

SEBBM DIVULGACIÓN

LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO



Editando genomas con las herramientas CRISPR

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2017.06.1

Lluís Montoliu

Centro Nacional de Biotecnología, Madrid

Investigador Científico del CSIC y del CIBERER-ISCIII

Biografía

Lluís Montoliu (Barcelona, 1963) es investigador científico del CSIC en el Centro Nacional de Biotecnología, investigador del Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBER-ER, ISCIII), y profesor honorario de la Universidad Autónoma de Madrid. En el CNB investiga desde 1997 en temas básicos (cómo se organizan los genes en el genoma) y aplicados (modelos animales para el estudio de enfermedades raras humanas, como el albinismo). Ha trabajado con organismos modificados genéticamente desde 1986, realizando su tesis doctoral en genética molecular del maíz, y posteriormente sus estudios se han centrado en el ratón, como modelo animal experimental, desde 1989, con estancias postdoctorales en el DKFZ (Heidelberg, Alemania) y la UAB. En 2006 fundó la Sociedad Internacional de Tecnologías Transgénicas (ISTT) de la que fue su Presidente hasta 2014. Es miembro del Comité de Ética del CSIC. Además de la investigación le apasiona la formación y la divulgación científica.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion_29

Resumen

La primera vez que te explican el fundamento de las herramientas CRISPR uno se queda maravillado de su aparente simplicidad y efectividad. ¡Resulta que las bacterias cuentan con todo un sistema de defensa adaptativo! ¿Cómo puede ser que los microbiólogos no lo hubieran descubierto antes? En realidad, sí lo hicieron.

Summary

The first time you're explained the fundamentals of CRISPR tools one is amazed at their apparent simplicity and effectiveness. It turns out that bacteria have a whole adaptive defense system! How could it be that microbiologists had not discovered it before? In fact, they had.

Francisco JM Mojica, microbiólogo de la Universidad de Alicante, encontró las CRISPR en arqueas, procariontas muy alejados de las bacterias, trabajando en su tesis doctoral, allá por el 1993 y pensó que tenían que ser algo relevante. Su momento ¡Eureka! fue percatarse que la solución al misterio de estas agrupaciones de secuencias cortas repetidas e intercaladas (CRISPR por sus siglas en inglés, nombre que propuso el propio Mojica en 2002) no estaba en las repeticiones sino en las secuencias únicas que se intercalaban entre ellas. En 2003 Mojica descubrió que algunas de estas secuencias "espaciadoras", hasta ese momento inadvertidas o ignoradas por la mayoría de

investigadores, eran homólogas a fragmentos de genomas de virus de bacterias (bacteriófagos) y, además, y esto es lo realmente relevante, que cuando esto sucedía, la bacteria era resistente a la infección por ese mismo virus. Había descubierto un sistema inmune de defensa de procariontas que se transmitía genéticamente y, sin poder saberlo todavía, había sentado las bases para que, diez años después, este sistema de defensa se convirtiera en una utilísima herramienta de edición génica que ha revolucionado toda la biología. Un ejemplo maravilloso de cómo una investigación de ciencia básica acaba transformándose en aplicada al cabo de los años.

La edición de genes a voluntad, que provocan las herramientas CRISPR, se basa en su capacidad para cortar la doble cadena del ADN, en sitios específicos. Tras el corte, la célula intenta reparar la continuidad de la molécula de ADN cuanto antes. La reparación puede progresar más o menos al azar, insertando o eliminando nucleótidos (A, G, T, C), hasta encontrar alguna homología que permita sellar el corte en el ADN. Esto suele producir la inactivación del gen en cuestión, debido a la inserción o eliminación de letras en un gen. O también puede progresar a partir de una secuencia de ADN molde externa, con extremos idénticos al gen a modificar, pero con secuencias internas diferentes, que se usa para restaurar el ADN cortado. Esto último conlleva la edición, el cambio dirigido del gen que estamos estudiando. De ahí su relevancia.

¿Cómo funcionan las CRISPR? El sistema CRISPR está formado por una proteína, una endonucleasa o enzima

de restricción, denominada Cas, que corta las dos cadenas del ADN, guiada por dos pequeñas moléculas de ARN. Una de ellas, crRNA, contiene los 20 ribonucleótidos complementarios al gen que queremos editar. La segunda, tracrRNA, interactúa con la primera y, a su vez, con la endonucleasa Cas, manteniendo el complejo unido. Es un sistema extraordinariamente eficaz, que llega a nuestras manos tras, literalmente, miles de millones de años de evolución en procariontes.

¿Qué podemos hacer con el sistema CRISPR? Muchas cosas, cada vez más. Con las CRISPR podemos editar, substituir, eliminar, insertar o marcar secuencias genómicas. También podemos generar deleciones, inversiones, duplicaciones y, en general, cualquier reordenamiento o anomalía cromosómica. Y hasta es posible modificar el epigenoma o usarlas en procedimientos diagnósticos.

La importancia de las herramientas CRISPR en Biomedicina se explica desde varios puntos de vista. No solamente porque permiten editar el genoma de células y organismos de forma rápida y eficaz, sino también porque permiten abordar experimentos que antes sencillamente no eran posibles o eran muy difíciles de atacar, como por ejemplo el análisis funcional de la mayor parte de nuestro genoma, no codificante, más allá de los genes, donde se esconden los elementos reguladores que determinan la actividad génica, inmersos entre multitud de secuencias repetitivas y elementos móviles (transposones), los cuales tradicionalmente habían impedido su análisis.

Con las CRISPR podemos reproducir fielmente, en células y en organismos modelo, las mismas alteraciones genéticas que diagnosticamos en pacientes afectados de cualquier enfermedad congénita. Esto es especialmente útil para las enfermedades raras. La obtención de ratones *avatar*, animales que, mediante CRISPR, incorporan exactamente la misma mutación y en el mismo gen homólogo al analizado en un paciente, permite dar un salto cualitativo en la investigación biomédica. Ahora es posible estudiar las consecuencias patológicas de determinadas mutaciones e investigar posibles terapias o tratamientos específicos.

Naturalmente las herramientas CRISPR pueden usarse en los dos sentidos, tanto para reproducir mutaciones como para corregirlas. Este último aspecto ha revitalizado las propuestas de terapia génica y puesto sobre la mesa el posible traslado de esta tecnología, tan reciente, a la clínica. Sin embargo, hay que recordar que en biología toda intervención lleva asociada sus riesgos e incertidumbres. El sistema CRISPR es tan efectivo que la mayoría de las veces genera muchas variantes de la secuencia genómica a editar, incluidas las deseadas. Esta multiplicidad de alelos (mosaicismo) puede tener consecuencias inesperadas (podemos generar inadvertidamente mutaciones más agresivas que las que intentamos eliminar) y debe tenerse en cuenta ante cualquier intento de trasladar estos desarrollos de laboratorio a la práctica clínica. Las proteínas Cas, con mayor o menor probabilidad según la variante usada, son también capaces de detectar (y cortar) secuencias diana muy parecidas, pero no idénticas, a la deseada. Esta incertidumbre conlleva un cierto riesgo a que otras secuencias del genoma resulten alteradas de forma no planeada, lo cual podría tener consecuencias inesperadas. Por todo lo anterior, además de continuar investigando para mejorar la seguridad de las herramientas CRISPR, se impone una necesaria evaluación ética, que contemple riesgos y beneficios, antes de aplicarla, en humanos, en animales o en cualquier organismo del medio ambiente. La extraordinaria capacidad de las CRISPR para modificar cualquier genoma no debería hacernos ignorar la responsabilidad ética que adquirimos, como investigadores, al

inducir cambios irreversibles en el ADN. Debemos seguir investigando para poder trasladar a la sociedad, con prudencia, aplicaciones beneficiosas de edición genética que sean todo lo eficaces y seguras que seamos capaces de generar.

Referencias

- 1.- Página web con información actualizada sobre CRISPR mantenida por Lluís Montoliu (en inglés) <http://www.user.cnb.csic.es/~montoliu/CRISPR/>
- 2.- Diversos artículos sobre CRISPR en la Revista Genética Médica (en español): <http://revistageneticamedica.com/crispr/>
- 3.- Conferencia (en español) de Francis Mojica sobre CRISPR. Encuentros con la Ciencia, Málaga, Ene. 2016 <https://www.youtube.com/watch?v=GOK6FkfmHdQ>
- 4.- Conferencia (en español) de Lluís Montoliu sobre CRISPR. Encuentros con la Ciencia, Málaga, Dic. 2016 <https://www.youtube.com/watch?v=WsweSPH3EWO>
- 5.- Artículo sobre el origen de las CRISPR, por Lluís Montoliu, en blog de la Asociación de Comunicadores de Biotecnología (en español) <http://www.comunicabiotec.org/las-herramientas-crispr-un-regalo-inesperado-de-las-bacterias-que-ha-revolucionado-la-biotecnologia-animal/>
- 6.- Artículo sobre CRISPR en alimentación, por Lluís Montoliu, en blog de la Asociación de Comunicadores de Biotecnología (en español) <http://www.comunicabiotec.org/2016/04/17/mas-biotecnologia-comestible-champinones-editados-con-crispr/>
- 7.- La revolución CRISPR también en la granja, por Lluís Montoliu, en Profesión VETERINARIA, revista del colegio oficial de veterinarios de Madrid, nº 86, mayo-julio 2016, pag. 62-69 <http://www.colvema.org/revista/Colvema86/index.html>

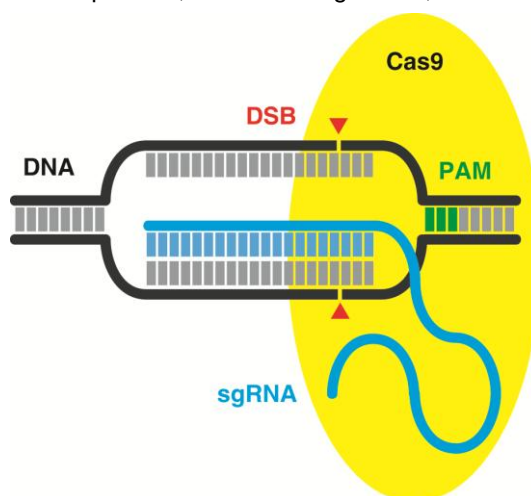


Figura. Representación esquemática de las herramientas CRISPR en acción (ilustración por Lluís Montoliu)