

SEMINARIO: “Usando el sistema CRISPR/Cas9 en el pez cebra para descubrir genes relacionados con el desarrollo humano.”

Conferenciante:

Miguel A. Moreno-Mateos
Associate Research Scientist
Dr. Antonio Giraldez’s laboratory
Department of Genetics
Yale University School of Medicine

Areas de interés (palabras clave)

CRISPR/Cas9, ingeniería genética, pez cebra, desarrollo temprano, modelos genéticos, desarrollo del cerebro, microcefalia, enfermedades humanas, RNA no codificante, RNA.

Abstract

La secuenciación del genoma humano significó solo el comienzo para descubrir las bases moleculares de las enfermedades que nos afectan. Estudios a nivel genómico han identificado numerosos genes que potencialmente podrían estar relacionados con enfermedades humanas. Sin embargo, para comprender la función de estos genes es crucial el uso de modelos genéticos sencillos y sistemas de ingeniería genética eficientes. CRISPR/Cas9 es un sistema asequible de ingeniería genética que recientemente descubierto. Este sistema está basado en el diseño de un pequeño RNA no codificante (sgRNA del inglés “single guide RNA”) que dirige a una endonucleasa (Cas9) a los sitios del genoma que se deseen mutar. Pese a su simplicidad, las bases moleculares que controlan la eficacia *in vivo* de este sistema no han sido aún descubiertas.

En nuestro laboratorio hemos llevado a cabo un estudio a gran escala para determinar los factores que afectan la actividad de este sistema. Este análisis reveló que ciertas preferencias nucleotídicas en el sgRNA son críticas para su correcto funcionamiento, específicamente *in vivo*. Estos novedosos hallazgos han permitido generar un modelo capaz de predecir la actividad del sistema (CRISPRscan <http://www.yale.edu/giraldezlab/Crisprscan.html>). Para evitar la toxicidad y letalidad que se produce al generar mutaciones en el embrión completo, hemos diseñado una nueva versión de la endonucleasa Cas9, que concentra las mutaciones, de manera específica, en las células germinales. Este nuevo y optimizado sistema de mutación nos ha permitido llevar a cabo escrutinios genéticos de un modo sencillo, rápido y eficiente. De hecho, empleando dicho sistema en un escrutinio en el pez cebra hemos identificado un nuevo gen involucrado en el desarrollo del cerebro en vertebrados que se encuentra mutado en familias consanguíneas con miembros que tienen microcefalia. Esta enfermedad es autosómica recesiva y afecta a las

capacidades cognitivas del paciente presentando una significativa reducción del tamaño del cerebro. Trabajos previos, usando levaduras y después líneas celulares de mamífero, sugieren que la función de este gen está relacionada con la maduración de los RNA mensajeros. Sin embargo, no hay ningún estudio en vertebrados para la caracterización de este gen. Actualmente, nuestro laboratorio está estudiando su función molecular así como su relación con el desarrollo del cerebro en vertebrados.

En resumen, nuestro trabajo ha resultado en una detallada caracterización y optimización del sistema CRISPR/Cas9 *in vivo* que ha permitido su aplicación para el descubrimiento nuevos genes críticos en el desarrollo del cerebro e involucrados en enfermedades que afectan al ser humano.

Referencias

- Langheinrich U. (2013). Zebrafish: a new model on the pharmaceutical catwalk. *Bioessays* 25: 904-12.
- Hsu, P.D., Lander, E.S., and Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 157, 1262-1278.