

Perspectivas de la evolución dirigida en la Cuarta Revolución Industrial

doi: 10.5281/zenodo.4654819



ÁLBERTO FLOREZ PRADA

Médico Cirujano de la Universidad San Martín de Porres, Perú. Máster en Biología Estructural (Integrative Structural Biology) de la Université Grenoble Alpes, Francia. Estudiante de PhD en Virología de la "École Doctorale Chimie & Sciences du Vivant" - Université Grenoble Alpes. Trabaja en el equipo "Viral Replication Machines" del Institut de Biologie Structurale, Grenoble, Francia.

✉ florez_alberto@hotmail.com <https://github.com/florez-alberto>

La evolución dirigida es una técnica de laboratorio que se encarga de seleccionar y amplificar, de una librería de millones de combinaciones diferentes, aquellas proteínas que tienen las propiedades que nosotros deseamos. Ya se han logrado suficientes avances como para poder plantearnos el fin hacia dónde vamos con todo esto. En este artículo voy a señalar los avances que nos permiten llegar a este punto y la perspectiva del futuro en este campo.

A lo largo de los años los métodos para la manipulación del ADN se han universalizado por su eficiencia, generando toda una industria en donde es posible diseñar secuencias de ADN con herramientas informáticas [1], ordenar su síntesis a una empresa privada, como es el caso de Sigma Aldrich [2] y recibirla por correo en alrededor de 1 semana. Estas secuencias son amplificadas e insertadas en secuencias especiales de ADN llamadas plásmidos (Lederberg, 1952) que permiten la manipulación del comportamiento de organismos para la producción de las proteínas que hayamos ordenado en nuestra secuencia de ADN inicial.

Para este objetivo se utilizan diversas proteínas descubiertas a lo largo de los años y en diversos organismos, como la polimerasa de la bacteria *Thermus thermophilus* (Gelfand & Myers, 1995), que es resistente a la extrema temperatura y que permitió el desarrollo de la amplificación in-vitro de nuevas cadenas de ADN, o de las enzimas de restricción (Roberts, 2005) que nos permiten cortar el ADN en lugares específicos y armar construcciones como si fuera un rompecabezas. Y por último la ligasa (Silber et al., 1972), que nos permite unir las secuencias en lugares específicos. Para expresar dichas proteínas existen ciertos organismos celulares, en el dominio de las bacterias está por ejemplo la *Escherichia coli* BL21

(Phue et al., 2008), especializada en la producción de proteínas, y existen hasta linajes de células humanas como HeLa (Lucey et al., 2009), o la producción de proteínas en la superficie de un virus como el bacteriófago M13 (Smith, 1985). De esta manera es posible usar el ADN de un organismo para expresar proteínas en otro organismo, o crear proteínas híbridas que tienen diferentes propiedades, ligadas unas con otras permitiendo tener un cierto dominio sobre sus propiedades biofísicas (Demain & Vaishnav, 2009). Definitivamente existen ciertas limitaciones, que a su vez son desafíos para las nuevas generaciones de investigadores. Esta idea de vectores, a los que se les inserta una especie de *cassette* para que produzcan lo que deseamos, dentro del campo de la evolución dirigida, permite crear grandes librerías de miles de millones de secuencias de proteínas ligadas al código genético como en el caso del *phage display* (Smith & Petrenko, 1997), y que luego, usando métodos biofísicos, es posible seleccionar solo los que tienen mayor afinidad por cierto receptor. La posibilidad de generar variantes aleatorias permite explorar combinaciones que posiblemente jamás han sido vistas en la naturaleza para encontrar nuevos inhibidores o moléculas más complejas como anticuerpos con las características necesarias para actuar como medicamentos.

Este el caso del anticuerpo *adalimumab* (Scheinfeld, 2003), que fue descubierto con la técnica de *phage display* y que básicamente inhibe el factor de necrosis tumoral, encargado de la respuesta inflamatoria exagerada en una gran variedad de enfermedades como la artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad de Crohn y muchas otras. Este medicamento además fue el primer anticuerpo monoclonal humano en ser apro-

bado por la FDA y es el más vendido en el mundo. El desarrollo de esta tecnología le dio el premio Nobel en el 2018 a George Smith, Gregory P Winter y Frances Arnold (Gibney et al., 2018).

De una manera análoga al uso de vectores y *cassettes* para la producción de proteínas, también se encuentra el concepto de *carriers* (Borrelli et al., 2018; Simeone et al., 2011), transportadores moleculares que pueden ser desde simples esferas de lípidos – como en el caso de la vacuna de ARN de Moderna (Polack et al., 2020); o hasta *carriers* virales como el adenovirus humano tipo 5 usado para la vacuna de Sinovac (Zhu et al., 2020) que permiten llevar medicamentos a tejidos específicos. El hecho es que los *carriers* en sí solo permiten transportar tipos de medicamentos en su interior, mas no son medicamentos en sí.

La convergencia de estos campos nos abre las oportunidades no solo hacia una selección automatizada de secuencias que tal vez hubieran requerido miles de años para aparecer espontáneamente en la naturaleza -en cuestión de semanas o días dependiendo de la técnica de evolución dirigida usada (Cobb et al., 2013); sino hacia la inserción de dichas secuencias en un *carrier* para generar tratamientos específicos, tal vez hasta casi personalizados, para potencialmente tratar múltiples enfermedades como el cáncer o enfermedades infecciosas como el ébola, influenza o el SARS-CoV2.

En tanto que esta perspectiva estuvo siempre

presente, tal vez desde hace más de 30 años, como cuando a Gregory P. Winter se le ocurrió expresar diversas proteínas en la superficie del bacteriófago M13 (Smith, 1985), dando inicio al desarrollo de la técnica del *phage display*, hasta el día de hoy con el uso de *cassettes*, vectores, *carriers* y a las últimas técnicas de secuenciación de ADN de la "siguiente generación" (next generation sequencing) (Reis-Filho, 2009) que nos permite conocer exactamente la cantidad de secuencias seleccionadas y sus proporciones; hoy todo apunta hacia la automatización de procesos, el procesamiento de grandes cantidades de información y el ensayo biofísico de grandes volúmenes de secuencias, permitiendo generar una cantidad de conocimiento, el cual es analizado con herramientas informáticas y que tiene repercusión no solo para la biología sino para la industria (Wang et al., 2020) La combinación con el uso de robots y ensayos estandarizados en organismos modelo, que han sido desarrollados en las últimas décadas, nos abren la puerta hacia un futuro más optimista en donde tal vez la capacidad de evolucionar(nos) supere la capacidad de adaptación de los males que nos aquejan, proporcionando una vida digna y libre de sufrimiento para toda la humanidad.

[1] <https://www.snapgene.com>

[2] <https://www.sigmaaldrich.com>

Referencias

- Borrelli, A., Tornesello, A. L., Tornesello, M. L., & Buonaguro, F. M. (2018). Cell penetrating peptides as molecular carriers for anti-cancer agents. *Molecules*, 23(2), 295. <https://doi.org/10.3390/molecules23020295>
- Cobb, R. E., Chao, R., & Zhao, H. (2013). Directed evolution: past, present, and future. *AIChE Journal*, 59(5), 1432-1440. <https://doi.org/10.1002/aic.13995>
- Demain, A. L., & Vaishnav, P. (2009). Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. *Biotechnology advances*, 27(3), 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.01.008>
- Gelfand, D. H., & Myers, T. W. (1995). U.S. Patent No. 5,407,800. U.S. Patent and Trademark Office. <https://patents.google.com/patent/US5407800A/en>
- Gibney, E., Van Noorden, R., Ledford, H., Castelvechi, D., & Warren, M. (2018). 'Test-tube' evolution wins Chemistry Nobel Prize. *Nature*, 562(7726), 176. <https://www.nature.com/articles/d41586-018-06753-y#:~:text=Ways%20to%20speed%20up%20and,in%20the%20past%2050%20years.>
- Lederberg, J. (1952). Cell genetics and hereditary symbiosis. *Physiological reviews*, 32(4), 403-430. <https://doi.org/10.1152/physrev.1952.32.4.403>
- Lucey, B. P., Nelson-Rees, W. A., & Hutchins, G. M. (2009). Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 133(9), 1463-1467.
- Phue, J. N., Lee, S. J., Trinh, L., & Shiloach, J. (2008). Modified Escherichia coli B (BL21), a superior producer of plasmid DNA compared with Escherichia coli K (DH5α). *Biotechnology and bioengineering*, 101(4), 831-836. <https://doi.org/10.1002/bit.21973>
- Polack, F., Thomas, S., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J., Perez, M., Moreira, E., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W., Cooper, D., Frenck, R., Hammitt, L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603-2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
- Reis-Filho, J. S. (2009). Next-generation sequencing. *Breast cancer research*, 11(3), 1-7. <https://doi.org/10.1186/bcr2431>
- Roberts, R. J. (2005). How restriction enzymes became the workhorses of molecular biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(17), 5905-5908. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500923102>

- Scheinfeld, N. (2003). Adalimumab (HUMIRA): a review. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 2(4), 375-377. <https://europepmc.org/article/med/12884458>
- Silber, R., Malathi, V. G., & Hurwitz, J. (1972). Purification and properties of bacteriophage T4-induced RNA ligase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 69(10), 3009-3013. <https://doi.org/10.1073/pnas.69.10.3009>
- Simeone, L., Mangiapia, G., Irace, C., Di Pascale, A., Colonna, A., Ortona, O., De Napoli, L., Montesarchio, D., & Paduano, L. (2011). Nucleolipid nanovectors as molecular carriers for potential applications in drug delivery. *Molecular BioSystems*, 7(11), 3075-3086. <https://doi.org/10.1039/C1MB05143A>
- Smith, G. P. (1985). Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, 228(4705), 1315-1317. <https://doi.org/10.1126/science.4001944>
- Smith, G. P., & Petrenko, V. A. (1997). Phage display. *Chemical reviews*, 97(2), 391-410. <https://doi.org/10.1021/cr960065d>
- Wang, Y., Yu, X., & Zhao, H. (2020). Biosystems design by directed evolution. *AIChE Journal*, 66(3). <https://doi.org/10.1002/aic.16716>
- Zhu, F., Li, Y., Guan, X. H., Hou, L. H., Wang, W. J., Li, J. X., Wu, S., Wang, B., Wang, Z., Wang, L., Jia, S., Jiang, H., Wang, L., Jiang, T., Hu, Y., Gou, J., Xu, S., Xu, J., Wang, X., ... Chen, W. (2020). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*, 395(10240), 1845-1854. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)

Cómo citar este artículo:

Florez Prada, A. (2021). Perspectivas de la evolución dirigida en la Cuarta Revolución Industrial. *Futuro Hoy*, 2(1), 6-7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4654819>



Esta obra está bajo licencia internacional
Creative Commons 4.0 Reconocimiento 4.0.