

## Biología Sintética: La Próxima Revolución Industrial

Antonio Bensussen y Angélica Meneses-Acosta\*

*Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa. Cuernavaca Morelos. CP 62010. E-mail: angelica\_meneses@uaem.mx*

### RESUMEN

Históricamente, diseñar procesos biológicos artificiales al estilo de la ingeniería había parecido un sueño inalcanzable, sin embargo, hoy en día ya es una realidad y la disciplina encargada de hacerlo es la Biología Sintética. El hecho que diferencia a esta área de la ingeniería genética tradicional, es el uso de modelos matemáticos para predecir el comportamiento de sistemas biológicos artificiales, tal como sucede en las ingenierías bien establecidas. Actualmente, sus principales aplicaciones se encuentran en el desarrollo de mejores procesos de producción industrial y en el desarrollo de biofármacos, biocombustibles, biomateriales, etc. e inclusive en la síntesis de bacterias y virus artificiales. La convergencia de la Biología Sintética con otras áreas tales como la biotecnología farmacéutica y la nanotecnología, abre un sinfín de posibilidades para desarrollar tecnología capaz de revolucionar la industria y la humanidad en niveles inesperados. Así, el objetivo de esta revisión es brindar un panorama general en esta materia haciendo incapié en su creación como resultado de la inventiva y curiosidad del hombre; definir los elementos que la componen y mostrar algunas de las aplicaciones actuales para ofrecer las perspectivas de desarrollo en un futuro próximo.

**Palabras clave:** Biología sintética, ingeniería, diseño biológico.

### ABSTRACT

Historically, designing of artificial biological processes using engineering seemed to be an impossible dream, nevertheless, currently this is possible using Synthetic Biology. The fact that distinguishes such an area from the traditional genetic engineering is the use of mathematical models to predict the behavior of artificial biological systems. The main current applications of this novel area are: the establishment of more efficient industrial processes, as well as the development of new biopharmaceuticals, biofuels, biomaterials, etc. and even the synthesis of artificial bacteria and viruses. The convergence of Synthetic Biology with other areas such as pharmaceutical biotechnology and nanotechnology opens a large number of possibilities to revolutionize the industry and humanity at unexpected levels. Thus, the aim of this review is to provide an overview of Synthetic Biology, with emphasis on its creation as a result of human inventiveness and curiosity;

defining the elements that play an important role in its development, and showing some of its current applications, in order to offer a better perspective of its use in the near future.

**Key words:** Synthetic biology, engineering, biologic design.

## **SURGIMIENTO DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA**

A partir del desarrollo industrial vivido por la humanidad desde mediados del siglo XVIII hasta nuestros días, un problema recurrente durante siglos ha sido hallar nuevas y mejores formas de optimizar los procesos productivos, tanto para ahorrar costos de inversión como para maximizar el margen de beneficios (Fraser, 1973). Este problema ha sido, en gran medida, el motor del desarrollo tecnológico imperante durante esta era. Sin embargo, hay que señalar que como resultado de los avances tecnológicos sin control, actualmente la humanidad se enfrenta a nuevos desafíos tales como la escasez de materias primas (recursos naturales), la extinción de antiguos ecosistemas, el cambio climático y la contaminación ambiental (Fraser, 1973; Swilling, 2013; Wang Y & Liang, 2013). Estos fenómenos inesperados añaden nuevos problemas al sector industrial, ya que ahora se debe maximizar a eficiencia en la administración de los recursos naturales para mantener una producción rentable (Wang Y & Liang, 2013).

Para la industria biotecnológica, esto supone un nicho de oportunidad para el desarrollo de fuentes de energía alternativa, optimización de sistemas de producción de

metabolitos, desarrollo de tecnologías para fortalecer la producción agroindustrial, etcétera. Aparentemente la ingeniería genética convencional es la clave para desarrollar tecnología eficiente para solucionar la problemática contemporánea, sin embargo, en la práctica se ha visto que existen limitantes importantes tales como el desconocimiento de los efectos fisiológicos que tiene el suministro genes externos a nivel celular, tisular y sistémico. El impacto de este problema queda de manifiesto con las historias de éxito (Blaese *et al.*, 1995) y de fracaso (Hacein-Bey-Abina *et al.*, 2008) de la terapia génica. Por consiguiente, debe encontrarse la forma de optimizar a la ingeniería genética para poder usar todo su potencial. Idealmente, la forma de perfeccionar la ingeniería genética sería el poder diseñar procesos biológicos artificiales, controlables y predecibles; tal como las ingenierías convencionales diseñan toda clase de sistemas. Con miras a alcanzar este ideal escenario ha surgido un área emergente llamada Biología Sintética, cuyo objetivo consiste precisamente en la creación de procesos biológicos artificiales al estilo de la ingeniería (Endy, 2005; Cheng & Lu, 2012).

Para sorpresa de muchos, el concepto de la Biología Sintética es más viejo que el

descubrimiento de la ingeniería genética en sí. De hecho, su origen tiene más de cien años de antigüedad, y fue expuesto por primera vez en el libro "*La Biologie Synthétique, étude de biophysique*" (1912) del visionario francés, Stéphane Leduc. En este trabajo se postulaba que la biología podía ser explicada en base a las leyes fundamentales de la química y de la física; asimismo, se afirmaba que los sistemas biológicos debían ser estudiados con modelos matemáticos para obtener información a profundidad de los mismos y también dejaba abierta la posibilidad de que algún día, estos sistemas podrían ser creados de manera racional por la ingeniería, tal como ocurría con los sistemas mecánicos (Leduc, 1912). Los campos de aplicación que Leduc propuso para la Biología Sintética eran los sistemas dinámicos aplicados a la biología, síntesis de células, síntesis de tejidos, organogénesis, biomecánica, bioenergía, fisiología, desarrollo y el procesamiento sensorial de la información (Leduc, 1912). Desafortunadamente el sueño de Leduc no prosperó en su tiempo, básicamente porque la Biología Sintética en ese momento no podía cumplir con los requisitos básicos de una ingeniería

convencional, los cuales son: 1) tener uno o más tipos de sistemas para estudiarlos con modelos matemáticos, por ejemplo sistemas térmicos y/o mecánicos (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011); 2) contar con métodos para construir, evaluar y optimizar dispositivos para trabajar con los sistemas de interés (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011); y finalmente, 3) usar a la ingeniería de control para manipular los sistemas de elección (Ogata, 2010) (Fig. 1). Para beneplácito de Leduc, lo que hasta hace un par de décadas parecía una auténtica utopía, ya es una realidad en gran medida por los adelantos tecnológicos realizados en el estudio de las propiedades de los sistemas biológicos (biología de sistemas y ómicas) (Klipp *et al.*, 2005; Fazenda *et al.*, 2013), por el desarrollo de nuevos métodos para sintetizar "*dispositivos biológicos*" (ingeniería genética) (Falke *et al.*, 2002; Endy, 2005; Sayut *et al.*, 2009; Sleight *et al.*, 2010; Callura *et al.*, 2012; Cheng & Lu, 2012), y por el estudio de las propiedades de regulación biológica (Kremling & Saez-Rodriguez, 2007; Iglesias & Ingalls, 2010; Cosentino & Bates, 2012) necesarias para establecer sistemas de control.



**Fig. 1** Características de la ingeniería tradicional. Todas las ingenierías convencionales tienen un grupo de sistemas de estudio, para los cuales se diseñan estrategias para manipularlos mediante la ingeniería de control, y finalmente se cuenta con métodos prácticos para tomar el control de dichos sistemas en la forma deseada.

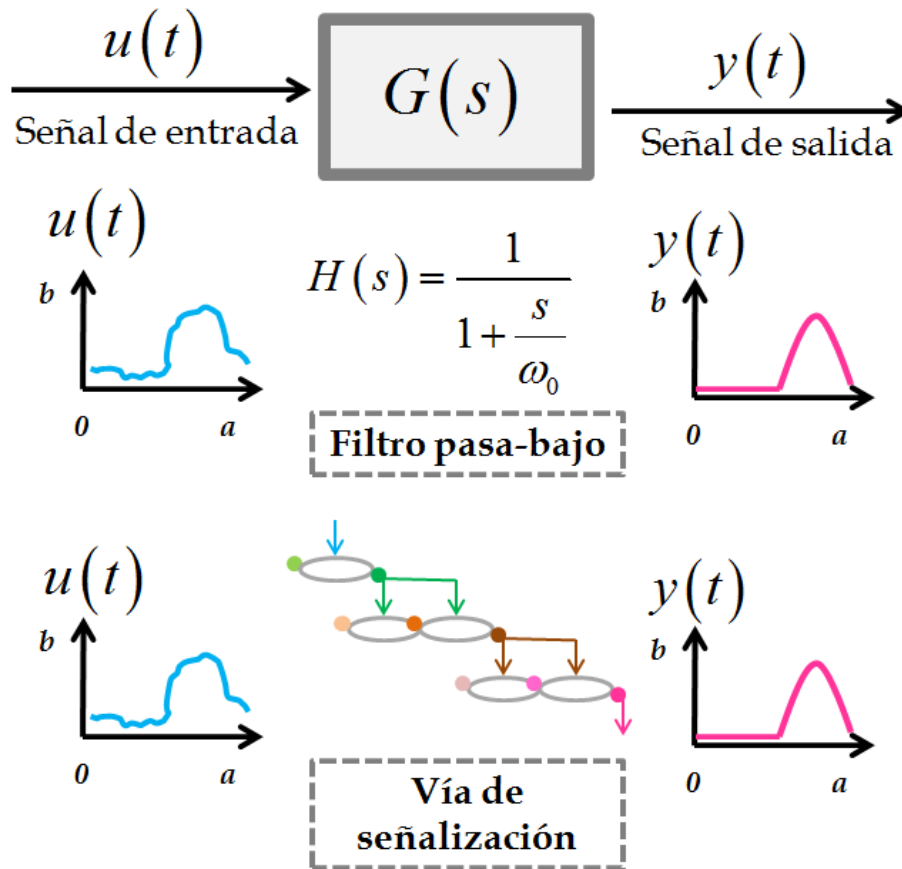
Esto no quiere decir que la Biología Sintética actualmente sea una ingeniería totalmente formada; en realidad se trata de un área en crecimiento continuo (Endy, 2005; Cheng & Lu, 2012). De hecho, en los últimos 20 años se han realizado esfuerzos por mejorar la creación de dispositivos biológicos, los cuales no son otra cosa que grupos de biomoléculas con la capacidad de ejecutar alguna función determinada (Voigt, 2006; Stratton & Loh, 2011; Wang B *et al.*,

2011). Interesantemente estos dispositivos pueden realizar funciones de la misma manera que los dispositivos convencionales, por ejemplo, es posible crear filtros y amplificadores (Basu *et al.*, 2005; Ajo-Franklin *et al.*, 2007) al estilo de la electrónica. Los dispositivos biológicos están contruidos con interacciones intracelulares y las señales son de tipo bioquímico en lugar de eléctricas (Fig. 2). Cabe señalar que los dispositivos biológicos pueden ser

# Artículos

construidos para que funcionen en todos los niveles de regulación biológica, desde las redes genéticas artificiales (Berens & Hillen., 2003; Buchler *et al.*, 2003; Ameres *et al.*, 2005; Guido *et al.*, 2006; Buchler & Cross, 2009), pasando por los riboreguladores (Win & Smolke, 2008; Lucks *et al.*, 2011), por las redes metabólicas de diseño (Lee *et al.*, 2012; Fazenda *et al.*, 2013), hasta por las

vías de señalización artificiales (Yeh *et al.*, 2007), llegando inclusive hasta sistemas de comunicación célula-célula (Basu *et al.*, 2005; Dannino *et al.*, 2010; Ortiz & Endy, 2012). Así, la Biología Sintética ofrece un mundo de posibilidades para crear toda clase de procesos; y por consiguiente la pregunta es: ¿Y cómo lo hace?



**Fig. 2** Propiedades de los sistemas. Al igual que los sistemas mecánicos, eléctricos, y termodinámicos; los sistemas biológicos cumplen con propiedades dinámicas que sirven para confeccionar toda clase de dispositivos. En la figura se esquematizan las propiedades de un filtro pasa-bajo, es decir, un filtro que nulifica todas las señales inferiores a cierto umbral, comparadas con el funcionamiento mecánico de una de señalización al estilo de las MAP cinasas.

## ELEMENTOS QUE COMPONEN LA BIOLOGÍA SINTÉTICA

Como cualquier otra ingeniería, la Biología Sintética tiene una fase de análisis, en la cual se debe estudiar el sistema de interés usando el conocimiento disponible al respecto, junto con modelos matemáticos para visualizar el comportamiento del sistema (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011). Los modelos más usados en Biología Sintética son los modelos de variables continuas, de entre los cuales se destacan los sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias, aunque también se pueden usar sistemas de ecuaciones diferenciales parciales, modelos discretos, y modelos estocásticos (Klipp, 2005). Después se pasa a la fase de diseño, en la cual se proponen muchas posibles soluciones para el problema a resolver; se evalúan todas estas propuestas usando análisis matemáticos y herramientas computacionales, y se elige a la o las mejores propuestas para implementarse (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011). Finalmente, en la fase de implementación, se construyen los dispositivos seleccionados por la teoría, se prueban experimentalmente y se ajustan para obtener el rendimiento deseado (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011). A simple vista podría parecer muy complicado todo este procedimiento, sin embargo, desde 1922 se sabe que usar esta metodología permite ahorrar tiempo, recursos y esfuerzo a la hora de construir dispositivos

nuevos (Ajo-Franklin et al., 2007; Ogata, 2010).

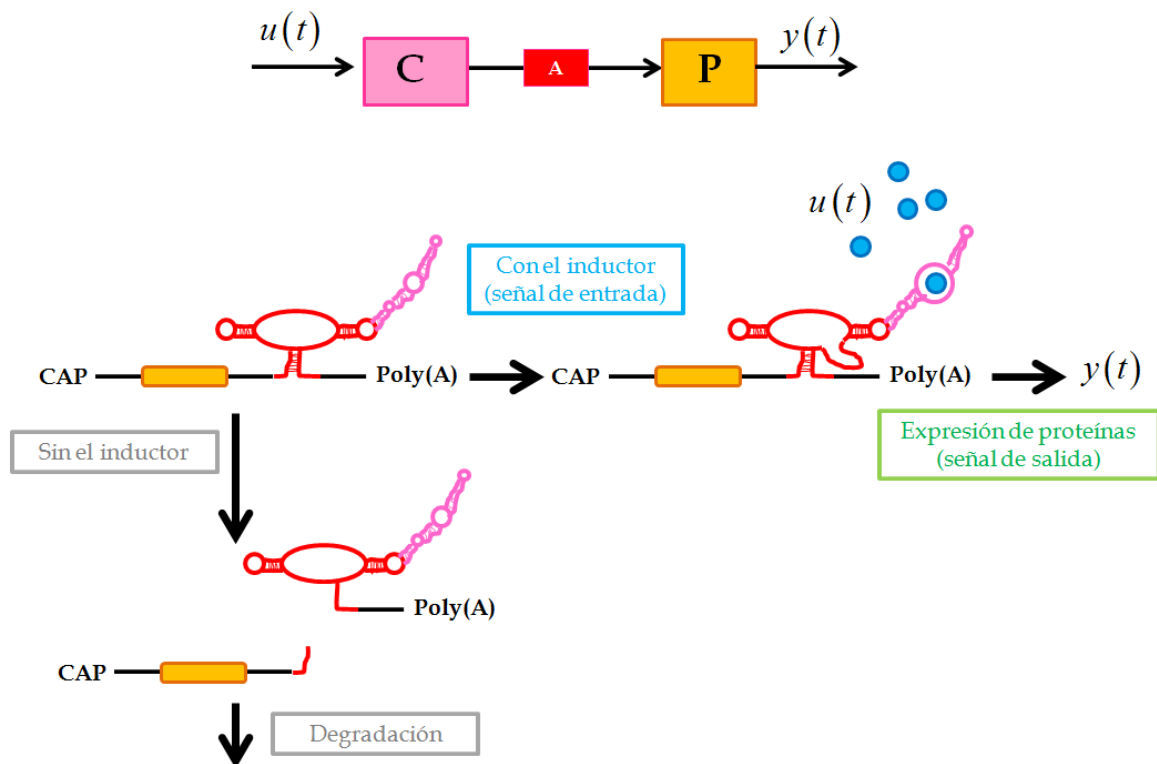
Ciertamente, para desarrollar vías metabólicas artificiales y todos esos sistemas complejos, se requiere de estructuras de control bien definidas. Sin embargo, en Biología Sintética hay pocos trabajos que aborden a profundidad el ensamblaje de sistemas de control *per se* (Oldham et al., 2012). Los sistemas de control permiten manipular un proceso de interés articulando varios dispositivos auxiliares como son los controladores, los actuadores y los sensores (Ogata, 2010; Cosentino & Bates, 2012). Los controladores son dispositivos que se encargan de dirigir el funcionamiento general del proceso mandando señales de control a los actuadores y recibiendo señales de entrada desde el exterior (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011; Cosentino & Bates, 2012). Los actuadores son dispositivos que cambian físicamente el funcionamiento del proceso de interés (Ogata, 2010; Cosentino & Bates, 2012), y finalmente los sensores se encargan de medir la calidad de la respuesta emitida por el proceso de interés, con la finalidad de mandarle los datos al controlador para que éste mande "*instrucciones*" para modificar el funcionamiento del sistema (Ogata, 2010; Boukas & Sunni, 2011; Cosentino & Bates, 2012). A grandes rasgos los sistemas de control pueden contar con la retroalimentación proporcionada por sensores (estructura de lazo cerrado) o

# Artículos

prescindir de ella (estructura de lazo abierto, Fig. 3) (Cosentino & Bates, 2012).

Un magnífico ejemplo de un sistema de control biológico fue el trabajo realizado por Win y Smolke (2008). En dicho trabajo se desarrolló un dispositivo de RNA con una estructura de control de lazo abierto, para regular la expresión de una proteína (Fig. 3). En este caso el proceso a controlar es la expresión de una proteína, el actuador es

una ribozima fusionada al mRNA de la proteína de interés, que constitutivamente se está autodegradando, y el controlador es una estructura de RNA fusionada al actuador. En presencia de un metabolito inductor (señal de entrada), el controlador induce un cambio conformacional en el actuador, evitando la autodegradación de la ribozima, y por consiguiente se permite la traducción del mRNA a proteína (Win & Smolke, 2008).



**Fig. 3** Dispositivo biológico fabricado con RNAs (Win & Smolke, 2008). En presencia del inductor, el controlador (estructura de RNA) cambia su conformación, y en respuesta a este estímulo, el actuador (ribozima) permite la traducción de un mRNA. Este mecanismo recuerda mucho a un sistema de control de lazo abierto (parte superior).

## APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA

A pesar de no estar completamente formada, la Biología Sintética está siendo usada para crear toda clase de aplicaciones; muchas de ellas encaminadas a solucionar la problemática mencionada al principio de este artículo. Por ejemplo, hoy en día se usa para desarrollar nuevas cepas para producción (Ming *et al.*, 2010); algunas con capacidades bastante singulares como por ejemplo, la capacidad de alternar la producción de metabolitos (Callura *et al.*, 2010), otras con la capacidad de auto-regularse (Beisel *et al.*, 2008; Dragosits *et al.*, 2012) o con la capacidad de ajustar sus tiempos de producción (Ellis *et al.*, 2009); inclusive con la capacidad de “recordar que ya han sido activadas” y mantener la expresión de una proteína de interés indefinidamente (Ajo-Franklin *et al.*, 2007). El enfoque ingenieril de la Biología Sintética también se usa para optimizar fermentaciones industriales (Moser *et al.*, 2012; Marisch *et al.*, 2013), para optimizar los procesos de manufactura y diseño de RNAs de interferencia (Fellmann *et al.*, 2011); para desarrollar nuevos biocombustibles (Stephanopoulos, 2007); para producir nuevos biomateriales (Xia *et al.*, 2010); para potenciar la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa (Carey *et al.*, 2008); para desarrollar sistemas de producción de fármacos convencionales (Medema *et al.*, 2011) y de vacunas (Kindsmüller & Wagner, 2011); y, en la

síntesis de nuevos biofármacos para combatir enfermedades: neurológicas (Tang *et al.*, 2009; Garriga-Canut *et al.*, 2012), metabólicas (Ye *et al.*, 2013), cáncer (Falke *et al.*, 2002), tuberculosis, malaria, e infección por VIH (Kindsmüller & Wagner, 2011), e inclusive algunos de los biofármacos más sorprendentes están enfocados en la restitución de la visión para ciertos tipos de ceguera (Verrier *et al.*, 2011) y para eliminar bacterias resistentes a antibióticos (Lu & Collins, 2009). Ahondando un poco más en este punto; Lu & Collins (2009) en un intento por crear biofármacos para combatir genéricamente el problema de las cepas bacterianas resistentes a antibióticos, diseñaron versiones modificadas del bacteriófago M13 con la capacidad de expresar, en presencia de antibióticos, genes para interferir con la respuesta SOS (lexA), genes capaces de potenciar el daño por estrés oxidativo (SoxR) y genes para facilitar la entrada de antibióticos en las células bacterianas (OmpF). Interesantemente, estos biofármacos mostraron resultados prometedores al ser evaluados en ensayos *in vivo*; no obstante, el aspecto más resaltante de este trabajo es que en él se plantea la posibilidad de diseñar a través de la Biología Sintética, nuevos biofármacos más precisos contra toda clase de padecimientos, sin importar su grado de complejidad (Lu & Collins, 2009).

Por otra parte, aplicaciones menos ortodoxas de la Biología Sintética se enfocan



a la transformación de células tumorales en microgeneradores de electricidad (Justin *et al.*, 2011); al diseño de células artificiales productoras de energía (Xu & Lavan, 2008); y, al desarrollo de hojas artificiales para ser usadas como paneles solares altamente eficientes (Bar-Even *et al.*, 2010; Barber & Tran, 2013), de células artificiales con sistemas de control híbridos, en los cuales se usan genes como controladores y nanomáquinas como actuadores (Franco *et al.*, 2011), y finalmente de bacterias (Gibson *et al.*, 2008) y virus artificiales (Jaschke *et al.*, 2012). Un interesante ejemplo de estas aplicaciones de tipo no ortodoxo, se reporta en el trabajo realizado por Franco y colegas (2011); cuya investigación se enfocó en recrear osciladores biológicos en sistemas libres de células. Para lograr este fin, ellos acoplaron entre sí a varias nanomáquinas conocidas como “*pinzas de DNA*”. Estos dispositivos de DNA estaban compuestos por dos dominios de doble cadena en los que se encontraban genes para RNAs no codificantes conectados por una bisagra; en la región promotora de cada dominio de doble cadena, había un dominio de cadena sencilla conocido como “mano”, que era capaz de unirse a un oligonucleótido blanco para cerrar la pinza e iniciar la transcripción del RNA no codificante. Sorprendentemente, al sincronizar varias pinzas de DNA, además de crear un oscilador, ellos fueron capaces de controlar el periodo y la amplitud de las oscilaciones presentadas en las concentraciones de los RNAs no codificantes

(Franco *et al.*, 2011). Pese a ser un trabajo que no se realizó en células, el estudio plantea la posibilidad de crear sistemas de control biológicos capaces de coordinar simultáneamente varios procesos, y eventualmente, esto podría conllevar a la creación de organismos completamente artificiales, con funciones y propiedades verdaderamente únicas.

Es interesante observar como a medida de que la Biología Sintética se desarrolla, comienza a interactuar con sistemas mecánicos convencionales para formar mejores paneles solares (Barber & Tran, 2013), y con sistemas nanotecnológicos para crear células artificiales (Doktycz & Simpson, 2007; Jungmann *et al.*, 2008). Por consiguiente, en un futuro no muy lejano la visión de Leduc será superada por la realidad, y la Biología Sintética revolucionará el mundo industrial de formas insospechadas. Es altamente probable que la Biología Sintética en conjunto con las ingenierías bien establecidas, puedan resolver los problemas asociados a los retos económicos que vivimos actualmente, y logren crear la tecnología requerida para suplir al petróleo, reciclar los materiales intratables, descontaminar el medio ambiente e inclusive generar microclimas en pro de la vida en la tierra y el desarrollo industrial sustentable. En nuestro laboratorio se estudia a profundidad el diseño de sistemas de control biológico no-lineales de múltiples entradas y múltiples salidas, con la finalidad de aplicar este

conocimiento en la creación de biofármacos más eficaces contra la infección del VIH, agente causal del SIDA.

## REFERENCIAS

- Ajo-Franklin CM, Drubin DA, Eskin JA, Gee EPS, Landgraf D, Phillips I & Silver PA (2007) Rational design of memory in eukaryotic cells. *Genes Dev.* 21: 2271–2276.
- Ameres SL, Drueppe L, Pfeleiderer K, Schmidt A, Hillen W & Berens C (2005) Inducible DNA-loop formation blocks transcriptional activation by an SV40 enhancer. *EMBO J.* 24: 358–367.
- Barber J & Tran PD (2013) From natural to artificial photosynthesis. *J. R. Soc. Interface.* 10:20120984.
- Bar-Even A, Noor E, Lewis NE, & Milo R (2010) Design and analysis of synthetic carbon fixation pathways. *PNAS.* 107: 8889–8894.
- Basu S, Gerchman Y, Collins CH, Arnold FH, & Weiss R (2005) A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. *Nature.* 434: 1130–1134.
- Beisel CL, Bayer TS, Hoff KG & Smolke CD (2008) Model-guided design of ligand-regulated RNAi for programmable control of gene expression. *Mol Sys Biol.* 4:224
- Berens C & Hillen W (2003) Gene regulation by tetracyclines: Constraints of resistance regulation in bacteria shape TetR for application in eukaryotes. *Eur. J. Biochem.* 270: 3109–3121.
- Blaese RM, Culver KW & Miller AD (1995) T Lymphocyte-Directed Gene Therapy for ADA SCID: Initial Trial Results After 4 Years. *Science.* 270: 475 – 480
- Boukas E & Sunni F (2011) Design Based on Transfer Function. *In: Mechatronic systems: analysis, design and implementation.* Berlin Heidelberg: Springer. pp. 129-212
- Buchler NE & Cross FR (2009) Protein sequestration generates a flexible ultrasensitive response in a genetic network. *Mol Sys Biol.* 5:272.
- Buchler NE, Gerland U & Hwa T (2003) On schemes of combinatorial transcription logic. *PNAS.* 100: 5136–5141.
- Callura JM, Cantor CR & Collins JJ (2012) Genetic switchboard for synthetic biology applications. *PNAS.* 109: 5850–5855.
- Callura JM, Dwyer DJ, Isaacs FJ, Cantor CR & Collins JJ (2010) Tracking, tuning, and terminating microbial physiology using synthetic riboregulators. *PNAS.* 107: 15898–15903.
- Carey BW, Markoulaki S, Hanna J, Saha K, Gao Q, Mitalipova M & Jaenisch R (2008) Reprogramming of murine and human somatic cells using a single polycistronic vector. *PNAS.* 106: 157–162.
- Cheng A & Lu TK (2012) Synthetic Biology: An Emerging Discipline. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 14:155–78
- Cosentino C & Bates D (2012) Feedback control in systems biology. Boca Raton: CRC Press. pp.1-181.

# Artículos

- Doktycz MJ & Simpson ML (2007) Nano-enabled synthetic biology. *Mol Sys Biol.* 3:125.
- Dragosits M, Nicklas D & Tagkopoulos I (2012) A synthetic biology approach to self-regulatory recombinant protein production in *Escherichia coli*. *J Biol Eng.* 6:2.
- Ellis T, Wang X & Collins JJ (2009) Diversity-Based, Model-Guided Construction of Synthetic Gene Networks with Predicted Functions. *Nat Biotechnol.* 27: 465–471.
- Endy D (2005) Foundations for engineering biology. *Nature.* 438: 449 – 453.
- Falke D, Fisher M, Ye D & Juliano RL (2002) Design of artificial transcription factors to selectively regulate the pro-apoptotic bax gene. *Nucl Acids Res.* 31(3):e10.
- Fazenda ML, Dias JM, Harvey LM, Nordon A, Edrada-Ebel R, Littlejohn D & McNeil B. (2013). Towards better understanding of an industrial cell factory: investigating the feasibility of real-time metabolic flux analysis in *Pichia pastoris*. *Micro Cell Fac.* 12:51.
- Fellmann C, Zuber J, McJunkin K, Chang K, Malone CD, Dickins RA, Xu Q, Hengartner MO, Elledge SJ, Hannon GJ, & Lowe SW (2011) Functional Identification of Optimized RNAi Triggers Using a Massively Parallel Sensor Assay. *Mol Cell.* 41:733–746.
- Franco E, Friedrichs E, Kim J, Jungmann R, Murray R, Winfree E & Simmel FC (2011) Timing molecular motion and production with a synthetic transcriptional clock. *PNAS.* 108: E784–E793.
- Fraser D (1973). The evolution of the British Welfare State; a history of social policy since the Industrial Revolution. London: Macmillan. pp.1-161
- Garriga-Canut M, Agustín-Pavón C, Herrmann F, Sánchez A, Dierssen M, Fillat C & Isalan M (2012) Synthetic zinc finger repressors reduce mutant huntingtin expression in the brain of R6/2 mice. *PNAS.* E3136–E3145.
- Gibson DG, Benders GA, Axelrod KC, Zaveri J, Algire MA, Moodie M, Montague MG, Venter JC, Smith HO & Hutchison CA (2008) One-step assembly in yeast of 25 overlapping DNA fragments to form a complete synthetic *Mycoplasma genitalium* genome. *PNAS.* 105: 20404–20409.
- Guido NJ, Wang X, Adalsteinsson D, McMillen D, Hasty J, Cantor CR, Elston TC & Collins JJ (2006) A bottom-up approach to gene regulation. *Nature.* 439: 856–860.
- Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, Soulier J, Lim A, Morillon E, Clappier E, Caccavelli L, Delabesse E, Beldjord K, Asnafi V, MacIntyre E, Cortivo LD, Radford I, Brousse N, Sigaux F, Moshous D, Hauer J, Borkhardt A, Belohradsky BH, Wintergerst U, Velez MC, Leiva L, Sorensen R, Wulffraat N, Blanche S, Bushman FD, Fischer A & Cavazzana-Calvo M (2008) Insertional oncogenesis

# Artículos

- in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest.* 118: 3132–3142.
- Iglesias P & Ingalls B (2010) A Primer on Control Engineering. *In: Control theory and systems biology (EIB)*. Cambridge, Mass: MIT Press. pp. 1-28
- Jaschke PR, Lieberman EK, Rodríguez J., Sierra A & Endy D (2012) A full decompressed synthetic bacteriophage øX174 genome assembled and archived in yeast. *Virology*, 434: 278–284.
- Jungmann R, Renner S & Simmel FC (2008) From DNA nanotechnology to synthetic biology. *HFSP J.* 2:99–109.
- Justin GA, Zhang Y, Cui XT, Bradberry CW, Sun M & Sclabassi RJ (2011) A Metabolic Biofuel Cell: Conversion of Human Leukocyte Metabolic Activity to Electrical Currents. *J Biol Eng.* 5:5.
- Kindsmüller K & Wagner R (2011) Synthetic biology: impact on the design of innovative vaccines. *Hum Vac.* 7: 658–662.
- Klipp E, Herwig R, Kowald A, Wierling C & Lehrach H. (2005) Systems biology in practice: concepts, implementation, and application. Weinheim: Wiley-VCH. pp. 3-103
- Kremling A & Saez-Rodriguez J (2007) Systems biology—An engineering perspective. *J Biotechnol.* 129: 329–351.
- Leduc S (1912) La biologie synthétique, étude de biophysique. Ed. Poinat A.
- Lee SY, Mattanovich D & Antonio Villaverde A (2012) Systems metabolic engineering, industrial biotechnology and microbial cell factories. *Micro Cell Fac.* 11:156.
- Lu TK & Collins JJ (2009) Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *PNAS.* 106: 4629–4634.
- Lucks JB, Qi L, Mutalik VK, Wang D & Arkin AP (2011) Versatile RNA-sensing transcriptional regulators for engineering genetic networks. *PNAS.* 108: 8617–8622.
- Marisch K, Bayer K, Cserjan-Puschmann M, Luchner M & Striedner G. (2013). Evaluation of three industrial *Escherichia coli* strains in fed-batch cultivations during high-level SOD protein production. *Micro Cell Fac.* 12:58.
- Medema MH, Breitling R, Bovenberg R & Takano E (2011) Exploiting plug-and-play synthetic biology for drug discovery and production in microorganisms. *Nat Microbiol.* 9:131–137.
- Ming YM, Wei ZW, Lin CY & Sheng GY. (2010). Development of a *Bacillus subtilis* expression system using the improved Pglv promoter. *Mic. Cell Fac.* 9:55.
- Moser F, Broers NJ, Hartmans S, Tamsir A, Kerkman R, Roubos JA, Bovenberg R & Voigt CA (2012) Genetic Circuit Performance under Conditions Relevant for Industrial Bioreactors. *ACS Synth. Biol.* 1: 555–564.
- Ogata K. (2010). Modern control engineering. Boston, MA: Prentice-Hall. pp.1-40

# Artículos

- Oldham P, Hall S & Burton G (2012) Synthetic Biology: Mapping the Scientific Landscape. *PLoS ONE* 7(4): e34368.
- Ortiz ME & Endy D (2012) Engineered cell-cell communication via DNA messaging. *J Biol Eng.* 6:16.
- Sayut DJ, Niu Y & Sun L (2009) Construction and Enhancement of a Minimal Genetic ADN Logic Gate. *ACS Chem. Biol.* 75: 637–642.
- Sleight SC, Bartley BA, Lieviant JA & Sauro HM (2010) Designing and engineering evolutionary robust genetic circuits. *J Biol Eng.* 4:12.
- Stephanopoulos G (2007) Challenges in engineering microbes for biofuels production. *Science.* 315: 801–804.
- Stratton MM & Loh SN (2011) Converting a protein into a switch for biosensing and functional regulation. *Prot Sci.* 20:19–29.
- Swilling M (2013) Economic crisis, long waves and the sustainability transition: An African perspective. *Env. Inn. & Soc. Trans.* 6:96-115
- Tang W, Ehrlich I, Wolff SBE, Michalski AM, Wöfl S, Hasan MT, Lüthi A & Sprengel R (2009) Faithful Expression of Multiple Proteins via 2A-Peptide Self- Processing: A Versatile and Reliable Method for Manipulating Brain Circuits. *J Neurosci.* 29: 8621– 8629.
- Verrier JD, Madorsky I, Coggin WE, Geesey M, Hochman M, Walling E, Daroszewski D, Eccles KS, Ludlow R, Semple-Rowland SL. (2011). Bicistronic Lentiviruses Containing a Viral 2A Cleavage Sequence Reliably Co-Express Two Proteins and Restore Vision to an Animal Model of LCA1. *PLoS ONE.* 6(5): e20553.
- Voigt CA (2006) Genetic parts to program bacteria. *Curr Opin Biotechnol.* 17:548–557.
- Wang B, Kitney RI, Joly N & Buck M (2011) Engineering modular and orthogonal genetic logic gates for robust digital-like synthetic biology. *Nat Comm.* 2:508.
- Wang Y & Liang S. (2013). Carbon dioxide mitigation target of China in 2020 and key economic sectors. *Energ. Pol.* 58:90-96.
- Win MN & Smolke CD (2008) Higher-order cellular information processing with synthetic RNA devices. *Science.* 322: 456–460.
- Xia XX, Qian ZG, Ki CS, Park YH, Kaplan DK & Lee SY (2010) Native-sized recombinant spider silk protein produced in metabolically engineered *Escherichia coli* results in a strong fiber. *PNAS.* 107: 14059-14063.
- Xu J, & Lavan DA (2008) Designing artificial cells to harness the biological ion concentration gradient. *Nat Nanotechnol.* 3: 666–670.
- Ye H, Charpin-El Hamri G, Zwicky K, Christen M, Folcher M & Fussenegger M (2013) Pharmaceutically controlled designer circuit for the treatment of the metabolic syndrome. *PNAS.* 110: 141–146.
- Yeh BJ, Rutigliano RJ, Deb A, Bar-Sagi D & Lim WA. 2007. Rewiring cellular

# Artículos

morphology pathways with synthetic  
guanine nucleotide exchange factors.

*Nature*. 447: 596–600.