

“Método para medir cuantitativamente la reparación del DNA que ha sido dañado por agentes externos y/o internos por medio de un sistema reportero de recombinación homóloga (R-LuxHR)”

MX/a/2024/004241

Descripción de la Tecnología

La presente invención pertenece al campo de las ciencias biológicas, más particularmente en la medicina para el desarrollo de nuevos métodos que permitan la supervivencia de pacientes sujetos a quimioterapia citotóxica y/o radioterapia, y en los casos donde el ADN ha sido dañado por agentes endógenos (especies reactivas de oxígeno, errores en la replicación hidrolisis, oxidación y alquilación) y exógenos (luz UV, radiación ionizante, rayos X y agentes quimioterapéuticos) mediante un sistema reportero de recombinación homóloga (R-LuxHR).

La reparación de ADN por recombinación homóloga (HR) es un mecanismo para mantener la estabilidad, integridad y duplicación genómica en las células, este sistema repara la secuencia del ADN de manera precisa a su estado basal. El daño al ADN es una estrategia utilizada para combatir el cáncer, por ejemplo, en la cirugía combinada con quimioterapia citotóxica o radioterapia.

	Tipo de daño	Tipo de reparación DDR
Radioterapia (inducción de radiación ionizante, como rayos X, rayos gamma, partículas α y β , iones de carbono, haces de protones, neutrones y electrones, que favorecen la erradicación del cáncer)	Directo: rupturas de cadena sencilla (SSB) y de doble cadena (DSB), aumentando la inestabilidad genómica para promover la apoptosis celular. Indirecto: las células son expuestas a grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno que son producidas por la exposición entre la radiación ionizante y el agua para formar diversas lesiones en el ADN, modificación de proteínas y lípidos para provocar la muerte celular programada.	<ul style="list-style-type: none">En SSB: reparación por escisión de bases (BER), reparación por apareamiento erróneo (MMR) y reparación por escisión de nucleótido (NER)En DBS: reparación por unión de externos no homólogos (NHEJ) y reparación por recombinación homóloga (HR)

Las células cuentan con mecanismos para reparar las diversas lesiones en el ADN conocidas como “DNA Damage Response (DDR)”, un proceso fundamental para mantener la integridad genómica y supervivencia celular, desencadenando por la detección de una o múltiples lesiones en el DNA que modifican la secuencia, distorsionan y alteran su estructura ocasionados. La estrategia más elemental para combatir la resistencia a las terapias que generan daños al ADN en las células de cáncer es impedir la reparación de estas lesiones.

La presente invención se refiere a un método para medir cuantitativamente el ADN por medio de un sistema reportero de recombinación homóloga, que está basado en tres técnicas de biología molecular: clonación de fragmentos de ADN, transfección y medición de la actividad de la luciferasa por luminometría.

El método comprende cuatro pasos:

- Construir el sistema reportero de recombinación homóloga introduciendo al menos tres vectores o plásmidos en las células en las que se medirá la tasa de HR.
- Esperar 24 horas para introducir dos plásmidos más.
- Realizar una lisis celular al cultivo.
- Medir la tasa de reparación del ADN mediante la actividad de la luciferasa.

Aplicaciones, usos y beneficios de la tecnología

Los tratamientos del cáncer tales como la quimioterapia, cirugía y radioterapia son muy comunes, sin embargo, no todos responden a este tipo de tratamientos debido a mecanismos de resistencia que disminuyen la eficacia terapéutica. A pesar de que actualmente se están desarrollando fármacos para inhibir una o varias vías de reparación de ADN, la diversidad de mecanismos involucrados dificulta que una sola solución las inhiba en su totalidad.

Para medir la reparación del ADN existen distintos mecanismos, por ejemplo, ensayo de cometa o electroforesis de una sola célula, hibridación in situ, o el ensayo de repetición directa de proteína verde fluorescente. Sin embargo, ninguna de estas técnicas ofrece un valor numérico como resultado que permita medir de forma cuantitativa la reparación del ADN.

La medición cuantitativa que aquí se presenta, se podría realizar mediante el uso de un luminómetro, haciéndolo un proceso más rápido, menos demandante de recursos, con mayor sensibilidad y menor fondo que la citometría de flujo o la microscopía de fluorescencia.

Nivel de madurez de la tecnología

Es un método para medir cuantitativamente el ADN mediante un sistema reportero de recombinación homóloga, basado en tres técnicas de biología molecular: clonación de fragmentos de ADN, transfección y medición de la actividad de la luciferasa por luminometría. Se han realizado diversas pruebas a nivel de laboratorio. Considerando lo anterior, se estima que en este caso el Technology Readiness Level (TRL) de acuerdo con la escala de la NASA es de: 3.

Información de mercado

De acuerdo con la agencia de investigación de mercados Coherent Insights, el mercado global de métodos de reparación del ADN está experimentando un crecimiento significativo. En 2024, se espera que el mercado alcance un valor de aproximadamente USD 7,100 millones, con una tasa media de crecimiento anual (TMCA) del 13.2% desde 2024 hasta 2031, proyectándose alcanzar USD 16,800 millones para 2031 .

Este crecimiento está impulsado por varios factores, incluyendo un aumento en la prevalencia de enfermedades relacionadas con la reparación del ADN, como el cáncer. Los avances en tecnologías genómicas y oncología de precisión también están contribuyendo a este crecimiento. Las inversiones en investigación y desarrollo, así como la mejora en el acceso a la atención médica en economías emergentes como India y China, están facilitando una mayor adopción de estos métodos (Coherent Insights, 2024 y Market Research Future, 2024).

El mercado de América del Norte, en particular, domina con una participación significativa debido a la presencia de importantes empresas farmacéuticas y de investigación. Asia Pacífico, por otro lado, es la región de más rápido crecimiento, impulsada por el aumento de la prevalencia del cáncer, mejoras en las tasas de diagnóstico y necesidades no satisfechas en el tratamiento.