UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DOUTORADO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO – ASSOCIAÇÃO DCCMAPI

PAULO ROBERTO SILVA MARCOS

ESTUDO DIRIGIDO I: Síntese de circuitos biológicos



São Luís

2026

PAULO ROBERTO SILVA MARCOS

ESTUDO DIRIGIDO I: Síntese de circuitos biológicos

Relatório Técnico de estudo dirigido apresentado ao programa de pós-graduação doutorado em ciência da computação - associação UFMA/UFPI.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Cesar M. de Oliveira

São Luís

2026

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Marcos, Paulo Roberto Silva.

LOCAL PARA INSERÇÃO DA FICHA CATALOGRÁFICA

RESUMO

Este estudo explora os princípios fundamentais do projeto de circuitos biológicos, destacando como conceitos da ciência da computação e da engenharia podem ser aplicados à biologia sintética. A análise abrange desde os mecanismos básicos de expressão gênica até arquiteturas complexas de regulação, como feedback positivo e negativo, loops de realimentação direta e incoerente, além da influência do ruído estocástico na variabilidade celular. O trabalho evidencia que, embora os circuitos biológicos operem em ambientes altamente ruidosos e interdependentes, tais características podem ser aproveitadas para funções úteis, como memória celular, robustez e adaptação. As aplicações discutidas incluem terapias celulares programáveis, biocomputação e estratégias de medicina personalizada, reforçando o potencial transformador da programação celular como fronteira da biotecnologia moderna.

Palavras-chave: Circuitos biológicos. Genes. Biologia sintética.

ABSTRACT

This study explores the fundamental principles of biological circuit design, highlighting how computer science and engineering concepts can be applied to synthetic biology. The analysis spans from basic mechanisms of gene expression to complex regulatory architectures, such as positive and negative feedback, coherent and incoherent feed-forward loops, and the influence of stochastic noise on cellular variability. The work demonstrates that although biological circuits operate in highly noisy and interdependent environments, these characteristics can be leveraged for useful functions, including cellular memory, robustness, and adaptation. The discussed applications include programmable cell therapies, biocomputing, and personalized medicine strategies, reinforcing the transformative potential of cellular programming as a frontier of modern biotechnology.

Keywords: Biological circuits. Genes. Synthetic biology.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAR-T	Chimeric Antigen Receptor T-cell
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
DNA	Deoxyribonucleic Acid
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
E. coli	Escherichia coli
LuxR	Regulador Lux
FFL	Feedforward Loop
IFFL	Incoherent Feedforward Loop
MeCP2	Methyl CpG Binding Protein 2

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Circuito biológicos básicos 14
Figura 2 – Expressão gênica básica não regulada 15
Figura 3 – Expressão gênica básica não regulada na transcrição e tradução 16
Figura 4 – Um repressor se liga reversivelmente ao seu operador 17
Figura 5 – Taxa de produção adimensional versus número de cópias do repressor e *leak* 18
Figura 6 – Rede regulatória transcricional de um organismo 19
Figura 7 – Circuito com autorregulação positiva 21
Figura 8 – Curvas de produção e remoção ilustrando pontos fixos 21
Figura 9 – Arquitetura do interruptor de alavanca sintético por Gardner, Cantor e Collins 22
Figura 10 – Motifs de três nós 23
Figura 11 – Estruturas com regulação coerente e incoerente 24
Figura 12 – Um circuito simples de compensação de dosagem 26
Figura 13 – Diagrama de um repressilator com 3 genes 27
Figura 14 – Equações diferenciais de concentração das proteínas 28
Figura 15 – Regiões de instabilidade promovem oscilações 28
Figura 16 – Sequência de expressões e as equações diferenciais de cada etapa 30
Figura 17 – Diagrama de circuito oscilador de gene simples 30
Figura 18 – Diagrama linear de estabilidade no plano $\tau - \beta$ 31
Figura 19 – Portadora, sinal modulante e sinais modulados em AM e FM 32
Figura 20 – Modulação da expressão de proteína em analogia à AM/FM 32
Figura 21 – Graus de sensibilidade de concentração e função de ativação de hill 34
Figura 22 – Caminhos para ligação promíscua 35
Figura 23 – Semelhança entre vias de sinalização e redes neurais 36
Figura 24 – Experimentos de Rotman e Dellbrück 37
Figura 25 – Ruído celular 38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 PROJETO DE CIRCUITOS BIOLÓGICOS 14
2.1 Conceitos básicos da expressão gênica 14
2.2 Princípios de design que regem a taxa de expressão gênica 19
2.3 Interruptores aderentes: biestabilidade por meio de *feedback* positivo 20
2.4 Análise de malhas de realimentação direta 22
2.5 Os circuitos de realimentação incoerentes atuam como compensadores de dosagem 25
2.6 Bactérias piscantes: o repressilador possibilita oscilações autossustentáveis 26
2.7 Aplicações, simplificações e elaborações de osciladores de realimentação negativa .. 29
2.8 Regulação baseada na temporização celular 31
2.9 A titulação molecular gera respostas ultrassensíveis em circuitos biológicos 33
2.10 Interações promíscuas entre receptores e ligantes e os efeitos na largura de banda e comunicação célula-célula. 35
2.11 A natureza ruidosa da expressão gênica 36
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS 40
REFERÊNCIAS 41

1 INTRODUÇÃO

O interesse no desenvolvimento de sistemas biológicos genéticos tem crescido a cada dia e vem revolucionando diversas áreas, tais como medicina de precisão, biotecnologia industrial e bioeletrônica. Os avanços recentes incluem terapias celulares programáveis, integração com microeletrônica e aplicações em diagnóstico inteligente, com expectativas de expandir para medicina personalizada e biocomputação.

Estratégias quem empregam a síntese de circuitos lógicos advindos da álgebra booleana, como portas NOT, AND, OR, XOR e aplicações como somadores e multiplexadores, podem proporcionar meios para detecção de doenças ou condições de saúde desfavoráveis permitindo a atuação celular por meio de síntese ou supressão de proteínas no meio intra e intercelular como forma de atuação e controle terapêutico (Roas *et al.*, 2026)

Assim, nesse contexto, a programação celular representa uma das fronteiras mais fascinantes da biotecnologia moderna. Trata-se da aplicação de princípios da engenharia e da ciência da computação para redesenhar e instruir células vivas a realizar tarefas complexas, transformando-as em "computadores biológicos" ou "fábricas vivas" capazes de diagnosticar e tratar doenças de forma autônoma.

Como exemplos, podemos verificar a imunoterapia contra o câncer, em que linfócitos T, células do sistema imune, são retirados do paciente, modificados geneticamente para expressar receptores sintéticos e "reprogramados" para reconhecer e destruir alvos tumorais específicos, como estratégia fundamental para superar a imunossupressão do microambiente tumoral. (Vatsavai *et al*., 2025)

A investigação enfatiza que, ao reconfigurar respostas de células T e contornar mecanismos de evasão, seja por meio da inibição de checkpoints imunológicos do desenvolvimento de terapias celulares com receptores quiméricos de antígenos (CAR-T) ou da entrega de mRNA por nanopartículas, é possível reeducar o sistema imune para reconhecer e erradicar tumores com maior eficácia, pavimentando o caminho para tratamentos mais personalizados e de precisão contra neoplasias resistentes aos métodos convencionais.

Observamos que as possibilidades apresentam grande relevância tanto para o desenvolvimento de medicamentos quanto para terapias promovidas por células “programadas” para agir quando determinado contexto se apresenta. Entretanto, não se trata de tarefa simples, uma vez que, diferentemente dos circuitos de silício, que operam em estados determinísticos de 0 e 1, o ambiente celular é inerentemente estocástico.

Flutuações térmicas, variações na expressão gênica e o ruído molecular fazem com que um mesmo circuito genético se comporte de maneiras diferentes em duas células idênticas.

Além disso, o DNA não funciona como uma linguagem de programação linear, pois verifica-se que possui alto grau de interdependência, epigenética, controle pós-transcricional e rotas metabólicas entrecruzadas. Assim, alterar um único gene para inserir um módulo lógico pode desencadear efeitos colaterais imprevisíveis. (Mansouri; Fussenegger, 2022)

Como forma introdutória ao universo da programação celular, este estudo dirigido considerou como ponto de partida o estudo estruturado a partir do texto Biological Circuit Design, publicado em 2019, de autoria dos pesquisadores Michael Elowitz e Justin Bois, disponível no github[1], sendo percorrido a partir dos seguintes tópicos:

a) *Design principles governing the rate of gene expression*
b) *Sticky switches: bistability through positive feedback*
c) *Analysis of feedforward loops*
d) *Incoherent feed-forward loops serve as dosage compensators*
e) *Blinking bacteria: The repressilator enables self-sustaining oscillations*
f) *Uses, simplifications, and elaborations of negative feedback oscillators*
g) *Time-based regulation in cells*
h) *Molecular titration generates ultrasensitive responses in biological circuits*
i) *Promiscuous receptor-ligand interactions increase the bandwidth and specificity of cell-cell communication systems*
j) *The noisy, noisy nature of gene expression: How stochastic fluctuations create variation*

A seguir, serão apresentados os pontos principais de cada tópico extraídos a partir estudo progressivo da pesquisa indicada.

[1] Disponível em: https://biocircuits.github.io. Acesso em: 15 mar. 2026.

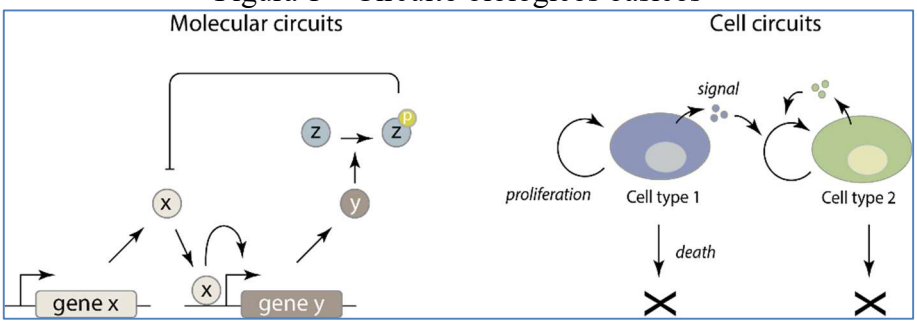
2 PROJETO DE CIRCUITOS BIOLÓGICOS

Para iniciar no campo do projeto de circuitos biológicos é imprescindível o estudo das dos termos e interações básicas entre os entes que governam as reações genéticas, manifestadas por meio da expressão ou inibição gênica, que ocorrem no meio intracelular.

2.1 Conceitos básicos da expressão gênica

Como ponto de partida, consideremos a Figura 1 extraída do capítulo 1 da obra supra indicada:

Figura 1 – Circuito biológicos básicos



Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

Observa-se a apresentação de dois circuitos biológicos básicos: i) circuito molecular, onde espécies moleculares interagem e regulam ou interagem com outras espécies moleculares; e ii) circuito celular, onde células em diferentes estados, de diferentes tipos, ou mesmo de diferentes espécies, sinalizam umas às outras para controlar o crescimento, a morte, a proliferação e a diferenciação umas das outras.

Nesse contexto, os autores elencam algumas questões, que foram sintetizadas na Tabela 1, onde se relacionam aspectos entre os circuitos eletrônicos e os circuitos biológicos.

Tabela 1 – Síntese dos aspectos relevantes existentes em circuitos biológicos e eletrônicos

Aspecto	Circuitos Eletrônicos	Circuitos Biológicos
Origem	Projetados e documentados por humanos	Evoluíram naturalmente, funções muitas vezes pouco compreendidas
Componentes	Transistores, resistores, capacitores	Moléculas, proteínas, células
Interações	Conexões limitadas e controladas, evitando interferências	Extensas redes de interações "promíscuas" (crosstalk), que podem gerar novas funções
Ruído (Noise)	Funcionamento determinístico, baixo nível de ruído	Alto nível de flutuações aleatórias; ruído pode ser explorado para comportamentos úteis

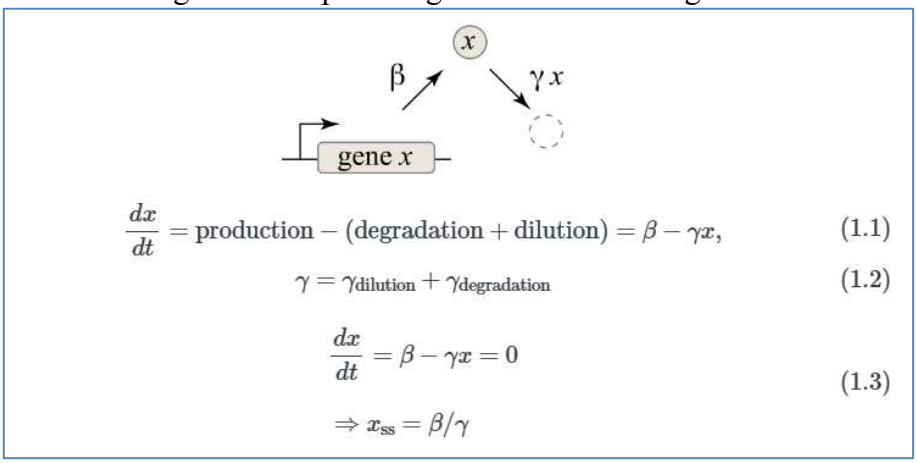
Sinais	Usam tensões e correntes positivas e negativas	Concentrações moleculares não podem ser negativas; usam mecanismos alternativos para inversão
Documentação	Bem definida, com especificações claras	Pouco documentados, especialmente os naturais
Capacidade de design	Alta precisão na construção, teste e comparação de projetos	Limitada; mesmo com CRISPR, ainda não alcança a precisão da engenharia eletrônica
Tendência futura	Estabilidade e miniaturização	Avanços rápidos em edição genética e biologia sintética, aumentando controle e previsibilidade

Fonte: adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

Entre as questões levantadas, podemos destacar que as interações entre redes extensas podem produzir novas funções, não planejadas, por meio do fenômeno do *cross-talk*; as concentrações moleculares não podem assumir valores negativos, mas apenas valores maiores ou iguais a zero; e que, embora haja alto nível de flutuações aleatórias, o ruído associado pode ser explorado para comportamentos úteis.

A expressão gênica pode se tratada, inicialmente, da seguinte forma:

Figura 2 – Expressão gênica básica não regulada



$$\frac{dx}{dt} = \text{production} - (\text{degradation} + \text{dilution}) = \beta - \gamma x, \quad (1.1)$$

$$\gamma = \gamma_{\text{dilution}} + \gamma_{\text{degradation}} \quad (1.2)$$

$$\frac{dx}{dt} = \beta - \gamma x = 0 \quad (1.3)$$

$$\Rightarrow x_{ss} = \beta/\gamma$$

Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

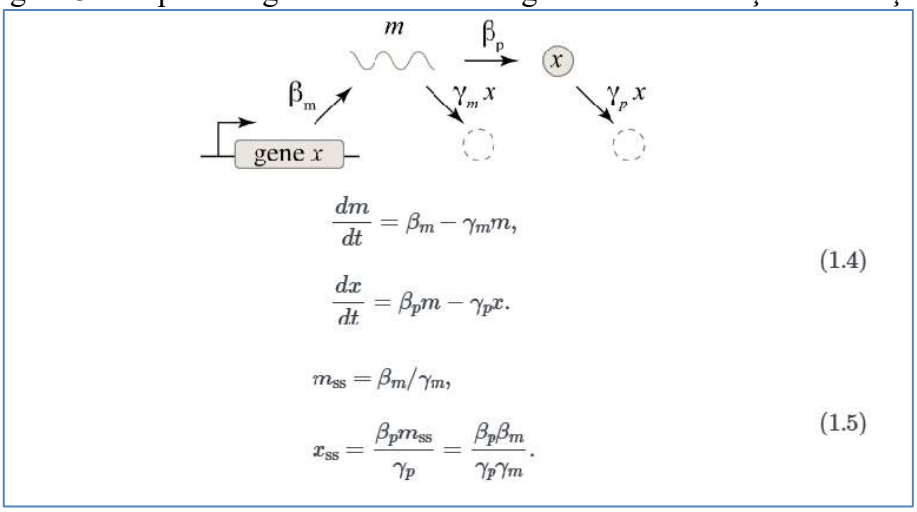
Um gene simples, chamado x, produz sua proteína a uma taxa constante (β). Ao mesmo tempo, cada molécula dessa proteína é removida a uma taxa também constante (γ), seja por degradação ou por diluição durante o crescimento celular. Esse equilíbrio entre síntese e remoção pode ser representado por uma equação diferencial ordinária, que descreve como a concentração da proteína varia ao longo do tempo.

No estado estacionário, ou seja, quando a condição em que a concentração da proteína não se altera mais, definimos a derivada temporal igual a zero. Nesse ponto, a quantidade de proteína presente é proporcional à razão entre a taxa de produção e a taxa de remoção. Assim,

para aumentar a concentração de uma proteína, é possível elevar sua taxa de produção ou reduzir sua taxa de degradação/diluição.

Esse modelo simples ajuda a compreender como diferentes fatores celulares influenciam os níveis de proteínas e como variações em estabilidade ou crescimento celular podem alterar esse equilíbrio. Assim, aprofundando o processo, a Figura 3 apresenta o diagrama e as equações que regem o processo de transcrição e tradução não reguladas de proteínas.

Figura 3 – Expressão gênica básica não regulada na transcrição e tradução



$$\frac{dm}{dt} = \beta_m - \gamma_m m, \qquad (1.4)$$

$$\frac{dx}{dt} = \beta_p m - \gamma_p x.$$

$$m_{ss} = \beta_m/\gamma_m,$$

$$x_{ss} = \frac{\beta_p m_{ss}}{\gamma_p} = \frac{\beta_p \beta_m}{\gamma_p \gamma_m}. \qquad (1.5)$$

Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

O processo de expressão gênica pode ser detalhado em duas etapas fundamentais: transcrição e tradução. Na transcrição, o DNA serve de molde para a produção de mRNA, que é sintetizado a uma taxa constante e degradado ao longo do tempo. Esse mRNA funciona como intermediário, carregando a informação genética até os ribossomos.

Ato contínuo, no processo de tradução, o mRNA é usado para produzir proteínas, também em uma taxa proporcional à sua quantidade, enquanto essas proteínas sofrem degradação ou diluição. Esse modelo é representado por equações diferenciais acopladas que descrevem a variação temporal das concentrações de mRNA e proteína.

Quando se busca o estado estacionário, ou seja, o ponto em que as concentrações não variam mais, observa-se que o nível de mRNA depende da razão entre sua taxa de síntese e degradação, enquanto o nível de proteína depende do produto das taxas de transcrição e tradução, dividido pelo produto das taxas de degradação de mRNA e proteína.

Esses fatos revelam que a célula pode controlar a quantidade final de proteína por diferentes mecanismos: ajustando a transcrição, a tradução, ou as taxas de degradação. Cada estratégia traz possíveis *trade-offs*, como rapidez de resposta ou estabilidade, e diferentes organismos podem favorecer uma ou outra forma de regulação conforme suas necessidades fisiológicas.

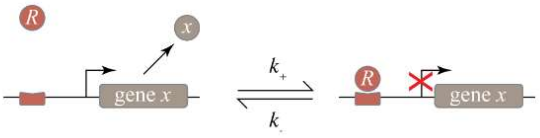
Um desses controles é efetuado por meio de repressores, que atuam no sentido de inibir a expressão de um gene. Repressores são proteínas que se ligam a sequências específicas próximas ao promotor, reduzindo ou bloqueando a transcrição. Esse mecanismo pode ser influenciado por moléculas externas chamadas efetores alostéricos.

Um exemplo clássico é o sistema da lactose em E. coli: o repressor LacI normalmente silencia os genes de utilização da lactose, mas na presença de lactose, o derivado alolactose se liga ao LacI e impede sua ação repressora, permitindo que os genes sejam ativados para metabolizar o nutriente.

Do ponto de vista dinâmico, o repressor alterna entre estados ligado e desligado ao promotor, e a expressão média do gene depende da fração de tempo em que o promotor está livre. Esse processo pode ser modelado por cinética de massa, considerando as concentrações de promotor livre, promotor ligado e repressor. Como as taxas de ligação e desligamento são rápidas em relação às variações de mRNA e proteína, assume-se um estado quase estacionário.

Assim, a taxa de produção do gene é proporcional à probabilidade de o promotor estar desocupado. Esse modelo revela que a célula pode modular a expressão gênica por meio das formas já comentadas, como ajustes na transcrição, na tradução, ou nas taxas de degradação de mRNA e proteína, cada uma com seus próprios *trade-offs* de eficiência, velocidade e estabilidade. A Figura 4 apresenta o modelo de repressão gênica e as equações que governam o processo.

Figura 4 – Um repressor se liga reversivelmente ao seu operador



$$\mathrm{P} + \mathrm{R} \underset{k_-}{\overset{k_+}{\rightleftharpoons}} \mathrm{P}_{\mathrm{bound}}. \tag{1.6}$$

$$\frac{\mathrm{d}p}{\mathrm{d}t} = -k_+ p r + k_- p_{\mathrm{bound}}. \tag{1.7}$$

$$-k_+ p r + k_- p_{\mathrm{bound}} = 0. \tag{1.8}$$

$$-k_+ p r + k_- (p_{\mathrm{tot}} - p) = 0, \tag{1.9}$$

$$\frac{p}{p_{\mathrm{tot}}} = \frac{1}{1 + r/K_{\mathrm{d}}}, \tag{1.10}$$

$$K_{\mathrm{d}} = \frac{k_-}{k_+} \tag{1.11}$$

$$\beta(r) = \beta_0 \frac{p}{p_{\mathrm{tot}}} = \frac{\beta_0}{1 + r/K_{\mathrm{d}}}. \tag{1.12}$$

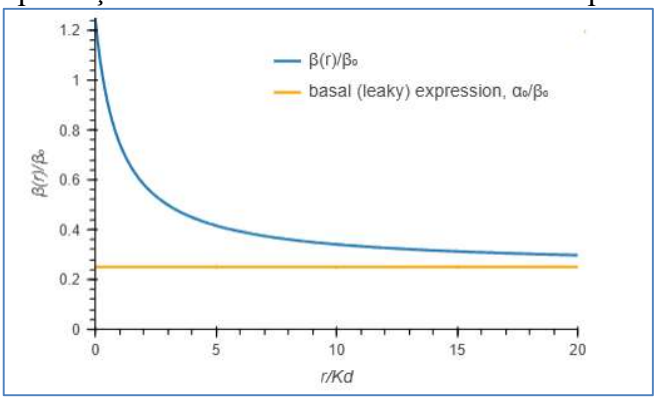
Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

Para o modelo estudado, a Equação 1.12 descreve que a taxa de produção de uma proteína é proporcional à probabilidade do promotor estar desligado, onde *R* ou *r* representam a concentração de repressor, *P* ou *p* a concentração de promotor livre (não ligado ao repressor),

p_{bound} é a concentração de promotor ligado ao repressor, p_{tot} é a concentração total de promotores (livres + ligados), k_+ é a constante de taxa de ligação do repressor ao promotor, k_- é a constante de taxa de desligamento (dissociação) do repressor, K_d é a constante de dissociação (razão entre k_- e k_+), $\beta(r)$ é a taxa de produção do produto gênico em função da concentração de repressor, e, por fim, β_0 é a Taxa máxima de produção gênica (quando não há repressão).

De outra forma, contrariamente ao efeito repressor, em que suprime-se a expressão gênica por meio de um repressor, os ativadores iniciam a expressão gênica antes inexistente ou em taxas de vazamento, que é extremamente muito baixa. A Figura 5 apresenta o modelo para esse caso.

Figura 5 – Taxa de produção adimensional versus número de cópias do repressor e *leak*



Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

onde *a* representa a concentração do ativador.

Enquanto os repressores reduzem a expressão ao se ligarem ao promotor, os ativadores aumentam a transcrição quando estão ligados. Assim, o estado ativo passa a ser aquele em que o promotor está ocupado pelo ativador. Pequenas moléculas externas, chamadas *efetores alostéricos*, também podem modular essa ligação, tornando o sistema sensível ao ambiente. Um exemplo clássico é o sistema de *quorum sensing* do tipo Lux em bactérias, no qual o fator de transcrição LuxR atua como ativador na presença de sua molécula sinalizadora específica.

Matematicamente, o modelo de ativação é semelhante ao da repressão, mas com efeito oposto, uma vez que a taxa de produção do produto gênico é proporcional à concentração de ativador ligado ao promotor. Isso gera uma resposta em "imagem espelhada" em relação à repressão, uma vez que quando o ativador está presente, a expressão aumenta, mas quando está ausente, a expressão é desligada.

Esse contraste demonstra como células podem usar tanto repressão quanto ativação para modular dinamicamente seus genes, ajustando a produção de proteínas conforme sinais internos e externos.

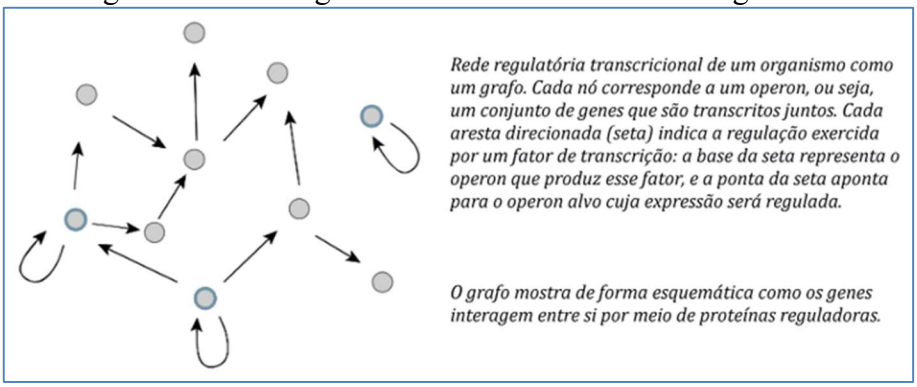
2.2 Princípios de design que regem a taxa de expressão gênica

A seção denominada *Design principles governing the rate of gene expression*, aborda como princípios de design influenciam a velocidade da expressão gênica. Entre os pontos principais estão o papel da estabilidade proteica, estratégias para acelerar respostas, a importância dos *motifs* de rede e como a autorregulação negativa reduz tempos de resposta.

A estabilidade das proteínas determina quão rápido uma célula consegue ajustar seus níveis em resposta a mudanças ambientais. Os autores comentam que proteínas muito estáveis demoram mais para atingir novos níveis de concentração, pois sua degradação é lenta. O parâmetro crítico é a taxa de degradação/diluição (γ), que define o tempo característico de resposta ($1/\gamma$). Assim, proteínas instáveis respondem mais rapidamente, enquanto proteínas estáveis podem levar até um ciclo celular para se ajustar.

A simples intensificação da transcrição por meio do aumento da concentração β não altera o tempo de resposta, apenas eleva o nível final da proteína. Para acelerar, é necessário desestabilizar a proteína aumentando γ e compensar com maior produção (β), mantendo o nível estacionário. Essa estratégia implica em um custo energético, pois há maior síntese e degradação, mas garante respostas mais rápidas, permitindo que a célula se adapte com agilidade.

Figura 6 – Rede regulatória transcricional de um organismo



Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

Uma definição importante na aprendizagem do projeto de circuitos biológicos reside nos *motifs* de rede, que são padrões recorrentes em circuitos regulatórios que aparecem com frequência maior do que o esperado ao acaso. A Figura 6 apresente um exemplo de rede regulatória transcricional.

No caso da E. coli, por exemplo, a análise mostrou que a autorregulação (positiva ou negativa) é muito mais comum do que o esperado, sugerindo que desempenha papéis cruciais. Essa abordagem fornece um “catálogo” de circuitos funcionais que ajudam a entender como a evolução seleciona arquiteturas eficientes. O princípio dos *motifs* afirma que padrões

estatisticamente sobrerrepresentados em redes foram selecionados repetidamente porque fornecem funções celulares essenciais.

Os autores apresentam que a autorregulação negativa é um dos motivos mais fortes. Quando um gene regula negativamente sua própria expressão, o sistema alcança o estado estacionário muito mais rápido. Modelos matemáticos mostram que, em regimes de repressão forte e sensível, o tempo de resposta pode ser várias vezes menor que em sistemas não regulados.

Experimentos confirmam esse efeito, pois circuitos sintéticos com repressão negativa respondem cerca de cinco vezes mais rápido que os não regulados, caracterizando-se, assim, como um importante princípio de *design*: **a autorregulação negativa acelera a resposta a mudanças de entrada**.

Ainda, ao se considerar sinais pulsáteis ou transitórios, observa-se que a autorregulação negativa acelera apenas o tempo de subida da expressão gênica, mas não o tempo de descida. Quando o estímulo desaparece, a proteína decai exponencialmente de forma semelhante ao caso não regulado. Isso mostra que o benefício da autorregulação negativa está em permitir que a célula responda rapidamente a estímulos novos, mas não necessariamente em desligar mais rápido quando o estímulo cessa.

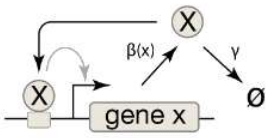
2.3 Interruptores aderentes: biestabilidade por meio de *feedback* positivo

Neste tópico, os autores exploram a bi-estabilidade por meio do feedback positivo, ou seja, a manutenção do estado de inibição e de ativação de acordo com os estímulos dirigentes, pois as células possuem a capacidade de manter estados estáveis de identidade, mesmo após múltiplas divisões. Esse "caráter pegajoso" (*stickiness*) ou memória celular é observado em processos como diferenciação, morte celular programada e regulação gênica epigenética.

Destacam que transições entre estados podem ser abruptas e irreversíveis, como no caso da maturação de oócitos em resposta a hormônios ou na escolha entre estados lisogênico e lítico em bacteriófagos. Esses exemplos mostram que sistemas biológicos frequentemente operam com mudanças do tipo tudo-ou-nada, sustentadas por mecanismos de memória molecular.

Assevera que um circuito pode manter dois estados estáveis distintos se houver feedback positivo e ultra sensibilidade. Genes que ativam sua própria expressão são exemplos de autorregulação positiva. Nesse contexto, o sistema pode convergir para um estado de baixa ou alta expressão, dependendo das condições iniciais. A Figura 7 ilustra um circuito configurado tipicamente com autorregulação positiva.

Figura 7 – Circuito com autorregulação positiva

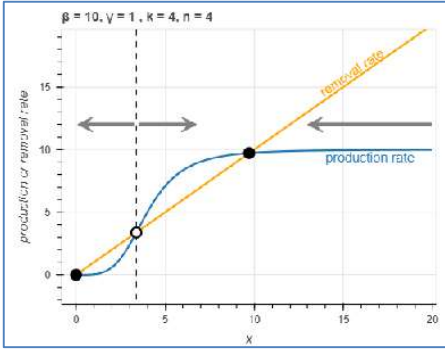


$$\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = \beta \frac{(x/k)^n}{1+(x/k)^n} - \gamma x. \qquad (3.1)$$

Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

A bi-estabilidade surge quando a curva de produção e a curva de degradação se cruzam em múltiplos pontos estáveis. Esse fenômeno é essencial para explicar como células podem assumir diferentes destinos a partir do mesmo genoma. A Figura 8 apresenta exemplos de pontos fixos que podem ou não ser estáveis.

Figura 8 – Curvas de produção e remoção ilustrando pontos fixos



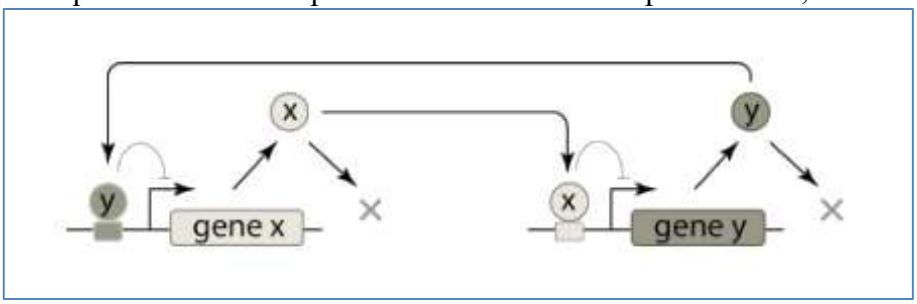
Quando um sistema próximo a um ponto fixo tende a se mover em direção a esse ponto, vindo de qualquer direção, dizemos que esse ponto fixo é estável. Caso contrário, é chamado de ponto fixo instável. A menos que a condição inicial do sistema o coloque exatamente no ponto fixo instável, à medida que o sistema evolui ao longo do tempo, ele convergirá para um dos dois pontos fixos estáveis.

Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

Além de sustentar múltiplos estados celulares, a bistabilidade confere **histerese**, ou seja, respostas irreversíveis a sinais transitórios. Uma perturbação temporária pode deslocar o sistema de um estado estável para outro, e mesmo após o fim do estímulo, a célula permanece no novo estado. Esse mecanismo funciona como uma forma de memória biológica, permitindo que células fixem eventos passados e mantenham mudanças duradouras em sua expressão gênica.

Um dos exemplos mais conhecidos de bi-estabilidade é o *toggle switch* sintético, construído em E. coli. Ele consiste em dois genes que se reprimem mutuamente, criando um sistema capaz de permanecer em um de dois estados estáveis. A alternância entre os estados pode ser induzida por sinais externos, e uma vez realizada, o sistema mantém o novo estado mesmo sem o estímulo. Esse circuito sintético demonstra de forma clara como princípios de feedback positivo e repressão cruzada podem ser usados para projetar sistemas com memória e controle binário.

Figura 9 – Arquitetura do interruptor de alavanca sintético por Gardner, Cantor e Collins



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

O circuito descrito na Figura 9 é o *toggle switch* sintético, um dos exemplos mais emblemáticos de bi-stabilidade em biologia sintética. Ele foi construído em E. coli e consiste em dois genes que se reprimem mutuamente: quando um está ativo, produzindo seu repressor, o outro é mantido desligado. Essa arquitetura cria dois estados estáveis possíveis — um em que o primeiro gene está ligado e o segundo desligado, e outro em que ocorre o inverso. A alternância entre esses estados pode ser induzida por sinais externos, como moléculas específicas ou estímulos ambientais, e uma vez realizada, o sistema mantém o novo estado mesmo após o desaparecimento do sinal.

Esse circuito demonstra de como princípios de feedback negativo cruzado podem ser usados para projetar sistemas com memória e controle binário. Ele funciona como um interruptor molecular, uma vez que ao receber um estímulo, a célula muda de estado e permanece nele, sem necessidade de estímulo contínuo. Esse comportamento é fundamental para entender como células naturais podem tomar decisões irreversíveis, como diferenciação ou resposta a estresses, e também mostra o potencial da biologia sintética em criar sistemas artificiais capazes de armazenar informação e executar funções programadas.

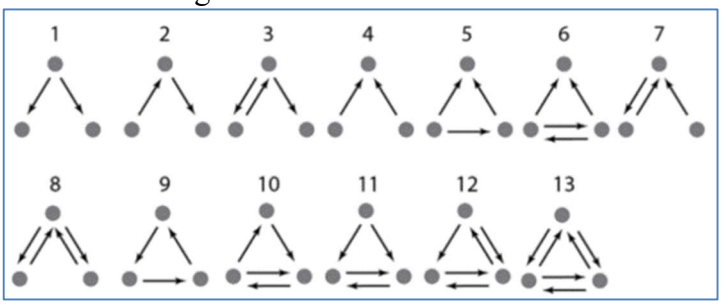
2.4 Análise de malhas de realimentação direta

Esta subseção do trabalho do Elowitz e Bois explica como os *feedforward loops* (FFLs) surgem em redes regulatórias, por que são tão comuns, como podem ser classificados e quais tipos aparecem com maior frequência em organismos como E. Coli e leveduras. Após estudar circuitos simples, o texto avança para redes de maior complexidade, com três componentes.

Existem treze formas possíveis de interação entre três fatores de transcrição. Para decidir quais analisar, os pesquisadores observaram quais padrões aparecem com maior frequência em redes naturais, identificando os chamados *motifs* de rede, que, como dito, são estruturas recorrentes que sugerem funções biológicas importantes. A Figura 10 ilustra um

exemplo de *motifs* de 3 nós, considerando as definições apresentadas na subseção 2.2 deste estudo dirigido.

Figura 10 – Motifs de três nós



Fonte: Elowitz e Bois, 2019.

Os autores demonstram que para saber se um *motif* é realmente sobrerrepresentado, é necessário compará-lo com redes aleatórias que preservem propriedades estatísticas da rede real (como número de nós e distribuição de setas de entrada e saída). Esse método permite calcular um z-score que indica se um motivo aparece mais ou menos vezes do que seria esperado ao acaso. Aplicando essa análise a diferentes organismos, descobriu-se que o *feedforward loop* (FFL) é fortemente sobrerrepresentado, aparecendo muito mais vezes do que em redes aleatórias, e de forma consistente em várias espécies.

Assim, o FFL pode assumir diferentes formas dependendo do tipo de regulação envolvida. Como cada uma das três setas pode ser de ativação ou repressão, existem oito categorias possíveis. Metade delas é chamada de coerente, quando a regulação direta e indireta sobre o gene alvo tem o mesmo sinal (ambas ativadoras ou ambas repressoras). A outra metade é incoerente, quando os sinais são opostos. Além disso, é preciso considerar a lógica de combinação dos reguladores (AND ou OR), o que aumenta ainda mais a diversidade funcional dos FFLs.

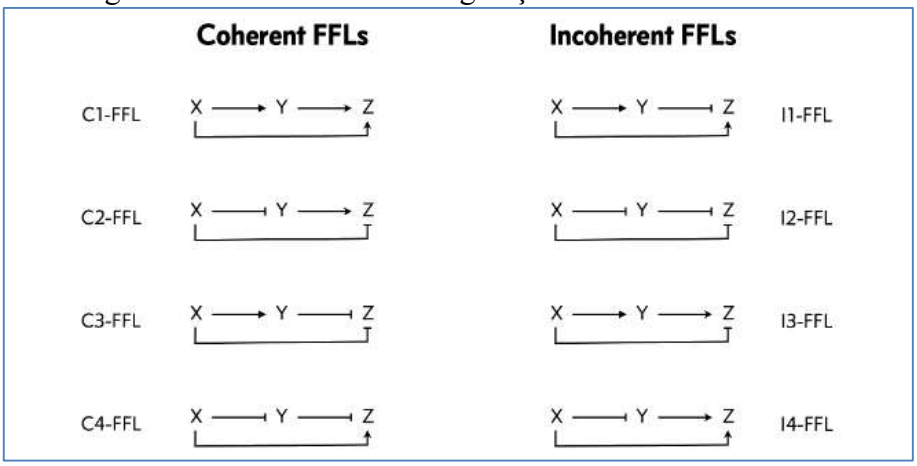
A análise dos *feedforward loops* (FFLs) mostra que a descrição inicial desses circuitos era simplificada demais, pois não diferenciava entre regulação positiva e negativa, não considerava como múltiplos reguladores se combinam para controlar um mesmo *operon* e ignorava os aspectos quantitativos da regulação. Esses pontos são fundamentais porque determinam não apenas se um gene será ativado ou reprimido, mas também em que intensidade e sob quais condições isso ocorrerá.

Portanto, compreender a função biológica de um motivo como o FFL exige uma abordagem mais cuidadosa, que leve em conta o tipo de regulação envolvida, a lógica de combinação entre reguladores e os parâmetros quantitativos que definem a dinâmica da

expressão gênica. Só assim é possível entender como esses circuitos filtram sinais, geram atrasos ou pulsos e contribuem para a precisão e robustez das respostas celulares.

Classificando o *motif* geral da FFL em diferentes categorias, dependendo de quais de suas 3 setas são positivas ou negativas, obteremos 8 diferentes configurações ou categorias, conforme Figura 11:

Figura 11 – Estruturas com regulação coerente e incoerente



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

Nesse caso, metade das arquiteturas FFL são coerentes, o que significa que a regulação direta de X sobre Z e sua regulação indireta sobre Z são do mesmo tipo, ambas ativadoras ou ambas repressoras. A outra metade é incoerente, o que significa que os caminhos regulatórios direto e indireto têm sinais opostos.

Embora existam oito tipos, dois se destacam por serem muito mais abundantes: o C1-FFL (coerente, com ativação direta e indireta) e o I1-FFL (incoerente, com ativação direta e repressão indireta). Esses dois aparecem com frequência em organismos distintos, sugerindo que desempenham papéis centrais na regulação gênica.

Os FFLs podem desempenhar funções específicas dependendo de sua arquitetura e lógica de regulação. Por exemplo, o C1-FFL com lógica AND gera um atraso na ativação, mas não no desligamento; por outro lado o C1-FFL com lógica OR apresenta atraso no desligamento, mas não na ativação.

O I1-FFL com lógica AND funciona como um gerador de pulsos e acelera respostas em comparação a circuitos não regulados. Os autores destacam que esses comportamentos mostram como os FFLs atuam como filtros, controlando a dinâmica da expressão gênica e permitindo que células respondam de forma mais precisa a estímulos variáveis.

Trata-se de capítulo bastante denso, requerendo estudo mais minucioso e implementações das rotinas propostas no sentido de melhor compreender as etapas da regulação do tipo FFL.

2.5 Os circuitos de realimentação incoerentes atuam como compensadores de dosagem

Esta subseção se dedica ao estudo sobre como células lidam com variações no número de cópias de genes e como circuitos regulatórios, especialmente *incoherent feed-forward loops* (IFFLs), podem estabilizar a expressão gênica.

Em geral, as células enfrentam ambientes externos variáveis, tais como nutrientes, temperatura, estresse, ciclos fisiológicos, e também flutuações internas, como o ruído na expressão gênica. Para funcionarem de forma confiável, precisam de mecanismos de robustez, que garantem que funções críticas sejam pouco sensíveis a essas variações inevitáveis. Esse princípio é central tanto para a biologia natural quanto para a biologia sintética.

Define-se robustez como a independência relativa de uma propriedade do circuito em relação a parâmetros bioquímicos variáveis. É necessário especificar o que é robusto (X), em relação a quais variações (Y) e em qual regime (Z). O oposto é a *fine-tuning*, quando o funcionamento depende de ajustes precisos de parâmetros, tornando o sistema frágil. Circuitos robustos são preferíveis porque funcionam de forma confiável mesmo sem conhecimento exato de todos os parâmetros.

Em células eucarióticas, a dosagem gênica varia devido a mudanças de ploidia, por exemplo, a duplicação de cromossomos em G2 e células poliploides em tecidos específicos, e diferenças nos cromossomos sexuais. Humanos compensam a diferença entre homens (um X) e mulheres (dois X) por meio da inativação de um X nas fêmeas. Nessa esteira, a Drosophila aumenta a expressão do X nos machos, e C. Elegans reduz pela metade a expressão dos dois X nas fêmeas. Em câncer, duplicações cromossômicas também alteram a dosagem, mostrando a importância de mecanismos compensatórios.

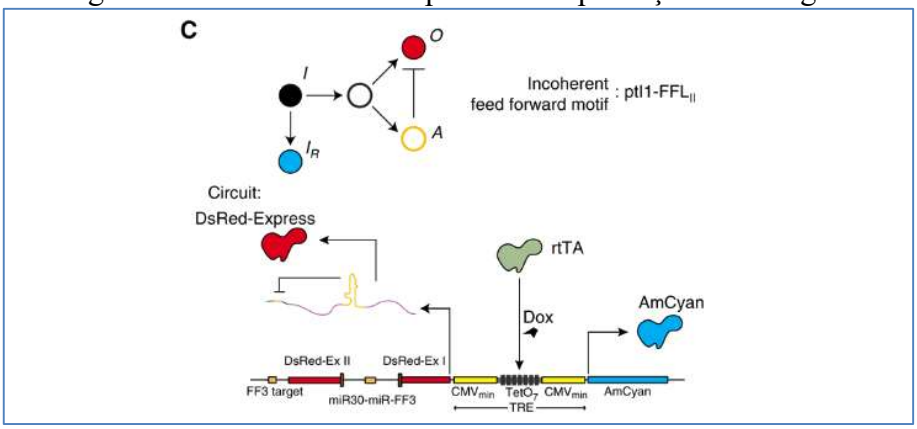
Na biologia sintética e em terapias gênicas, a variação no número de cópias de genes é inevitável. Vetores virais podem entregar múltiplas cópias em diferentes células, e a posição de integração no genoma afeta a expressão. Sem compensação, isso gera níveis desiguais de proteína, podendo ser prejudicial. O exemplo do gene MeCP2 mostra o problema, pois sua ausência causa síndrome de *Rett*, mas sua superexpressão causa toxicidade. Assim, compensação de dosagem é crucial para aplicações médicas.

Como foi demonstrado, os *incoherent feed-forward loops* oferecem uma solução simples. Em um circuito onde um gene produz uma proteína alvo (Y) e simultaneamente um repressor (X) que inibe Y, ambos aumentam com o número de cópias. O efeito do repressor compensa o aumento inicial, tornando a expressão de Y independente da dosagem em regimes

adequados. Esse mecanismo foi demonstrado experimentalmente em bactérias, mostrando que basta adicionar um regulador para neutralizar variações de cópia.

Em mamíferos, estratégias diferentes são necessárias. Um exemplo é o uso de microRNAs em circuitos compactos: o mesmo gene produz tanto a proteína alvo quanto um miRNA que a reprime *pós-transcricionalmente*. Assim, ao aumentar o número de cópias, cresce tanto a produção da proteína quanto a do miRNA, que compensa o excesso. Esse design gera robustez semelhante ao observado em bactérias, mas adaptado ao contexto de células humanas, mostrando a versatilidade dos IFFLs como mecanismos universais de compensação de dosagem.

Figura 12 – Um circuito simples de compensação de dosagem



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

A Figura 12 ilustra um exemplo de circuito de compensação de dosagem. Neste circuito, a pequena molécula doxiciclina (dox) pode ser usada para induzir a expressão de dois genes com orientações divergentes. A dox se liga à proteína transativadora reversa tet (rtTA), permitindo que ela se ligue a um conjunto de 7 sítios de ligação. Uma vez ligada, ela ativa a expressão de proteínas fluorescentes ciano e vermelha. As duas proteínas fluorescentes diferem, no entanto, de uma maneira crucial: a sequência codificadora da proteína vermelha é interrompida por um íntron, um elemento que é removido no núcleo. (Elowitz; Bois, 2019)

Assim, os *incoherent feed-forward loops* (IFFLs), apesar de parecerem paradoxais por regularem um mesmo gene de formas opostas, desempenham funções dinâmicas cruciais. Eles permitem respostas adaptativas a aumentos súbitos de sinal, aceleram a dinâmica de expressão e, de forma relevante, tornam a produção de proteínas independente da dosagem do gene. Além disso, os IFFLs estão ligados a fenômenos como a detecção de variação relativa (*fold-change detection*), em que a resposta depende apenas da proporção de aumento do sinal e não de seu valor absoluto, ampliando ainda mais sua relevância funcional.

2.6 Bactérias piscantes: o repressilador possibilita oscilações autossustentáveis

Esta subseção conecta a biologia natural dos ritmos celulares com a engenharia de circuitos genéticos artificiais, mostrando como técnicas matemáticas ajudam a projetar e entender esses sistemas.

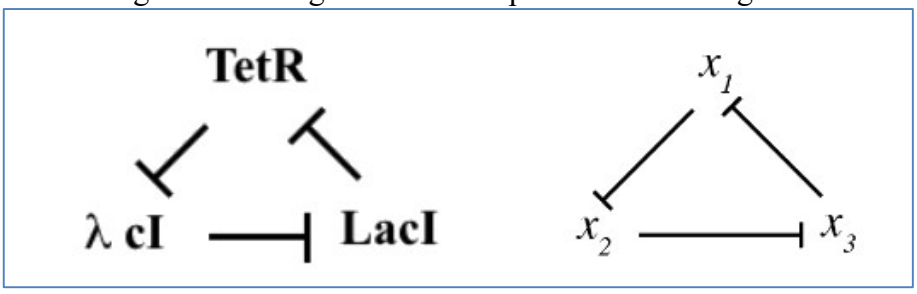
A vida depende de mecanismos de marcação do tempo e desde relógios mecânicos usados na navegação até relógios celulares que regulam divisão, crescimento e ritmos circadianos, os sistemas biológicos mostram que ciclos periódicos são essenciais. Esses processos garantem organização temporal em escalas que vão de minutos a estações do ano.

Os relógios circadianos controlam ciclos de sono, fome e atividade em organismos complexos, mas também funcionam em células isoladas. Experimentos com fibroblastos mostraram que células individuais mantêm oscilações de 24 horas, revelando que o mecanismo é autônomo e baseado em redes moleculares de proteínas e fatores de transcrição.

Mesmo organismos simples, como cianobactérias, possuem relógios precisos. Um circuito de apenas três proteínas (KaiA, KaiB e KaiC) é capaz de gerar oscilações de 24 horas em tubos de ensaio. Isso demonstra que sistemas relativamente pequenos podem sustentar ritmos complexos, desde que haja *feedback* e múltiplas dimensões dinâmicas.

O autor descreve que o desafio é entender se é possível projetar um relógio sintético em bactérias. O *Repressilator* foi criado como um circuito de três genes reguladores em laço de repressão, para testar se componentes biológicos podem gerar oscilações sustentadas, conforme Figura 13.

Figura 13 – Diagrama de um repressilator com 3 genes



Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

Os melhores blocos de construção para esse tipo de circuito são repressores bacterianos bem caracterizados. Eles são modulares, pois funcionam fora do contexto natural, são ortogonais, pois apresentam a característica de não interferirem uns nos outros, e são componíveis, isto é, podem ser combinados em diferentes arranjos. Isso permite criar laços regulatórios artificiais de forma previsível.

A estratégia é montar um ciclo de três repressores em esquema semelhante à brincadeira infantil “pedra-papel-tesoura”, onde cada proteína reprime a seguinte. Esse arranjo

cria um laço de feedback negativo que pode gerar oscilações. Dependendo dos parâmetros, o sistema pode evoluir para um estado estável ou para um ciclo limite oscilatório.

Para analisar o circuito, escrevem-se equações diferenciais que descrevem a produção e degradação das proteínas. Assumindo simetria entre os componentes, é possível estudar matematicamente como as concentrações variam ao longo do tempo e identificar condições que favorecem oscilações.

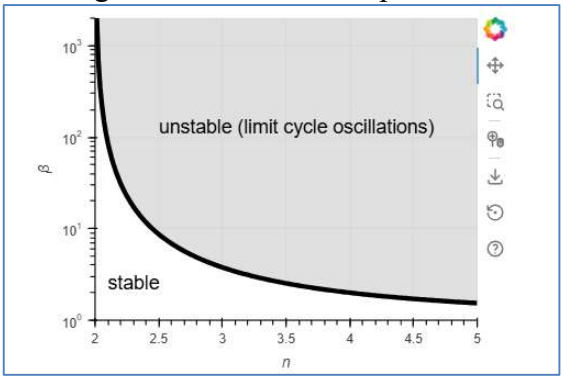
Figura 14 – Equações diferenciais de concentração das proteínas

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{\beta}{1+(x_3/k)^n} - \gamma x_1,$$
$$\frac{dx_2}{dt} = \frac{\beta}{1+(x_1/k)^n} - \gamma x_2, \qquad (10.2)$$
$$\frac{dx_3}{dt} = \frac{\beta}{1+(x_2/k)^n} - \gamma x_3.$$

Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

A análise mostra que oscilações sustentadas ocorrem quando o sistema apresenta alta sensibilidade (n > 2) e força de promotor suficiente (β elevado). Nessas condições, o ponto fixo torna-se instável e o sistema entra em um ciclo limite. Diagramas de estabilidade ajudam a visualizar regiões de parâmetros que favorecem oscilações, conforme Figura 15.

Figura 15 – Regiões de instabilidade promovem oscilações



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

Por meio de uma analogia, um balanço empurrado de "leve", equivaleria a um sistema biológico com sensibilidade baixa, ou seja, n < 2 ou promotores fracos, β pequeno. Por outro lado, um empurrão forte e em cadência adequada, o balanço continua oscilando indefinidamente, correspondendo a um sistema com alta sensibilidade, isto é, $n > 2$ e β elevado.

Em suma, oscilações surgem quando o *feedback* "exagera" na correção. Quanto mais abrupta e forte a resposta, maior a chance de o sistema ultrapassar o equilíbrio e iniciar um ciclo periódico. Existe um equilíbrio entre o número de componentes no laço e o grau de sensibilidade necessário para sustentar oscilações. Esse fenômeno ocorre nos osciladores

eletrônicos, em que a *realimentação positiva* e um ganho maior que 1 leva às oscilações, sendo mantido igual a 1 quando as oscilações estabilizam.

Os autores demonstraram que o *Repressilator* torna possível projetar circuitos genéticos sintéticos que funcionam como relógios celulares. Além de fornecer insights sobre como a natureza constrói sistemas temporais, esses modelos ajudam a desenvolver ferramentas de biologia sintética com aplicações em diagnóstico, biotecnologia e controle de processos celulares.

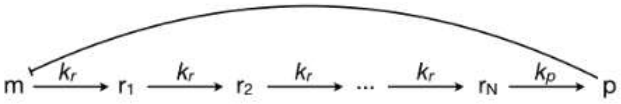
2.7 Aplicações, simplificações e elaborações de osciladores de realimentação negativa

Esta subseção discute como oscilações podem surgir em circuitos biológicos simples devido ao atraso no feedback negativo. Os autores demonstram que processos moleculares como tradução, transporte e dobramento de proteínas introduzem atrasos que podem gerar oscilações sustentadas.

Explora-se a ideia de que *feedback* negativo com atraso pode produzir oscilações em sistemas biológicos. Diferentemente do *Repressilator*, parte-se de um pressuposto de um circuito ainda mais simples, pois consistido em um único gene que reprime sua própria expressão. O atraso entre a produção do mRNA e a proteína funcional é suficiente para criar oscilações.

O atraso surge porque a proteína não aparece imediatamente após a transcrição. Há etapas como tradução, transporte nuclear, dobramento e dimerização que retardam sua ação. Esse atraso pode ser modelado como uma cadeia de intermediários até que a proteína esteja ativa, conforme Figura 16. Em células eucarióticas, o atraso pode ser ainda maior devido a processos adicionais como *splicing* e exportação nuclear.

Figura 16 – Sequência de expressões e as equações diferenciais de cada etapa



$$\frac{\mathrm{d}m}{\mathrm{d}t} = \frac{\beta_m}{1+(p/k)^n} - \gamma_m m,$$

$$\frac{\mathrm{d}r_1}{\mathrm{d}t} = k_r m - k_r r_1,$$

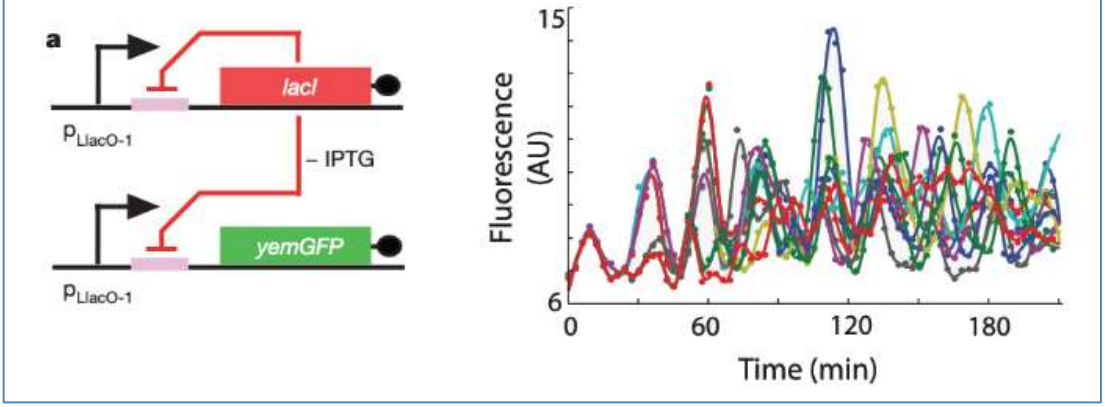
$$\frac{\mathrm{d}r_i}{\mathrm{d}t} = k_r r_{i-1} - k_r r_i \text{ for } 2 \leq i \leq N, \tag{11.1}$$

$$\frac{\mathrm{d}p}{\mathrm{d}t} = k_p r_N - \gamma_p p,$$

Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019.

A mesma figura apresenta também as equações diferenciais que descrevem a dinâmica do mRNA, dos intermediários e da proteína final. Observa-se na Figura 17 o circuito oscilador de gene simples, no qual o repressor LacI reprime sua própria expressão, bem como a expressão de uma proteína fluorescente.

Figura 17 – Diagrama de circuito oscilador de gene simples

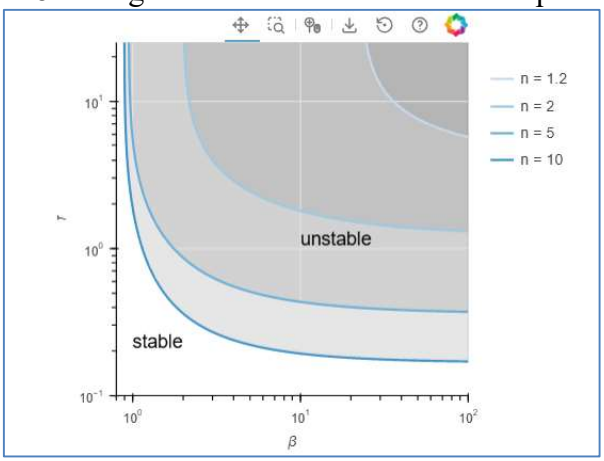


Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

Retornando às equações dispostas na Figura 16, considerando que não é possível resolver analiticamente os autovalores, utiliza-se uma abordagem numérica de “força bruta”, assim, o espaço de parâmetros é dividido em uma grade e, para cada ponto, calcula-se se o sistema é estável ou instável. O resultado é um diagrama visual que mostra regiões claras (estáveis) e escuras (instáveis), permitindo identificar condições que favorecem oscilações.

Os diagramas revelam que oscilações só aparecem quando há repressão ultrassensível e atrasos suficientemente longos, como na Figura 18. Isso confirma que o atraso é um elemento essencial para gerar ciclos periódicos em sistemas de feedback negativo. Sem atraso, o sistema tende a se estabilizar em um ponto fixo.

Figura 18 – Diagrama linear de estabilidade no plano $\tau - \beta$



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019.

Esses modelos ajudam a entender como células podem gerar ritmos internos mesmo com circuitos simples. Além disso, fornecem princípios de design para a biologia sintética, pois ao manipular atrasos e sensibilidade, é possível criar osciladores artificiais com períodos e amplitudes ajustáveis. Isso abre caminho para aplicações em controle de expressão gênica e engenharia de sistemas biológicos dinâmicos.

2.8 Regulação baseada na temporização celular

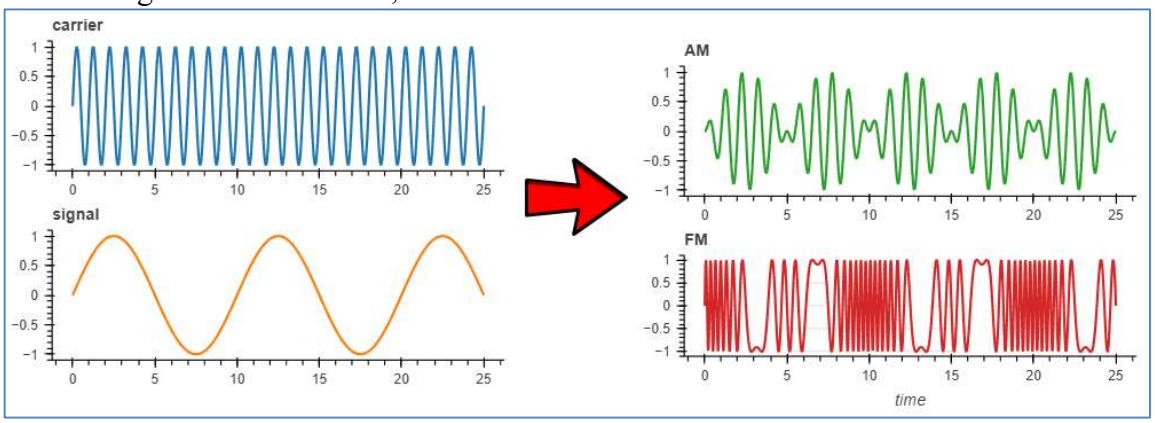
Os pesquisadores exploraram, nesta subseção, como células utilizam dinâmicas temporais, tais como pulsos, oscilações e frequência, para regular genes de forma coordenada, em contraste com sistemas baseados apenas em concentração.

Mesmo em ambientes estáveis, circuitos biológicos exibem comportamentos dinâmicos como pulsos repetitivos ou oscilações. Isso permite que células controlem alvos “no tempo” em vez de apenas pela concentração, coordenando múltiplos genes. Assim como rádios usam modulação em amplitude (AM) ou frequência (FM), células podem codificar sinais em intensidade ou em frequência de oscilações. FM altera a frequência sem mudar amplitude/duração, preservando proporções entre respostas.

Assim, transcritores podem ser regulados pelo nível de concentração, como em AM, onde a amplitude do sinal modulado é variado, ou pela fração de tempo em que estão ativos, como na modulação FM, onde a frequência do sinal modulado varia com o sinal modulante.

Sistemas celulares podem misturar ambos, mas a regulação temporal abre novas possibilidades de controle. Na Figura 19 há a exemplificação desses mecanismos de variação das grandezas.

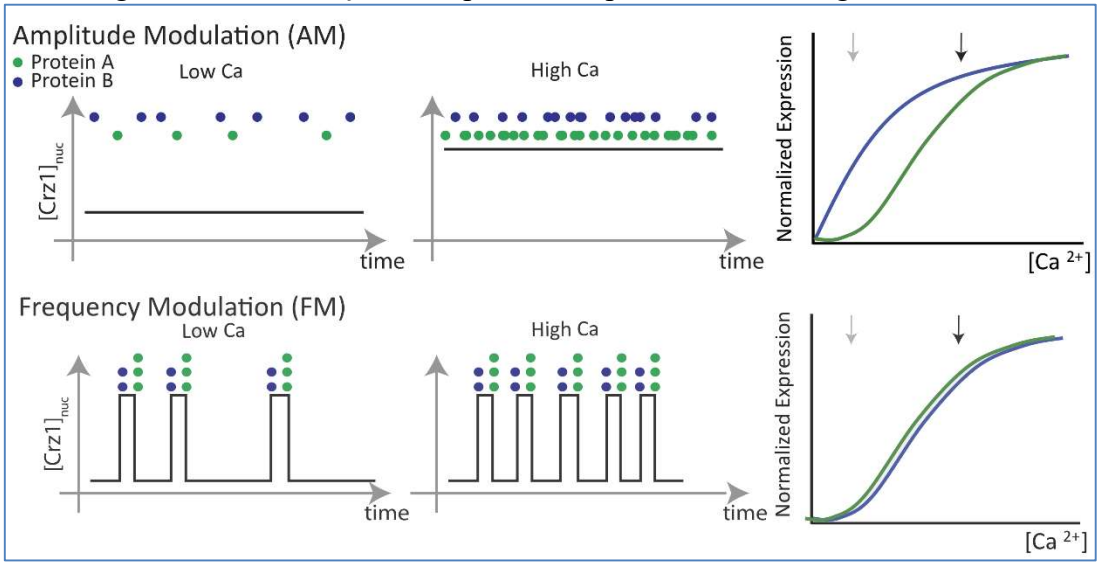
Figura 19 – Portadora, sinal modulante e sinais modulados em AM e FM



Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019

Diferente da regulação "AM", onde a proporção entre genes varia com a concentração, a regulação "FM" mantém proporções fixas entre diferentes genes-alvo, mesmo quando a frequência de pulsos muda. Isso garante corregulação coordenada.

Figura 20 – Modulação da expressão de proteína em analogia à AM/FM



Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019

Considerando dois genes-alvo hipotéticos de Crz1, cada um com funções de resposta diferentes, permitindo variar em sensibilidade, amplitude e valores de EC50 em relação à concentração nuclear de Crz1. Em um sistema de regulação por amplitude (AM), níveis baixos e altos de Crz1 produzem proporções distintas de expressão entre os genes A e B. Por exemplo, concentrações baixas podem favorecer mais B do que A, enquanto concentrações altas aumentam ambos, mas alteram a razão, passando a produzir mais A do que B, conforme Figura

20, de modo que proporção entre A e B depende diretamente da concentração precisa de Crz1 no núcleo.

Por outro lado, no sistema FM, aumentar o nível de entrada gera maior frequência de pulsos, mas a duração e a amplitude permanecem constantes. Assim, a proporção de expressão entre os genes A e B em cada pulso não se altera, independentemente da atividade média de Crz1. Como resultado, a modulação por frequência ajusta a expressão de ambos em conjunto, mantendo uma razão A/B constante ao longo de diferentes níveis de expressão.

Assim, ao considerar muitos genes-alvo, percebe-se que o sistema de pulsos FM garante que todos sejam corregulados em proporções fixas, apesar das diferenças em suas funções individuais de resposta, sugerindo um princípio de *design* simples: os pulsos FM permitem a regulação coordenada de diversos genes-alvo. (Elowitz; Bois, 2019)

As células usam o tempo como dimensão regulatória, assim como circuitos elétricos. A regulação baseada em tempo possibilita controlar múltiplos genes em proporções fixas, essencial para funções que exigem estequiometria. Além disso, células podem usar o timing relativo entre diferentes fatores para respostas complexas.

Em conclusão, os pesquisadores demonstraram que a temporização é tão importante quanto a concentração na biologia celular. A regulação por frequência de pulsos (FM) garante coordenação robusta entre genes, enquanto a regulação por concentração (AM) pode gerar respostas diferenciadas. Isso abre caminho para entender como células integram múltiplos sinais em tempo real.

2.9 A titulação molecular gera respostas ultrassensíveis em circuitos biológicos

Nesta subseção da obra, os pesquisadores exploram o fato de que que muitos processos celulares dependem de “switches” ultrassensíveis, nos quais pequenas variações no sinal de entrada geram grandes mudanças no resultado. Exemplos incluem ciclo celular, transdução de sinais, controle de destino celular e osciladores como o relógio circadiano. A questão central é como projetar circuitos que garantam essa ultra sensibilidade de forma simples e ajustável.

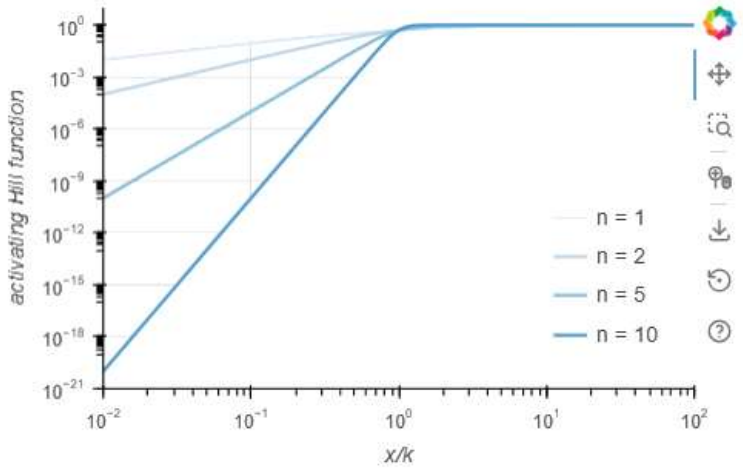
Define formalmente ultra sensibilidade como uma resposta em que uma variação relativa no sinal de entrada gera uma variação maior no sinal de saída. O parâmetro de sensibilidade s é usado para quantificar isso. Um sistema é ultrassensível quando $s > 1$ em determinados pontos de operação.

Figura 21 – Graus de sensibilidade de concentração e função de ativação de hill

$$s = \left| \frac{\mathrm{d} \ln y}{\mathrm{d} \ln x} \right| = \frac{x}{y} \left| \frac{\mathrm{d}y}{\mathrm{d}x} \right|, \tag{13.1}$$

$$y = \frac{(x/k)^n}{1 + (x/k)^n} \text{ for X activating Y,} \tag{13.2}$$

$$y = \frac{1}{1 + (x/k)^n} \text{ for X repressing Y.}$$



Fonte: Adaptado de Elowitz e Bois, 2019

Para uma função de Hill ativadora, a sensibilidade (eq. 13.4) é maior que 1 quando $\boldsymbol{n > 1}$ e $\boldsymbol{(x/k) < (n-1)^{1/n}}$. Assim, como regra prática, a regulação descrita por uma função de Hill ativadora é ultrasensível quando $\boldsymbol{n > 1}$e $\boldsymbol{x \ll k}$. Para $\boldsymbol{n \geq 2}$, a ultrasensibilidade ocorre quando $\boldsymbol{x < k}$, conforme se vê na Figura 21. Em contraste, para $\boldsymbol{x > k}$, a resposta deixa de ser ultrassensível, tornando-se eventualmente plana. (Elowitz; Bois, 2019)

$$s = \left| \frac{\mathrm{d} \ln y}{\mathrm{d} \ln x} \right| = \frac{n}{1 + (x/k)^n}, \tag{13.4}$$

Assim, a titulação molecular se constitui como mecanismo simples e geral, pois proteínas formam complexos específicos que "sequestram" moléculas ativas, funcionando como uma operação de subtração. Isso gera respostas ultrassensíveis ajustáveis, pois a atividade depende da proporção entre moléculas livres e complexadas.

São exemplos de contextos de ocorrência de titulação celular:

a) fatores sigma bacterianos inibidos por anti-sigma;
b) miRNAs e pequenos RNAs que bloqueiam tradução de mRNAs;
c) circuitos sintéticos de DNA/RNA que usam hibridização;
d) módulos toxina-antitoxina bacterianos;

e) comunicação intercelular via complexos ligante-receptor; e

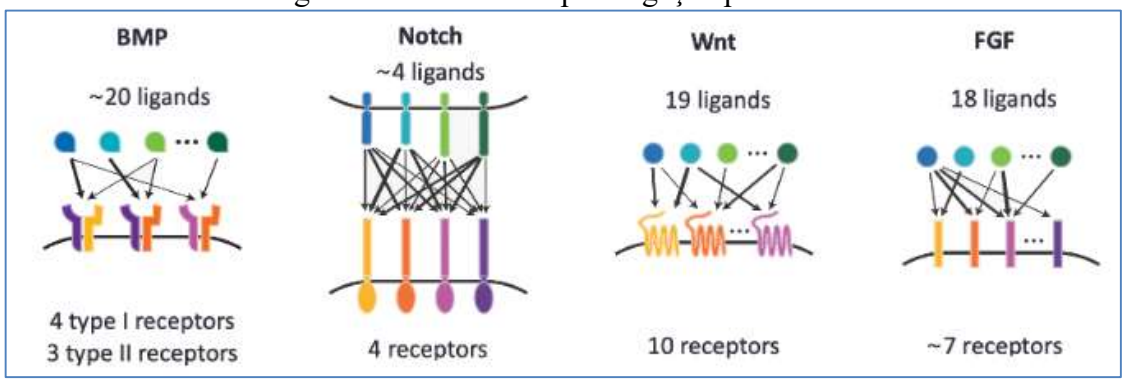
f) fatores de transcrição bHLH que se titram mutuamente.

Os pesquisadores finalizam a seção concluindo que a titulação molecular é um mecanismo fundamental e versátil para gerar respostas ultrassensíveis em sistemas biológicos, pois permite criar transições abruptas e ajustáveis, essenciais para processos como ciclo celular, regulação gênica e comunicação intercelular. Diferente de simples ganho, a titulação confere comportamento de switch, garantindo robustez e precisão na regulação. Além disso, sua presença em contextos naturais e sintéticos mostra que é um princípio universal de design em biologia.

2.10 Interações promíscuas entre receptores e ligantes e os efeitos na largura de banda e comunicação célula-célula.

Em organismos multicelulares, células usam famílias de ligantes e receptores para se comunicar. Diferente de um *design* ideal com canais ortogonais (um ligante para um receptor), muitos sistemas naturais apresentam interações promíscuas, onde múltiplos ligantes se ligam a múltiplos receptores. Isso pode ser resultado da evolução, oferecer redundância, ou permitir funções de processamento de sinais mais complexas, conforme sugere a Figura 22.

Figura 22 – Caminhos para ligação promíscua



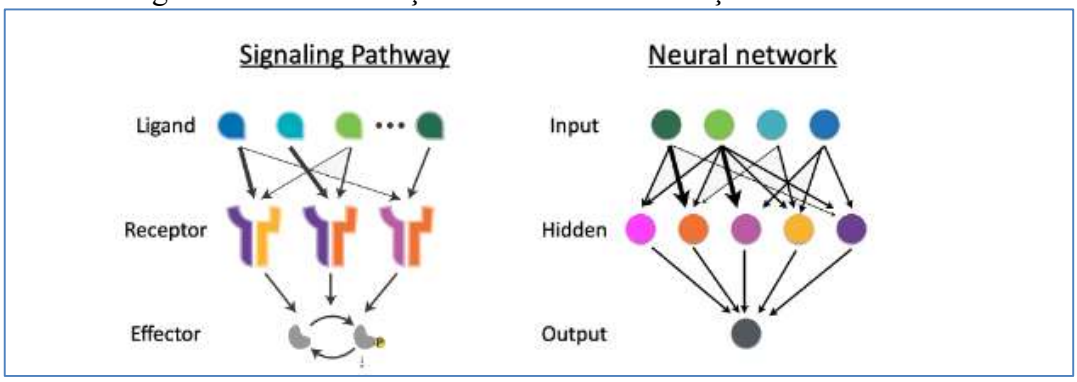
Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019

O sistema BMP, se apresentando com sua rede de interações, lembra uma rede neural, uma vez que combinações de ligantes produzem respostas não triviais, conforme sugere a . Estudos mostraram que diferentes pares de ligantes podem gerar respostas aditivas, inibitórias ou até detectar desequilíbrios. Assim, o sistema pode calcular funções baseadas em proporções relativas de ligantes, tornando a resposta mais robusta.

Um modelo matemático simplificado considera ligantes e receptores formando complexos *triméricos* ativos. Cada complexo contribui para a atividade total com uma afinidade

e eficiência próprias. Apesar de simplificado, esse modelo mostra como a soma de múltiplas interações pode gerar funções combinatórias complexas.

Figura 23 – Semelhança entre vias de sinalização e redes neurais



Fonte: Extraído de Elowitz e Bois, 2019

Para analisar respostas, foram definidos parâmetros como força relativa do ligante (RLS) e coeficiente de interferência (LIC). Esses indicadores permitem mapear como diferentes combinações de ligantes afetam a saída do sistema, revelando ampla diversidade de comportamentos possíveis.

Ao variar constantes de equilíbrio e perfis de expressão de receptores, observa-se que o sistema pode exibir desde respostas simples (tipo OR) até funções mais sofisticadas. Isso mostra que a arquitetura promíscua é capaz de gerar funções não triviais mesmo em sistemas pequenos. Para interpretar a enorme variedade de respostas, é útil reduzir os dados a medidas resumidas (como RLS e LIC). Isso permite explorar grandes espaços de parâmetros sem perder a essência dos comportamentos de sinalização.

As interações promíscuas entre ligantes e receptores não são apenas redundância evolutiva, mas funcionam como mecanismos de processamento de informação, ampliando a largura de banda e a especificidade da comunicação celular. Sistemas como o BMP podem "computar" relações entre ligantes, detectar desequilíbrios e coordenar respostas complexas. Em suma, a promiscuidade molecular é um princípio de *design* que aumenta a robustez e a capacidade computacional dos circuitos biológicos, permitindo que células interpretem sinais de forma mais rica e adaptável.

2.11 A natureza ruidosa da expressão gênica

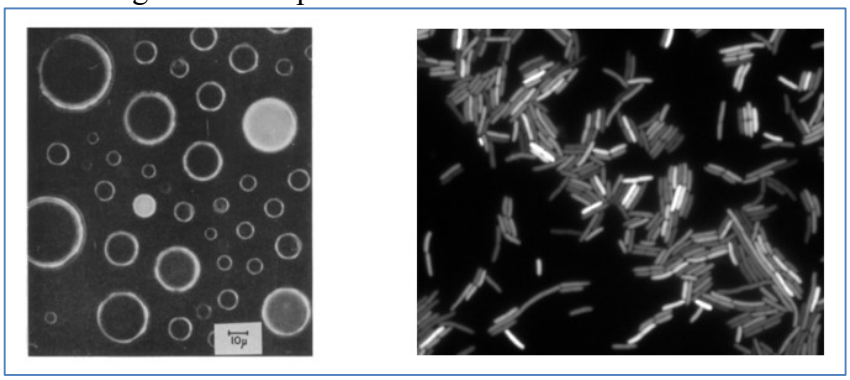
Nesta subseção, os autores exploraram conceitos, experimentos históricos e modernos, e métodos matemáticos para distinguir ruído intrínseco e extrínseco, culminando em análises quantitativas e modelos bayesianos. Dada a complexidade do modelo bayesiano, este não estará apresentado neste estágio do estudo dirigido.

Até esta etapa, os circuitos celulares foram tratados como sistemas determinísticos. Porém, devido ao pequeno volume das células e ao baixo número de moléculas, flutuações aleatórias tornam-se relevantes. Essas flutuações se apresentam como ruído biológico e pode alterar significativamente o comportamento celular, exigindo novas abordagens experimentais e matemáticas baseadas em probabilidade.

> Wi e colaboradores (Cell, 2014) usaram o perfilamento de ribossomos para obter estimativas de contagens absolutas de proteínas de diversos fatores de transcrição em bactérias. Eles descobriram que metade dos repressores possui números de cópias abaixo de 100 por equivalente genômico e 90% dos ativadores também. Cerca de 10% dos repressores e 50% dos ativadores têm números de cópias iguais ou inferiores a 10. Esses números são pequenos, difíceis para a célula controlar com precisão e, portanto, suscetíveis a flutuações.

Experimentos realizados por Rotman (1961) com enzimas em gotas, revelaram heterogeneidade causada por baixo número de moléculas. Delbrück (1945) mostrou variação no *burst size* de fagos infectando E. coli. Mais tarde, o uso de proteínas fluorescentes permitiu observar diretamente a heterogeneidade da expressão gênica em células vivas. A Figura 24 apresenta os experimentos realizados.

Figura 24 – Experimentos de Rotman e Dellbrück

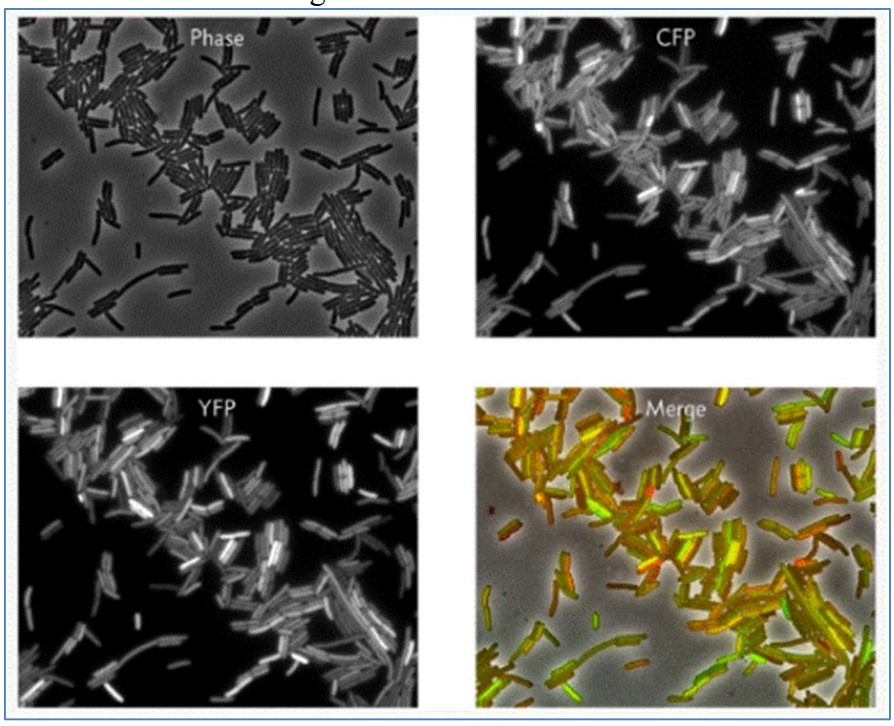


Fonte: Adaptador de Elowitz e Bois, 2019

Sabe-se que a heterogeneidade celular pode surgir de diferenças ambientais, como variações na concentração de moléculas sinalizadoras, mesmo em sistemas determinísticos. Por outro lado, o ruído biológico refere-se a processos estocásticos internos que geram variação entre células, mesmo sob condições externas perfeitamente constantes.

Os autores criaram um sistema com dois genes quase idênticos, produzindo proteínas fluorescentes de cores diferentes, CFP (Ciano) e YFP (Amarelo). Se a expressão fosse determinística, ambas teriam níveis iguais, mas diferenças independentes revelaram ruído intrínseco. Esse método permitiu separar fontes de variação. A Figura 25 ilustra os resultados dos experimentos.

Figura 25 – Ruído celular



Fonte: Adaptador de Elowitz e Bois, 2019

Em algumas células, CFP e YFP aparecem elevados (amarelo na fusão), enquanto em outras diferem (verde ou vermelho). Isso mostra que dois genes podem variar de forma parcialmente independente na expressão, resultando em verdadeiros retratos do ruído biológico. Os experimentos demonstram que o ruído é uma característica fundamental da expressão gênica, não apenas um artefato.

Ele limita a precisão da regulação e, ao mesmo tempo, pode ser fonte de diversidade funcional. O fato de que ruído intrínseco e extrínseco são de magnitudes comparáveis sugere que tanto processos moleculares locais quanto fatores globais da célula contribuem para a variabilidade. Além disso, a constatação de que mutações específicas, tal como como a deleção de recA, aumentam o ruído reforça que ele é geneticamente determinado e pode ser manipulado.

Considerando um produto gênico de interesse nessas células, como YFP na Figura 25, podemos definir o ruído total como o coeficiente de variação do número de cópias desse produto gênico. O coeficiente de variação é o desvio padrão do número de cópias dividido pela média desse número, onde n representa o número de cópias e <n> denota o valor esperado de n.

Se o desvio padrão for menor que a média, tal como ocorre em sistemas com grande número de moléculas, haverá baixo ruído. Em contraste, se o desvio padrão for grande em relação à média, como em sistemas menores, o ruído tende a crescer. Assim, o coeficiente de variação é uma forma natural de medir a variação, conforme a Eq. 16.1.

$$\eta_{\text{tot}}^2 = \frac{\langle n^2 \rangle - \langle n \rangle^2}{\langle n \rangle^2}, \tag{16.1}$$

Essas variações na expressão gênica podem surgir de fatores celulares comuns, como flutuações nas concentrações de polimerases ou ribossomos, ou ainda de diferenças no ambiente interno da célula. Como esses elementos atuam antes da própria atividade do gene, eles são considerados extrínsecos ou a montante do gene. Em outras palavras, não se trata de ruído intrínseco do processo de transcrição ou tradução, mas de influências externas ao gene que afetam simultaneamente vários produtos gênicos.

Em uma abordagem alternativa ao que foi desenvolvida até este ponto, propõe-se um modelo generativo para os dados, cujos parâmetros passam a definir o que entendemos por ruído intrínseco e extrínseco. Nesse contexto, o teorema de Bayes é utilizado para conectar as medições experimentais ao ruído, dado o modelo. Por consistir em abordagem complexa, este estudo será dedicado para outra etapa da pesquisa.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O campo dos circuitos biológicos representa uma convergência poderosa entre ciência da computação e biotecnologia. A análise dos princípios de design, das malhas de regulação e dos mecanismos de feedback mostra que células podem ser programadas para desempenhar funções complexas, mas sempre dentro de um ambiente marcado por ruído e estocasticidade. Essa característica, longe de ser apenas um obstáculo, pode ser explorada para criar sistemas mais adaptativos e resilientes.

Outro ponto relevante é a comparação entre circuitos eletrônicos e biológicos. Enquanto os primeiros operam em condições determinísticas e altamente controladas, os segundos são moldados por interações promíscuas, flutuações aleatórias e múltiplos níveis de regulação. Essa diferença exige que o design biológico seja pensado não como uma simples transposição da lógica digital, mas como uma engenharia que incorpora incerteza e aproveita a variabilidade como recurso funcional.

Além disso, o estudo evidencia que mecanismos como repressão, ativação, *feedback* positivo e negativo, bem como estruturas recorrentes como os *feedforward loops*, são fundamentais para compreender e projetar sistemas celulares. Esses elementos permitem que células respondam com rapidez, mantenham memória de estados anteriores e filtrem sinais de forma precisa, demonstrando que a biologia sintética já dispõe de um repertório robusto para criar circuitos com funções específicas e previsíveis.

O avanço da programação celular aponta para aplicações cada vez mais sofisticadas, como terapias personalizadas, biocomputadores vivos e sistemas de diagnóstico autônomo. A integração com nanotecnologia, inteligência artificial e edição genética de alta precisão tende a ampliar o controle sobre os circuitos biológicos, permitindo que sejam desenhados com maior previsibilidade e segurança.

No futuro, espera-se que esses sistemas possam não apenas tratar doenças de forma direcionada, mas também atuar como plataformas de computação biológica, expandindo os limites da ciência e da tecnologia em direção a uma nova era de medicina e engenharia celular.

REFERÊNCIAS

Elowitz, Michael; Bois, Justin. Biological Circuit Design. California Institute of Technology: 2019. Publicado no Githun em 2026. Disponível em: https://biocircuits.github.io/. Acesso em: 15 mar. 2026.

Gardner, T.; Cantor, C; Collins, J. Construction of a genetic toggle switch in Escherichia coli. Nature 403, 339–342 (2000). https://doi.org/10.1038/35002131

Li G; Burkhardt D; Gross C. Quantifying Absolute Protein Synthesis Rates Reveals Principles Underlying Allocation of Cellular Resources. Cell, 157, 624-635. Disponível em: https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(14)00232-3. Acesso em: 21 jul. 2026.