

Premio Nobel de Química 2020 a la edición génica con tecnología CRISPR/Cas9

El Premio Nobel de Química fue otorgado a 185 individuos desde 1901 y, hasta 2019, solo en cinco oportunidades las galardonadas fueron mujeres. La primera en recibirlo fue Marie Curie en 1911, luego de su galardón en Física en 1903. Luego, su hija, Irène Joliot-Curie en 1935, Dorothy Crowfoot Hodgkin en 1964, Ada E. Yonath en 2009 y Frances Arnold en 2018¹. Este año, el premio Nobel en Química fue otorgado conjuntamente a Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna (Fig. 1) por el desarrollo de un método de edición génica. Emmanuelle Charpentier trabaja en la Unidad para la Ciencia de Patógenos Max Planck, Berlín, Alemania y Jennifer A. Doudna en la Universidad de California, Berkeley, EE.UU.

La Academia Sueca² informó que el galardón fue otorgado por el descubrimiento de una de las herramientas más ingeniosas de la tecnología genética: las “tijeras genéticas” CRISPR/Cas9. En su comunicado de prensa, detalló que mediante esta técnica se puede cambiar con extrema precisión el ADN de animales, plantas y microorganismos. “Esta tecnología tuvo un impacto revolucionario en las ciencias de la vida, contribuyendo a nuevas terapias contra el cáncer y puede hacer que el sueño de la cura de enfermedades hereditarias se vuelva realidad”, decía el comunicado de la Academia².

La información oficial destaca que los investigadores necesitan modificar genes en las células para analizar sus mecanismos. Anteriormente, era una tarea que consumía mucho tiempo, difícil y, algunas veces, imposible. Actualmente, con el uso de las “tijeras moleculares” CRISPR/Cas9, la edición génica de células puede realizarse en el transcurso de unas pocas semanas.

En un trabajo de revisión publicado en *Cell* en 2016³, el Dr. Eric Lander describió la historia de esta técnica. Comienza alrededor de 1993 con el microbiólogo español Francisco Mojica, quien identificó secuencias repetitivas de ADN en el genoma de *Haloferax mediterranei*, un organismo arquea con tolerancia extrema a la sal. Estos fragmentos de ADN tenían múltiples copias con una longitud de 30 bases, aproximadamente palindrómicas, y que eran diferentes de todo lo hallado previamente en microbios. Por falta de subsidios para financiar sus investigaciones, Mojica empleó herramientas bioinformáticas para investigar estas curiosas secuencias repetitivas, que luego se llamarían CRISPR por su nombre en inglés (*clustered regularly interspaced palindromic repeats*), e hipotetizó que los *loci* de CRISPR debían codificar instrucciones para un sistema inmunológico adaptativo que protegía a los microbios de infecciones específicas³. Luego de varios rechazos en diversas revistas, publicó su artículo en 2005. Se demostró primero que el blanco del sistema CRISPR era el ADN. Sin embargo, el corte del ADN dependía de enzimas especializadas denominadas Cas por su nombre en inglés (*CRISPR-associated proteins*), incluyendo la nucleasa Cas9³. Numerosos grupos de investigación en nueve países contribuyeron a estos estudios pioneros sobre la función de CRISPR y, luego, de Cas9. Entre ellos se destacan Feng Zhang, Philippe Horvath, Luciano Marraffini, Rodolphe Barrangou, Anthony Fauci, y Frank Plummer, que ganaron diversos premios junto con las doctoras Charpentier y Doudnam.

Estos trabajos fueron fundamentales pero faltaba algo más para comprender el sistema. Y es aquí donde apareció Emmanuelle Charpentier. En conjunto con Jörg Vogel describió un pequeño ARN, que luego se llamaría tracrRNA por su nombre en inglés (*trans-activating CRISPR RNA*), y que sería el encargado de reconocer las secuencias repetitivas en el ADN. Con la aparición de la tecnología llamada *next-generation sequencing*, produjeron catálogos de transcriptoma de *Streptococcus pyogenes*. El sorprendente resultado fue que la tercera clase en abundancia (luego solamente de ARN ribosomal y

de transferencia) era un pequeño ARN novel que se transcribía de una secuencia adyacente a sitios CRISPR y tenía 25 pares de bases casi perfectamente complementarias a las repeticiones CRISPR. Confirmaron luego que este tracrRNA y el precursor de CRISPR de 61 nucleótidos de longitud llamado CRISPR RNA (crRNA) hibridaban, y que ello era fundamental para el clivaje y, por lo tanto, para su maduración y función³.

Cuando la Dra. Charpentier dio una conferencia en el congreso de la *American Society for Microbiology*, en Puerto Rico en marzo de 2011, conoció a Jennifer Doudna, que había estado trabajando en cristalografía y crio-microscopía electrónica para resolver los componentes de CRISPR. A partir de entonces comenzaron una muy productiva colaboración. Aislaron los componentes del sistema CRISPR-Cas9, Cas9 recombinante, crRNA y tracrRNA, y demostraron que el sistema se puede programar para cortar ADN en sitios específicos. En particular, mostraron que Cas9 puede cortar ADN *in vitro*, que éste puede ser programado con crRNAs, que los dos dominios de la nucleasa cortan hebras opuestas y que, tanto crRNA como tracrRNA, eran necesarios para el funcionamiento de Cas9. Además, demostraron que los dos RNAs pueden funcionar *in vitro* cuando se unen en un único ARN guía. Este concepto se volvió ampliamente utilizado en edición del genoma y ha inspirado innumerables aplicaciones en medicina, agricultura y ciencia básica³.

Esta tecnología provee incontables aplicaciones, entre ellas, la edición génica para investigar mecanismos de acción en ciencia básica, en agricultura, desarrollar plantas más resistentes y, en medicina, alterar genes para erradicar enfermedades. En línea con esto, la Dra. Damasia Becú comentó, en dos editoriales de la Revista Medicina en 2017⁴ y 2019⁵, importantes aspectos éticos relacionados con aplicaciones de esta técnica. En el primer editorial, la autora señalaba que “en agosto de 2017 un equipo internacional de investigadores anunció haber corregido el gen anómalo causante de la miocardiopatía hipertrófica hereditaria en embriones humanos portadores. Esto movilizó la opinión científica y pública porque marca el comienzo de la edición de embriones humanos”. Comentaba además que “se presentan desafíos en cuanto a la eficiencia y precisión de los cortes generados por Cas9, la eliminación y/o reducción de cortes *off-target* y su detección, la reparación correcta de los cortes, la obtención de mosaicos, y se suman dificultades en la vía de administración de los componentes del sistema: la nucleasa Cas9 y el ARN guía”. Esta tecnología generó controversia justamente a nivel ético cuando en noviembre de 2018, el biofísico chino He Jiankui anunció que niñas mellizas habían nacido de embriones editados utilizando la técnica CRISPR-Cas9⁶. Utilizando esta técnica había introducido la mutación CCR5 Δ 32 que las haría resistentes a la infección con HIV⁵.

Finalmente, es muy ilustrativo recuperar algunas de las enseñanzas señaladas en la revisión de *Cell*³. Los grandes hallazgos médicos a menudo surgen de orígenes comple-

Fig. 1.– Dras. Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna galardonadas con el Premio Nobel de Química 2020



Las ilustraciones pueden ser utilizadas para fines no comerciales y son obra de Johan Jarnestad/*The Royal Swedish Academy of Sciences*²

tamente impredecibles. Los primeros investigadores en CRISPR no estaban interesados en editar el genoma humano, ni siquiera en estudiar enfermedades humanas. Una conclusión más controvertida es que están surgiendo una serie de investigaciones independientes de la hipótesis, aunque las guiadas por la hipótesis son las fundamentales³. Podemos agregar a estas conclusiones que, si bien obviamente las Dras. Charpentier y Doudnam cumplieron un rol fundamental en el desarrollo de esta herramienta genética, toda una serie de otras personas realizaron aportes importantes, tanto dentro de sus grupos como en otros laboratorios. La ciencia avanza por el aporte de miles de investigadores, becarios y personal de apoyo en todo el mundo y cada uno realiza su modesto o enorme aporte.

Isabel A. Lüthy, Caroline A. Lamb

Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET, Argentina

e-mails: isabel.luthy@gmail.com, carolinealamb@gmail.com

1. Wikipedia. Anexo:Mujeres ganadoras del premio nobel. En: https://es.wikipedia.org/wiki/Anexo:Mujeres_ganadoras_del_Premio_Nobel; consultado octubre 2020.
2. The nobel prize in chemistry 2020. 2020. En: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/press-release/>; consultado octubre 2020.
3. Lander ES. The heroes of crispr. *Cell* 2016; 164: 18-28.
4. Becu-Villalobos D. El sistema Crispr/Cas9 ¿Cambiará el genoma de la humanidad?. *Medicina (B Aires)* 2017; 77: 521-3.
5. Becu-Villalobos D. Crispr/Cas9 en medicina, la saga continúa. *Medicina (B Aires)* 2019; 79: 522-3.
6. Ledford H, Callaway E. Pioneers of revolutionary crispr gene editing win chemistry nobel. *Nature News*. En: <https://www.nature.com/articles/d41586-020-02765-9>; consultado octubre 2020.