

Celia Monserrat Luna Castro, Ma. de Lourdes Pérez Zavala y José Eleazar Barboza Corona



Biología sintética, economía y biosensores

La biología sintética permite diseñar y construir sistemas biológicos novedosos o rediseñarlos para que sean predecibles y reproducibles con base en principios de la ingeniería y la programación, acopladas a un diseño sistemático. Por ejemplo, se pueden generar biosensores basados en células completas o en sus componentes (sistemas libres de células) y detectar microorganismos de interés en salud pública.

Introducción

La especie humana es curiosa por naturaleza y aun cuando seguramente las primeras personas se quemaron las manos, descubrieron el fuego; incluso es probable que muchas veces se hayan intoxicado por haber ingerido frutos desconocidos, lo cual les permitió seleccionar aquellos que no causaran daño y, posteriormente, hacerlos parte de la alimentación humana. Esta curiosidad también llevó hace miles de años a la producción de vinos, quesos y diversos productos fermentados, los cuales, en el sentido estricto, son productos de la biotecnología; es decir, se emplearon sistemas vivos o de alguno de sus productos para generar un bien o servicio para la humanidad. Muchos años después se habrían de desarrollar las plantas transgénicas y los organismos recombinantes mediante la ingeniería genética, los cuales han sido importantes para incrementar la producción de alimentos, para la síntesis de insulina, para construir plantas resistentes al ataque de insectos o las sequías, así como para la síntesis de saborizantes o de aromas usados en los alimentos y perfumes, entre otros.

Por otro lado, la secuenciación del genoma humano y de otros organismos definitivamente impulsó el desarrollo de la bioinformática. Este tipo de herramientas permite a los investigadores invertir tiempo para analizar información, diseñar nuevos sistemas y después construirlos a partir de diversos protocolos y equipos de laboratorio. Asimismo, la reducción de los costos de la secuenciación ha permitido conocer la secuencia de diferentes genomas de manera rápida, y los nuevos métodos de síntesis permiten construir genes y circuitos genéticos en tiempos



62 bpm



cortos.¹ Ahora bien, aun cuando la biotecnología permite generar bienes y servicios para mejorar las condiciones o el estilo de vida de los seres humanos mediante las herramientas que se tienen gracias a la ingeniería genética, es complicado generar nuevos sistemas de manera estandarizada y predecir su comportamiento.

■ La biología sintética es ingeniería biológica con un impacto económico

■ En años recientes, surgió un movimiento en la ingeniería con el fin de proponer aplicaciones en la biología, para hacerla más predecible y crear nuevos sistemas biológicos. De esta forma, nació la biología sintética (SynBio, del inglés *synthetic biology*) o ingeniería biológica, la cual es un área en la que se diseñan y construyen piezas biológicas, sistemas o rutas biológicas artificiales y sistemas vivos con actividades novedosas, o bien se rediseñan los sistemas biológicos existentes. Los sistemas generados de esta manera son predecibles y reproducibles, ya que usan principios de la ingeniería (estandarización, abstracción, modularización) y la programación (Endy, 2005) acopladas a un diseño sistemático, lo cual distingue a la biología sintética de la ingeniería genética. Dado que la secuencia de los ácidos nucleicos está codificada por unas cuantas letras (A, T, G, C, U) y que el código genético es común para cualquier sistema vivo —ya sean plantas, animales, bacterias o virus—, éste puede programarse y tener un funcionamiento predecible, lo cual permite diseñar nuevos sistemas biológicos en la computadora.

Para estandarizar las secuencias genéticas es importante caracterizarlas primero, asegurarse de su funcionamiento, para que de esta forma estén listas para emplearse como piezas genéticas que puedan reutilizarse en la generación de sistemas genéticos sencillos o complejos. De esta forma nació el concepto de *biobricks* (en español, ladrillos biológicos), los cuales pueden estar formados de piezas sencillas (promotores, sitios de unión a ribosomas, marcos de

lectura, terminadores de la transcripción) o compuestas (promotores/sitios de unión a ribosomas, marcos de lectura/terminadores de la transcripción, etcétera). Los ladrillos biológicos pueden ensamblarse de manera sencilla para construir sistemas más complejos, como cuando se pegan los ladrillos para construir una casa o cuando se unen las piezas de LEGO para formar un castillo, una casa, un avión o un automóvil. Los *biobricks* deben cumplir los lineamientos establecidos en la regla RFC10 de la Fundación iGEM (International Genetically Engineered Machine).²

En el mundo, la biología sintética ha sido bien aceptada, lo cual ha abierto un nuevo mercado potencial para las inversiones que están interesadas en el desarrollo de nuevas ideas o conceptos. Un ejemplo es la empresa Ginkgo Bioworks,³ la cual tuvo una inversión inicial de 52.12 millones de dólares (Hayden, 2015) y actualmente se ha convertido en una de las compañías más importantes del mundo en biología sintética, bajo el lema “*biology by design*” (biología por diseño). Otras empresas importantes que han apostado por la biología sintética son: Transcriptic,⁴ Zymergen⁵ y Twist Bioscience,⁶ con inversiones iniciales de 14.37, 44 y 82.11 millones de dólares, respectivamente (Hayden, 2015). De manera reciente, Synbiobeta⁷ reportó que en 2018 las empresas emergentes (*startups*) basadas en la biología sintética tienen fondos de inversión cercanos a 1.9 billones de dólares (Synbiobeta, 2018).

La biología sintética tiene un enorme potencial para la agricultura, biofarmacia, salud, química, materiales, energía, ambiente, alimentos y bebidas, entre otros ámbitos. Por ejemplo, en el área de biofarmacia y salud, la biología sintética puede ayudar a resolver problemas reales relacionados con: 1) el desarrollo de células rojas artificiales que son necesarias para las transfusiones y los trasplantes; 2) el diseño de células inmunes que respondan a la presencia de tumores; 3) la producción de vehículos

¹ Disponible en: <www.idtdna.com/pages/products/genes-and-gene-fragments/custom-gene-synthesis>.

² Disponible en: <https://openwetware.org/wiki/The_BioBricks_Foundation:BBRFC10>.

³ Disponible en: <www.ginkgobioworks.com>.

⁴ Disponible en: <www.transcriptic.com>.

⁵ Disponible en: <www.zymergen.com>.

⁶ Disponible en: <www.twistbioscience.com>.

⁷ Disponible en: <www.synbiobeta.com>.

inteligentes que liberen moléculas con efectos terapéuticos en lugares específicos, y 4) la generación de células hospederas (llamadas chasis) –ya sean virus, bacterias u otras– que puedan ser usadas como **sistemas de expresión** (Fletcher, 2018). Asimismo, la biología sintética es de gran ayuda para la producción de compuestos químicos de uso terapéutico, así como para la obtención de sensores para el diagnóstico médico.

¿Qué son los biosensores y qué tipos existen?

En términos generales, los biosensores son dispositivos que permiten detectar y cuantificar una sustancia (analito) que se encuentra en un medio determinado. Los analitos pueden ser de diversa naturaleza, desde la glucosa en sangre, los metales pesados tóxicos que se encuentran en el agua o los microorganismos patógenos, hasta los aromas en la carne descompuesta, entre otros (Daszczuk y cols., 2014; Wen y cols., 2017). Básicamente, un biosensor está formado por un receptor que se acopla a un transductor (óptico, electroquímico, termométrico, etcétera), el cual se encarga de transformar una

señal en algo detectable y cuantificable (véase la Figura 1). Existen diferentes tipos de biosensores, tales como los enzimáticos, electroquímicos, piezoeléctricos, nanomecánicos, magnéticos y ópticos, entre otros, cuyos principios de operación están indicados de manera resumida en la Figura 2. También existen los biosensores basados en receptores de proteínas G (GPCR), en los cuales el biosensor transmembranal se acopla a la proteína G y activa a una serie de genes como respuesta a la presencia del analito. En los inmunobiosensores, los antígenos (patógenos, toxinas) son reconocidos por los anticuerpos. Una vez que se han generado los biosensores, no es necesario tener conocimientos altamente especializados para manejarlos, a diferencia de los métodos que requieren del uso de equipos costosos, como los **cromatógrafos**, los cuales no son portables y deben ser manejados por personal capacitado.

Biosensores basados en células o en sus componentes

Desde la biología sintética se han desarrollado biosensores basados en células, las cuales pueden

Sistemas de expresión

Construcciones genéticas diseñadas para producir una proteína (por ejemplo, enzimas con uso industrial o moléculas terapéuticas), o bien ARN, dentro o fuera de una célula.

Cromatógrafos

Equipos usados para separar o identificar moléculas pequeñas (por ejemplo, sensores) de una mezcla de diversos componentes.

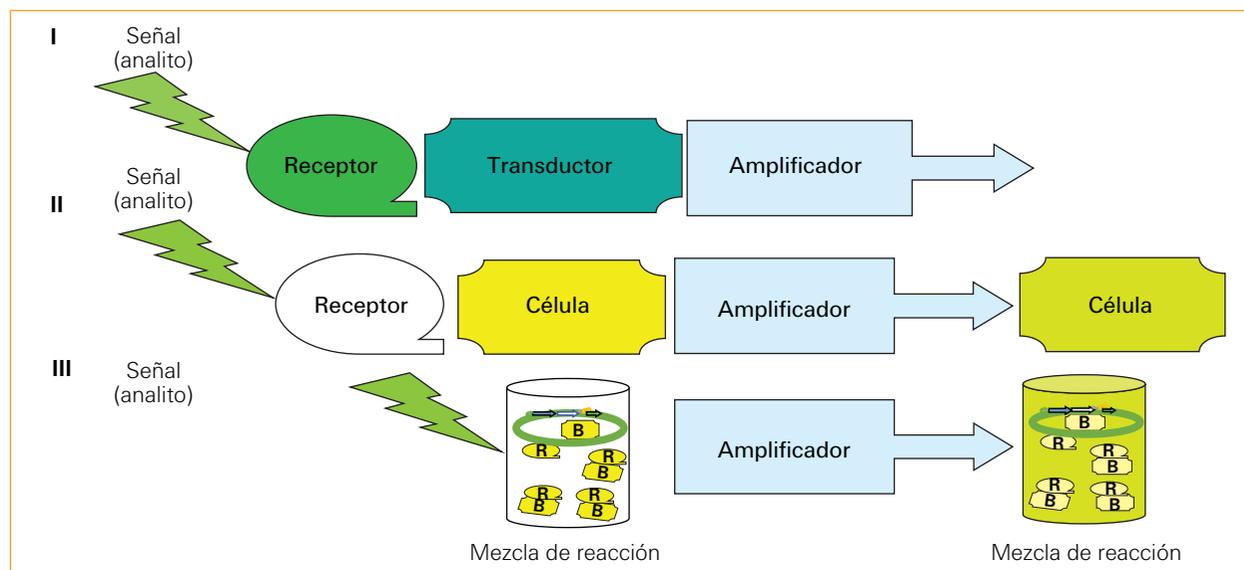


Figura 1. Esquema gráfico de un biosensor. // Los receptores reciben las señales que pasan a un transductor, el cual convierte la señal en algo medible y que puede ser amplificado y cuantificado. /// Una célula recibe una señal que es detectada a través de una proteína receptora; la célula responde ocasionando un cambio medible (color, fluorescencia, etcétera). /// En un sistema libre de células, el biosensor (B) está conformado por una serie de piezas o elementos genéticos que forman un módulo que sintetiza las proteínas receptoras (R), las cuales desencadenan la activación de una proteína reportera en presencia del analito. La expresión de las proteínas reporteras es detectada dentro del tubo que contiene la mezcla de reacción con los elementos para la transcripción y traducción.

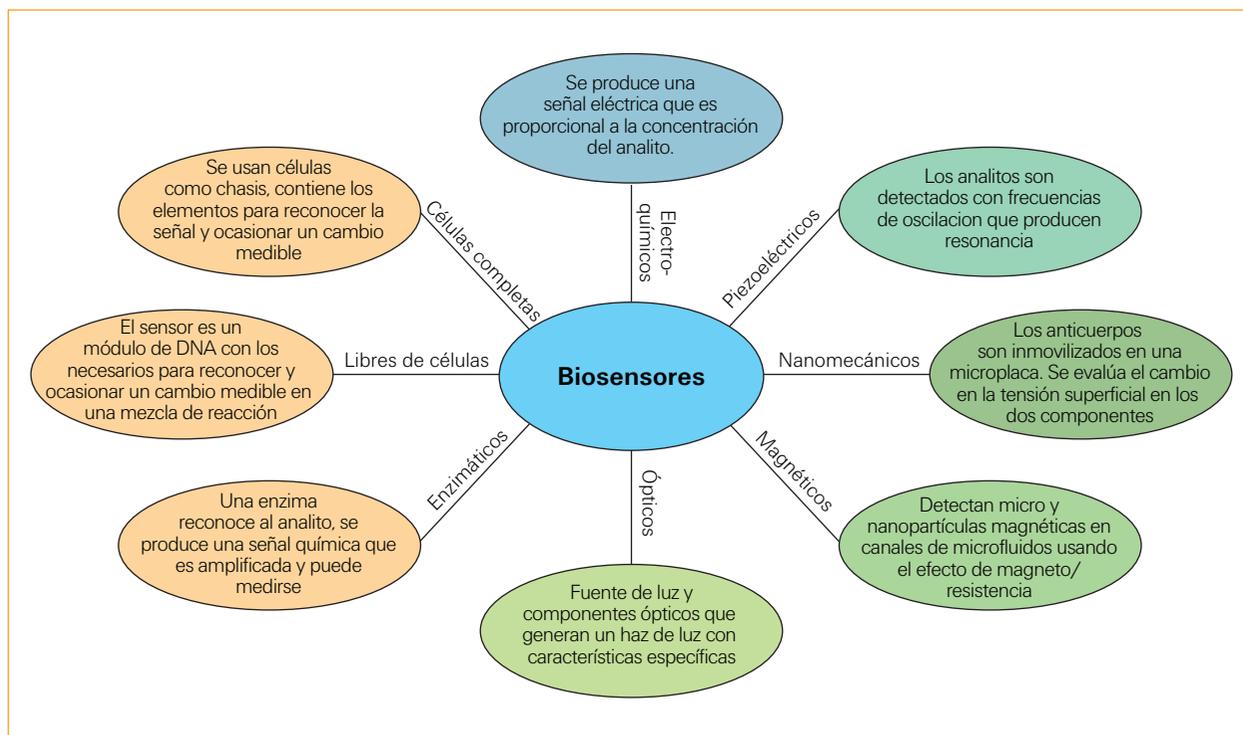


Figura 2. Diferentes tipos de biosensores y sus principios de operación.

ser desde una bacteria hasta una levadura. Este tipo de biosensores vivos contienen toda la información genética necesaria para detectar y amplificar la señal, la cual puede visualizarse y medirse, por algún cambio de color, emisión de fluorescencia u otro parámetro físico dentro de la célula o fuera de ella (véase la Figura 1). En otras palabras, las células vivas actúan como elementos de reconocimiento y amplificación de la señal.

Asimismo, mediante la biología sintética se han generado biosensores que usan sistemas libres de células, en los cuales no se emplean las células, sino que en una mezcla de reacción están la maquinaria celular, la energía y los elementos necesarios para soportar la transcripción (por ejemplo, ARN polimerasa) y la traducción (como aminoácidos), así como el módulo que contiene los genes necesarios para producir el receptor y la proteína reportera que dará un color o emitirá la fluorescencia para indicar la presencia del analito, o bien la modificación del pH o la producción de enzimas hidrolíticas o compuestos antimicrobianos, entre otros cambios (véase la Figura 1) (Wen y cols., 2017).

■ Desarrollo de biosensores basados en elementos que conforman el *quorum sensing*

La manera en que se comunican las bacterias es un “lenguaje” sorprendente, y al descifrarlo se puede usar para detectarlas. El mecanismo conocido como *quorum sensing* permite que las células se comuniquen, no por medio de palabras como lo hacemos los seres humanos, sino con compuestos químicos llamados autoinductores, los cuales pueden ser del tipo lactona (en bacterias gram-negativas), o bien por medio de péptidos pequeños (en bacterias gram-positivas). De manera natural, el *quorum sensing* controla la virulencia, bioluminiscencia y formación de biopelículas de muchas bacterias. Este sistema puede ser sencillo o complejo, y en él llegan a participar unos cuantos o muchos genes. Por medio de la biología sintética se han generado módulos conformados por una mínima cantidad de genes que codifican para proteínas con el fin de detectar un microorganismo y dar una respuesta medible. Los módulos genéticos son introducidos en una bacteria (célula hospedera o chasis), la cual funcionará como un biosensor.

Por ejemplo, para detectar *Pseudomona aeruginosa* se han diseñado biosensores que emplean como chasis a *Escherichia coli*. En estos biosensores se introdujeron módulos genéticos que contienen genes que sintetizan para una proteína receptora capaz de reconocer a una lactona (AHL) liberada por *P. aeruginosa*. Esto activa la síntesis de péptidos antimicrobianos para “aniquilar” a la bacteria y produce enzimas que ayudan a destruir las **biopelículas** (Hwang y cols., 2014). Otro ejemplo de biosensor es el desarrollado para detectar a *Vibrio cholerae*. Para ello, se usó *E. coli* como célula hospedera, y se le introdujeron genes que producen las proteínas para detectar a *V. cholerae*, así como un gen reportero que permite indicar su presencia mediante fluorescencia (Holowko y cols., 2016).

En las bacterias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* o *Listeria monocytogenes*, el *quorum sensing* se lleva a cabo mediante el sistema de dos componentes (véase la Figura 3), conformado por una proteína transmembranal (que se inserta en la membrana celular) de tipo histidina cinasa y una proteína que actúa como regulador de respuesta. Si la información genética que sintetizan los componentes de *S. aureus* o *L. monocytogenes*

es introducida a una bacteria diferente que no tiene este sistema, y además se coloca la información para formar una proteína colorida o fluorescente (reportera) que se activa por acción de la proteína reguladora, estamos generando un biosensor cuyo cambio de color indicará la presencia *S. aureus* o *L. monocytogenes*. Por ejemplo, en nuestro grupo de investigación en la Universidad de Guanajuato estamos interesados en desarrollar biosensores basados en células completas para detectar bacterias patógenas de interés en alimentos. Una de esas bacterias es *L. monocytogenes*, la cual resiste bajas temperaturas y se puede encontrar en diversos alimentos, como pollos, mariscos, lácteos, vegetales y embutidos. Este microorganismo puede ocasionar diarrea, vómito, septicemia y, en mujeres embarazadas, abortos espontáneos, por lo que su detección rápida y confiable es muy importante. Por otro lado, varios grupos científicos han comenzado a desarrollar biosensores basados en sistemas libres de células. Por ejemplo, un biosensor de este tipo fue desarrollado por Ke Yan Wen y colaboradores (2017) para detectar *P. aeruginosa* en muestras de esputo tomadas de pulmones de personas que padecían fibrosis quística.

Biopelículas
Estructuras de resistencia que dan protección e impiden que los péptidos antimicrobianos alcancen a las bacterias.

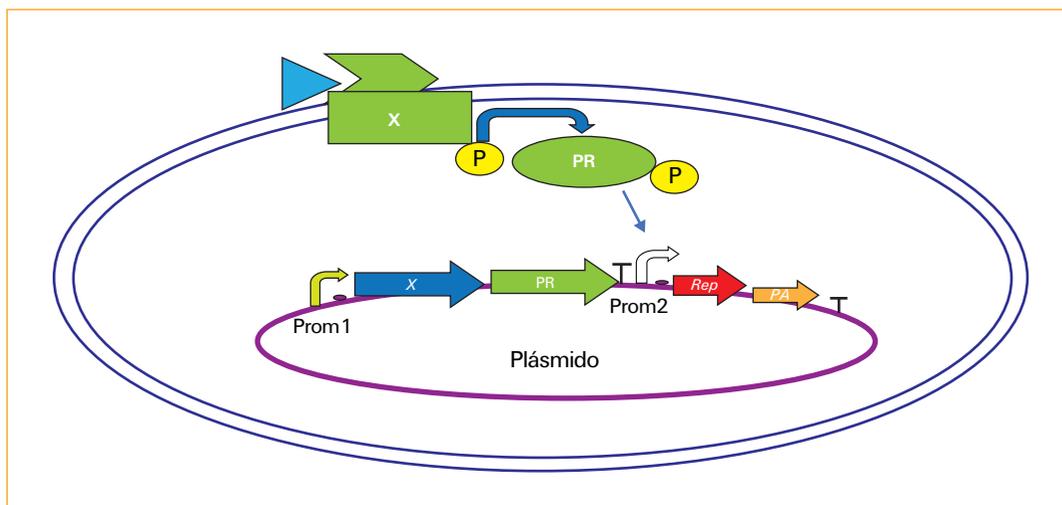


Figura 3. Diseño general de un biosensor de células completas mediante un sistema de dos componentes (proteína receptora/proteína reguladora). El módulo genético contiene a un gen (*x*) controlado por un promotor constitutivo (Prom1) que codifica para una proteína receptora (*X*) (histidina cinasa), la cual se activa en presencia de una señal (triángulo azul) y fosforila (*P*) a la proteína reguladora (*PR*). La *PR* fosforilada activa a un promotor (Prom2) que enciende a los genes que sintetizan para una proteína reportera (*Rep*) y un péptido antimicrobiano (*PA*) para aniquilar a la bacteria patógena. La letra *T* después de los genes *PR* y *PA* representa a los terminadores de la transcripción que detienen la síntesis del ARN mensajero.



■ **Desarrollo de biosensores basados en sistemas diferentes al *quorum sensing***

■ El desarrollo de los biosensores no necesariamente se debe basar en el *quorum sensing*. Por ejemplo, se ha generado un biosensor para evaluar la frescura de la carne a partir de utilizar a *Bacillus subtilis* como chasis. Este biosensor se basa en el uso de pequeñas secuencias de ADN conocidas como promotores, las cuales se activan ante la presencia de compuestos volátiles liberados de la carne en descomposición. Esos promotores controlan la expresión de genes que producen proteínas que dan un color o emiten fluorescencia, los cuales se activan cuando el promotor detecta los malos aromas de la carne que se está echando a perder (Daszczuk y cols., 2012).

Recientemente se reportó el desarrollo de un ensayo colorimétrico basado en un biosensor de

Saccharomyces cerevisiae que detecta diversos hongos patógenos. El biosensor se fundamenta en la liberación de péptidos, los cuales son detectados por los receptores transmembranales acoplados a la proteína G en la levadura, que a la vez activa a un gen involucrado en la síntesis de licopeno y esto ocasiona que la levadura cambie de color blanco a naranja (Ostrov y cols., 2017).

■ **Perspectivas**

■ La biología sintética ha permitido desarrollar nuevos sistemas biológicos en el laboratorio, donde la mayor parte no se comercializa; sin embargo, es posible que en los próximos años se presente un incremento paulatino de nuevos desarrollos tecnológicos que puedan usarse y venderse. No obstante, aun cuando el uso de biosensores basados en células podría tener ventajas sobre otros tipos de biosensores o kits de detección, no existe una regulación respecto de los organismos desarrollados por biología sintética en el Convenio sobre la Diversidad Biológica de la Organización de las Naciones Unidas, por lo que el uso práctico de este tipo de biosensores podría aún llevar cierto tiempo. A lo anterior se suma el hecho de que deben estandarizarse las condiciones de uso de los biosensores basados en células en algún material biológico, la forma de preservarlos, saber cuáles son sus límites de detección, entre otros, lo cual podría atrasar aún más el uso comercial.

La síntesis de la artemisina en levaduras y su producción a escala industrial para el tratamiento de la malaria ha sido uno de los éxitos más notables de la biología sintética. Sin embargo, aún hay una serie de desafíos, oportunidades y limitaciones en diversas áreas como la medicina, agricultura, ambiente, alimentos y **edición génica**. En este sentido, 1) aún falta caracterizar todas las piezas genéticas que se han desarrollado y hacerlas compatibles y funcionales en un organismo diferente de donde proceden; además, 2) se debe tomar en cuenta que cuando se diseñan

Edición génica

Identificar y eliminar una secuencia de ADN del genoma de forma específica y permitir la inserción de otros fragmentos genéticos mediante CRISPR/Cas.



circuitos genéticos cada vez más complejos, su funcionamiento puede ser más impredecible y lleva tiempo encontrar una configuración genética de la cual finalmente se obtenga el producto deseado con un buen rendimiento. Para lograr lo anterior, se requerirá de grupos multidisciplinarios que colaboren en el diseño y la construcción de los sistemas que ayuden a resolver diversos problemas prácticos; sin olvidarse de las implicaciones políticas, éticas y de regulación que se deberán analizar para permitir su uso. Los acuerdos para realizar la transferencia de materiales entre los investigadores deberán tener mucha importancia en dicho desarrollo, ya que permitirán compartir el material biológico de una manera más sencilla, con un mínimo de restricciones, con respeto siempre a los derechos de autor y promoviendo la práctica segura y responsable de la investigación.

Aun cuando la biología sintética tiene pocos años de desarrollo, los gobiernos y la iniciativa privada en Estados Unidos de América, China, Reino Unido y otros países de Europa, han apostado a esta área para el desarrollo de nuevos sistemas biológicos, para la resolución de problemas y la creación de nuevas empresas. En nuestro país existe un número limitado de investigadores que trabajan en temas relacionados con la biología sintética (Barboza-Pérez, 2016); sin embargo, se ha observado que hay un incremento importante en el número de estudiantes jóvenes que muestran interés por estos temas. Por ejemplo, la Red Nacional de Biología Sintética en México⁸ es un espacio de difusión creada y manejada por jóvenes mexicanos, la cual en un futuro cercano podría convertirse en una Red Mexicana de Biología Sintética. La participación activa de equipos estudiantiles del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM), de la Universidad Nacional Autónoma

de México (UNAM), del Instituto Politécnico Nacional (IPN) y de universidades estatales, como la Universidad de Guanajuato (UG), la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), entre otras, en la competencia internacional de biología sintética de la fundación iGEM, ha redituado en medallas de oro, plata y bronce. Asimismo, se ve una gran motivación de lo jóvenes en cumbres como AllBiotech⁹ y GapSummit,¹⁰ foros en los cuales pueden tener contacto con diversos investigadores, así como con jóvenes de otros países, para desarrollar nuevas ideas que a la larga podrían convertirse en inventos. Por lo

⁹ Disponible en: <www.allbiotech.org>.

¹⁰ Disponible en: <www.gaps Summit.com>.



⁸ Disponible en: <www.synbiomx.org>.



anterior, cabe esperar que estos jóvenes talento, en pocos años, puedan contribuir de manera importante al desarrollo de la biología sintética en México y en el resto de América Latina.

Los autores agradecen el apoyo otorgado por la Universidad de Guanajuato, mediante el proyecto 228 de la Convocatoria Institucional 2018.

Celia Monserrat Luna Castro

Estudiante de Doctorado, Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca.

monlu_46@hotmail.com

Ma. de Lourdes Pérez Zavala

Estudiante de Doctorado, Posgrado en Administración, LGAC en Ciencias Económico-financieras, Universidad Iberoamericana Campus León; Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca.

mlperez@ugto.mx

José Eleazar Barboza Corona

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 2, Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias. Profesor Titular C, Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca; Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca.

josebar@ugto.mx

Lecturas recomendadas

- Barboza-Pérez, U. (2016), “¿Quién está haciendo biología sintética en México?”. Disponible en: <<https://medium.com/biological-speculation/quien-esta-haciendo-biologia-sintetica-en-mexico-5f9adf9d997e>>, consultado el 23 de diciembre de 2018.
- Daszczuk A. *et al.* (2014), “*Bacillus subtilis* biosensor engineered to assess meat spoilage”, *ACS Synthetic Biology*, 3(12):999-1002.
- Endy, D. (2005), “Foundation for engineering biology”, *Nature*, 483:449-453.
- Fletcher, D. (2018), “Which biological systems should be engineered?”, *Nature*, 563:177-179.
- Hayden, E. C. (2015), “Tech investor bet on synthetic biology”, *Nature*, 527:19.
- Holowko, M. B. *et al.* (2016), “Biosensing *Vibrio Cholerae* with genetically engineered *Escherichia coli*”, *ACS Synthetic Biology*, 5(11):1275-1283.
- Hwang, I. Y. *et al.* (2014), “Reprogramming microbes to be pathogen-seeking killers”, *ACS Synthetic Biology*, 3(4):228-237.
- Ostrov, N. *et al.* (2017), “A modular yeast biosensor for low-cost point-of-care pathogen detection”, *Science Advance*, 3:e1603221.
- Synbiobeta (2018), *Synthetic Biology Annual Investment Reports*. Disponible en: <<https://synbiobeta.com/wp-content/uploads/2018/11/Synthetic-Biology-Annual-Investment-Report.pdf>>, consultado el 18 de diciembre de 2018.
- Wen, K. Y. *et al.* (2017), “A cell-free biosensor for detecting quorum sensing molecules in *P. aeruginosa*-infected respiratory samples”, *ACS Synthetic Biology*, 6(12):2293-2301.