



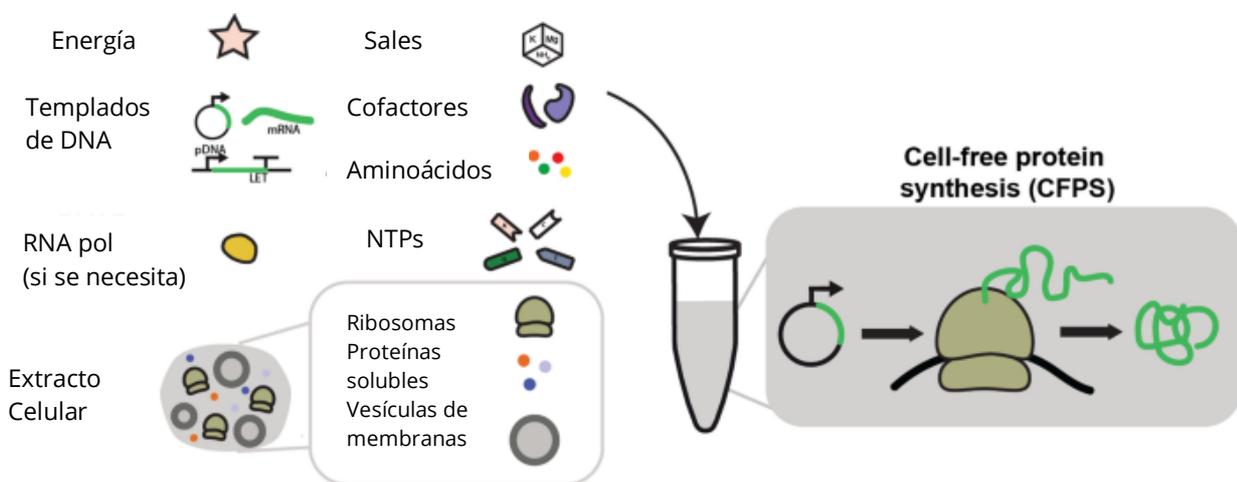
Elaborado por:
Dr. Fernando Guzmán Chávez
Instituto de Investigaciones Biomédicas-UNAM
PROYECTO DGAPA-PAPIME (PE202023)

Tópico Selecto de Biología Sintética

Síntesis *in vitro* de proteínas fluorescentes mediante la tecnología de Cell-Free

Introducción

La biología sintética (SynBio) es un campo de investigación que aplica los principios básicos de la ingeniería en el (re)diseño efectivo de organismos vivos y sistemas de tipo biológico a fin de generar un conjunto de resultados deseados dando nuevas soluciones a problemas globales de salud, agricultura, cambio climático y manufactura de productos de alto valor, lo que ha ampliado, a largo de dos décadas de exitosos resultados, las fronteras de las ciencias bioquímicas, biotecnológicas y biomédicas (Hanczyc, 2020; Gallup et al., 2021) Esta novedosa disciplina ha comenzado a permitir la producción bajo demanda continua (o receptiva) de productos bioquímicos, terapéuticos, de investigación, agronómicos, entre otros a través de esfuerzos continuos que utilizan tecnologías de células completas o sistemas libres de ellos (CFP) así como con el desarrollo sinérgico con la ciencia de materiales (Kelwick, et al., 2020). Los sistemas libres de células (cell-free) son una importante plataforma tecnológica que se caracteriza por la transcripción y traducción *in vitro* de proteínas. Una reacción típica de *cell-free* consta de i) extracto celular proveniente de fuentes tan diversas como lisados celulares de levaduras, células de tabaco, reticulocitos de conejo, *Streptomyces* o *E. coli* (siendo este último el más común), los cuales contienen los factores de transcripción auxiliares y ribosomas, necesarios para la producción de proteínas. ii) Una mezcla de suministros clave tales como aminoácidos, sales, agentes de hacinamiento, nucleótidos trifosfato (NTPs), un ambiente homeostático y un sistema de regeneración de ATP y iii) DNA circular o lineal en cuya secuencia se codifica la proteína de interés, como por ejemplo una proteína fluorescente (Guzman-Chavez et al., 2022).



Adaptado de Hershewe *et al.*, 20210

Referencias

Gallup, O., Ming, H., Ellis, T.: Ten future challenges for synthetic biology. *Eng. Biol.* 2021. 5(3), 51– 59 . <https://doi.org/10.1049/enb2.12011>

Guzman-Chavez F, Arce A, Adhikari A, Vadhin S, Pedroza-Garcia JA, Gandini C, Ajioka JW, Molloy J, Sanchez-Nieto S, Varner JD, Federici F, Haseloff J. Constructing Cell-Free Expression Systems for Low-Cost Access. *ACS Synth Biol.* 2022 Mar 18;11(3):1114-1128. doi: 10.1021/acssynbio.1c00342. Epub 2022 Mar 8. PMID: 35259873; PMCID: PMC9098194.

Hanczyc MM. Engineering Life: A Review of Synthetic Biology. *Artif Life.* 2020 Spring;26(2):260-273. doi: 10.1162/artl_a_00318. Epub 2020 Apr 9. PMID: 32271630.

Hershowe, J., Kightlinger, W. & Jewett, M.C. Cell-free systems for accelerating glycoprotein expression and biomanufacturing. *J Ind Microbiol Biotechnol* **47**, 977–991 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10295-020-02321-4>

Kelwick RJR, Webb AJ, Freemont PS. Biological Materials: The Next Frontier for Cell-Free Synthetic Biology. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020 May 12;8:399. doi: 10.3389/fbioe.2020.00399. PMID: 32478045; PMCID: PMC7235315

Stark JC, Huang A, Hsu KJ, Dubner RS, Forbrook J, Marshalla S, Rodriguez F, Washington M, Rybnicky GA, Nguyen PQ, Hasselbacher B, Jabri R, Kamran R, Koralewski V, Wightkin W, Martinez T, Jewett MC. BioBits Health: Classroom Activities Exploring Engineering, Biology, and Human Health with Fluorescent Readouts. *ACS Synth Biol.* 2019 May 17;8(5):1001-1009. doi: 10.1021/acssynbio.8b00381. Epub 2019 May 7. PMID: 30925042.

Material Elaborado por: Dr. Fernando Guzmán Chávez y el Dr. José Antonio Pedroza García, los plásmidos fueron exclusivamente creados para esta práctica por el Dr. Fernando Guzmán Chávez. Se agradece el apoyo del **PROYECTO DGAPA-PAPIME (PE202023)** para el desarrollo de este material.