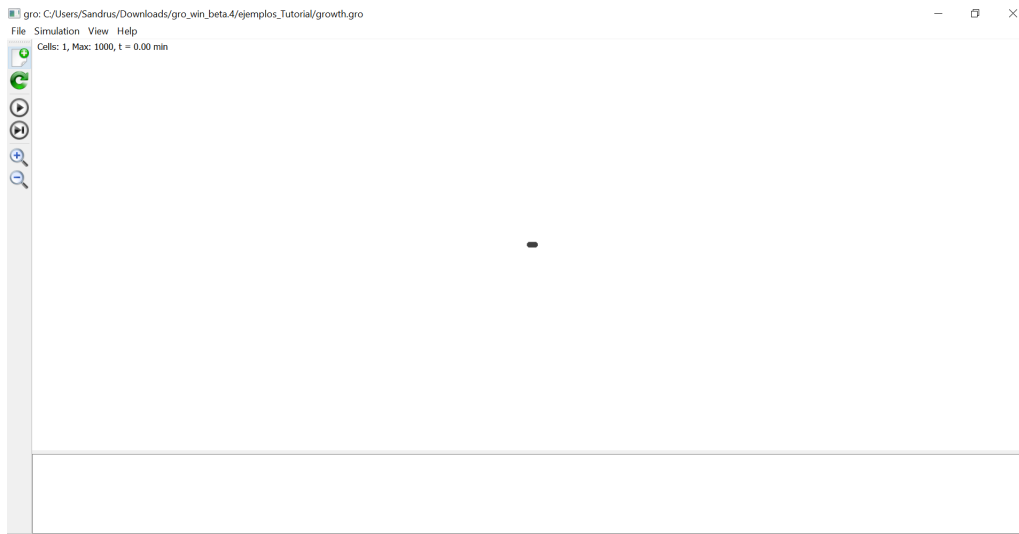


Figura 1.1: Inicio de la simulación

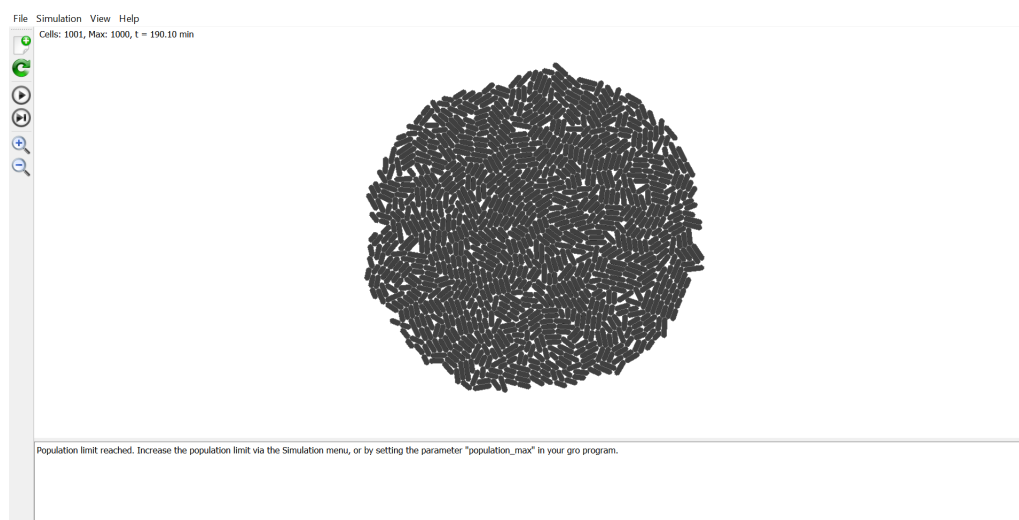


Figura 1.2: Final de la simulación

El segundo tutorial seguido ha sido el de moléculas (*Molecules*).

Este tutorial se divide en 2 partes. En la primera parte, la molécula GFP se diluye a la medida que las E-coli crecen y se dividen.



Figura 1.3: Inicio de la simulación



Figura 1.4: Mitad de la simulación 1

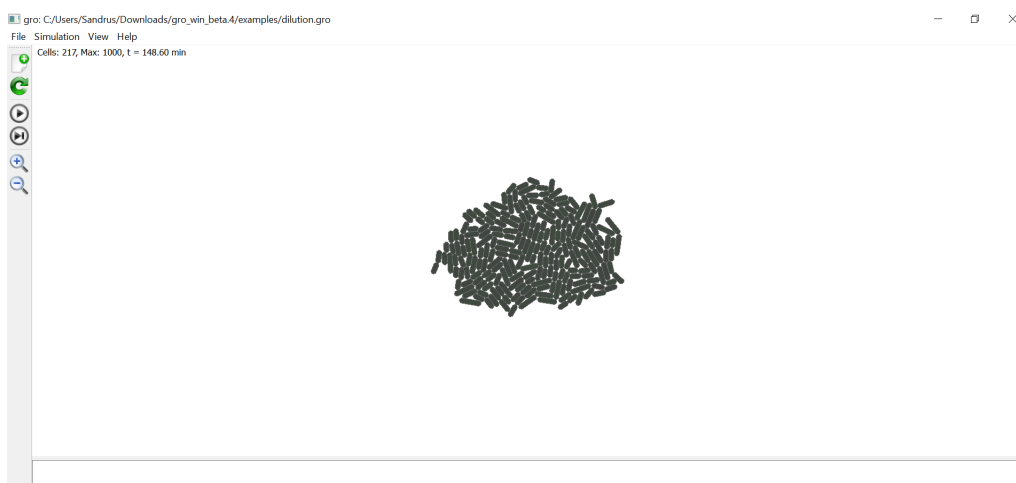


Figura 1.5: Mitad de la simulación 2

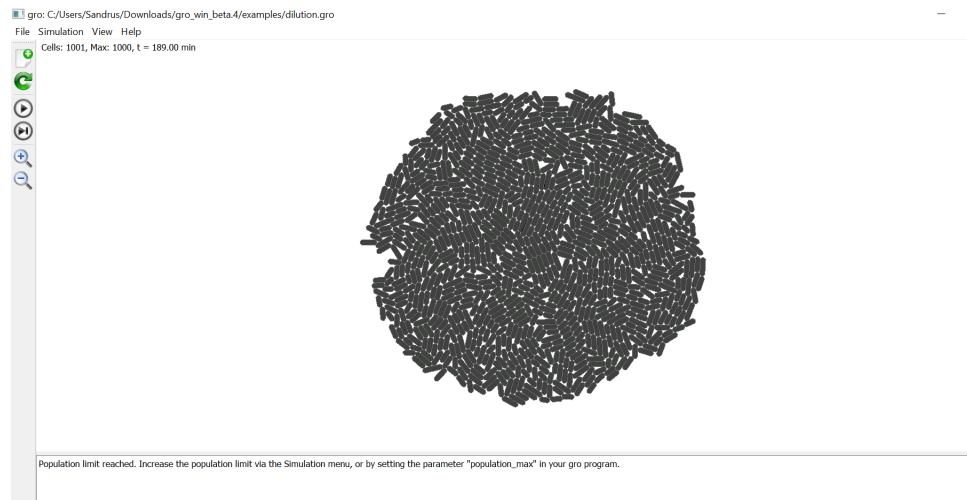


Figura 1.6: Final de la simulación



Figura 1.7: Mitad de la simulación con una bacteria marcada y mostrando mensajes

En la segunda parte, la GFP no se diluye tan rápido y reparte la GFP para que haya una cantidad parecida por cada una de las células.





Figura 1.8: Inicio de la simulación

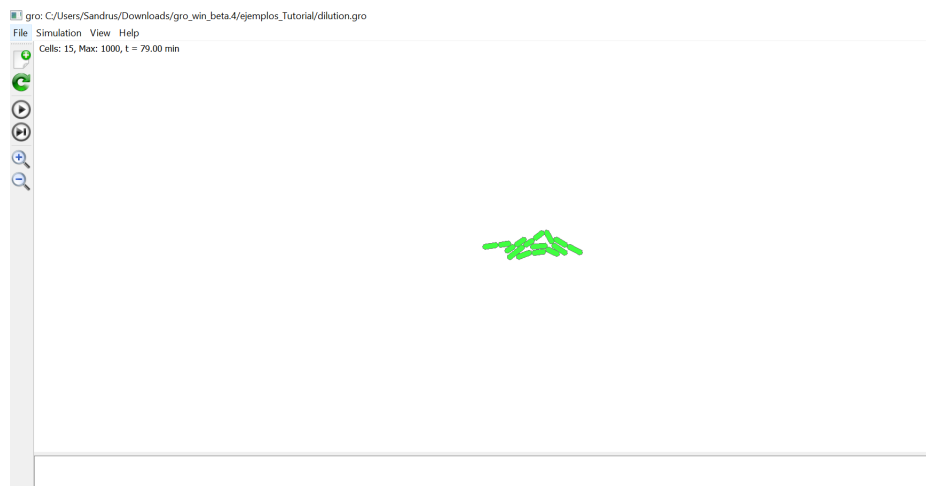


Figura 1.9: Mitad de la simulación

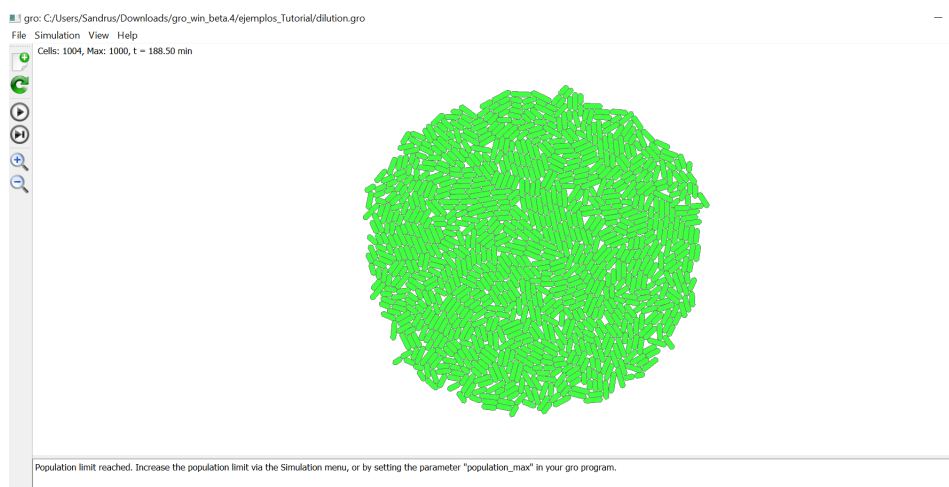


Figura 1.10: Final de la simulación

El tercer tutorial es el llamado *Dogma*. En este tutorial se aborda la expresión genética agregando ARN mensajero, para poder ver el dogma central de la biología: el ADN produce ARN y el ARN proteínas.

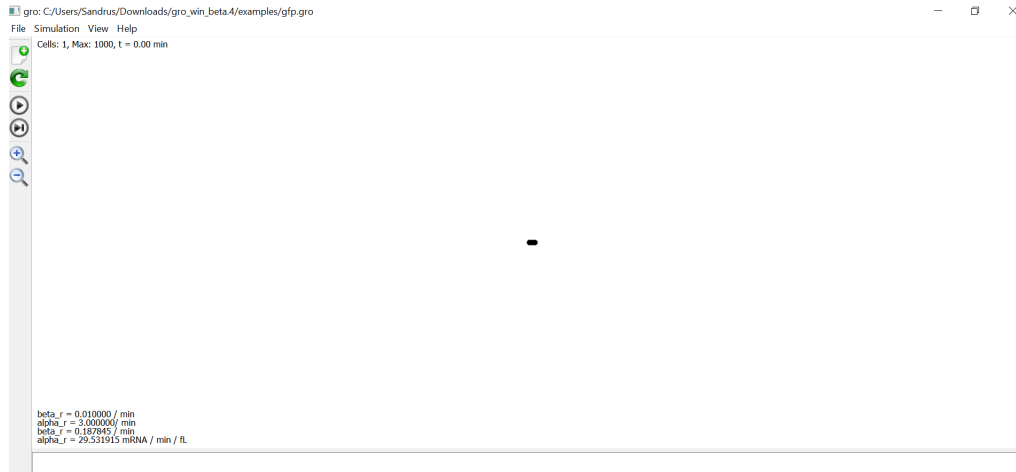


Figura 1.11: Inicio de la simulación



Figura 1.12: Mitad de la simulación

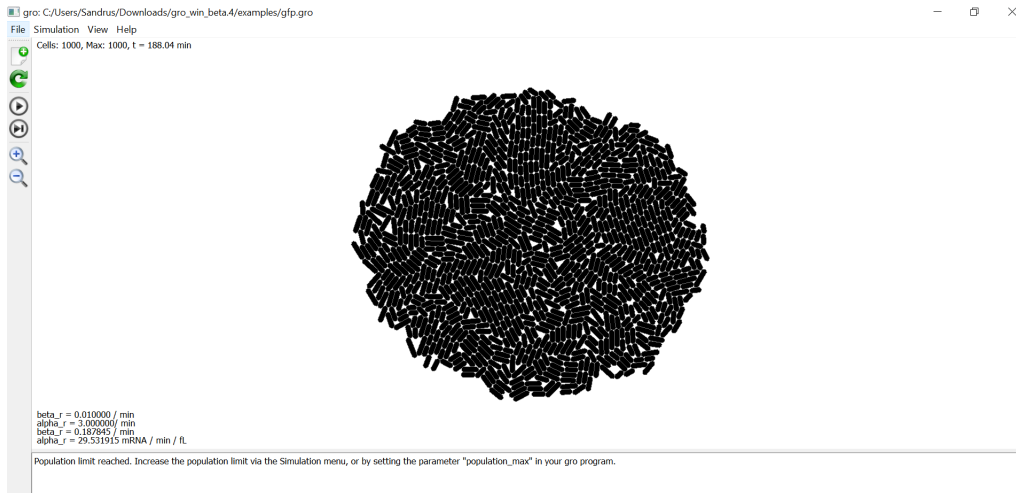


Figura 1.13: Final de la simulación

El cuarto tutorial trata sobre *quorum sensing*, en el que se utilizarán señales para permitir explorar comportamientos multicelulares. En él se muestra el envío y recepción de señales a través de moléculas de difusión. Este tutorial es importante porque el problema principal de este trabajo tratará sobre *quorum sensing*.

Este tutorial se divide en dos partes. En la primera se producirá RFP (señal roja) si la señal se encuentra entre 0.1 y 0.6.



Figura 1.14: Inicio de la simulación

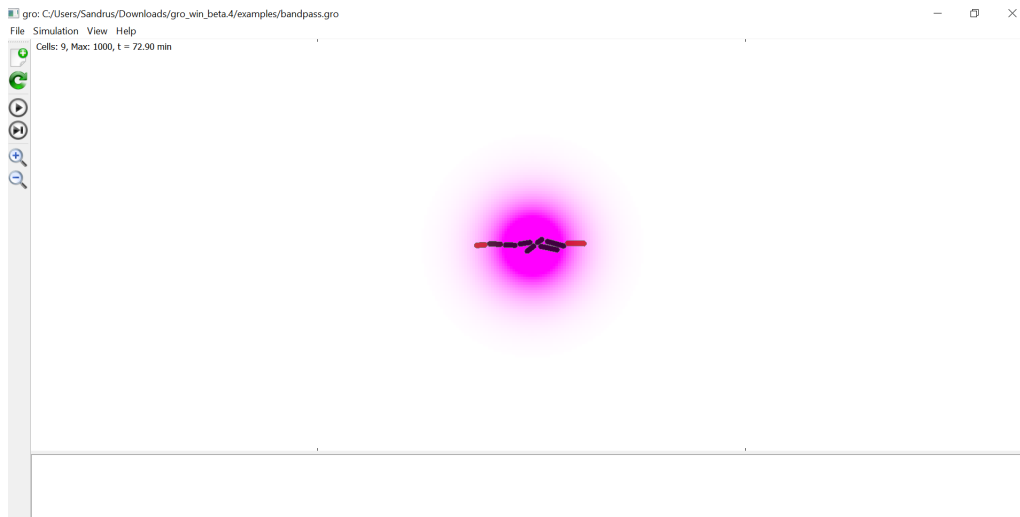


Figura 1.15: Mitad de la simulación

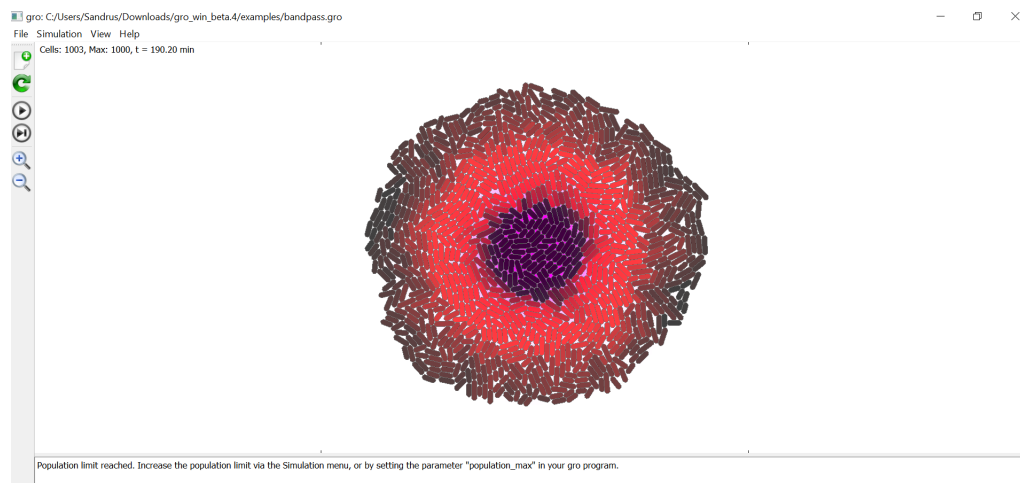


Figura 1.16: Final de la simulación

La segunda parte del tutorial trata de simular el movimiento de una ola. Para ello, una célula líder emite periódicamente una señal y las células seguidoras esperan una señal y luego emiten una señal propia, haciendo que una ola de actividad viaje a través de la microcolonia. Esto es gracias a que la célula líder tiene un oscilador que cuando alcanza un límite emite una señal y se vuelve a reiniciar. Visualmente esta simulación es preciosa.



Figura 1.17: Inicio de la simulación

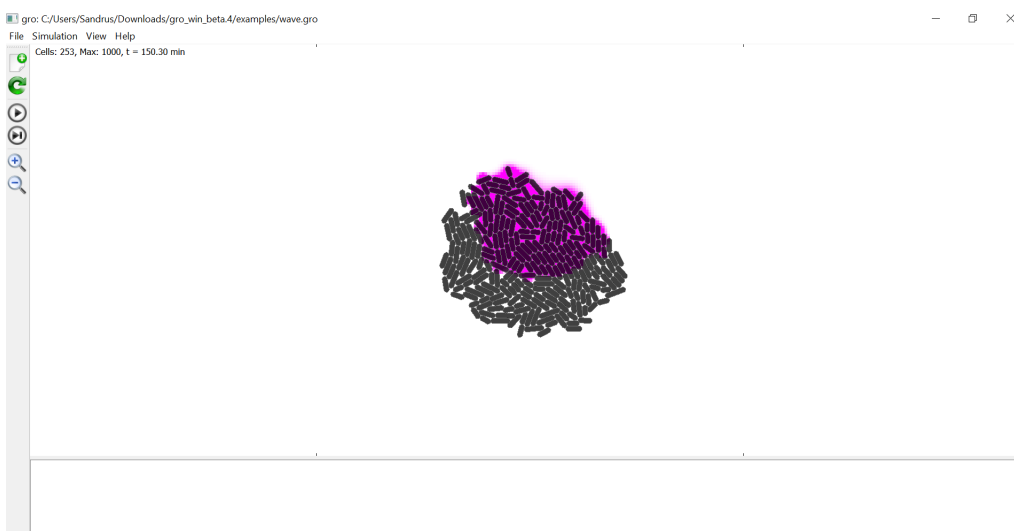


Figura 1.18: Mitad de la simulación 1

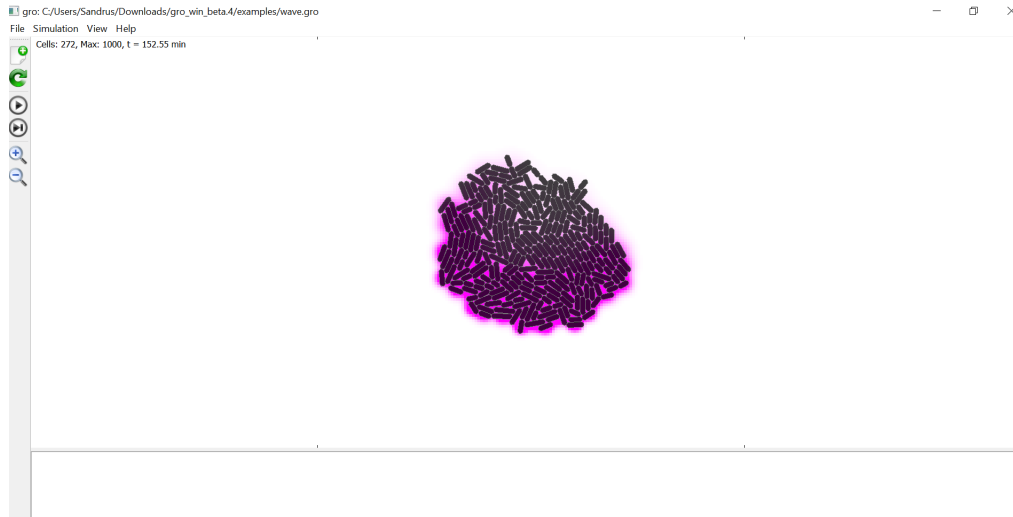


Figura 1.19: Mitad de la simulación 2

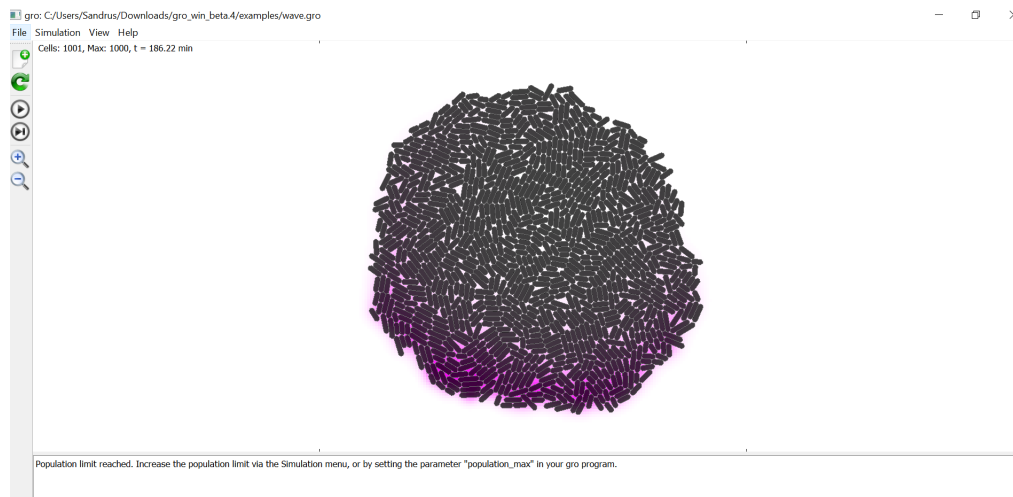


Figura 1.20: Final de la simulación

El quinto tutorial es el tutorial de evolución (*evolution*) en el que se observa como evoluciona un sistema observando el crecimiento celular que depende en este caso de la producción de una enzima digestiva.

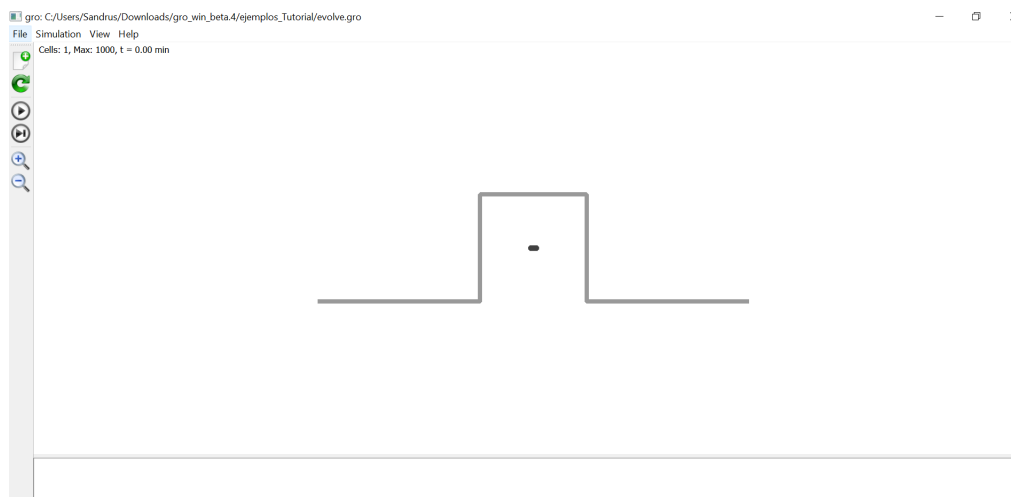


Figura 1.21: Inicio de la simulación

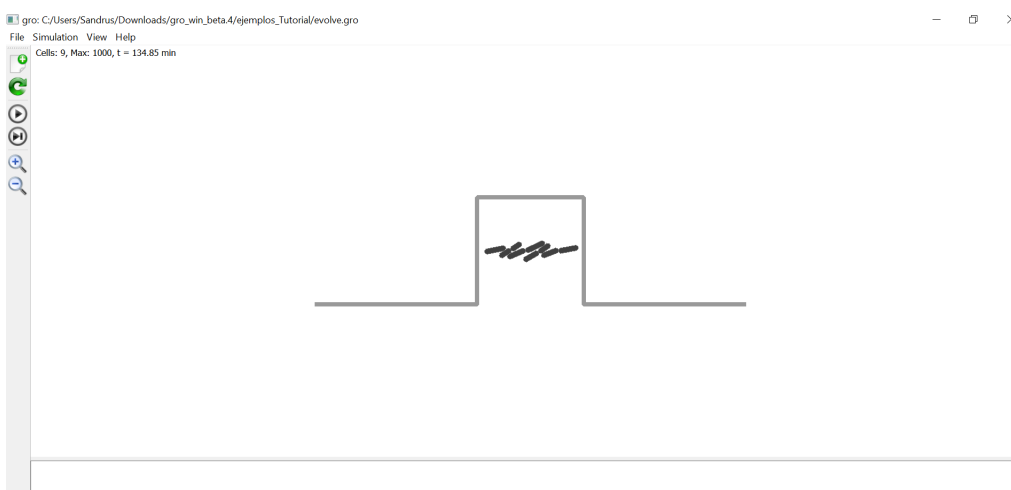


Figura 1.22: Mitad de la simulación

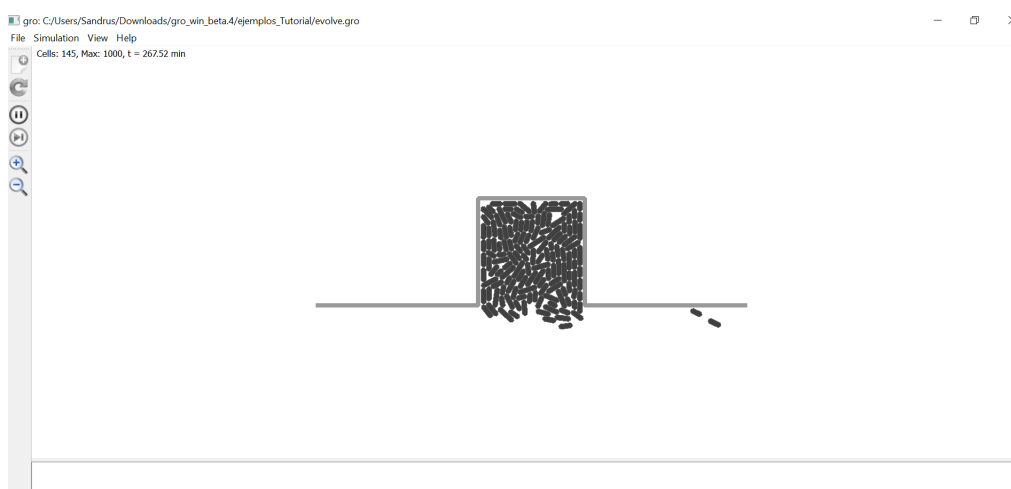


Figura 1.23: Final de la simulación

El último tutorial que se ha realizado ha sido el de control global. Este último no se mostrará aquí ya que no es muy relevante.



# Capítulo 2

## Simulación principal

En este capítulo se mostrará el problema a simular y sus objetivos. Seguidamente se mostrará el proceso para abordar el problema y el resultado.

### 2.1. Problema a simular y objetivos

Se intentará simular un conjunto de colonias de bacterias E-coli con las siguientes características:

1. **Colonia principal y señal ahl:** Una colonia de bacterias será la colonia principal. Esta colonia de bacterias emitirá una señal (que será nombrada ahl) a todas las bacterias de la colonia. Esto será controlado como un oscilador, ya que cuando llegue a un límite emitirá la señal y se volverá a reiniciar, creando un bucle.
2. **Colonia principal y GFP:** Por otro lado, la colonia principal también producirá GFP (luz fluorescente verde). La GFP se mostrará cuándo una de las bacterias de la colonia detecte la señal ahl. Pero esto se realizará con una restricción, ya que solo se producirá GFP en las capas intermedias de la colonia.
3. **Otras colonias:** Las demás colonias de bacterias no producirán ninguna señal ni mostrarán GFP en el inicio.
4. **Otras colonias - Señales:** Si se da el caso de que una de las colonias de bacterias se encuentra cerca de la colonia principal, esta colonia se unirá a la colonia principal y compartirán señales como si se tratara de una única colonia. Si no se da el caso, la colonia continuará sin producir ni mostrar nada, solo crecerá.

Con este sistema se trata de observar que células/colonias de E-coli se encuentran cerca de una colonia principal.

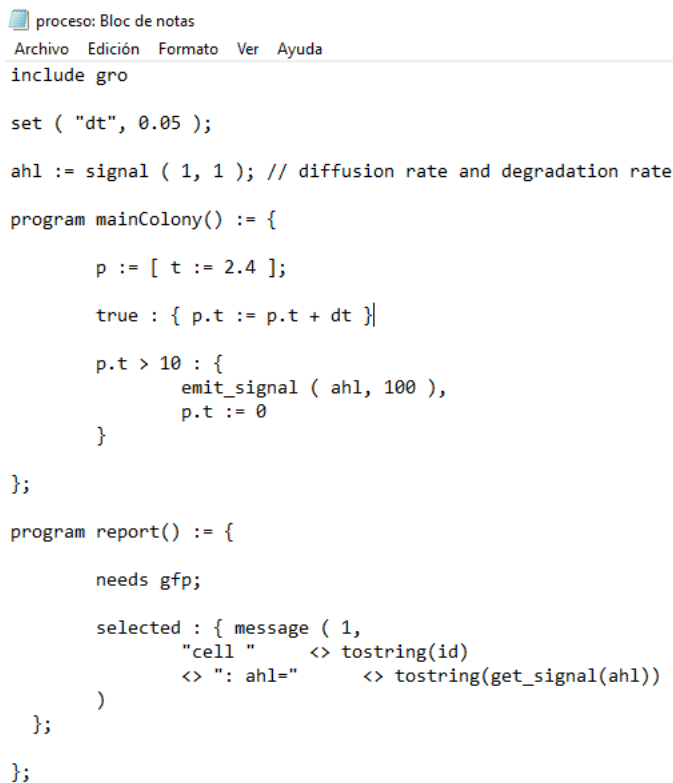
Este ejemplo se podría trasladar a las células tumorales para ver cuáles son las células sanas que pueden verse afectadas.

## 2.2. Proceso

### 2.2.1. Colonia principal y señal ahl

Se comenzará creando la colonia principal, la señal y el oscilador. La célula inicial de la colonia estará situada en la posición (0,0). La señal (ahl) tendrá una tasa de difusión de 1 y una tasa de degradación de 1. En cuanto al oscilador, tendrá un umbral que estará situado en 10, y una vez ese umbral se traspase se emitirá la señal y se volverá a poner el contador a 0.

El código para este apartado se puede observar en las figuras 2.1 y 2.2. Y su respectiva simulación en las figuras 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 y 2.7.



```
proceso: Bloc de notas
Archivo Edición Formato Ver Ayuda
include gro

set ( "dt", 0.05 );

ahl := signal ( 1, 1 ); // diffusion rate and degradation rate

program mainColony() := {

    p := [ t := 2.4 ];

    true : { p.t := p.t + dt }|

    p.t > 10 : {
        emit_signal ( ahl, 100 ),
        p.t := 0
    }

};

program report() := {

    needs gfp;

    selected : { message ( 1,
        "cell "      <> toString(id)
        "<> ahl="    <> toString(get_signal(ahl))
    )
};

};
```

Figura 2.1: Código - Parte 1

```
ecoli ( [ x:= 0, y:= 0 ], program mainColony() + report() sharing gfp );

program main() := {

    true : { set_signal ( ahl, 0, 0 , 10 ) }

};
```

Figura 2.2: Código - Parte 2

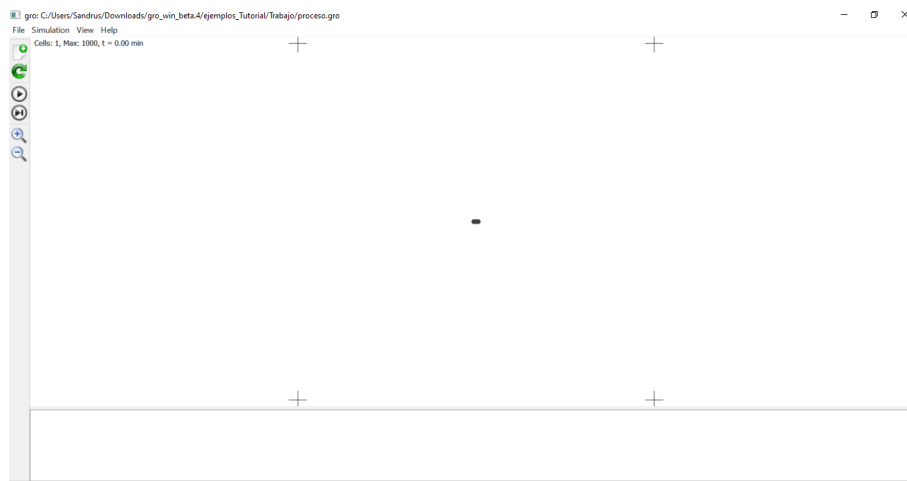


Figura 2.3: Inicio de la simulación

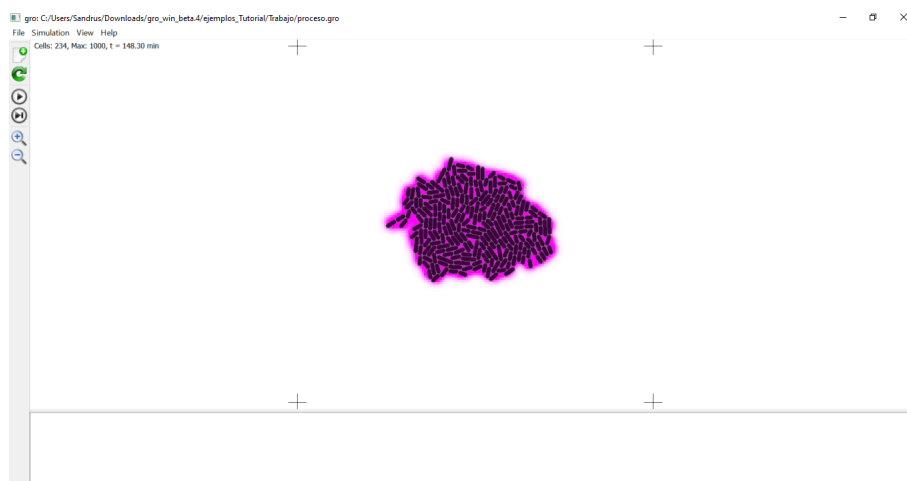


Figura 2.4: Mitad de la simulación - 1

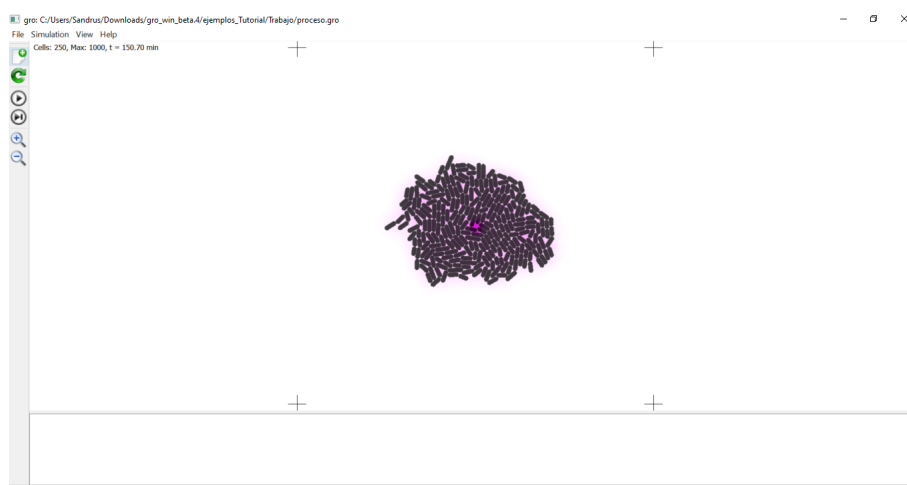


Figura 2.5: Mitad de la simulación - 2

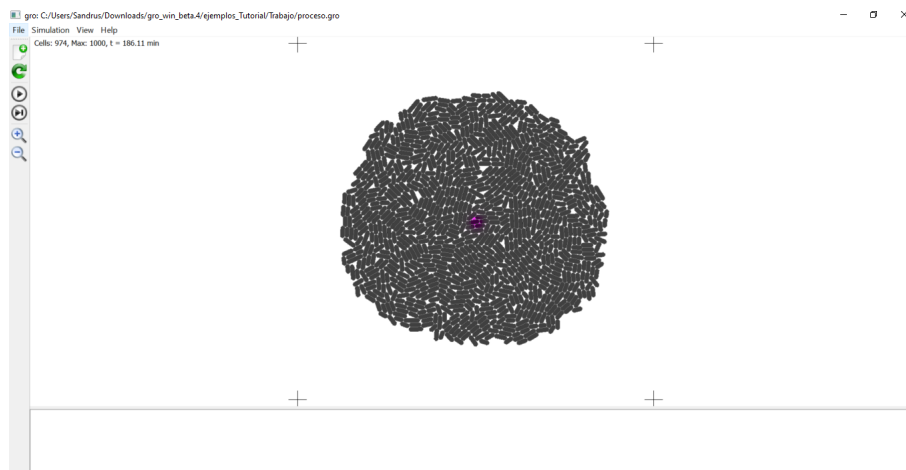


Figura 2.6: Mitad de la simulación - 3

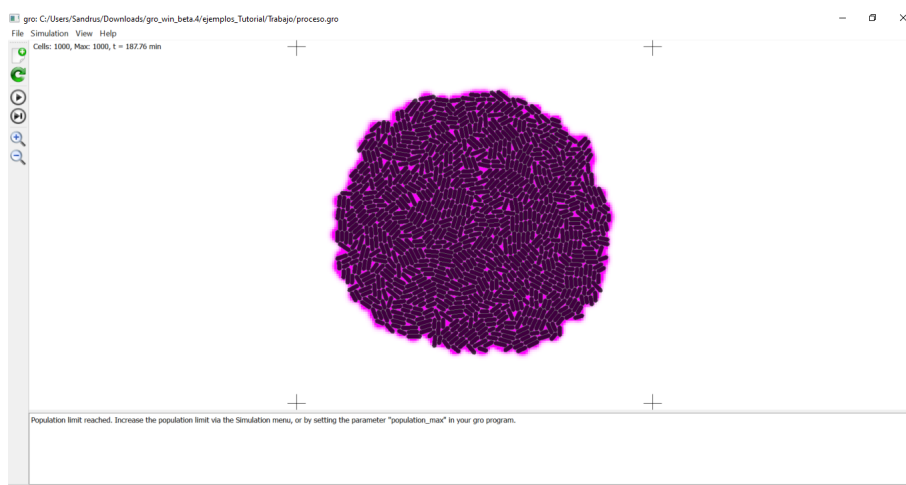


Figura 2.7: Final de la simulación

### 2.2.2. Colonia principal y GFP

Se tratará de hacer que la colonia principal produzca GFP en sus capas intermedias cuando detecte la señal ahl.

Se ha decidido que las bacterias que se encuentren en las capas intermedias estén entre un rango de 0.1 y 0.6. Por tanto, la GFP aumentará su producción cuando detecte la señal ahl y la irá disminuyendo en proporción a cómo se aleje del centro de la colonia principal.

El código para este apartado se puede observar en las figuras 2.8 y 2.9. Y su respectiva simulación en las figuras 2.10, 2.11, 2.12, 2.13, 2.14 y 2.15.

```
include gro

set ( "dt", 0.05 );

ahl := signal ( 1, 1 ); // diffusion rate and degradation rate

fun f a . 0.1 < a & a < 0.6;

program mainColony() := {

    gfp := 0.0;

    f ( get_signal ( ahl ) ) : { gfp := gfp + 1 };
    rate ( 0.01 * gfp ) : { gfp := gfp - 1 }

    p := [ t := 2.4 ];

    true : { p.t := p.t + dt }

    p.t > 10 : {
        emit_signal ( ahl, 100 ),
        p.t := 0
    }

};
```

Figura 2.8: Código - Parte 1

```
program report() := {

    needs gfp;

    selected : { message ( 1,
        "cell " <> toString(id)
        "<> ": ahl=" <> toString(get_signal(ahl))
        "<> ": gfp/vol=" <> toString(gfp/volume)
    )
};

};

set ( "gfp_saturation_max", 50 );
set ( "gfp_saturation_min", 0 );

ecoli ( [ x:= 0, y:= 0 ], program mainColony() + report() sharing gfp );

program main() := {

    true : { set_signal ( ahl, 0, 0 , 10 ) }

};
```

Figura 2.9: Código - Parte 2

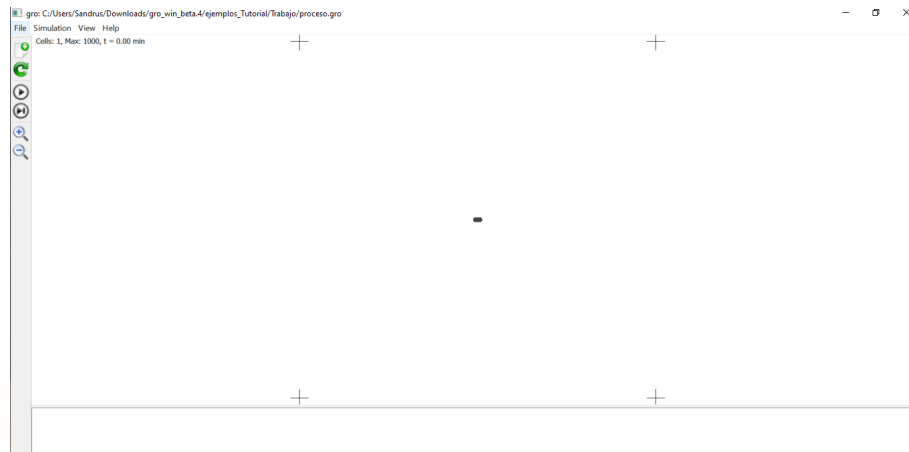


Figura 2.10: Inicio de la simulación

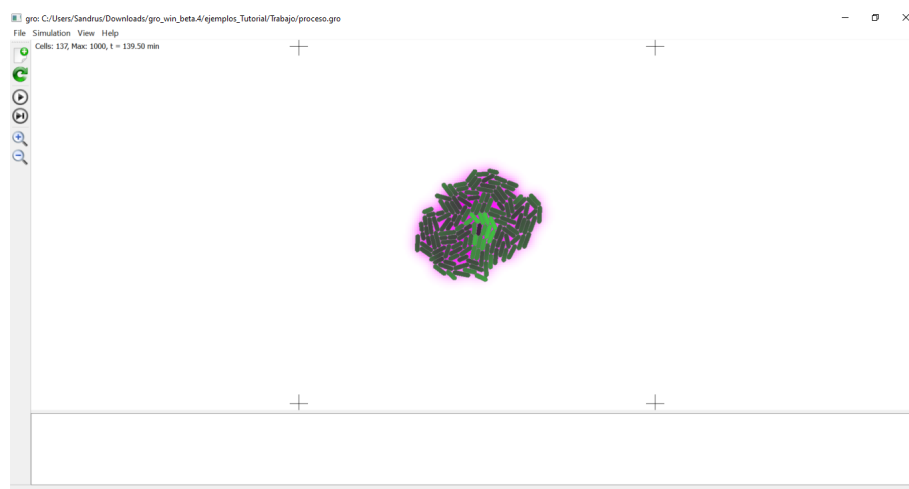


Figura 2.11: Mitad de la simulación - 1

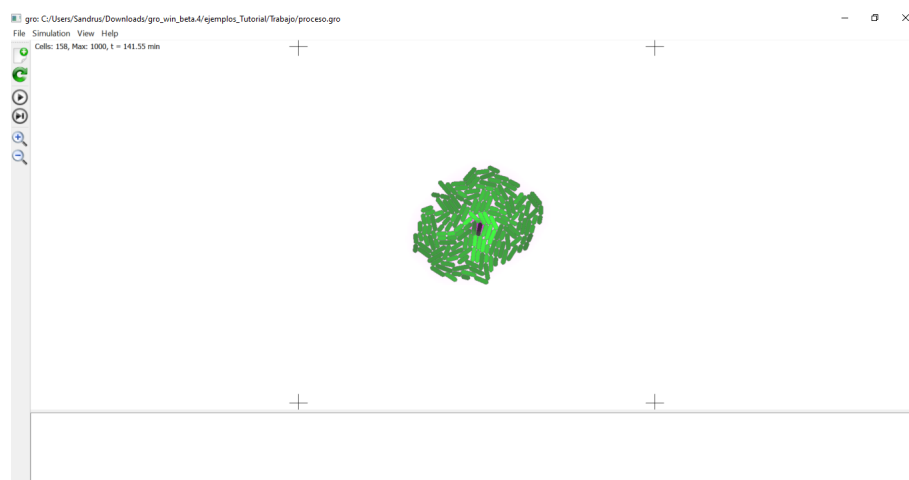


Figura 2.12: Mitad de la simulación - 2

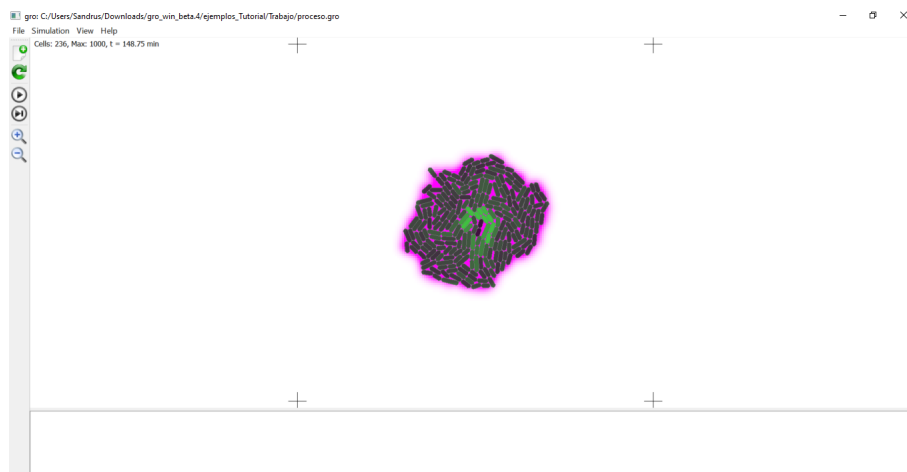


Figura 2.13: Mitad de la simulación - 3

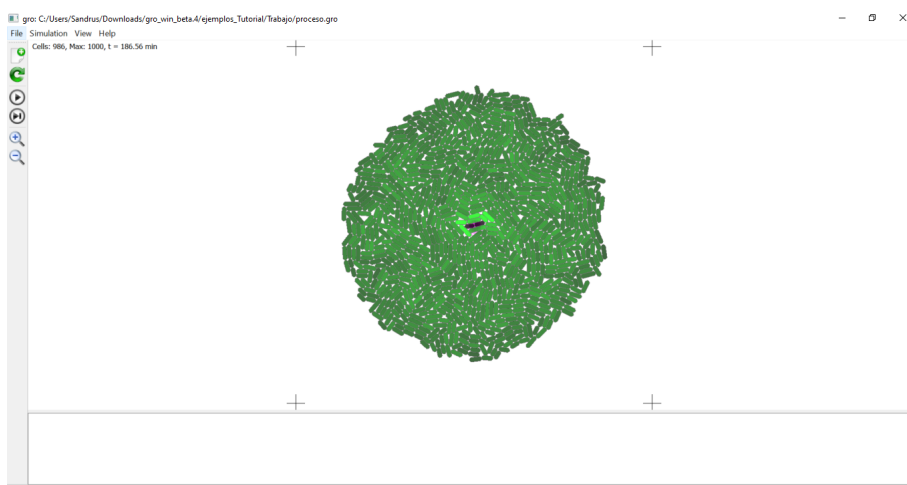


Figura 2.14: Mitad de la simulación - 4

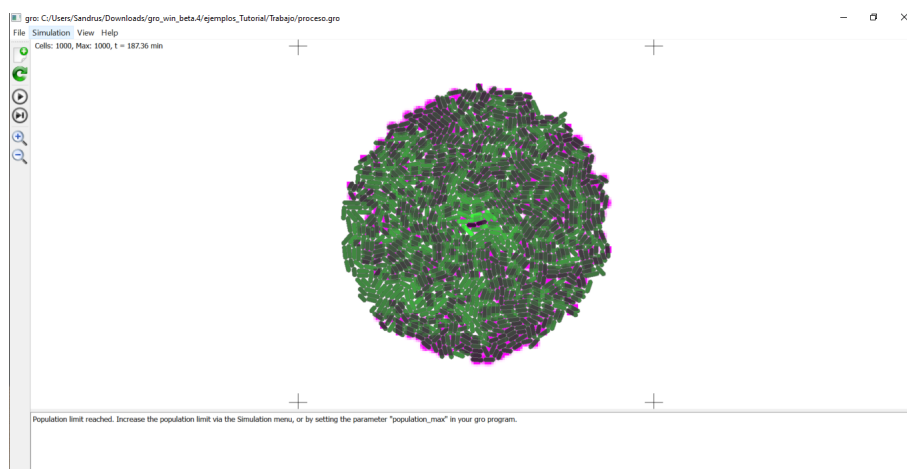


Figura 2.15: Final de la simulación

### 2.2.3. Otras colonias y sus señales

A continuación se tratará de crear más colonias de bacterias que no produzcan ninguna señal excepto que alguna bacteria de una colonia de bacterias se encuentre cerca de una bacteria de la colonia principal.

Para esto se tendrá en cuenta la señal ahl y la producción de GFP. La producción de GFP funcionará del mismo modo que en la colonia principal. Y la señal ahl continuará el trayecto del oscilador.

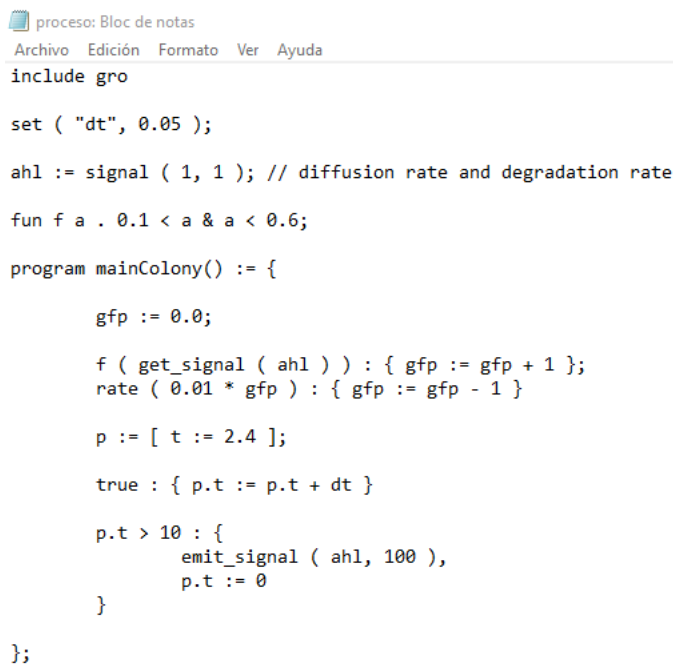
Además, se crearán 4 colonias de bacterias E-coli, a parte de la principal, situadas en:

- Colonia 1: (200,0)
- Colonia 2: (200,200)
- Colonia 3: (300,300)
- Colonia 4: (-300,-300)

Se recuerda que la colonia principal se encuentra en la posición (0,0).

El código para este apartado se puede observar en las figuras 2.16, 2.17, 2.18, y 2.19. Y su respectiva simulación en las figuras 2.20, 2.21, 2.22, y 2.23.

Más figuras de la simulación (ya que se trata de la final) se pueden observar en el capítulo siguiente de resultados y conclusiones 3.



```
proceso: Bloc de notas
Archivo Edición Formato Ver Ayuda
include gro

set ( "dt", 0.05 );

ahl := signal ( 1, 1 ); // diffusion rate and degradation rate

fun f a . 0.1 < a & a < 0.6;

program mainColony() := {

    gfp := 0.0;

    f ( get_signal ( ahl ) ) : { gfp := gfp + 1 };
    rate ( 0.01 * gfp ) : { gfp := gfp - 1 }

    p := [ t := 2.4 ];

    true : { p.t := p.t + dt }

    p.t > 10 : {
        emit_signal ( ahl, 100 ),
        p.t := 0
    }

};
```

Figura 2.16: Código Final - Parte 1



```

program report() := {
    needs gfp;

    selected : { message ( 1,
        "cell "      <> tostring(id)
        <> ": ahl="    <> tostring(get_signal(ahl))
        <> ": gfp/vol=" <> tostring(gfp/volume)
    )
};

};

set ( "gfp_saturation_max", 50 );
set ( "gfp_saturation_min", 0 );

```

Figura 2.17: Código Final - Parte 2

```

program follower():={
    gfp := 0.0;

    p := [ mode := 0, t := 0 ];

    p.mode = 0 & get_signal ( ahl ) > 0.01 : {
        emit_signal ( ahl, 100 ),
        p.mode := 1,
        p.t := 0
    }

    p.mode = 1 : { p.t := p.t + dt }

    p.mode = 1 & p.t > 9 : { p.mode := 0 }

    f ( get_signal ( ahl ) ) : { gfp := gfp + 1 };
    rate ( 0.01 * gfp ) : { gfp := gfp - 1 }
};

ecoli ( [ x:= 0, y:= 0 ], program mainColony() + report() sharing gfp );
ecoli ( [ x:= 200, y:= 0 ], program follower());
ecoli ( [ x:= 200, y:= 200 ], program follower());
ecoli ( [ x:= 300, y:= 300 ], program follower());
ecoli ( [ x:= -300, y:= -300 ], program follower());

```

Figura 2.18: Código Final - Parte 3

```

program main() := {
    true : { set_signal ( ahl, 0, 0 , 10 ) }
};

```

Figura 2.19: Código Final - Parte 4

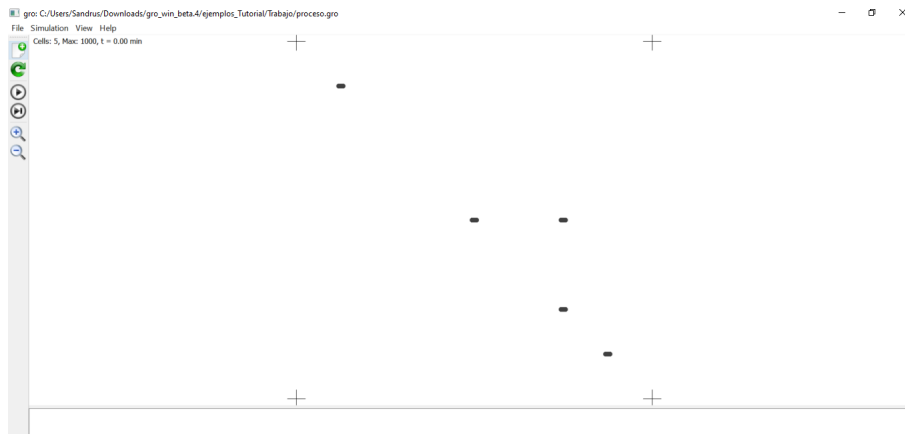


Figura 2.20: Inicio de la simulación

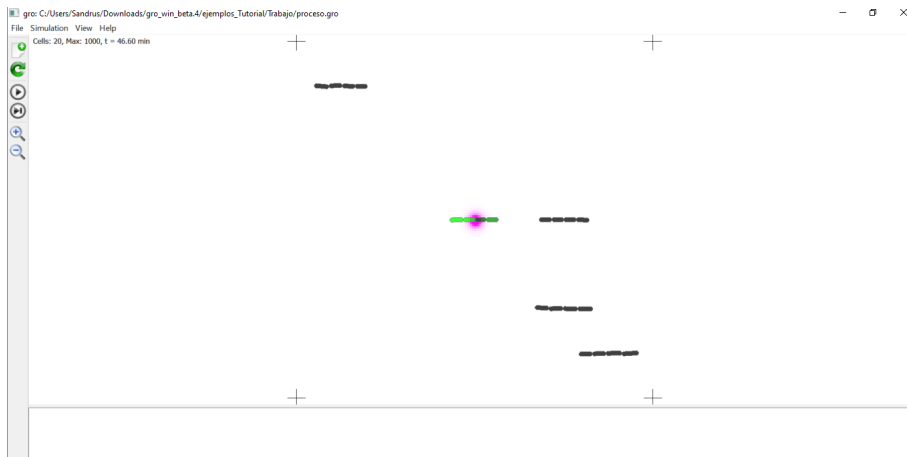


Figura 2.21: Mitad de la simulación - 1

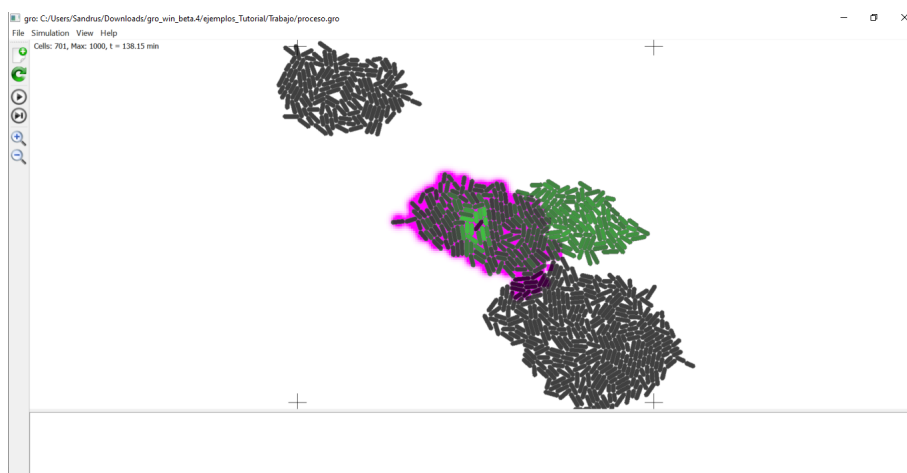


Figura 2.22: Mitad de la simulación - 2

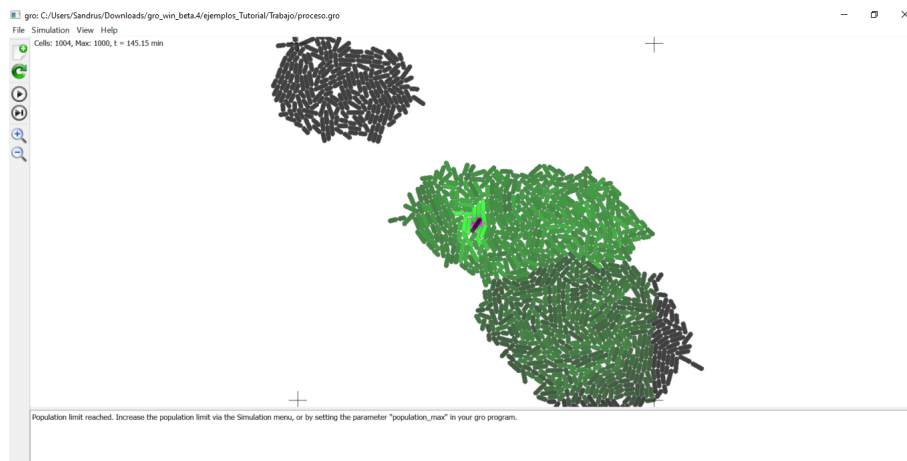


Figura 2.23: Final de la simulación

# Capítulo 3

## Resultados y conclusiones

En este capítulo se mostrarán los resultados de la simulación y se realizarán algunas conclusiones con respecto a ellos.

### 3.1. Resultados y conclusiones

El simulador GRO ha permitido abordar el problema que se ha planteado desde un principio. Para ello, se ha ido completando objetivo a objetivo hasta completar todos los objetivos.

El código para la simulación final se puede encontrar en las figuras 2.16, 2.17, 2.18, y 2.19. A continuación se analizará la simulación:

La simulación comienza con una sola bacteria por colonia.

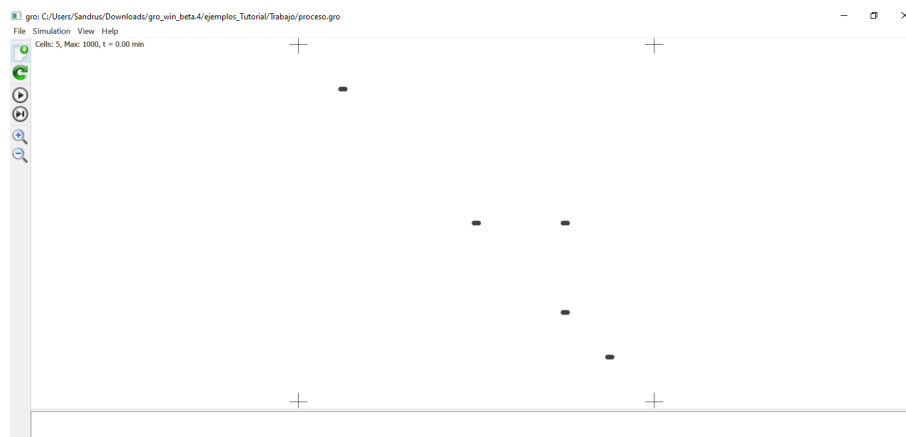


Figura 3.1: Inicio de la simulación Final

La colonia principal comienza a emitir la señal ahl y ha producir GFP. Se observa como todas las demás colonias se mantienen únicamente creciendo en número de bacterias.

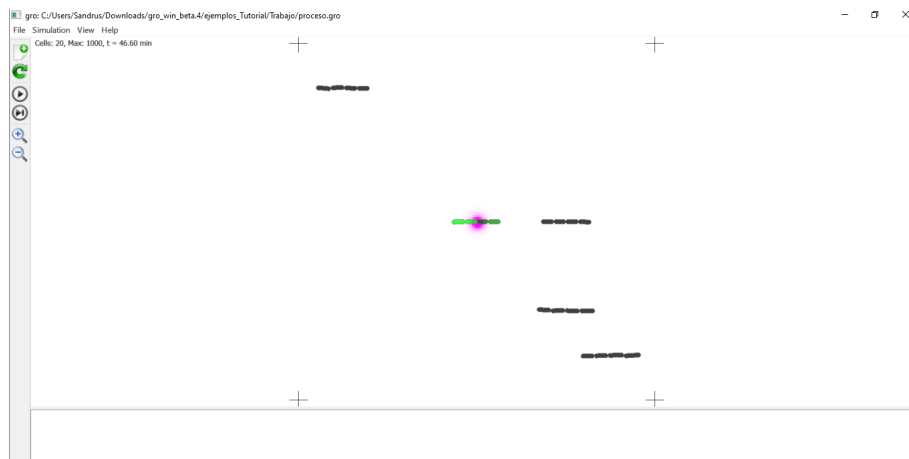


Figura 3.2: Mitad de la simulación Final - 1

Se observa como la colonia 1 crece (al igual que las demás colonias) y una de sus bacterias se sitúa pegada a otra bacteria de la colonia principal. Por tanto la señal ahl, proveniente de la colonia principal, empieza a distribuirse por esta colonia 1. De tal manera que la colonia principal y la colonia 1 ya se encuentran unidas.

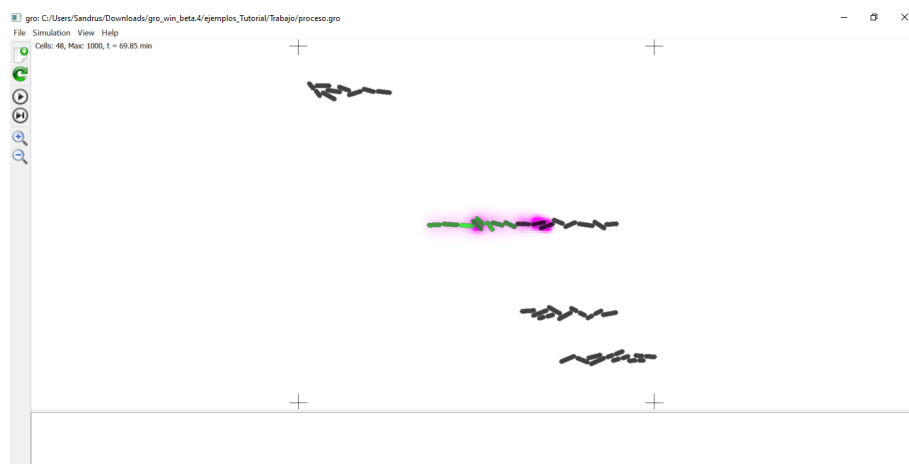


Figura 3.3: Mitad de la simulación Final - 2

Como ya están unidas la colonia principal y la colonia 1, una vez las bacterias de la colonia 1 reciben la señal ahl desde la colonia principal comienzan a producir GFP.

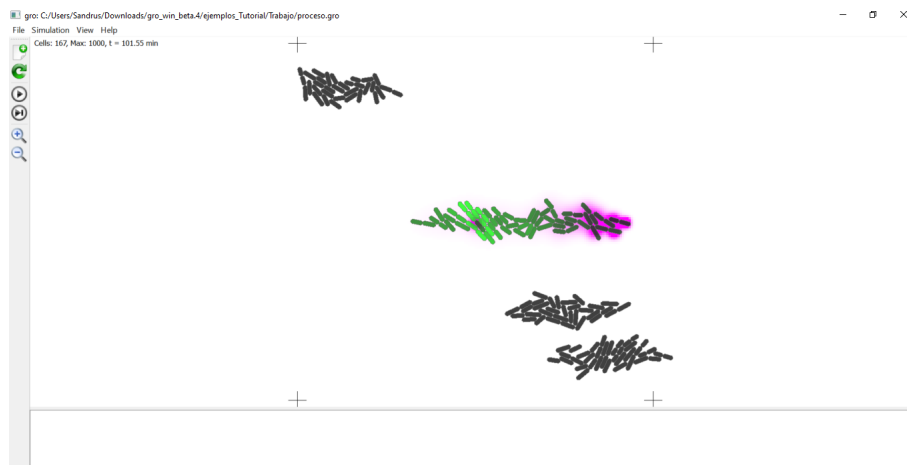


Figura 3.4: Mitad de la simulación Final - 3

La simulación continúa y se observa como las colonias 2 y 3 se encuentran ya pegadas pero como no tienen señales únicamente siguen creciendo.

En cuanto a la colonia 4, esta colonia aún no está pegada a ninguna otra.

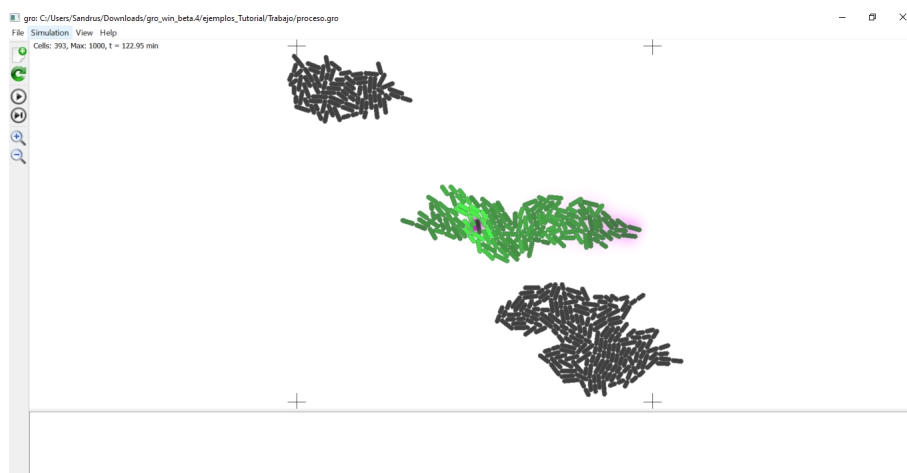


Figura 3.5: Mitad de la simulación Final - 4

Seguidamente se observa como varias bacterias de las colonias 2/3 se juntan a bacterias del conglomerado principal/1. Por tanto, la señal ahl comienza a dispersarse por el conglomerado de colonias 2/3 uniendo las 4 colonias.

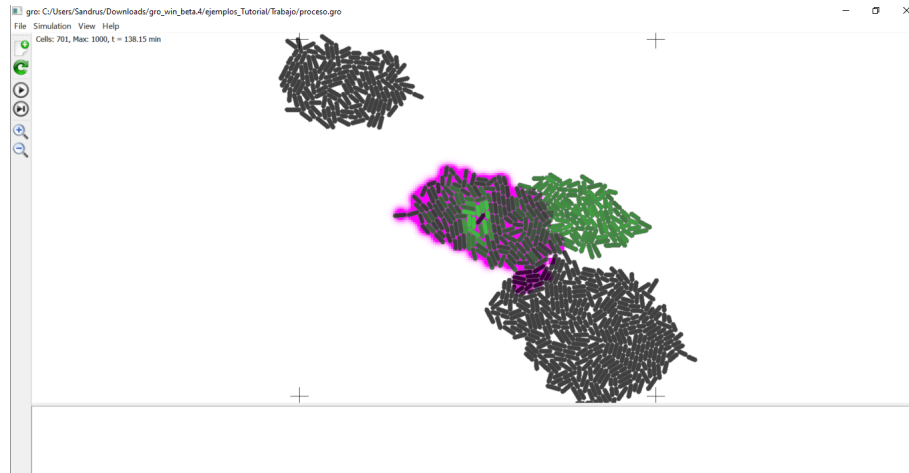


Figura 3.6: Mitad de la simulación Final - 5

Por tanto, la señal GFP comienza a producirse en el conglomerado de colonias 2 y 3.

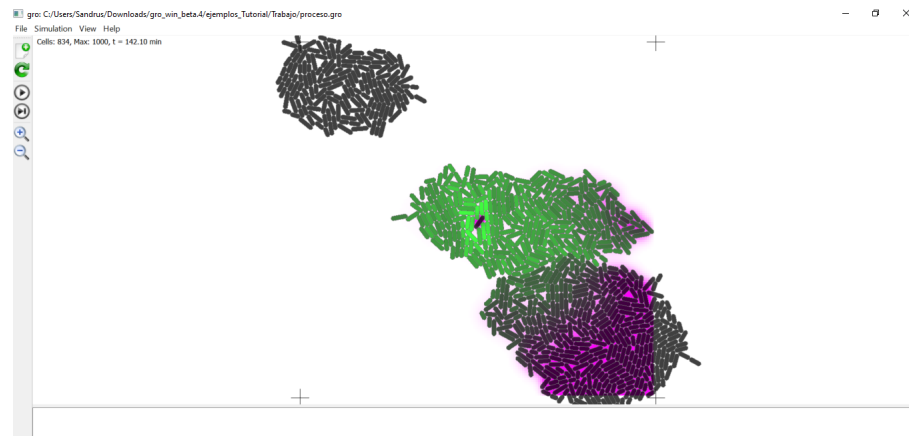


Figura 3.7: Mitad de la simulación Final - 6

Finalmente se observa como las colonias principal, 1, 2 y 3 comparten la señal ahl y como se degrada la producción de GFP en función de lo lejos que se encuentre una bacteria de la bacteria primera de la colonia principal.

En cuanto a la colonia 4, como no se ha unido en ningún momento no comparte la señal ahl y no produce GFP.

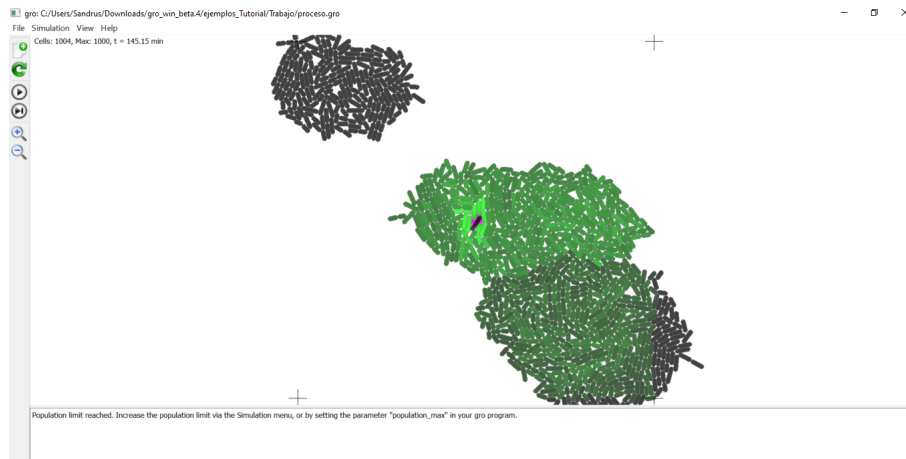


Figura 3.8: Final de la simulación Final

Por tanto, con este método se puede detectar uniones de colonias de bacterias E-coli. Aunque se podría trasladar a otro tipo de células.

Además, se puede detectar las bacterias más lejanas a la bacteria principal que está segregando la señal y las bacterias más cercanas.

Con este método podríamos detectar (con otro tipo de células), por ejemplo, células cercanas a células tumorales para poder crear una zona de dispersión a tratar y así no dañar o tratar células que no detecten ninguna señal desde la célula tumoral.