

RESUMEN PROYECTO TESIS

El déficit de alfa-1 antitripsina tiene tres características importantes que hacen de esta condición una buena diana para el desarrollo de una terapia génica:

- Solo hay un gen afectado, el gen SERPINA1
- Las mutaciones mayoritarias -Pi*Z y Pi*S- que provocan el DAAT son cambios puntuales de un solo nucleótido.
- No existe un tratamiento definitivo y curativo, sino sintomático y que, además, no tiene efectos sobre la enfermedad hepática. De manera que existe una necesidad de un tratamiento definitivo para los pacientes con DAAT.

Por todo esto, el objetivo de este proyecto es la edición de la mutación que da lugar al fenotipo del DAAT más grave, la Pi*Z, mediante el uso del sistema de edición génica CRISPR/Cas9 en monocitos de pacientes. Estas células también expresan la AAT, aunque en menor cantidad que los hepatocitos, y son más accesibles sin necesidad de métodos invasivos para el individuo.

El sistema CRISPR/Cas9 nos permite dirigir a la endonucleasa Cas9 a un punto concreto del genoma, en este caso la mutación Pi*Z del gen SERPINA1, a través de unas moléculas guía de ARN diseñadas específicamente. La Cas9 corta el ADN y este daño es corregido por la célula. Si introducimos una molécula de ADN con la secuencia correcta del gen, la célula la copiará y será capaz de expresar la proteína AAT funcional.

Hasta el momento, hemos diseñado diferentes guías específicas para la mutación Pi*Z y puesto a punto el sistema en la línea celular establecida Hek293 y también en monocitos primarios sanos. Los siguientes pasos serán el diseño del ADN molde con la secuencia normal del gen SERPINA1 y el establecimiento de una línea de monocitos inmortalizados de un paciente Pi*ZZ para finalmente corregir la mutación en esta línea y comprobar que disminuye la cantidad de polímeros y se secreta AAT funcional al medio.