

CRISPR é a tecnologia mais recente de edição genética, e que tem causado bastante discussões. Você sabe como ela funciona? Na thread de hoje explicamos qual a base dessa técnica e como ela pode ser aplicada no melhoramento. Segue o fio ->

Foi descoberta em 1987 por Yoshizumi Ishino, uma região com sequências repetidas e espaçadoras em *E. coli*. Através de estudos posteriores, essa região foi identificada como parte de um processo de defesa dos procariotos contra (re)infecções de patógenos.

(...)

(...)

Esse sistema imune adaptativo se compõe basicamente de uma região de sequências repetidas e espaçadoras (CRISPR- Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) e de um conjunto de genes Cas (Crispr Associated Genes).

(...)

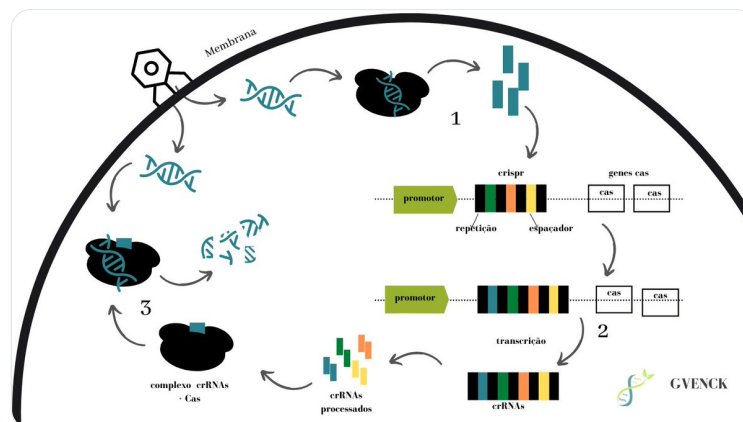
(...)

O processo possui três etapas básicas:

1 - O conjunto Cas codifica enzimas que clivam o DNA do invasor e o incorpora na região crispr;

2 - São produzidos crRNAs a partir do segmento incorporado;

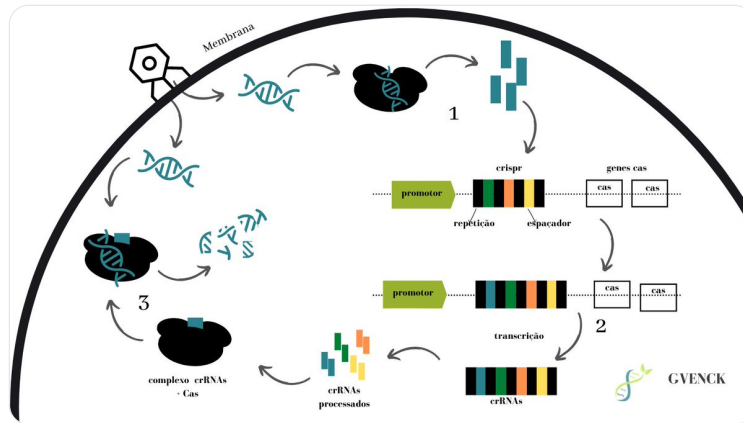
(...)



(...)

3 - Caso ocorra uma nova invasão o complexo crRNAs + proteínas Cas identificam o material genético invasor e o destroem.

(...)



(...)

Baseado neste mecanismo de defesa dos procariotos desenvolveu-se a técnica CRISPR. A técnica necessita basicamente de três moléculas: uma nuclease, um RNA-guia (sgRNA) e um DNA alvo.

(...)

(...)

O RNA-guia reconhece o DNA alvo e direciona a nuclease que fará o corte. Em geral, a proteína utilizada para o corte do DNA alvo é a Cas9.

(...)

(...)

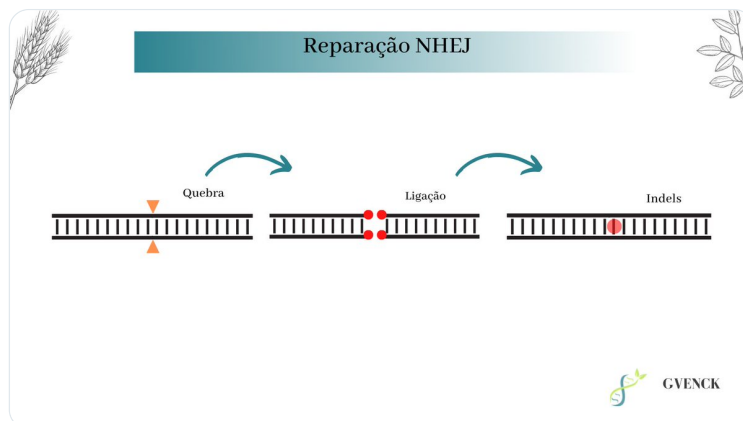
A região clivada pela Cas9 possui 2 elementos o alvo e uma sequência PAM, que são sequências curtas essenciais para ancoragem ao sítio de clivagem.

(...)

(...)

Após o corte o DNA alvo possui duas formas de reparação: non-homologous end joining (NHEJ), na qual as duas pontas de DNA que não possuem homologia são ligadas diretamente, o que pode gerar mutações do tipo indel;

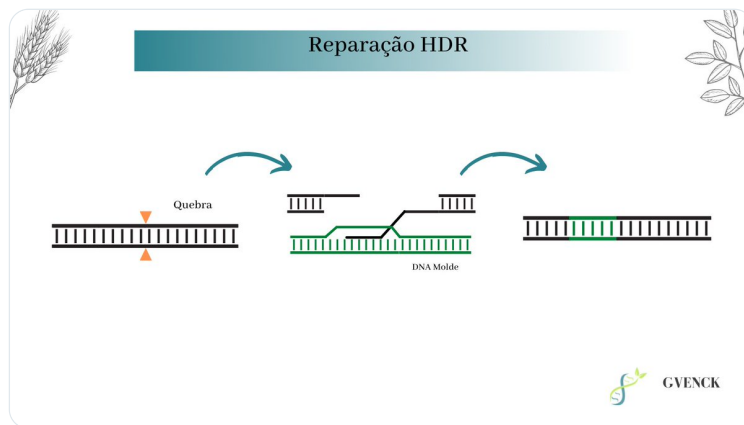
(...)



(...)

e a homology directed repair (HDR) utiliza um DNA doador como molde, que pode ser introduzido no experimento, podendo gerar substituição alélica e inserção de transgenes.

(...)



(...)

A técnica pode ser aplicada em:

1 - Edição de DNA por Nocaute Gênico (via NHEJ gerando indels ou via HDR, utilizando um DNA doador); Integração de transgenes (via HDR, o DNA doador é um transgene); Substituição alélica (via HDR, o DNA doador possui o novo alelo);

(...)

(...)

2 - Marcação de DNA (utiliza-se uma Cas9 inativada (dCas9) associada à uma proteína de marcação);

3 - Regulação da expressão gênica (Associando dCas9 com proteínas reguladoras de transcrição);

4 - Clivagem e Rastreamento de RNAs;

5 - Mapeamento de genes.

(...)

(...)

Na agricultura a técnica pode ser utilizada ao controle de pragas, tanto editando no cultivar de interesse genes relacionados à resistência (Wang et al., 2014) quanto editando o organismo causador da doença para controle populacional (Li and Scott, 2015).

(...)

(...)

Além disso, através de inserções, deleções e substituições de nucleotídeos a tecnologia pode aumentar a variabilidade genética, que é fundamental no processo de seleção para o melhoramento.

(...)

(...)

Gostou do tema? A recomendação dentro do tema é o filme GATTACA com Ethan Hawke e Uma Thurman. Na trama a edição genética de humanos já é uma realidade e, Vincent sonha em ir ao espaço e para isso precisa burlar o sistema que o considera geneticamente inferior.

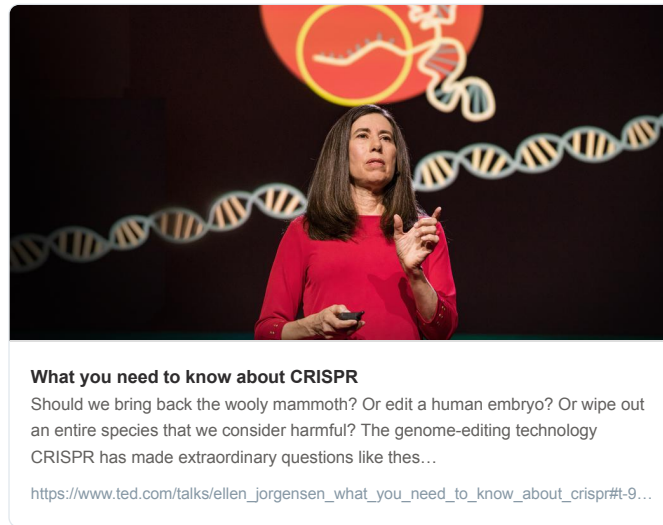
(...)

GATTACA -

<http://cienciaviva.org.br/index.php/2020/03/23/ficcao-cientifica-gattaca-um-experimento-genetico/>

(...)

Recomendamos também esse vídeo da pesquisadora Ellen Jorgensen, onde ela explica os mitos e realidades do CRISPR.



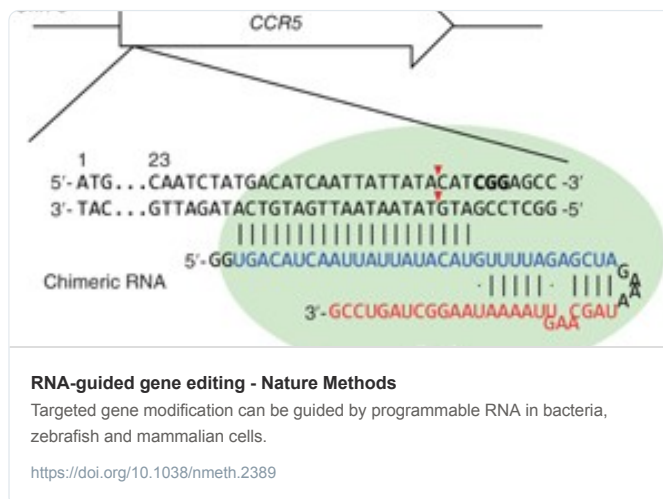
(...)

(...)

Para se aprofundar mais leia as seguintes referências:

Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346(6213):1258096-9.

de Souza, N. RNA-guided gene editing. *Nat Methods* 10, 189 (2013).



(...)

Li F, Scott MJ. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the white and Sex lethal locus in the invasive pest, *Drosophila suzukii*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;469:911-6.

Pereira, T. C. (2016). Introdução à técnica de CRISPR. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética.(...)

(...)

Pyott DE, Sheehan E, Molnar A. Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants. Mol Plant Pathol. 2016.

(...)

(...)

Wang Y, Cheng X, Shan Q, Zhang Y, Liu J, Gao C, et al. Simultaneous editing of three homoeo alleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. Nat. Biotechnol. Advance On.2014:1-6.

(...)

(...)

Texto e arte por Vitória Bizão.

[@threadreaderapp](#) compile

• • •