

QUÍMICA

Hernán Dopazo

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA

Una 'navaja suiza' para la edición génica

Sabíamos que sucedería: CRISPR iba a recibir un Nobel. A pesar de su corta edad, su importancia es indiscutible. La única duda era saber cuándo y quién lo recibiría, y la incógnita se develó el pasado 7 de octubre: el premio Nobel de química 2020 fue entregado a la estadounidense Jennifer Doudna (Universidad de Berkeley, California) y a la francesa Emmanuelle Charpentier (Instituto Max Planck, Berlín) por el desarrollo de la maquinaria programable de edición de genes más simple y efectiva que conocemos: el sistema binario de ARN y proteína, CRISPR-Cas. A través de millones de generaciones de evolución bacteriana se seleccionó el sistema de defensa molecular más simple jamás diseñado. La ciencia descifró los mecanismos más íntimos de este sistema en poco más de una década y, a partir de esto, comenzó a utilizarlo a su favor.

El nombre CRISPR, su caracterización y posible función biológica no se la debemos a las galardonadas, sino al microbiólogo español Francisco Mojica, quien con su grupo de la Universidad de Alicante analizó por más de diez años las enigmáticas secuencias repetitivas del genoma en unas bacterias de su vecina localidad de Santa Pola. Fue él quien escogió el acrónimo CRISPR



Jennifer Doudna

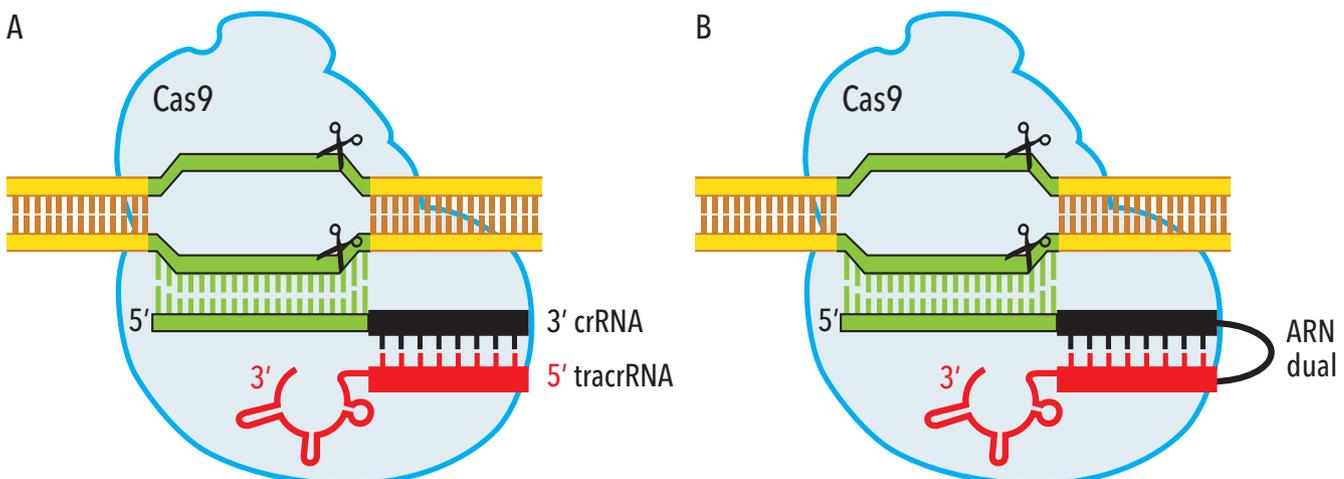


Emmanuelle Charpentier

(del inglés *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), que en castellano se traduce como repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas.

Mojica estudió el ADN de estas bacterias y detectó secuencias repetitivas palindrómicas, que eran seguidas por otras secuencias denominadas 'ADN espaciador' muy similares a secuencias de virus y ADN de otras bacterias. El español hipotetizó que estas secuencias eran los restos de ADN incorporado al genoma bacteriano como consecuencia de una infección anterior y que la bacteria las usaba como una especie de memoria defensiva. Por esto, se trataría del sistema inmune más simple de la naturaleza, una memoria molecular para evitar la siguiente infección con este ADN foráneo.

Irónicamente, el trabajo de Mojica fue rechazado en *Nature*, una de las revistas más prestigiosas del mundo científico, y publicado luego en una revista de menor impacto. Sin embargo, la propuesta era tan relevante que



En la figura A se muestra un esquema del complejo Cas9 ternario unido al ADN por medio del ARN guía y estabilizado por tracrRNA. En la B, el complejo Cas9 es guiado por un ARN dual.

otros investigadores de Europa y Estados Unidos se lanzaron a la carrera de comprender los detalles genéticos, bioquímicos y moleculares de este curioso sistema defensivo.

Hoy sabemos que CRISPR está presente en los genomas de una amplísima diversidad de organismos procariontes (microorganismos de los dominios Eubacteria y Arquea). Con la capacidad de incorporar segmentos de ADN foráneos procedentes de otras bacterias o de infecciones con virus, estas secuencias se heredan a la siguiente generación, de modo que generan protección ante futuras infecciones. Estas secuencias CRISPR son acompañadas de cerca por un gen denominado Cas (CRISPR associated), cuyo producto es una proteína capaz de cortar la doble cadena de ADN. La clave es comprender que una secuencia específica (espaciadora) de CRISPR (crRNA) en combinación con la proteína Cas tienen la habilidad de localizar una región de ADN complementaria y cortar el ADN doble cadena y degradarlo (figura A).

Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier contribuyeron con aportes relevantes para comprender CRISPR-Cas. Mientras que Doudna describió en 2009 la estructura y los dominios catalíticos de Cas, es decir las partes de la proteína responsables de su actividad endonucleasa, Charpentier descubrió la función del ARN transactivador de CRISPR (tracrRNA), una tercera molécula que ayuda a estabilizar la proteína Cas junto con el ARN guía para cortar el ADN. Sin embargo, ellas no recibieron el premio Nobel por estos avances.

La Real Academia de Ciencias Sueca las premió por su publicación de 2012, titulada 'Una endonucleasa programable guiada por un ARN dual para la inmunidad adaptativa bacteriana' (ver Jinek M et al., 2012, en las lecturas sugeridas). En resumen, en esa publicación ellas propusieron que modificando este sistema natural de defensa bacteriana se podía convertir en un sistema extremadamente simple y eficiente de localización y corte de ADN no solo para bacterias, sino que podía ser una herramienta para modificar cualquier genoma en un tubo de ensayo (figura B). Literalmente, el primer paso para modificar la información genética de cualquier ser vivo.

Para ello, y considerando que las bacterias (procariontes) son diferentes de las células eucariotas, donde la información genética se encuentra dentro del núcleo, el desafío para usar este sistema de edición de genes sería lograr que estas 'tijeras programables' funcionen dentro de esta organela. Feng Zhang (Broad Institute, Harvard-MIT) lo logró en 2013, y CRISPR-Cas se convirtió en el sistema más utilizado para la pérdida de función de genes (*knock-outs*), lo que facilitó enormemente la generación de modelos celulares de enfermedades humanas. Sin embargo, las posibilidades de transformación de es-

te sistema recién comenzaban y rápidamente superaría los límites de la imaginación de los más ocurrentes, con aplicaciones en biomedicina, biotecnología, agricultura y medio ambiente. Las aplicaciones de las diversas variantes del sistema CRISPR-Cas original en la salud permitieron interrogar sobre la función biológica de diversas regiones del genoma, evitar la replicación del virus de la hepatitis C en células humanas, o instalar o revertir mutaciones puntuales relacionadas con enfermedades humanas, como en la anemia falciforme o la enfermedad de Tay-Sachs. El potencial de esta herramienta es enorme. Este sistema podría, teóricamente, corregir hasta el 90% de las enfermedades genéticas conocidas en nuestra especie.

La idea de corregir la información genética y, así, curar enfermedades es sin dudas un viejo sueño humano. CRISPR no caminaba aun cuando en 1997 se estrenó la película *Gattaca*, que cuenta la historia de un escenario distópico donde avances en la ingeniería genética permiten que los seres humanos puedan ser 'mejorados'. Esto hacía que aquellos humanos 'perfeccionados' tuviesen la posibilidad de mejor salud y acceso a trabajos y oportunidades superiores, mientras que aquellos que contaban con una genética 'natural' quedaban relegados. El personaje principal, sin ayuda de la ciencia, no se rinde frente a su sueño de ser astronauta, y mediante fraudes y engaños intenta esquivar los controles del sistema, planteando a fines del siglo XX el dilema de la edición genética y su ética. Con Doudna y Charpentier, CRISPR-Cas como herramienta de edición logró subirse a los hombros de las tecnologías genómicas y de terapia génica, dando un salto enorme en el área. Hoy hay más de cuarenta ensayos clínicos aprobados con técnicas CRISPR y su crecimiento no se detiene, habiendo aumentado en 30% solo en el último año. Entre ellos se cuentan ensayos para la cura de enfermedades de la sangre, tumores sólidos, leucemias y linfomas. Pero volvamos a las implicancias éticas de la edición genética: la condición para realizar cualquier ensayo en humanos es que CRISPR no afecte la línea germinal, es decir, óvulos y espermatozoides, ya que transmiten los genes a la siguiente generación. Hay un acuerdo internacional de la comunidad científica para evitar las potenciales aplicaciones de esta tecnología para 'mejorar' la especie. No respetarla genera descrédito y, como ya ha ocurrido, sanciones penales. La discusión ética aún prosigue.

Sin dudas, CRISPR merecía un premio Nobel. Podríamos discutir si las galardonadas son las únicas merecedoras o no, ya que la ciencia siempre se construye a hombros de descubrimientos sucesivos y escalonados, donde es difícil discernir cuál fue el salto clave. Lo que resulta indiscutible es que este sistema, originado en los organismos vivos más simples, nos ofrece una herramien-

ta poderosa y fascinante para modificar nuestro mundo. Comprenderla de forma racional y utilizarla de forma

responsable para el beneficio de todos son desafíos ineludibles a los que nos enfrentamos como especie. 

LECTURAS SUGERIDAS

ANZALONE AV, KOBLAN LW & LIU DR, 2020, 'Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors', *Nature Biotechnology*, 38, 7: 824-844.

JINEK M et al., 2012, 'A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity', *Science*, 337 (6096): 816-821.

MOJICA FJM et al., 2005, 'Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements', *Journal of Molecular Evolution*, 60: 174-182.

MONTOLIU L, 2020, *Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR*, Next Door Publishers, 2a. edición.

PICKAR-OLIVER A & GERSBACH CA, 2019, 'The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications', *Nature reviews Molecular cell biology*, 20, 8: 490-507.



Hernán Dopazo

Doctor en Ciencias Biológicas, FCEN-UBA.
Investigador del IEGEBA-Conicet.
Fundador de Biocódices SA.

FÍSICA

Ernesto Fabián Eiroa

Instituto de Astronomía y Física del Espacio (IAFE), Conicet-UBA

Agujeros negros: teoría y observación

El premio Nobel de Física de 2020 fue otorgado a Roger Penrose (Colchester, Reino Unido, 1931), Reinhard Genzel (Bad Homburg vor der Höhe, Alemania, 1952) y Andrea Ghez (Nueva York, Estados Unidos, 1965) por la Real Academia de Ciencias de Suecia, en reconocimiento a sus investigaciones acerca de los agujeros negros. La mitad del premio corresponde a Roger Penrose por mostrar, en la década de 1960 usando técnicas matemáticas novedosas, que bajo hipótesis muy generales los agujeros negros pueden formarse de manera natural por colapso gravitatorio en el marco de la teoría de la relatividad general, y por describir estos objetos en detalle. Reinhard Genzel y Andrea Ghez comparten la otra mitad del premio por el descubrimiento del objeto compacto supermasivo (más de un millón de veces la masa de nuestro Sol) que

se encuentra en el centro de nuestra galaxia –la Vía Láctea–, mediante la observación de las órbitas de las estrellas más cercanas que giran a su alrededor. Los períodos de estas órbitas requieren que haya un objeto compacto, con una masa de unos cuatro millones de masas solares dentro de una región más pequeña que la de nuestro sistema solar, o sea que se trata de un agujero negro.

La idea de objetos cuya gravedad es tan fuerte que la luz no puede escapar de ellos se remonta a fines del siglo XVIII con los trabajos del geólogo inglés John Michell (1724-1793) y del matemático francés Pierre-Simon Laplace (1749-1827), realizados en el contexto de la teoría corpuscular de la luz y de la gravedad de Newton. La gravedad newtoniana fue superada por la teoría de la relatividad general que Albert Einstein completó a fines de 1915, y que permitió explicar la denominada anomalía del perihelio del planeta Mercurio e hizo otras predicciones que se verificaron desde entonces. La solución a



Roger Penrose



Reinhard Genzel



Andrea Ghez