

Diseño, implementación, re-diseño, re-implementación, ..., de un biosensor

Design, implementation, re-design, re-implementation, ... of a biosensor

Dr. Alejandro D. Nadra

FCEyN-UBA, Argentina

alenadra@gmail.com

Prof. D.I. Adrian Teijeiro.

FADU-UBA, Argentina.

adriansteijeiro@gmail.com

Abstract

Argentina is one of the countries with more arsenic in its groundwater, having around 4,000,000 people exposed to its unnoticed consumption. Arsenic measurement in private wells is limited by the high costs, the need of specialized personnel and the distance to urban areas. The Industrial design and synthetic biology are combined in an innovative development that uses genetically modified bacteria to detect toxic arsenic levels in drinkable water.

Keywords: Creación interdisciplinaria; Articulación; Biosensor; Arsénico; Biología sintética

Introducción

El acceso al agua potable es un derecho humano básico. Esta premisa lejos de ser alcanzada parece ser un problema que se complejiza con los años siendo uno de los causantes de esta dificultad la presencia de contaminantes naturales y artificiales. Los reservorios o fuentes hídricas de donde se obtiene el agua para consumo, pueden presentar único tipo de contaminante principal que la vuelva no apta para el consumo, o mezclas de variada cantidad y complejidad de tóxicos.

El arsénico representa una amenaza importante para la salud pública cuando se encuentra en aguas subterráneas contaminadas, según la Organización Mundial para la Salud. El arsénico inorgánico está naturalmente presente en altos niveles en las aguas subterráneas de diversos países, entre ellos la Argentina, Bangladesh, Chile, China, la India, México y los Estados Unidos de América. Las principales fuentes de exposición para las personas son: el agua destinada a consumo humano, los cultivos regados con agua contaminada y los alimentos preparados con agua contaminada (Página de la OMS sobre arsénico).

La detección del contaminante Arsénico mediante un dispositivo es importante porque este carece de olor, sabor o color, y su exposición prolongada –aún a bajísimas concentraciones, del orden de partes por billón- a través del consumo de agua y alimentos contaminados puede causar desde lesiones cutáneas hasta cáncer. También se ha asociado a problemas de desarrollo, enfermedades cardiovasculares, neurotoxicidad y diabetes.

Debido a la problemática planteada, se hace necesaria la detección de arsénico cuando este se encuentra por

encima de los niveles estipulados por los organismos que garantizan la salud, en fuentes de suministro de agua (actualmente 50 microgramos por litro en Argentina). Estas determinaciones suelen tener la dificultad de ser costosas, necesitar personal altamente calificado y de difícil disponibilidad (cantidades no masivas) debido a los recursos materiales que para ello se utilizan.

Argentina es uno de los países con más arsénico en sus napas. Cerca de 4.000.000 de habitantes están expuestos a su consumo inadvertido. La medición de arsénico en los pozos domiciliarios está limitada por los altos costos y por la lejanía a zonas urbanas. En este trabajo, el diseño industrial y la biología sintética se combinan en un desarrollo innovador que utiliza bacterias modificadas genéticamente para detectar arsénico en agua de consumo.

Procedimientos metodológicos

Nuestro objetivo es brindarle a la población un kit accesible que permita advertir sobre la presencia de niveles tóxicos de contaminantes en el agua de consumo. El dispositivo se basa en bacterias modificadas genéticamente para que cambien de color en presencia de arsénico. El nivel del contaminante se mide comparando con patrones de referencia. De uso sencillo y bajo costo, le permite al ciudadano evaluar si es tóxico el nivel de arsénico en su agua de pozo.

El producto motivo de este estudio, se pensó como un kit de análisis de agua que permita determinar e informar al usuario la presencia de arsénico, y si este aparece en cantidades como para calificar el agua como no potable o no apta para el consumo humano. Este dispositivo tiene como objetivo

ser accesible en cuanto a lo económico y en cuanto a lo operativo, también fácil de ser distribuido y de ser adquirido por quienes lo pueden llegar a necesitar (generalmente poblaciones rurales y vulnerables).

El dispositivo utiliza como principio activo, base de su funcionamiento, un bioreactivo, creado a partir de bacterias *E. coli* modificadas genéticamente para que cambien de color en presencia de arsénico. Esto se logra mediante la combinación de un gen que detecta arsénico, con otro que produce color rojo acoplado al primero. En un principio, se introdujo un sistema de *feed forward incoherente* para independizar la señal de la variable tiempo y que solo dependa de la concentración de contaminante. El trabajo en torno de este diseño nos valió una medalla de oro en final de las competencias iGEM (ver resumen de premiación iGEM 2013). Sin embargo, la complejidad del diseño, que requirió la incorporación de varios genes extra (mas detalles en la Wiki del equipo iGEM Buenos Aires 2013), lo hizo menos robusto para funcionar en condiciones no controladas, por lo que se decidió excluirlo e incluir un control interno de crecimiento y desarrollo de color. El nivel del contaminante se mide comparando con patrones de referencia, cuyo punto medio está calibrado con el permitido actualmente en Argentina de 50 microgramos por litro. De uso sencillo y bajo costo, se diseñó para que el ciudadano evalúe si es tóxico el nivel de arsénico en su agua de pozo.

El biosensor de arsénico en agua ha sido diseñado para comercializarse como un kit que permita realizar una determinación del agua en evaluación, por un usuario no calificado, quien adquirió el producto para saber si el agua que consume es o no potable.

La facilidad con que se pueden reproducir las bacterias y la baja concentración que de estas se necesitan hace que el producto se pueda producir en forma masiva y con un costo ínfimo del agente activo.

Al estar basado en bacterias, no se requiere purificación de principios activos. La biomasa que se genera al cultivarlas es directamente el "sistema" de medición. Estas características, redundan en un bajo costo de producción e independencia de suministros importados.

Los procesos productivos permitirán una manufactura masiva que hará factible su uso extensivo a lo largo de todo el territorio y, eventualmente, su exportación.

El sistema propone una plataforma integral, donde está incluido todo lo necesario para realizar el test.

Se trata de un desarrollo pionero e innovador ya que es el primer ejemplo de biosensor doméstico, basado en biología sintética que saldría del ámbito académico a nivel mundial. Su diseño modular puede permitir la detección de otros contaminantes introduciendo cambios mínimos (i.e. el gen responsable de la detección).

El proyecto se originó de forma atípica e innovadora: en el contexto de una competencia internacional de biología sintética iGEM (International genetic engineered machines) en 2013, este marco propone un ámbito de aprendizaje, colaborativo de ciencia abierta donde se intercambia conocimiento en una comunidad internacional. Esta competencia originó la base para generar el desarrollo a nivel biológico.

La biología sintética es una rama de la ciencia que nace de la interacción multidisciplinaria, entre la ingeniería electrónica y la biología molecular. Es a partir de ese diálogo que se comienzan a diseñar circuitos basados en material biológico, lo que pronto evolucionó al diseño de máquinas biológicas. Estas máquinas pueden ser "tan sencillas" que las construyen estudiantes de grado durante un verano (igem.org) o tan complejas, como el desafío –aun en progreso- de diseñar formas de vida artificial. El enfoque ingenieril de este conocimiento llevó al diseño de bio-bloques (fragmentos de cadena de ADN estandarizados) fácilmente acoplables unos con otros. A su vez, la abstracción de las funciones por ellos codificadas y su modularización simplifican la tarea de insertar y programar funciones novedosas en una célula viva. Estos módulos están disponibles en comunidades científicas de intercambio (Registro de partes biológicas) y las técnicas de uso son *Open Source*.

Esta visión colaborativa no se limita a lo metodológico experimental sino que se extiende también al financiamiento. El *crowdfunding* ha sido una fuente muy significativa de financiamiento, que permitió al equipo iGEM Buenos Aires 2013 (Proyecto Sensor, biosensores de agua en idea.me) reunir los fondos para viajar, a los países sede de las competencias regional (Chile) y mundial (Estados Unidos de América). Como retribución a los colaboradores se les entregaron recompensas, relacionadas con el proyecto.

El conocimiento que genera la innovación proviene de varias disciplinas distintas pero sobretodo se basa en el trabajo interdisciplinario. De las disciplinas involucradas (biología,



Figura 1:Manual de uso del producto, diseñado para facilitar comprensión del método

química, computación, física y diseño industrial) se destacan dos: la Biología Sintética (en base a la cual se diseñó y se armó el sistema genético que da origen al sensorado del contaminante y a la lectura del resultado a través de la producción de una molécula coloreada) y el Diseño Industrial de productos (para el diseño y armado de una carcasa que alojara a las bacterias sensoras, permitiéndoles mantenerse viables y desarrollar el color, cumpliendo con los protocolos de bioseguridad). Definidas las áreas se necesitó de especialistas con diversas habilidades según disciplina, pero con un objetivo común.

Las capacidades de trabajo de investigación transdisciplinaria y conjunta de estas dos especialidades debieron hermanarse desde el inicio, siendo complementarias. Esto fue requisito para solucionar problemas que atentaban contra la factibilidad y viabilidad de crear un producto real, que trata de llegar al usuario final, quien debe conocer el estado del agua que quiere utilizar.

Estos desafíos surgen, cuando se quiere superar la investigación científica básica, propiciando la implementación social y futura transferencia tecnológica. Esta enriquecedora experiencia ha sido descrita en un artículo reciente (Nadra 2015).

Uno de los objetivos que se mencionó, es que el dispositivo pueda ser utilizado por personas sin capacitación, previa. En este punto el lenguaje de producto acompañado por un instructivo con graficas icónicas, representó toda un área de trabajo, que tuvo una evolución progresiva.

En términos de métodos, en una etapa inicial y propositiva se utilizaron Herramientas de *designThinking*, que permitió generar varias soluciones.

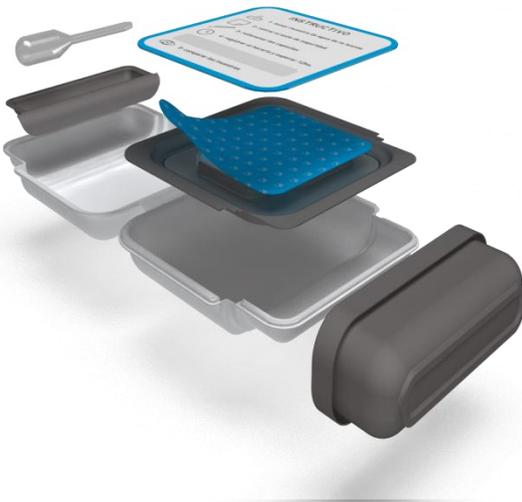


Figura 2: Primer modelo virtual del dispositivo de sensorado, Realizado con programas CAD Paramétricos

Durante la fase de desarrollo del contenedor se usaron programas de CAD paramétrico, lo que permitió optimizar al máximo el diseño y facilitar la toma de decisiones mediante la verificación de las soluciones propuestas en tiempo real.

Esto facilitó el intercambio de modelados entre los responsables del diseño, llevando adelante un trabajo colectivo y colaborativo de múltiples profesionales que trabajaron en conjunto en un mismo tiempo y lugares distintos.

El proceso fue evolucionando en varias etapas, donde se pasó por varios diseños, rediseño y pruebas funcionales, que permitieron mejorar tanto el producto como la comunicación entre partes (siendo este último un requisito indispensable al que suele subestimarse).



Figura 3: Segundo modelo virtual del dispositivo de sensorado, Realizado con programas CAD Paramétricos

Se utilizaron varios prototipos funcionales para verificar situaciones de uso en entornos controlados. Esto fue posible a partir de pruebas con prototipos rápidos mediante impresiones 3D. Esta técnica también se utilizó para la realización de matrices provisionales, en ensayos productivos.



Figura 4: Modelo 2, Prototipo funcional generado por impresión 3D

Las piezas virtuales en programas poligonales paramétricas, permitieron, la fabricación de matrices mediante fresadoras de control numérico. Enviando los archivos a los proveedores sin necesidad de entrar en contacto real con los mismos, hasta el momento de ir a retirar las matrices.

Como etapas de organización, para cumplir con los objetivos del desarrollo se definieron Módulos de evaluación tecnológica (MET) como hitos a ser cumplidos (actualmente en proceso de ejecución).

Met 1- Desarrollo de los organismos sintéticos en laboratorio.
Met 2- Propuesta y desarrollo prototipo de la carcasa que conservara las bacterias hasta su uso, sustentable y biosegura.

Met 3- Validación del dispositivo con la incorporación de las bacterias.

Met 4- Validación del método y calidad del funcionamiento durante el censado controlado y en campo.

Met 5- Desarrollo de medio productivo, diseño y armado de la línea de montaje.

Met 6- Evaluación del producto en el mercado, en condiciones de uso reales.

Para realizar la gestión del proyecto entre los distintos actores se implementaron métodos colaborativos mediante plataformas 2.0 de gestión del conocimiento como *Google Drive*, *Google Docs*, *Ganter*, *HangOut*, entre otros.

Resultados

Utilizando herramientas de biología sintética hemos diseñado un biosensor específico para detectar arsénico en agua de consumo, económico y fácil de usar. El sistema

propone una plataforma integral, donde está incluido todo lo necesario para realizar el test. Se espera que cualquier usuario con un instructivo basado en imágenes, pueda determinar fácil y rápidamente la presencia del contaminante. Las bacterias se encuentran selladas, lo que las aísla del contacto con el usuario. La carcasa es liviana, resistente y permitirá un fácil transporte aún a temperatura ambiente.



Figura 5: Ultimo dispositivo de sensado, Modelo Virtual

El dispositivo es de costo, accesible y fácil de utilizar, funciona de manera similar a un test de embarazo, con una interfaz gráfica y ergonómica que no requiere de un usuario calificado. Materializadas en termoplástico, conformado en moldes, delgadas y resistentes, sus partes se unen y se sellan luego de colocadas las bacterias, dando lugar a un compartimiento seguro y estanco. Se adicionan las gráficas, los sellos autoadhesivos y todas las partes se introducen en un empaque hermético termo sellado.



Figura 6: Ultimo dispositivo de sensado, Prototipo Funcional

Discusión

Para llevar a cabo un proyecto como este, deben compatibilizar saberes que actualmente se adquieren en distintos ámbitos. Esa compatibilización de saberes difícilmente se da por la yuxtaposición de los mismos, sino que hace falta una articulación (que a su vez requiere la confluencia en un lenguaje común) que sigue representando un desafío para conectar una idea con su implementación práctica.

Creemos que ese lenguaje común se construye mediante el trabajo con objetivos concretos. La interacción se hace más sencilla cuando las distintas disciplinas encuentran un punto de unión, en objetivos que se pueden plasmar en la realidad. El llegar al objeto físico, palpable en una etapa temprana, donde todos los actores hablan delante del objeto, mejora el entendimiento de como modelamos la realidad según los marcos teóricos que nos genera nuestra formación profesional. Asimismo, el proceso iterativo contribuye a encontrar errores de diseño o de concepto en etapas tempranas del desarrollo.

Por otro lado, el hecho de que la finalidad del trabajo, responda a contribuir a resolver un problema social, que afecta a poblaciones vulnerables, contribuye a que, en los momentos de tensiones y diferencias, este objetivo se sobreponga a los inconvenientes y permita que todos los involucrados encuentren rápidamente el foco.

La constante interacción entre miembros con distintas formaciones y la búsqueda común de un objetivo bien definido, permite hallar métodos de trabajo donde se pasa de un trabajo multidisciplinario a uno transdisciplinario donde el todo es claramente mas que la suma de las partes. En este camino las nuevas tecnologías son una herramienta que acompañan y allanan el camino. Pensamos que la dinámica para alcanzar este objetivo, dista de ser único y es un proceso constructivo que dependerá de los personajes que forman parte del trabajo.

Faltan pocos pasos para terminar de completar la transferencia tecnológica y lograr que todo el sistema sea sustentable, permitiendo que llegue al usuario final con presencia en el mercado y accesibilidad por parte de quienes lo necesitan.

Agradecimientos

Desde que comenzó el proyecto para crear un biosensor de arsénico a fines de 2012, fueron muchos los actores que intervinieron y dejaron su aporte. Los avances realizados dependieron de múltiples instituciones, recursos, financiamientos y esfuerzos individuales. Tal vez lo contribución más importante se debió a alumnos, profesores y profesionales que en forma desinteresada brindaron horas de su tiempo con el fin de crear una herramienta que permita

mejorar la calidad de vida de aquellas personas que sufren el flagelo de la contaminación en agua con Arsénico. Agradecemos a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA y a GarageLab por ofrecer un marco donde empezar a pensar proyectos como este y especialmente a B. Basanta, H. Bonomi, N. Carlotto, M. Giménez, A. Grande, N. Nieto Moreno, F. Barone, F. Dorr, L. Marasco, S. Mildiner, I. Patop, S. Sosa, L. Vattino, F. Vignale por dar los pasos iniciales con el diseño biológico. A Romina Mathieu, Luciana Feo Mourelle por los prototipos físicos y particularmente a ellas y a I. Patop, S. Sosa y F. Vignale por llevar el proyecto hasta el nivel de merecer el premio de producto innovador en Innovar 2014 (página de premiación de Innovar 2014). Por otro lado, queremos agradecer a MINCYT, SPU y a quienes nos apoyaron en la campaña de idea.me, por financiar el proyecto en sus etapas tempranas, así como a la ANPCYT por otorgarnos financiamiento hacia mediados de 2016 que permitirá continuar con el desarrollo del producto.

Referencias

- International genetic engineered machines. <http://igem.org>
- Nadra AD. (2015) SensAr: producto innovador, experiencia excepcional. Revista QuímicaViva. Número 1, año 14, Abril 2015 <http://www.quimicaviva.gb.fcen.uba.ar/v14n1/nadra.html/>
- Página de la OMS sobre arsénico <http://www.who.int/topics/arsenic/es/>
- Página de premiación de Innovar 2014 <http://www.mincyt.gob.ar/noticias/se-conocieron-los-ganadores-del-concurso-innovar-2014-10675>
- Proyecto Sensar, biosensores de agua en idea.me del equipo iGEM Bs As 2013. <http://www.idea.me/proyectos/10897/sensar-biosensores-de-agua/>
- Registro de partes biológicas. <http://partsregistry.org>
- Resumen de premiación iGEM 2013. <http://igem.org/Results?year=2013>
- Wiki del equipo iGEM Buenos Aires 2013. http://2013.igem.org/Team:Buenos_Aires