

Proteína recombinante CFTR para tratar la mucoviscidosis

Alba Camino Castañón, Carmen González de la Cruz

La fibrosis quística es un trastorno hereditario autosómico recesivo monogénico caracterizado por insuficiencia pancreática, neumopatía crónica, infertilidad masculina. Esta patología es causada por la presencia de mutaciones en el gen *CFTR*, que codifica para una proteína de 1482 residuos de aminoácidos denominada Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (CFTR). El gen *CFTR*, regulado por AMPc, interviene en el transporte de electrolitos a través de la membrana apical de células epiteliales. Una disfunción de este provoca un defecto en la secreción de iones cloro, y por ello, la formación de secreciones anormalmente espesas y deshidratadas en órganos esenciales (pulmones). La solución que proponemos sería a través de un vector de expresión, crear una proteína recombinante CFTR e introducirla en las células del epitelio pulmonar, evitando así la acumulación de mucosidad espesa en las vías aéreas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para poder plantear nuestra idea, hemos obtenido información en varios artículos. Además, hemos utilizado diferentes programas para el diseño de nuestras imágenes.



Fig 1. Logos programas y fuentes utilizados.

También hemos utilizado diferentes métodos para referenciar nuestras fuentes bibliográficas como pueden ser APA, Vancouver y Mendeley.

GENES AFECTADOS

La principal causa es una delección de tres pares de bases en el exón 10 del cromosoma 7. La pérdida de los exones 4, 9 o 12 produce una hebra de ARNm distinta en su corte y empalme con los intrones generando errores en la proteína. El caso del exón 9 se da en mayor proporción frente al resto, y esto nos indica que tiene un papel fundamental en la alteración funcional de la proteína CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator).

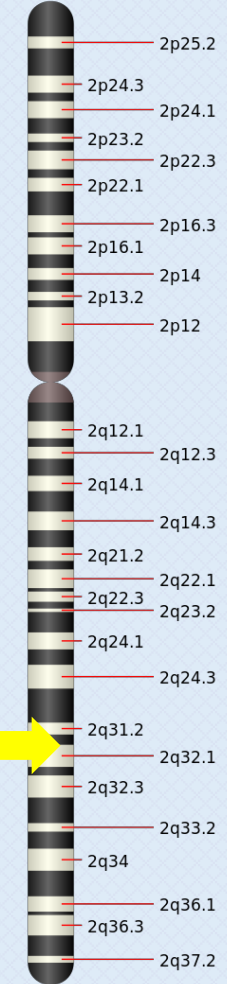


Fig 4. Gen *CFTR* del CR 7

RUTA METABÓLICA AFECTADA

La ausencia o disfunción de la proteína CFTR produce secreciones deshidratadas de iones cloruro, activadas por AMPc, que obstruyen los conductos epiteliales (vías respiratorias y conductos biliares y pancreáticas), provocando un daño tisular. En la misma membrana apical, existen también canales que permiten la entrada de sodio a favor de gradiente electroquímico, bloqueándose cuando se produce la segregación de cloro.

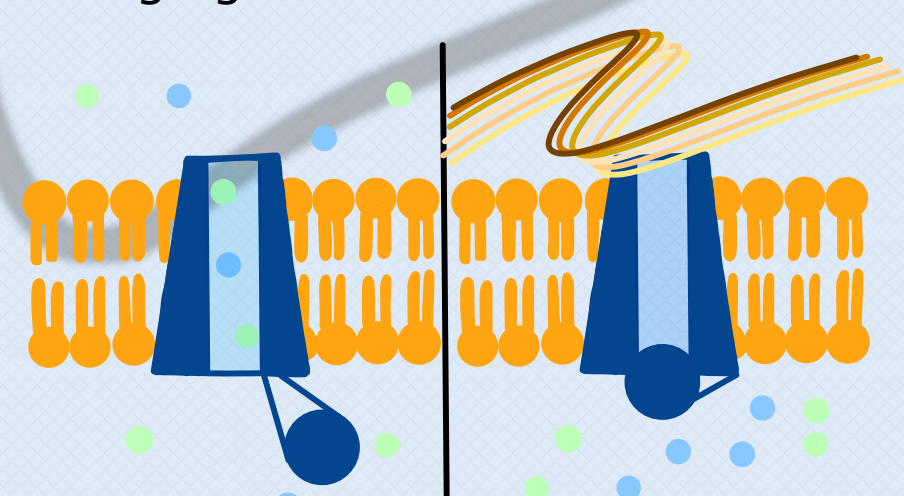


Fig 5. Comparativa canal ión cloro sano y con fibrosis quística.

¡CURIOSIDAD!

Los cultivos de *PICHIA PASTORIS* se caracterizan por su mal olor, pero se consideran GRAS (Organismo Generalmente Considerado como Seguro)

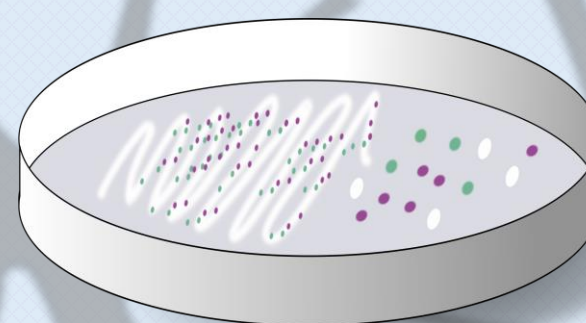


Fig 2. Nuestra placa Petri con un cultivo de *Pichia pastoris*.

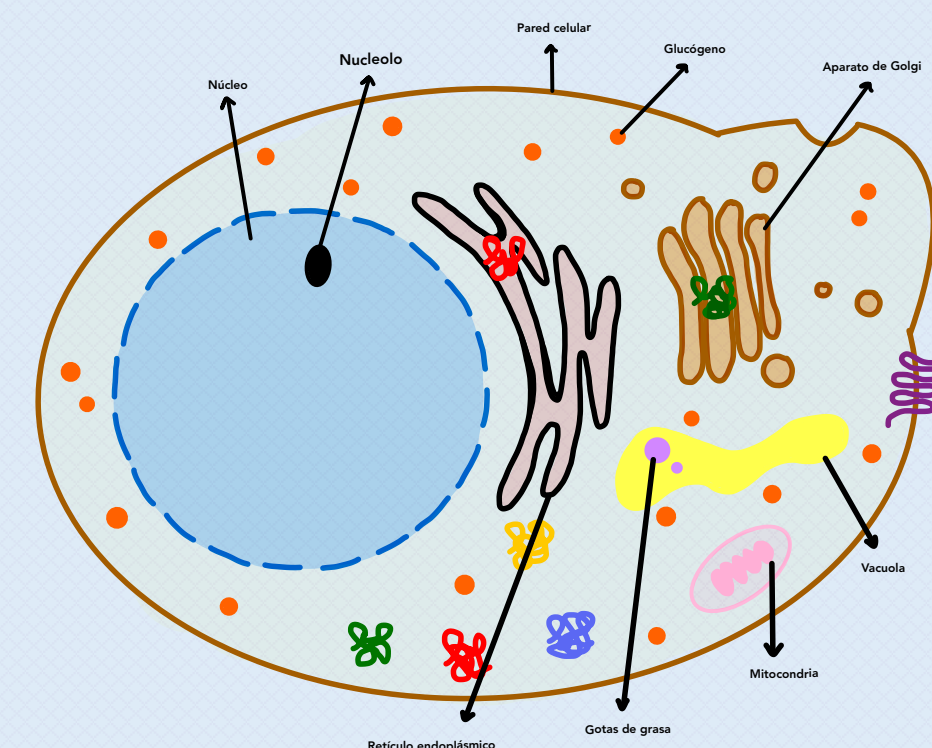


Fig 3. Partes del microorganismo utilizado para expresar la proteína recombinante - *Pichia pastoris*.

DESARROLLO ECONÓMICO

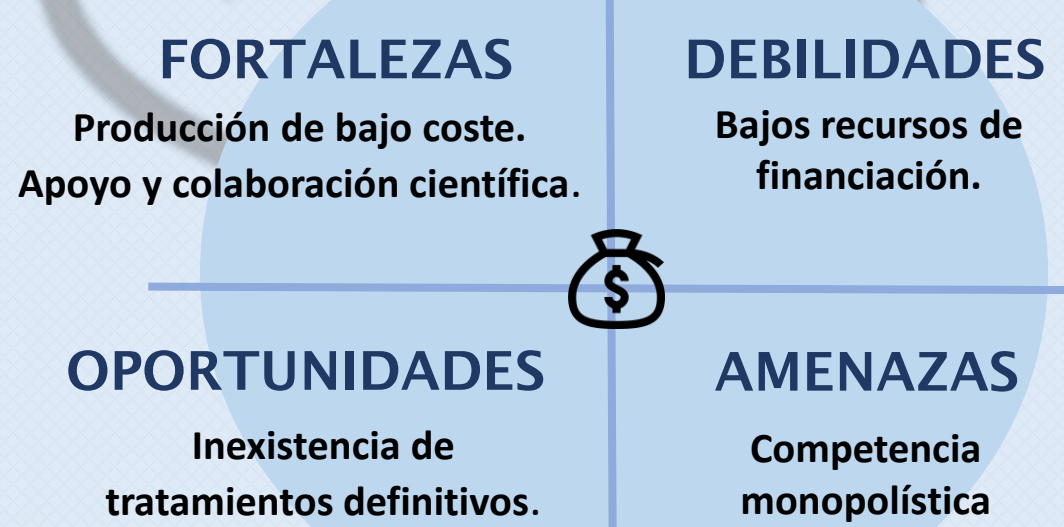


Fig 6. Análisis DAFO con las fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas para llevar a cabo nuestro proyecto.

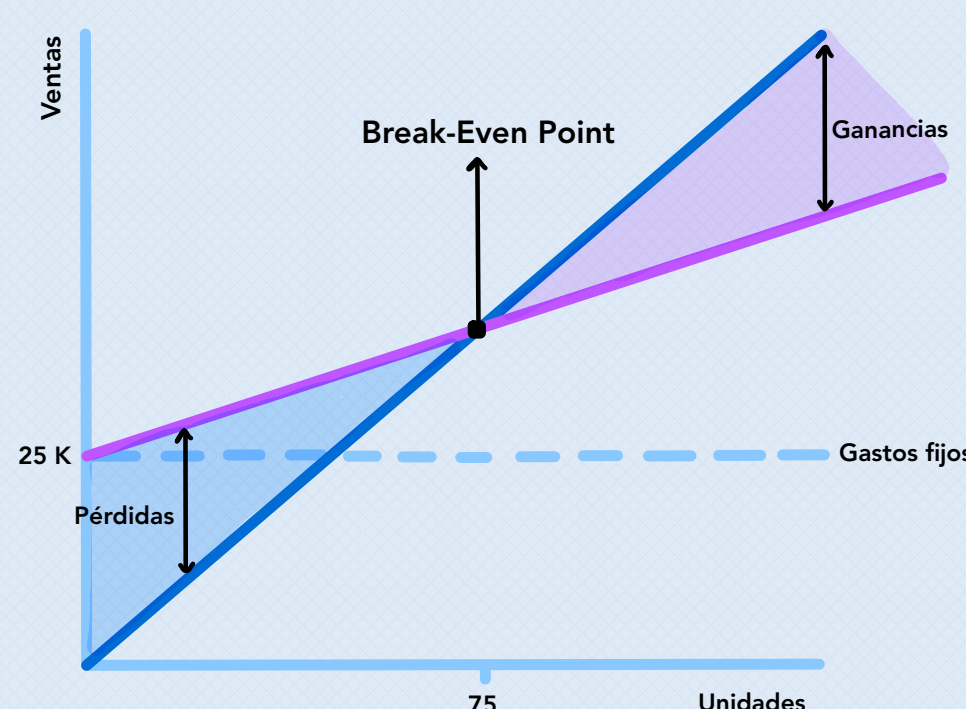


Fig 7. Gráfico gastos-ventas en el que se muestra la rentabilidad de nuestro producto.

RESULTADOS

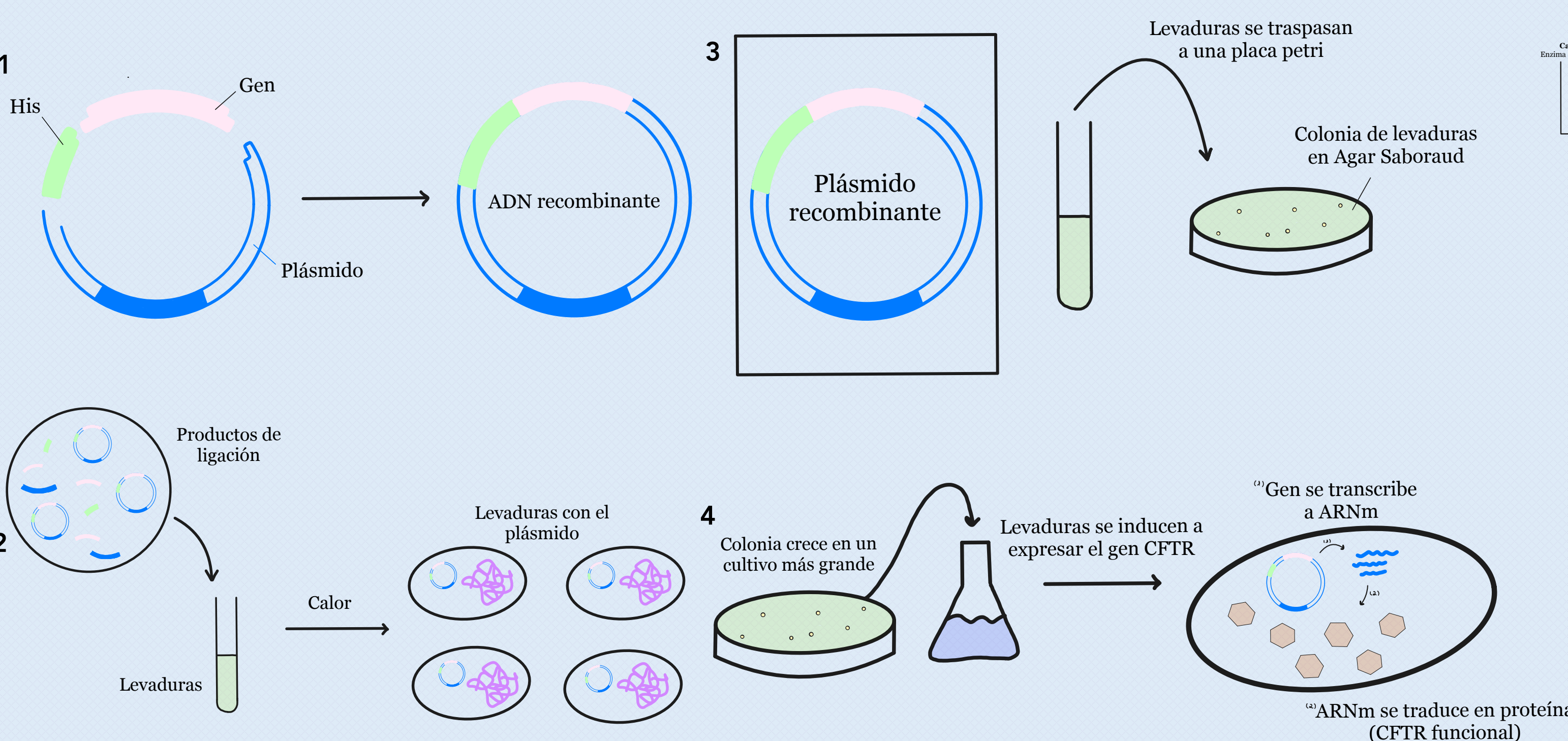


Fig 9. Clonación de la levadura *Pichia pastoris*: (1) Cortar y ensamblar el ADN mediante enzimas de restricción y la enzima ligasa; (2) y (3) Transfomación y selección para la obtención del plásmido recombinante y su posterior empaquetamiento mediante modificaciones postraduccionales.

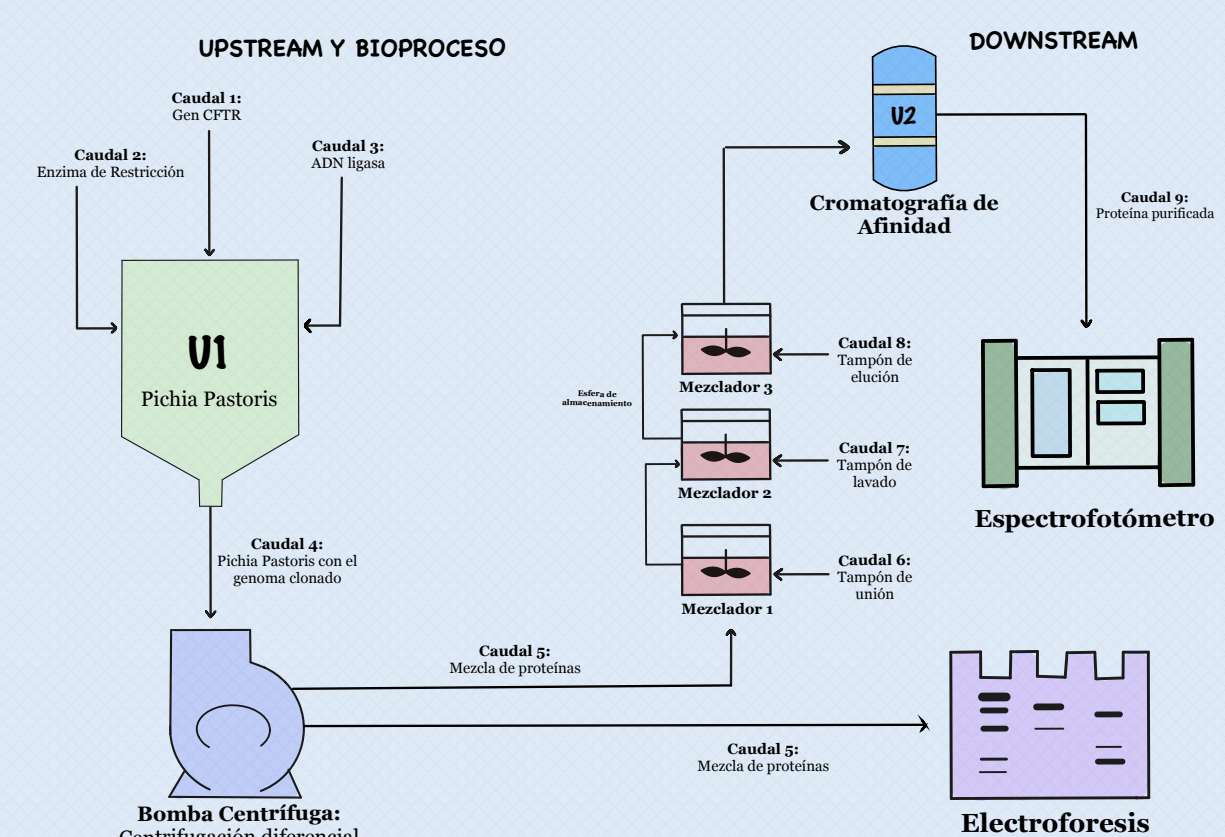
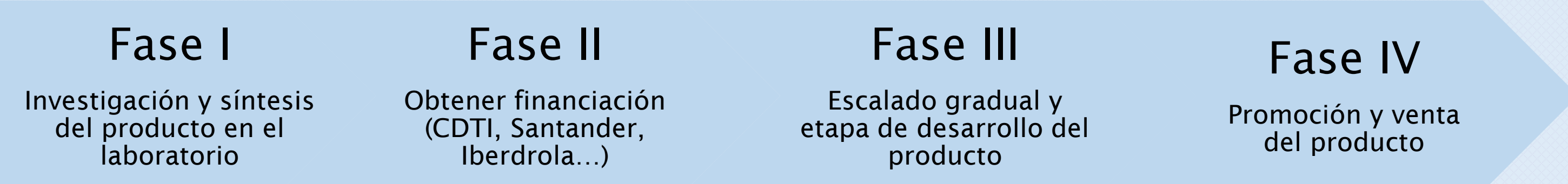


Fig 8. Diagrama de flujo de nuestro bioproceso.

Finalmente, para introducir la proteína transmembrana funcional en las células del epitelio pulmonar utilizaremos un spray intranasal, evitando así, la acumulación de la mucosidad en las vías aéreas.

CONCLUSIONES



La fibrosis quística es una enfermedad multiorgánica que afecta especialmente a los pulmones y al páncreas, es de carácter degenerativo y está asociada a enfermedades causadas por diversos microorganismos. A pesar de la existencia de estudios clínicos, estos han mostrado resultados desiguales prometedores, pero no definitivos. Sería un error pensar que la biotecnología no desempeña hoy en día un papel fundamental en este tipo de enfermedades, por ese motivo, nuestro proyecto puede aprovechar esta oportunidad para paliar de forma definitiva la disfuncionalidad del gen, y por lo tanto, de la proteína CFTR.

¡APOSTEMOS POR LA CIENCIA!

Rodrigo A. Rivero (2017). *Diseño de un sistema de expresión de proteínas transmembrana para BAL*.
 Castro, H. E., Aguirre, A. S., Ortega, J. M. N., & Ortega, J. M. N. (2009). *Fibrosis quística*. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica; 67(590).
 Romero Losada, N. (2017). *Bases bioquímicas y avances en la terapia de la fibrosis quística (TFQ)*.
 D. Sossa-Urrego, María A. Navarro-Acevedo, Adriana M. Villamil, M. Mercado-Reyes, B. Quevedo-Hidalgo, Aura M. Pedroza-Rodríguez (2008). *Inmovilización de Bacillus licheniformis y Saccharomyces Cerevisiae para la producción de etanol a partir de almidón de patata*, 13, 149-161.
 L. Orozco, M. Chávez, Y. Saldaña, R. Velázquez, A. Carnevale, A. González-del Ángel y S. Jiménez (2006). *Fibrosis Quística: la frontera del conocimiento molecular y sus aplicaciones clínicas*.
 Spriestersbach, A., Kubicek, J., Schäfer, F., Block, H., & Maertens, B. (2015). Purification of His-Tagged Proteins. *Methods in enzymology*, 559, 1-15.
 Loughran, S. T., Bree, R. T., & Walls, D. (2017). Purification of Polyhistidine-Tagged Proteins. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1485, 275-303.

BIBLIOGRAFÍA

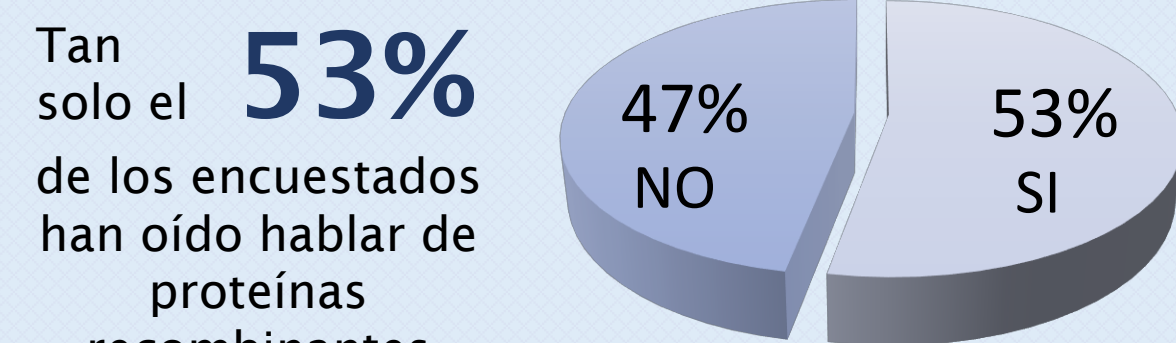


Fig 10. En este gráfico de sectores con un espacio muestral de 100 individuos, se muestran las variables cualitativas (si/no) del conocimiento de la población sobre la existencia de proteínas recombinantes.

¡CURIOSIDAD!

FUNDACIÓN ESPAÑOLA FIBROSIS QUÍSTICA

Existe una fundación española sin ánimo de lucro, cuyo fin es la mejora del nivel de vida de los pacientes.



Fig 11. Logo fundación.

Para más información

