

Aspectos generales

Título:	CRISPR/Cas: más allá de la inmunidad
Programas de posgrado o planes de estudio en donde se ofertará adicionalmente:	Se ofertará en el plan de estudios de PDCB y probablemente como materia optativa en la LCG-UNAM.
Área del conocimiento:	Biología molecular
Semestre:	2025-1
Modalidad:	Tópico selecto
Horario:	Viernes 10 am a 1 pm
No. sesiones:	13
Horas por sesión:	3.0
Total alumnos PDCB:	20
Total alumnos:	25
Videoconferencia:	Si
Lugar donde se imparte:	Centro de Ciencias Genómicas, UNAM
Informes:	David Salvador Zamorano Sánchez, zamorano@ccg.unam.mx, 329 1777 Ext. 38487

Métodos de evaluación

MÉTODO	PORCENTAJE	NOTAS
1. Participación activa en clase	10%	
2. Discusión de artículos científicos	10%	
3. Presentación de artículos y discusión en equipos	20%	
4. Cuestionarios/Ensayos cortos	10%	
Proyecto final	50%	

Contribución de este curso/tópico en la formación del alumnado del PDCB:

Con este curso se pretende ampliar el conocimiento de los estudiantes sobre los sistemas CRISPR/Cas como sistemas de inmunidad adaptativa, además de señalar la gran variedad de procesos fisiológicos en los que estos sistemas participan adicionalmente. Los principales objetivos del curso son:

1. Que las y los estudiantes desarrollen una comprensión integral sobre cómo funcionan los sistemas CRISPR/Cas en procariontes.
2. Promover que las y los estudiantes desarrollen proyectos de investigación relacionados al rol de los sistemas CRISPR/Cas en sus organismos modelo.

Profesor (a) responsable

Nombre:	Zamorano Sánchez David Salvador
Teléfono:	(777) 329 17 77 Ext. 38487
Email:	zamorano@ccg.unam.mx

Profesores (as) participantes

PARTICIPANTE	ENTIDAD O ADSCRIPCIÓN	SESIONES
ZAMORANO SÁNCHEZ DAVID SALVADOR Responsable	Centro de Ciencias Genómicas	Anti-CRISPR CRISPR/Cas en Eucariontes Ecología de CRISPR Evaluación final Presentación proyecto final Presentación proyecto final

ALEJANDRE SIXTOS JESÚS EMMANUEL
Integrante

Centro de Ciencias Genómicas, UNAM

Clasificación de CRISPR/Cas
CRISPR/Cas en EGM
CRISPR/Cas en inmunidad adaptativa
CRISPR/Cas en la fisiología
Historia de CRISPR
Origen y evolución de CRISPR/Cas
Regulación de CRISPR/Cas

Introducción

La identificación y caracterización de CRISPR/Cas como sistemas de inmunidad adaptativa procarionta ha representado un cambio de paradigma sustancial en las áreas de estudio de la fisiología microbiana, genómica funcional y la evolución antagonista con bacteriófagos y otros elementos genéticos parásitos. Actualmente se ha demostrado que los sistemas CRISPR/Cas poseen una enorme plasticidad funcional, pues no sólo protegen a la célula procarionta de múltiples eventos de infección por fagos, sino que incluso estos sistemas tienen la capacidad de participar directa o indirectamente en múltiples procesos fisiológicos de los procariontes. Por ejemplo, algunos sistemas CRISPR/Cas modulan la expresión de factores de virulencia o controlan el ciclo de vida celular a través de espaciadores autodirigidos en combinación de la maquinaria Cas sin degradar su propio genoma, estos sistemas a su vez pueden participar en la transducción de señales ambientales y la señalización de segundos mensajeros, e incluso participar en la adquisición de genes de resistencia a los antibióticos. En la última década, nuestro conocimiento sobre los sistemas CRISPR/Cas ha crecido de manera exponencial. Dado el papel central que juegan estos sistemas en la fisiología microbiana, consideramos que este curso especializado es fundamental para estudiantes interesados en el estudio del comportamiento bacteriano y la relación de estos microorganismos con elementos genéticos parasitarios.

Temario

TEMARIO

- Héroes de CRISPR: la historia de un gran descubrimiento
 - ¿Qué son esas repeticiones? - Primer avistamiento de un sistema CRISPR/Cas
 - Muchos experimentos y teorías equivocadas - Matrices CRISPR como presuntos orígenes de replicación del cromosoma procarionte
 - La tercera es la vencida - CRISPR/Cas es un sistema de inmunidad adaptativa procarionta
- CRISPR/Cas como un sistema de inmunidad adaptativa
 - Introducción a la inmunología de procariontes
 - Sistemas de modificación-restricción e infección abortiva
 - Etapas de la inmunidad mediada por CRISPR/Cas
 - Adaptación
 - Biogénesis
 - Interferencia
 - Sinergia entre sistemas CRISPR/Cas y modificación-restricción
- Origen y evolución de CRISPR/Cas en procariontes
 - Ancistros conocidos de CRISPR/Cas:
 - Casposones
 - Sistemas toxina-antitoxina
 - Argonautas procariontes
 - Elementos IS200/IS605
 - Fuerzas evolutivas y presiones de selección que moldearon la inmunidad adaptativa
 - ¿Evolución Darwiniana o Lamarckiana?
- Clasificación de los sistemas CRISPR/Cas
 - Diversidad genética y funcional de loci CRISPR
 - Clase 1: Tipos I, II y IV
 - Clase 2: Tipos III, V y VI
 - ¿Qué procariontes poseen CRISPR/Cas?
 - Herramientas bioinformáticas para la identificación de matrices CRISPR, proteínas Cas y protoespaciadores CRISPR.
- Impacto de CRISPR/Cas en la fisiología de los procariontes
 - Virulencia
 - Resistencia a antibióticos
 - Formación de biofilms
 - Transducción de señales ambientales
 - Ciclo de vida
 - Reparación del DNA
 - Muerte celular
 - Craspasas: CRISPR conoce a las craspasas
- Regulación de los sistemas CRISPR

- a. ¿Cómo se controla la expresión de CRISPR/Cas?
i. Reguladores transcripcionales conocidos en bacterias modelo.
7. Rompiendo paradigmas: CRISPR/Cas en elementos genéticos móviles
a. Uso de CRISPR/Cas en los conflictos entre EGMs
i. Los fagos controlan los sistemas CRISPR/Cas de la bacteria para atacar a fagos competidores
ii. CRISPR/Cas tipo IV, exclusivo de plásmidos
b. Exaptaciones de los elementos de CRISPR/Cas
i. Cas4, de nucleasa a capsómera de un fago
ii. Transposones asociados a CRISPR (CAST)
8. Ecología molecular de CRISPR/Cas y su impacto en la dinámica de poblaciones
a. Discusión de las teorías de Armas en alquiler (Guns for hire) y el sistema pan-inmune procarriótico.
b. Las bacterias pierden voluntariamente los sistemas CRISPR/Cas para mejorar su aptitud en ciertos ambientes.
9. Los fagos contraatacan: sistemas anti-CRISPR
a. Péptidos de inhibición
b. RNAs anti-CRISPR (Racrs)
c. Las bacterias se defienden: sistemas anti-antiCRISPR
10. ¿Sistemas CRISPR/Cas en eucariontes?
a. hCRISPR
b. Fanzor

Bibliografía

- Agarwal N, Gupta R. History, evolution and classification of CRISPR-Cas associated systems. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2021;179:11-76. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.12.012.
- Butiuc-Keul A, Farkas A, Carpa R, Iordache D. CRISPR-Cas System: The Powerful Modulator of Accessory Genomes in Prokaryotes. *Microb Physiol.* 2022;32(1-2):2-17. doi: 10.1159/000516643.
- Chen Y, Zeng Z, She Q, Han W. The abortive infection functions of CRISPR-Cas and Argonaute. *Trends Microbiol.* 2023 Apr;31(4):405-418. doi: 10.1016/j.tim.2022.11.005.
- Devi V, Harjai K, Chhibber S. CRISPR-Cas systems: role in cellular processes beyond adaptive immunity. *Folia Microbiol (Praha).* 2022 Dec;67(6):837-850. doi: 10.1007/s12223-022-00993-2.
- Dimitriu T, Kurilovich E, ?api?ska U, Severinov K, Pagliara S, Szczelkun MD, Westra ER. Bacteriostatic antibiotics promote CRISPR-Cas adaptive immunity by enabling increased spacer acquisition. *Cell Host Microbe.* 2022 Jan 12;30(1):31-40.e5. doi: 10.1016/j.chom.2021.11.014.
- Faure G, Makarova KS, Koonin EV. CRISPR-Cas: Complex Functional Networks and Multiple Roles beyond Adaptive Immunity. *J Mol Biol.* 2019 Jan 4;431(1):3-20. doi: 10.1016/j.jmb.2018.08.030.
- Faure G, Shmakov SA, Yan WX, Cheng DR, Scott DA, Peters JE, Makarova KS, Koonin EV. CRISPR-Cas in mobile genetic elements: counter-defence and beyond. *Nat Rev Microbiol.* 2019 Aug;17(8):513-525. doi: 10.1038/s41579-019-0204-7.
- Flusche T, Rajan R. Molecular Details of DNA Integration by CRISPR-Associated Proteins During Adaptation in Bacteria and Archaea. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1414:27-43. doi: 10.1007/978-1-0716-730-7_30.
- Guzmán NM, Esquerro-Ruvira B, Mojica FJM. Digging into the lesser-known aspects of CRISPR biology. *Int Microbiol.* 2021 Nov;24(4):473-498. doi: 10.1007/s10123-021-00208-7.
- Han W, She Q. CRISPR History: Discovery, Characterization, and Prosperity. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;152:1-21. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.10.001.
- Ishino Y, Krupovic M, Forterre P. History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology. *J Bacteriol.* 2018 Mar 12;200(7):e00580-17. doi: 10.1128/JB.00580-17.
- Koonin EV, Zhang F. Coupling immunity and programmed cell suicide in prokaryotes: Life-or-death choices. *Bioessays.* 2017 Jan;39(1):1-9. doi: 10.1002/bies.201600186.
- Koonin EV, Makarova KS. Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2019 May 13;374(1772):20180087. doi: 10.1098/rstb.2018.0087.
- Lau CH, Reeves R, Bolt EL. Adaptation processes that build CRISPR immunity: creative destruction, updated. *Essays Biochem.* 2019 Jul 3;63(2):227-235. doi: 10.1042/EBC20180073.
- Li Y, Bondy-Denomy J. Anti-CRISPRs go viral: The infection biology of CRISPR-Cas inhibitors. *Cell Host Microbe.* 2021 May 12;29(5):704-714. doi: 10.1016/j.chom.2020.12.007.
- Mohanraju P, Saha C, van Baarlen P, Louwen R, Staals RHJ, van der Oost J. Alternative functions of CRISPR-Cas systems in the evolutionary arms race. *Nat Rev Microbiol.* 2022 Jun;20(6):351-364. doi: 10.1038/s41579-021-00663-z.
- Nussenzweig PM, Marraffini LA. Molecular Mechanisms of CRISPR-Cas Immunity in Bacteria. *Annu Rev Genet.* 2020 Nov 23;54:93-120. doi: 10.1146/annurev-genet-022120-112523.
- Patterson AG, Yevstigneyeva MS, Fineran PC. Regulation of CRISPR-Cas adaptive immune systems. *Curr Opin Microbiol.* 2017 Jun;37:1-7. doi: 10.1016/j.mib.2017.02.004.
- Samson JE, Magadan AH, Moineau S. The CRISPR-Cas Immune System and Genetic Transfers: Reaching an Equilibrium. *Microbiol Spectr.* 2015 Feb;3(1):PLAS-0034-2014. doi: 10.1128/microbiolspec.PLAS-0034-2014.
- Shariat N, Dudley EG. CRISPRs: molecular signatures used for pathogen subtyping. *Appl Environ Microbiol.* 2014 Jan;80(2):430-9. doi: 10.1128/AEM.02790-13.
- Shehreen S, Chyou TY, Fineran PC, Brown CM. Genome-wide correlation analysis suggests different roles of CRISPR-Cas systems in the acquisition of antibiotic resistance genes in diverse species. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2019 May 13;374(1772):20180384. doi: 10.1098/rstb.2018.0384.
- Shivram H, Cress BF, Knott GJ, Doudna JA. Controlling and enhancing CRISPR systems. *Nat Chem Biol.* 2021 Jan;17(1):10-19. doi: 10.1038/s41589-020-00700-

- 7.- Sternberg SH, Richter H, Charpentier E, Qimron U. Adaptation in CRISPR-Cas Systems. *Mol Cell*. 2016 Mar 17;61(6):797-808. doi: 10.1016/j.molcel.2016.01.030.
- Szczepankowska A. Role of CRISPR/cas system in the development of bacteriophage resistance. *Adv Virus Res*. 2012;82:289-338. doi: 10.1016/B978-0-12-394621-8.00011-X.
- Wang JY, Pausch P, Doudna JA. Structural biology of CRISPR-Cas immunity and genome editing enzymes. *Nat Rev Microbiol*. 2022 Nov;20(11):641-656. doi: 10.1038/s41579-022-00739-4.
- Watson BNJ, Steens JA, Staals RHJ, Westra ER, van Houte S. Coevolution between bacterial CRISPR-Cas systems and their bacteriophages. *Cell Host Microbe*. 2021 May 12;29(5):715-725. doi: 10.1016/j.chom.2021.03.018.
- Westra ER, Buckling A, Fineran PC. CRISPR-Cas systems: beyond adaptive immunity. *Nat Rev Microbiol*. 2014 May;12(5):317-26. doi: 10.1038/nrmicro3241.
- Wiegand T, Karambelkar S, Bondy-Denomy J, Wiedenheft B. Structures and Strategies of Anti-CRISPR-Mediated Immune Suppression. *Annu Rev Microbiol*. 2020 Sep 8;74:21-37. doi: 10.1146/annurev-micro-020518-120107.
- Zakrzewska M, Burmistrz M. Mechanisms regulating the CRISPR-Cas systems. *Front Microbiol*. 2023 Feb 28;14:1060337. doi: 10.3389/fmicb.2023.1060337.

Observaciones

El curso está dirigido a estudiantes con conocimientos previos de nivel básico a intermedio de biología molecular y genética bacteriana. Se revisará literatura especializada, artículos originales de investigación y revisiones. Es deseable que los estudiantes tengan experiencia previa en el análisis crítico de artículos científicos.