



PLÁSMIDOS: LA REVOLUCIÓN BIOTECNOLÓGICA

De acuerdo con el *National Human Genome Research Institute*, un plásmido es una molécula pequeña de DNA circular que se encuentra en las bacterias y algunos otros organismos microscópicos. Los plásmidos están separados físicamente del DNA cromosómico y se replican de manera independiente. Habitualmente tienen un número reducido de genes (cabe señalar, algunos asociados a la resistencia a los antibióticos), y se pueden transmitir de una célula a otra. Científicamente se utilizan métodos de DNA recombinante para insertar en un plásmido genes que se desean estudiar; pues cuando el plásmido se copia a sí mismo, también hace copias del gen insertado.



ANDREA ROMERO LÓPEZ,
Directora Konexio Biotech Consulting.

Los plásmidos están presentes normalmente en bacterias, y en algunas ocasiones en organismos eucariotas como las levaduras. Su tamaño varía desde 1 a 250 kb. El número de plásmidos puede variar, dependiendo de su tipo, desde una sola copia hasta algunos cientos por célula. El término *plásmido* fue presentado por primera vez por el biólogo molecular norteamericano Joshua Lederberg en 1952 y, a diferencia del DNA cromosómico los plásmidos no tienen proteínas asociadas.

La principal característica de los plásmidos es su capacidad de transferencia horizontal. Es decir, son elementos genéticos móviles que pueden transferirse entre bacterias, incluso entre especies distintas. Esto permite el intercambio y diseminación de información genética más allá de la transferencia vertical que se produce al dividirse una célula en dos. La transferencia de plásmidos confiere a las bacterias una gran capacidad de adaptarse a cambios en el ambiente, incluso si estos son abruptos. Mediante el intercambio o captación de plásmidos, la bacteria receptora puede adquirir nuevas funciones de forma rápida, por lo que también son elementos esenciales en la evolución bacteriana.

Los plásmidos se utilizan en ingeniería genética por su capacidad de reproducirse de manera independiente del DNA cromosómico como así también porque es

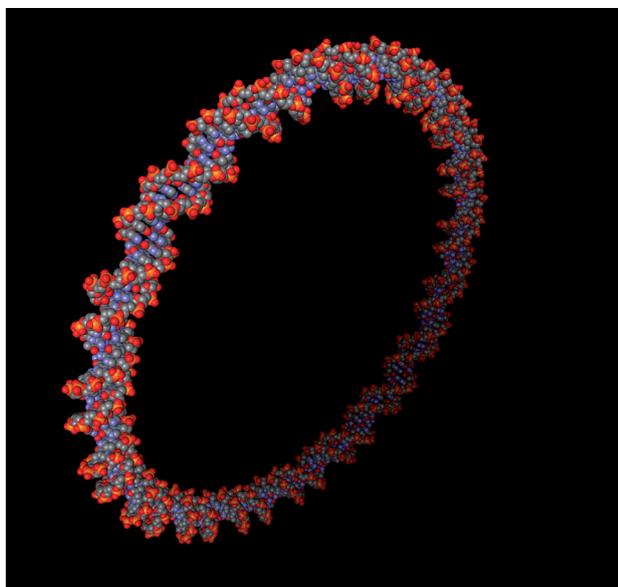
relativamente fácil manipularlos e insertar nuevas secuencias genéticas. Los plásmidos usados en Ingeniería Genética suelen contener uno o dos genes que les confieren resistencia a antibióticos y permiten seleccionar clones recombinantes. Un episoma es un plásmido que puede integrarse por sí mismo al DNA cromosómico del organismo huésped.

Pequeños fragmentos de DNA, como DNA humano, se pueden unir a los elementos apropiados, circularizar, y luego introducirse en bacterias, donde pueden ser propagados junto con el cromosoma del huésped bacteriano. Cada célula bacteriana suele producir muchas copias de un plásmido, a diferencia de su propio cromosoma del cual hace una copia única. El hecho de que los plásmidos son más pequeños y en mayor número que el cromosoma del huésped hace que sea más fácil aislarlos. Los plásmidos son, pues, una herramienta fundamental de la tecnología del DNA recombinante.

Hay muchos métodos de aislar DNA plasmídico de una bacteria, siendo los principales el *miniprep* y el *maxiprep*. El *miniprep* se suele usar desde una perspectiva analítica y el resultado es una cantidad de DNA plasmídico (10-30µg), suficiente para técnicas de secuenciación. En el *maxiprep*, se cultivan volúmenes mucho más grandes de bacterias en suspensión, por lo que es un escalado

Tabla 1: Clasificación de los plásmidos de DNA como medicamentos de Terapia Génica por la EMA/CAT.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA SUSTANCIA ACTIVA	INDICACIÓN TERAPÉUTICA	RESULTADO	FECHA DE EVALUACIÓN POR EL CAT
Plásmido de DNA codificante para el gen de la transferrina humana	Retinitis pigmentosa	No ATMP	19/02/2021
Plásmido de DNA codificante para varios neoepítomos del tumor de un paciente.	Enfermedades neoplásicas	Gene Therapy Medicinal Product (GTMP)	16/04/2021
Plásmido que expresa una variante de la Interleucina-10 humana	Indicado para el manejo del dolor y mejora de la función física en pacientes con osteoartritis de moderada a grave, tratamiento del dolor neuropático y tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica	Somatic Cell Therapy Medicinal Product (sCTMP)	18/03/2023
E.Coli que contiene un plásmido que codifica para un sistema CRISPR-Cas dirigido a "three polyketide synthase (PKS) island genes"	Prevención de la progresión de la enfermedad en poliposis adenomatosa familiar	Tissue Engineered Product (TEP)	16/02/2023
Vector plasmídico de DNA que codifica la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina humana 2	Tratamiento del cáncer de ovario avanzado recién diagnosticado después de una cirugía citoreductora	(TEP)/ATMP Combinado	16/02/2023



del mini-prep, que resulta en una cantidad relativamente grande (0,5 -1 mg) de DNA plasmídico puro.

Una de las principales aplicaciones biotecnológicas de los plásmidos son los vectores de clonación. Estos son plásmidos (moléculas de DNA circular extracromosómico y que se replican independiente del DNA nuclear) que llevan insertados fragmentos de DNA, típicamente un gen, que nosotros queremos introducir o expresar en el

hospedador. Para poder ser insertado es necesario cortar el vector con enzimas de restricción y una vez introducido pasa a denominarse: vector recombinante.

En lo que respecta a su regulación, el Comité de Medicamentos de Terapias Avanzadas (CAT) de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) ha publicado el 19 de Julio del 2023 la última actualización sobre la clasificación de medicamentos de terapias avanzadas (EMA/140033/2021) donde se indican cinco supuestos basados en plásmidos de DNA y que han sido clasificados como medicamentos de Terapia Génica por la EMA/CAT (Tabla 1).

Bibliografía:

1. Klein, Donald W.; Prescott, Lansing M.; Harley, John (1999). Microbiology. Boston: WCB/McGraw-Hill.
2. Lederberg J (1952). "Cell genetics and hereditary symbiosis". Physiol. Rev. 32 (4): 403-30.
3. MacLean, R.C., San Millan, A., 2019. The evolution of antibiotic resistance. Science 365, 1082-1083.
4. San Millan, A., Peña-Miller, R., Toll-Riera, M., Halbert, Z.V., McLean, A.R., Cooper, B.S., MacLean, R.C., 2014b. Positive selection and compensatory adaptation interact to stabilize non-transmissible plasmids. Nat Commun 5, 5208.
5. Smillie, C., Garcillán-Barcia, M.P., Francia, M.V., Rocha, E.P., de la Cruz, F., 2010. Mobility of plasmids. Microbiol Mol Biol Rev 74, 434-452.
6. EMA/140033/2021. Scientific recommendations on classification of advanced therapy medicinal products (January 2021- June 2023).