



**Universidad del Sureste**

**Escuela de Medicina**

**Título del trabajo:**

**“Aplicación de nanobiotecnología con el sistema CRISPI-cas”**

**Nombre del alumno: Eduardo Meza Ozuna**

**Nombre de la asignatura: Biología Molecular**

**Semestre y grupo: 8ºA**

**Nombre del profesor: QFB. Hugo Nájera Mijangos**

La nanobiotecnología y la biología sintética son ciencias que impactan en la actualidad con el lanzamiento de aplicaciones innovadoras y beneficiosas para el ser humano, estas ciencias se han fusionado para fabricar nuevos componentes para la construcción de células totalmente artificiales y la creación de biomoléculas sintéticas

La ingeniería genética permite la transferencia programada de genes entre distintos organismos para fabricar nuevos componentes, la construcción de células eucariotas y/o procariontes totalmente artificiales y la creación de biomoléculas sintéticas. La introducción de la tecnología del ADN recombinante ha producido un cambio significativo en este campo de experimentación, puesto que permite clonar, diseñar y sintetizar nuevos genes que pueden introducirse en un organismo para conseguir la expresión de los mismos.

la nanobiotecnología se ha revelado con los nuevos sistemas que la ingeniería genética y la biología sintética han desarrollado, generando métodos que permiten escribir información en el código genético de las células bacterianas haciendo uso de sus mecanismos de defensa, como el sistema de agrupaciones de repeticiones cortas palindrómicas regularmente interespaciadas/proteínas asociadas a CRISPR (CRISPR/Cas) y la creación de ADN sintético.

El sistema CRISPR/Cas es un mecanismo de defensa en bacterias y arqueas análogo al silenciamiento con ARN interferente en eucariotas, su principal función es identificar y degradar secuencias de ácidos nucleicos exógenos; está compuesto por ARN cortos llamados crARN y tracrARN provenientes de la secuencia CRISPR, endonucleasa Cas y por genes asociados a Cas; la secuencia CRISPR se compone de un líder o promotor y distintas secuencias espaciadoras de 25 a 50 nucleótidos

Sistema CRISPR/Cas El sistema CRISPR/Cas, está compuesto por el precursor de ARN que es procesado en sus componentes maduros funcionales, los ARN cortos llamados crARN y tracrARN y por genes asociados a Cas (CRISPR-associated)(14); CRISPR y Cas están estructurados de la siguiente manera: CRISPR corresponde a un locus que contiene los espaciadores adquiridos de virus, plásmidos o cualquier material genético detectado como perjudicial para el microorganismo, y el locus Cas (CRISPR-asociado) que codifica para proteínas nucleasas requeridas para la defensa multipaso contra los elementos genéticos invasivos del sistema(17); como mecanismo de defensa, la actuación de CRISPR/Cas se resume en tres pasos importantes: adquisición, expresión e interferencia.

- La primera etapa inicia con el proceso de adquisición, en donde se reconoce un elemento portador de material genético como agente invasivo que

contiene los espaciadores hipervariables adquiridos a partir de ADN de virus o plásmido, éste identifica en su secuencia un fragmento determinado con el nombre de protoespaciador o PAM, al ingresar a la célula éste se corta y se integra en el locus CRISPR en el extremo 5' tras la secuencia líder y una de las repeticiones cambia su nombre espaciador(15,23); existen casos en los que el PAM en su entorno, genera una o varias secuencias conservadas cuya función es buscar que el sistema CRISPR/Cas logre ser reconocido fácilmente

### Memoria bacteriana

Las bacterias y arqueas han evolucionado en cuanto a sus mecanismos de defensa y de regulación para actuar frente a los diversos factores de estrés ambiental, incluyendo ataques de virus(31), este método se ha expandido en el reciente descubrimiento del sistema CRISPR/Cas, que tiene dos características novedosas, en primer lugar, se puede incorporar específicamente secuencias cortas de la invasión de elementos genéticos (virus o plásmidos) en una región de su genoma que se distingue por el sistema (CRISPR)(32); en segundo lugar, estas secuencias se transcriben y se procesan en pequeños ARNs (ácido ribonucleico), que guían un complejo de proteína multifuncional (proteínas Cas) que permite reconocer y escribir en el material genético

Tratamiento del cáncer usando la nanotecnología El cáncer es el resultado de la acumulación de múltiples alteraciones en genes que regulan el crecimiento celular, traen consigo daños a nivel morfológico y metabólico en las células que las presentan, ya que muchas de estas alteraciones son irreversibles, considerándose de gran importancia un diagnóstico oportuno que garantice una recuperación eficaz de este tipo de patologías(48,49) . Para noviembre de 2016, investigadores de la Universidad de Sichuan en China, lograron inyectar por primera vez en un paciente con cáncer de pulmón, linfocitos genéticamente modificados con el fin de generar una respuesta inmune eliminando las células tumorales empleando la tecnología CRISPR-Cas, creando una reestructuración del gen que codifica la proteína PD-1 (Programmed Death-1), receptor de superficie celular que cuya función es la regulación negativa del sistema inmunitario y la promoción de la auto-tolerancia empleando como mecanismo la supresión de la actividad inflamatoria de las células T. Aunque existe la inmunoterapia en la que se puede inactivar el gen PD-1, se espera que esta nueva tecnología sea una estrategia terapéutica con mayor eficiencia y estabilidad

Las propiedades del sistema CRISPR/Cas han permitido abrir la posibilidad de emplearlo para realizar terapia génica y celular; se ha usado como herramienta para

realizar mutaciones puntuales, recombinación homóloga por reparación dirigida por homóloga (HDR), silenciamiento y activación o represión de la transcripción de genes; gracias a estas propiedades, ha sido posible su aplicación para el monitoreo genético, análisis de rutas metabólicas, investigación de genómica funcional, generación de modelos animales, descubrimiento de posibles blancos para el tratamiento de enfermedades e incluso, corrección de fenotipos . Los diversos usos que se le han dado al sistema CRISPR/Cas han permitido observar su aplicación en terapias génicas. En líneas celulares de osteosarcoma, el silenciamiento estable de Quinasa dependiente de ciclina (Cdk11), con CRISPR/Cas aumenta la muerte celular, disminuye la migración y reduce la invasión por células malignas; en otros experimentos, se corrigieron el gen Fah para la tirosinemia<sup>43</sup> y el gen Dmd para la distrofia a muscular de Duchenne y en células madre intestinales de pacientes con fibrosis quística, se logró la modificación del receptor de membrana CFTR (Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator). Estas evidencias confirman que CRISPR/Cas es un sistema viable y eficaz, aplicable en modelos de animales adultos, para el desarrollo de terapias génicas . En terapia celular también ha sido empleado con una alta eficiencia, en el reemplazo celular a través de modificaciones in vivo de células para volver a introducirlas, creando una importante oportunidad de aplicación para CRISPR en la terapia. Esto se ha considerado para enfermedades neurodegenerativas como Huntington, Parkinson, Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica, debido a la pérdida progresiva en el número de neuronas







