

# O USO DA TECNOLOGIA CRISPR-CAS PARA A GERAÇÃO DE CÉLULAS T CAR

**Autores:**

Mara Elisama da Silva Januário  
Matheus Henrique dos Santos

**PARTE 01**



**Rosalind Franklin**



**Fotografia 51**

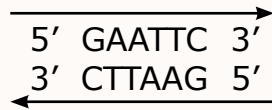
A foto conhecida como "**Fotografia 51**", tirada por Rosalind Franklin por cristalografia de raios-x, revolucionou a ciência em 1953. A partir desta foto se deu a descoberta da estrutura tridimensional da molécula de DNA que rendeu o Prêmio Nobel de Medicina de 1962 a James Watson, Francis Crick e Maurice Wilkins. Este marco pavimentou muitos avanços e atualmente é possível modificar por meio de um reconhecimento direto e específico a sequência da molécula de DNA, com a tecnologia CRISPR-Cas.

## **CRISPR-Cas o que?**

CRISPR vem do termo em inglês *clustered regularly interspaced short palindromic repeat DNA sequences* e significa repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespçadas.

**Oi? Como? Repete, por favor?**

Explicando tim-tim por tim-tim são sequências palindrômicas, ou seja, sequências de DNA que possuem simetria dupla, a sequência em uma fita é simétrica a sequência da outra fita, na mesma direção (5'→3'), como nesse exemplo abaixo:



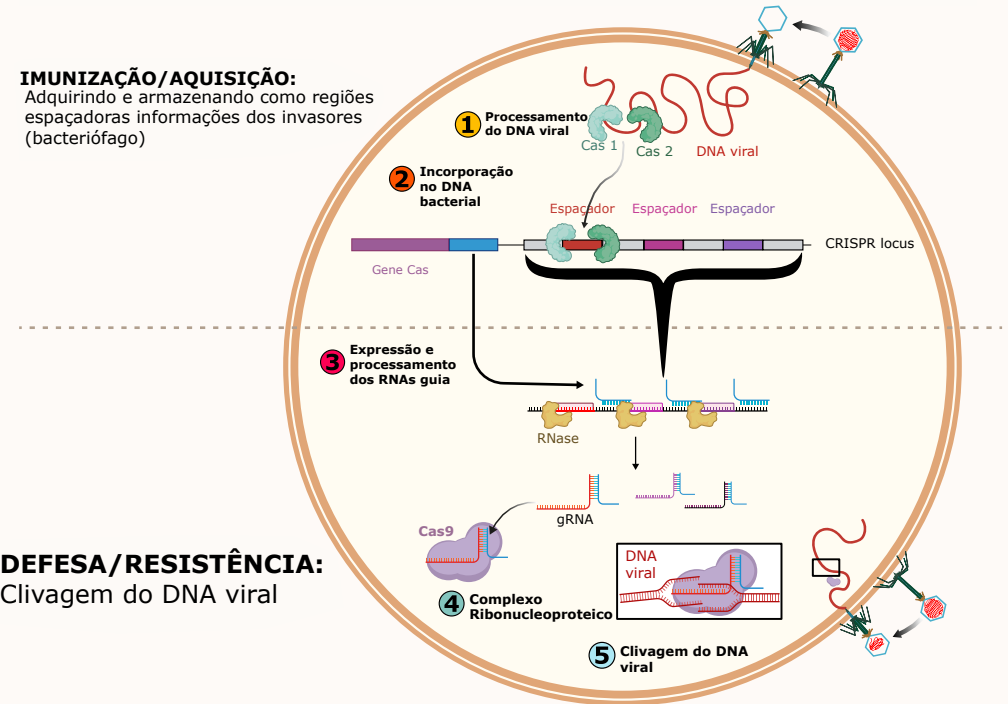
No genoma de diversos organismos procarióticos (Bactéria e Archaea) essas sequências palindrômicas são curtas e estão agrupadas e interespaçadas por sequências únicas chamadas de espaçadores. Já Cas se refere ao gene *cas*, que dá origem as enzimas Cas e é adjacente as sequências palindrômicas. Apesar de terem sido encontradas e descritas em 1987, em *Escherichia coli*, somente em 2005 essas sequências foram associadas ao sistema imune adaptativo dos procariotos, com a descoberta da origem das regiões espaçadoras do locus CRISPR, sendo estas provenientes de sequências extracromossomais de plasmídeos e vírus.

### Retomando o raciocínio...

As enzimas Cas cortam sequências de DNA estranho e em conjunto com as sequências CRISPR funcionam como uma memória imunológica para a bactérias. As sequências CRISPR armazenam informações sobre organismos invasores e facilitam o reconhecimento do material genético de invasores pelas enzimas Cas. Isso possibilita que a bactéria reconheça e elimine rapidamente invasores, como os vírus.

## Vamos ver como funciona em um esquema?

### Sistema imune adaptativo CRISPR-Cas9 de *Streptococcus pyogenes* contra bacteriófagos (Vírus que infecta bactérias)



- 1 Após uma infecção por um vírus, uma pequena porção de DNA do genoma viral é processado por enzimas Cas, como por exemplo Cas9.
- 2 Ocorre a incorporação dessa pequena porção de DNA viral ao DNA bacteriano.
- 3 Ocorre a expressão da sequência CRISPR e processamento em RNAs guias (gRNA).
- 4 Ocorre a formação do complexo ribonucleoproteico, este complexo reconhece a sequência do DNA invasor por intermédio do gRNA.
- 5 Ocorre a quebra específica do DNA invasor pela enzima Cas9.

## Como esse sistema é usado para edição genômica?

No processo natural, nas bactérias, as proteínas Cas são direcionadas aos seus alvos mediante a atuação de duas moléculas de RNA que atuam em conjunto com a enzima Cas9 para quebrar o DNA invasor. Uma das moléculas reconhece o DNA alvo e a outra é responsável pelo reconhecimento e interação com a enzima Cas9. No laboratório para a edição gênica funciona mais ou menos da mesma forma, mas é utilizada uma única molécula de RNA, chamada sgRNA (do inglês, *single guide* RNA) e no lugar da sequência que reconhece um DNA invasor utilizamos uma sequência alvo, que queremos modificar.

ISSN 2446-7227

### Referências Bibliográficas

1. Adli, M. (2018) The CRISPR tool kit for genome editing and beyond Nat Commun 9, 1911 10.1038/s41467-018-04252-2
2. Hajifathalia, A. et al (2023) . Novelty in improvement of CAR T cell-based immunotherapy with the aid of CRISPR system. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, DOI: 10.1016/j.htct.2023.05.009.



### Texto e Imagens

Mara Elisama da Silva Januário  
Matheus Henrique dos Santos

### Revisão

Dayane de Fatima Schmidt

### Diagramação

[Roberto Galetti Sanchez](#)



CTC  
CENTRO DE TERAPIA CELULAR  
CENTER FOR CELL-BASED THERAPY

