

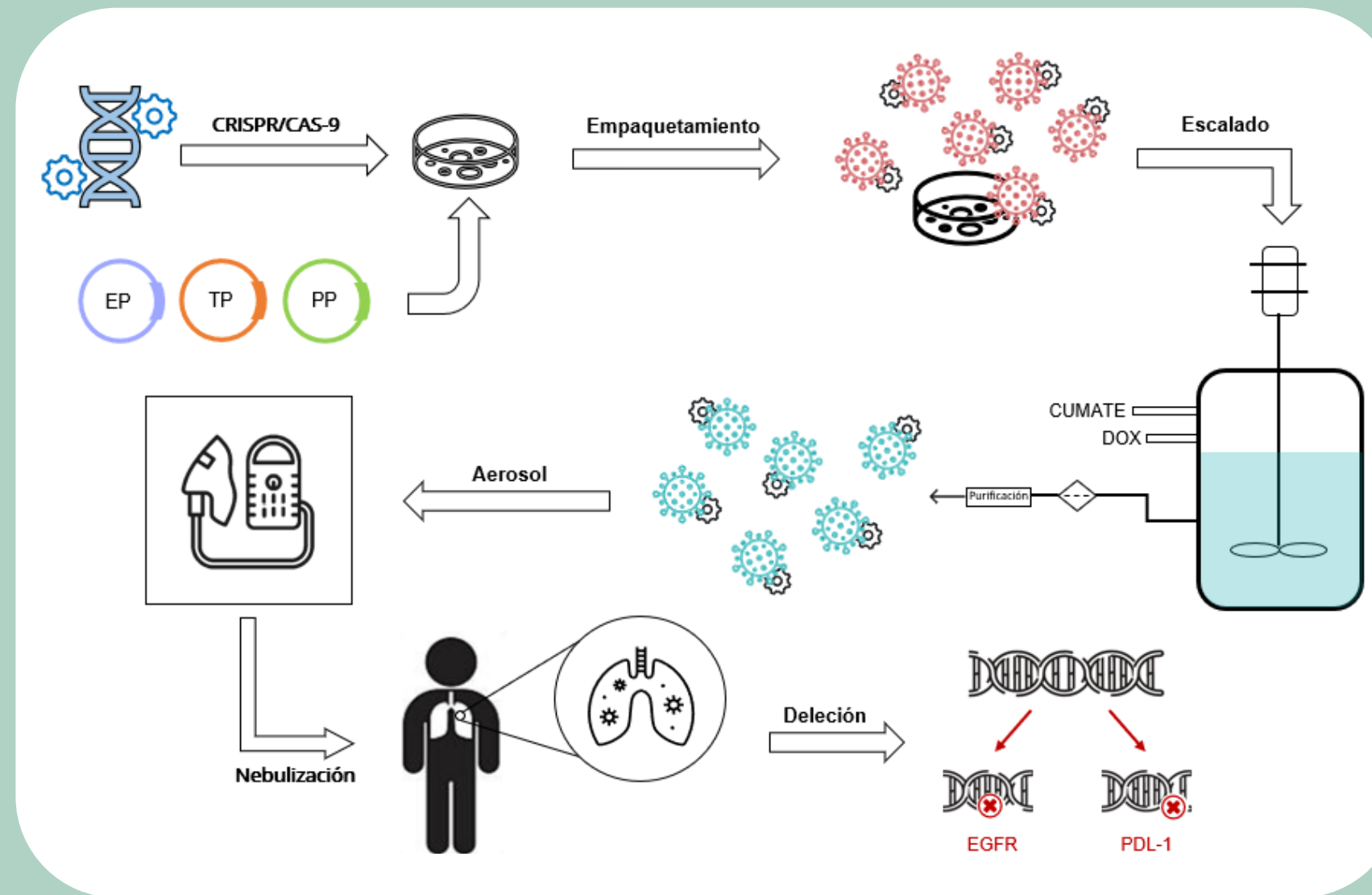
# AEROVIRUS T

Carolina Rodríguez Paloma Ruiz María González Rubén Gauna

La terapia se desarrolla en base a la idea de encontrar nuevas técnicas efectivas para el tratamiento del cáncer de pulmón. De esta manera desarrollamos una doble terapia génica enfocada en la mutación del gen *PD-L1* y *EGFR* mediante uso de la técnica CRISPR/CAS-9. La terapia es realizada por los lentivirus, los cuales actuarán como vectores de transferencia genética para realizar la doble edición de manera simultánea. Así, esperamos conseguir paliar el rendimiento hipofuncional del sistema inmune contra las células cancerígenas y frenar en gran medida la proliferación de la enfermedad.

## BIOPROCESO

### Preparación del Aerosol con Aerovirus T



El bioproceso comienza con la preparación de los **tres plásmidos** necesarios para conseguir el genoma de los lentivirus de **2º generación**, que serán los vectores genéticos que se utilizarán en la terapia. Los plásmidos contienen toda la información necesaria para la producción de partículas virales **deficientes** en su **replicación** y la información del **CRISPR/CAS-9**. Los plásmidos se introducirán en el genoma de las células **HEK-293**.

La técnica de **empaquetamiento** se basa en el uso de líneas celulares modificadas para producir y ensamblar las partículas virales. Esta comenzará a pequeña escala mediante un procedimiento de recogida de lotes. Aunque, podrá ser escalado a un **biorreactor de tanque agitado en discontinuo**.

Al momento de utilizarlos, los lentivirus se redisolven en suero isotónico y serán administrados al paciente mediante una técnica de **nebulización**. Una vez los lentivirus se localicen en las vías respiratorias comenzarán a infectar a las células cancerígenas y mediante la acción del **CRISPR/CAS-9** los **genes PD-L1** y **EGFR** serán **eliminados** del genoma de las células malignas, finalizando así la terapia.

Tras la purificación los lentivirus se almacenarán en **PBS a -70°**.  
Obtenidos los lentivirus, estos serán purificados mediante una **filtración a 0,45µ** y una posterior **ultracentrifugación de gradiente de sacarosa** eliminando cualquier sustancia del medio que pudiera provocar una activación del sistema inmune contra la terapia.

Las células empaquetadoras se encontrarán en un medio **LC-SFM**. Y habrán sido modificadas previamente para presentar un doble control en la producción de lentivirus mediado por **interruptores de Cumate y DOX** esenciales para controlar la citotoxicidad en el medio provocada por proteínas víricas precursoras.

### Materiales y Métodos

La información buscada fue extraída usando PubMed y Google Scholar. Se realizó una amplia búsqueda en relación al cáncer de pulmón, uso de terapias génicas y lentivirus.

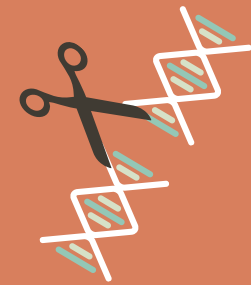
## Mutaciones

### Gen PD-L1

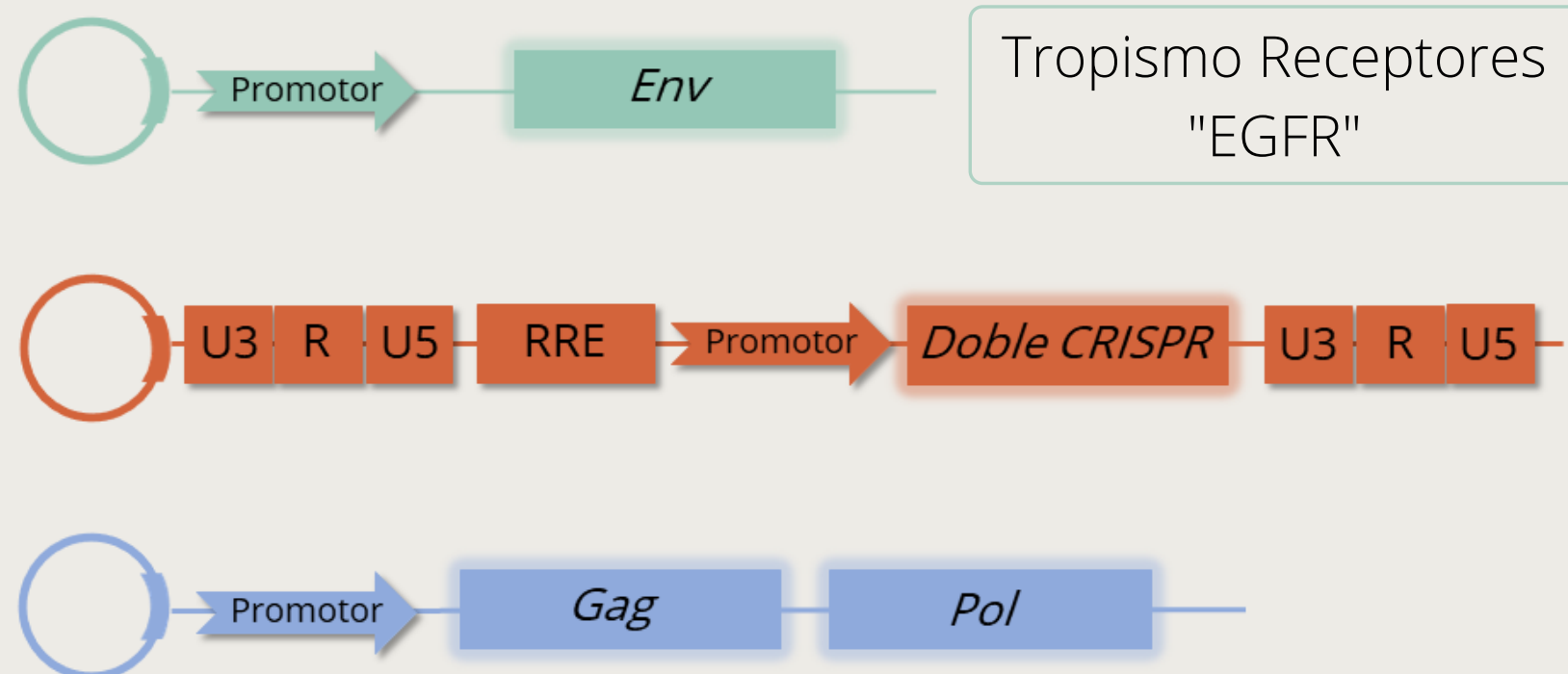
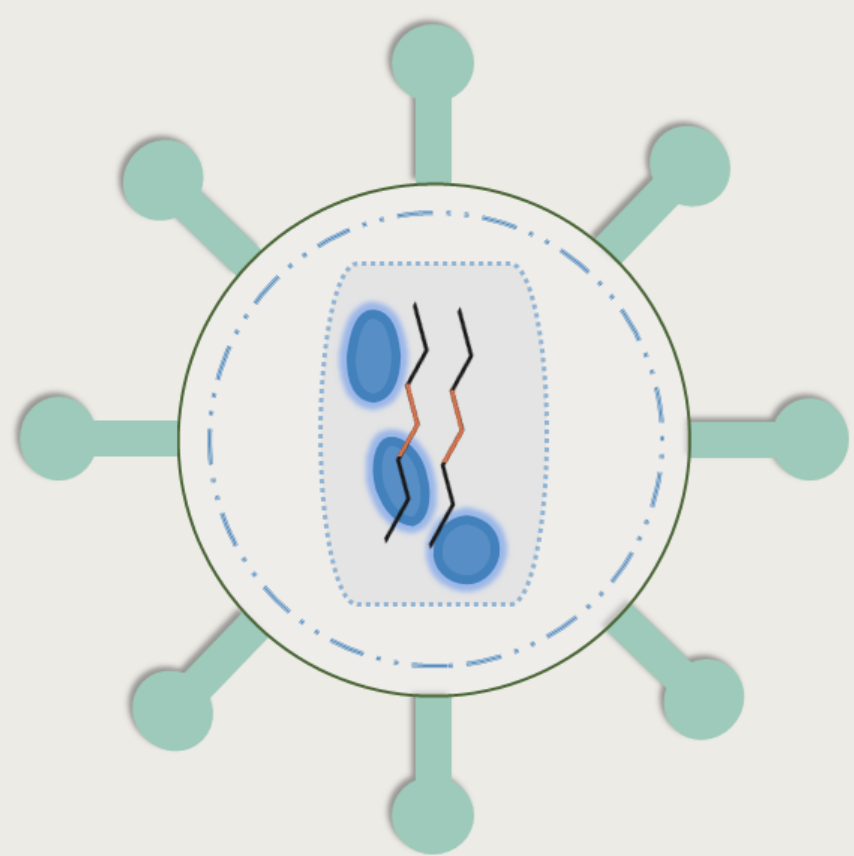
- Ligando de muerte programada.
- Rendimiento hipofuncional linfocitos T.

### Gen EGFR

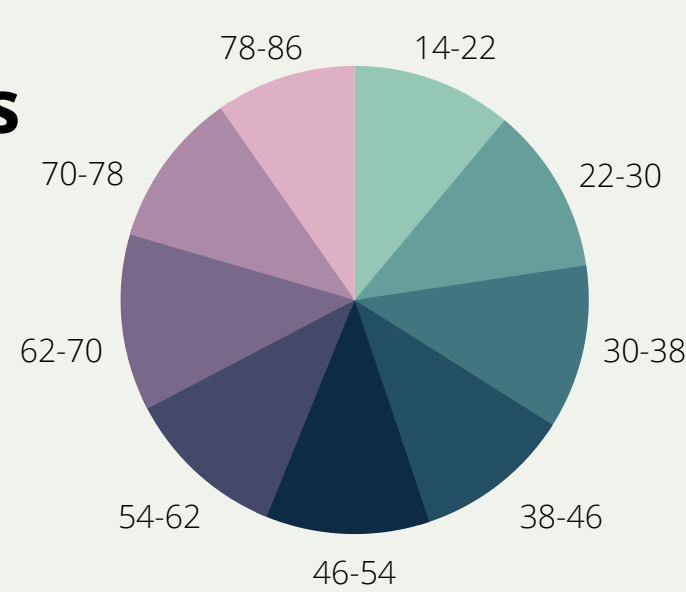
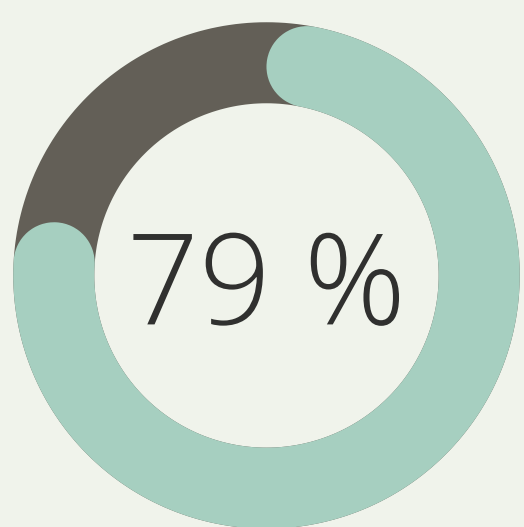
- Receptores de crecimiento celular.
- Aumento proliferación celular.



20,000 → 4,000,000



### Preferencia Terapias Innovadoras



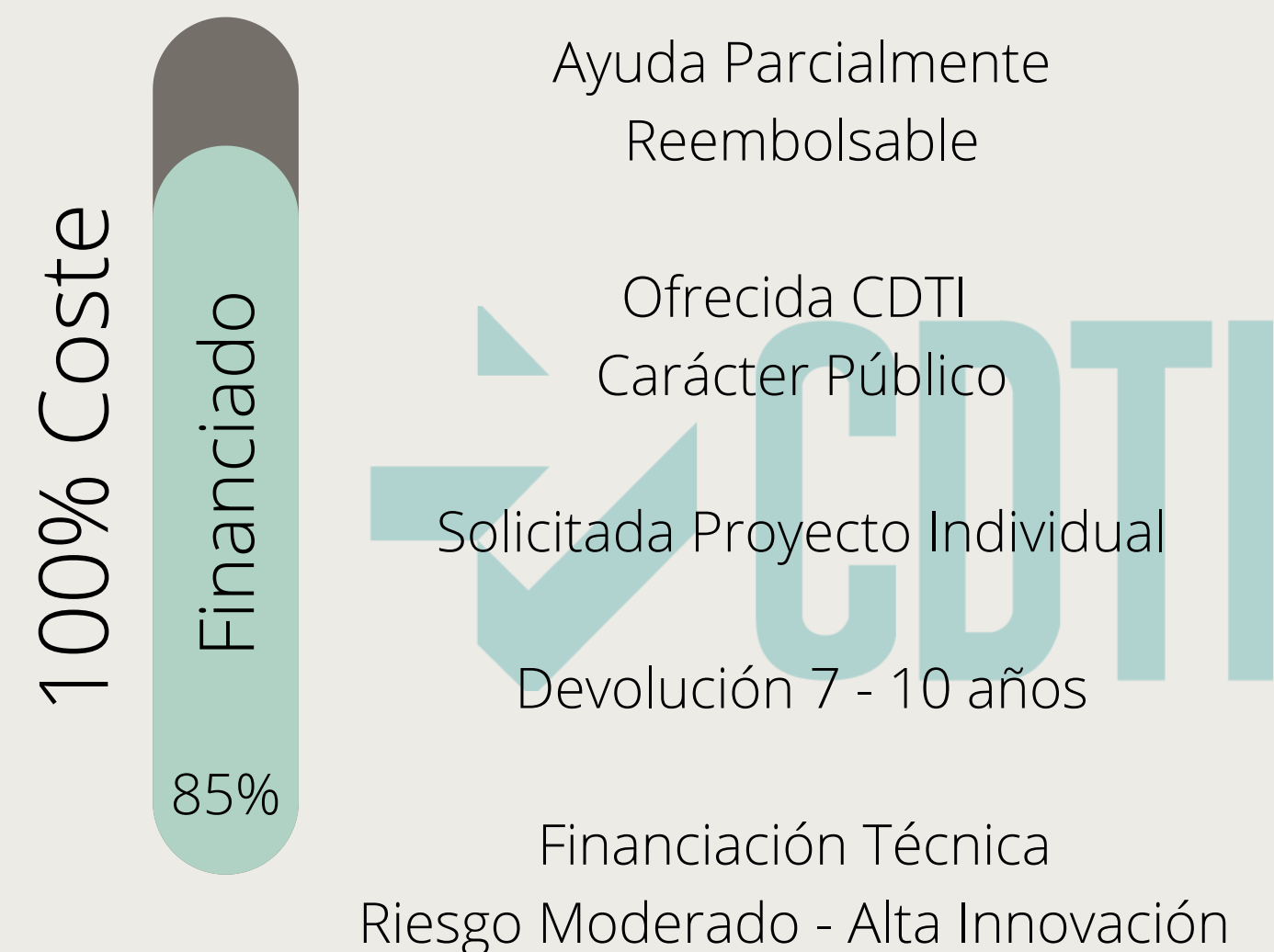
### ESTADÍSTICA

Comparación de las opiniones sobre la aceptación de la terapia vírica en rangos de edades desde los 14 hasta los 86 años. Observando que la aceptación es igual en cualquier edad.



Los datos representados provienen de una encuesta realizada a 200 personas donde se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo. Tras el estudio de los datos se puede concluir que el grado de aceptación de terapias innovadoras que involucran técnicas genéticas son aceptadas por la mayoría de la población independientemente del rango de edad.

## FINANCIACIÓN



## CONCLUSIÓN

Tras el desarrollo de la idea se concluye que la terapia génica es una de las mejores opciones para el tratamiento del cáncer debido a su capacidad de adaptación y de personalización. La mayoría de tratamientos actuales son muy invasivos y devastadores a nivel biológico, por eso este tipo de terapias menos agresivas pero eficaces deben ser tomadas como una vía de investigación principal para el tratamiento de esta patología.

### BIBLIOGRAFÍA

1. LEMJABBAR-ALAOUI, H., HASSAN, O. U. I., YANG, Y. W. & BUCHANAN, P. LUNG CANCER: BIOLOGY AND TREATMENT OPTIONS. *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA - REVIEWS ON CANCER VOL. 1856* 189-210 (2015). 2. RAN, F. A. ET AL. GENOME ENGINEERING USING THE CRISPR-CAS9 SYSTEM. *NATURE PROTOCOLS* 8, 2281-2308 (2013). 3. RUPP, L. J. ET AL. CRISPR/CAS9-MEDIATED PD-1 DISRUPTION ENHANCES ANTI-TUMOR EFFICACY OF HUMAN CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR T CELLS. *SCIENTIFIC REPORTS* 7, 737 (2017). 4. TANG, H. & SHRAGER, J. B. CRISPR/CAS-MEDIATED GENOME EDITING TO TREAT EGFR-MUTANT LUNG CANCER: A PERSONALIZED MOLECULAR SURGICAL THERAPY. *EMBO MOLECULAR MEDICINE* 8, 83-85 (2016). 5. BRECKPOT, K., AERTS, J. L. & THIELEMANS, K. LENTIVIRAL VECTORS FOR CANCER IMMUNOTHERAPY: TRANSFORMING INFECTIOUS PARTICLES INTO THERAPEUTICS. *GENE THERAPY* 14, 847-862 (2007). 6. SRINIVASAKUMAR, N. PACKAGING CELL SYSTEM FOR LENTIVIRUS VECTORS. PREPARATION AND USE. *METHODS IN MOLECULAR MEDICINE* 69, 275-302 (2002). 7. CRONIN, J., ZHANG, X.-Y. & REISER, J. ALTERING THE TROPISM OF LENTIVIRAL VECTORS THROUGH PSEUDOTYPING. *CURRENT GENE THERAPY* 5, 387-398 (2005). 8. MÁIZ CARRO, L. & WAGNER STRUWING, C. BENEFICIOS DE LA TERAPIA NEBULIZADA: CONCEPTOS BÁSICOS. *ARCHIVOS DE BRONCONEMOLOGIA* 47, 2-7 (2011).