

Proyecto de Edición Genética en la Planta de Tabaco para Eliminar la Nicotina mediante CRISPR

Objetivo:

El objetivo principal de este proyecto es emplear la tecnología de edición genética CRISPR para eliminar la producción de nicotina en la planta de tabaco (*Nicotiana tabacum*). La nicotina es un compuesto psicoactivo que genera dependencia y adicción, y su eliminación podría contribuir significativamente a reducir los riesgos asociados al consumo de productos de tabaco y promover alternativas más saludables.

Justificación:

El consumo de tabaco es la principal causa de enfermedades relacionadas con el sistema cardiovascular, respiratorio y ciertos tipos de cáncer, siendo la nicotina el principal componente adictivo. A pesar de los esfuerzos para disminuir el consumo mediante políticas de salud pública, el mercado de tabaco sigue siendo globalmente fuerte. Si se logra crear una planta de tabaco que produzca mínimas cantidades de nicotina o ninguna, se podría reducir significativamente el riesgo de adicción, al tiempo que se mantiene el cultivo de tabaco para otros usos (como en la producción de textiles, productos farmacéuticos o incluso en la fabricación de biocombustibles).

Hipótesis:

Mediante la edición genética con la tecnología CRISPR-Cas9, es posible inactivar o eliminar los genes clave involucrados en la biosíntesis de nicotina en la planta de tabaco, reduciendo así o eliminando su producción sin afectar negativamente su crecimiento y desarrollo.

Metodología:

1. **Selección de genes a modificar:** La biosíntesis de la nicotina en las plantas de tabaco depende de una ruta metabólica compleja que involucra varios genes. Los genes más relevantes en la síntesis de nicotina son:
 - **Nicotina sintasa (NnS):** Encargada de la conversión de los precursores en nicotina.
 - **Putrescina N-metiltransferasa (PMT):** Relacionada con la producción de los precursores de la nicotina.
 - **Nicotinato N-metiltransferasa (NMT):** Involucrada en la metilación de los precursores.
2. Estos genes son candidatos clave para ser modificados utilizando CRISPR-Cas9.

3. **Diseño de los guías de ARN (gRNA):** Utilizando bases de datos genéticos y herramientas bioinformáticas, se diseñarán guías de ARN (gRNA) específicas para cada uno de los genes objetivo. Estas guías se usarán en el sistema CRISPR para dirigir la enzima Cas9 hacia los lugares específicos del ADN donde se inducirán las mutaciones.
4. **Transformación genética:** Se utilizará el sistema de transformación *Agrobacterium tumefaciens*, un método comúnmente utilizado en plantas. Este proceso consiste en insertar el sistema CRISPR-Cas9 con los gRNA en células vegetales de tabaco mediante un proceso de infección con *Agrobacterium*.
5. **Selección y regeneración de plantas modificadas:** Las células transformadas se cultivarán en un medio adecuado para seleccionar aquellas que contienen las modificaciones deseadas. Las plantas modificadas serán regeneradas a partir de las células seleccionadas.
6. **Confirmación de la modificación genética:** Se realizará un análisis molecular, mediante técnicas como PCR, secuenciación de ADN y análisis de expresión génica, para confirmar que las modificaciones en los genes objetivo han sido exitosas.
7. **Evaluación de la producción de nicotina:** Una vez obtenidas las plantas transgénicas, se llevará a cabo una evaluación de la cantidad de nicotina producida en diferentes partes de la planta (hojas, tallos, raíces) utilizando técnicas como la cromatografía de gases.
8. **Evaluación de la viabilidad y características agronómicas:** Además de la eliminación de nicotina, se evaluarán otros parámetros agronómicos importantes como el crecimiento, la resistencia a plagas, la tolerancia a condiciones ambientales adversas y la calidad de las hojas para otros usos no relacionados con la producción de tabaco.

Resultados Esperados:

- Eliminación o reducción significativa de la producción de nicotina en la planta de tabaco.
- Conservación de las características agronómicas esenciales de la planta de tabaco, como el crecimiento, la resistencia a plagas y la adaptabilidad.
- Validación de la viabilidad del uso de tabaco modificado sin nicotina para aplicaciones industriales, médicas o biotecnológicas.

Impacto Esperado:

1. **Reducción del consumo de tabaco:** Al eliminar la nicotina, se podría desarrollar una variedad de tabaco que no cause adicción, lo que contribuiría a la reducción del consumo y, por lo tanto, disminuiría las tasas de enfermedades relacionadas con el

tabaco.

2. **Uso de tabaco en otras aplicaciones:** La eliminación de nicotina podría abrir nuevas oportunidades para el uso de la planta de tabaco en sectores como la producción de biofármacos, biocombustibles, textiles y otros productos industriales.
3. **Avance en la tecnología de edición genética:** Este proyecto contribuiría al avance de la edición genética en plantas, lo que podría tener aplicaciones más amplias en la mejora de cultivos y en la creación de plantas con características deseadas para otros fines.

Presupuesto Estimado:

1. Materiales y equipos:

- Kits CRISPR-Cas9.
- *Agrobacterium tumefaciens*.
- Medios de cultivo y reactivos.
- Equipos para análisis molecular (PCR, secuenciación, etc.).
- Equipos para la evaluación de la nicotina.

2. Personal:

- Investigadores y técnicos de laboratorio.
- Especialistas en bioinformática.
- Asesores en ética y regulación de biotecnología.

3. Tiempo estimado:

- Fase de diseño y optimización de CRISPR: 6 meses.
- Fase de transformación y regeneración: 1 año.
- Fase de análisis y evaluación de resultados: 6 meses.

Conclusión:

La eliminación de la nicotina en la planta de tabaco utilizando CRISPR-Cas9 representa una innovadora estrategia para combatir la adicción al tabaco y sus efectos nocivos en la salud pública. Además, podría abrir puertas para nuevas aplicaciones industriales del tabaco sin los riesgos asociados con la nicotina. Este proyecto tiene el potencial de marcar un hito en la biotecnología agrícola, ofreciendo soluciones a problemas de salud pública globales mientras se mantiene la viabilidad del cultivo del tabaco.