

Encuentros en la **b**iología



Edición genética en humanos

Modificando la línea
germinal humana

Entrevista a Francisco J.
Martínez Mojica

Vol XII | No 170
NÚMERO ESPECIAL | 2019

ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA
Revista de divulgación científica
Indexada en *Dialnet*

Entidad editora:

Universidad de Málaga. EDITADA CON LA COLABORACIÓN DE LA UNIDAD DE IGUALDAD DE GÉNERO DE LA UMA, DEL INSTITUTO DE HORTOFRUTICULTURA SUBTROPICAL Y MEDITERRÁNEA "LA MAYORA" (IHSM-UMA-CSIC) Y EL DECANATO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

Depósito legal: MA-1.133/94

ISSN (versión electrónica): 2254-0296

ISSN (versión impresa): 1134-8496

Periodicidad:

4 NÚMEROS ORDINARIOS (TRIMESTRALES) Y AL MENOS
1 NÚMERO EXTRAORDINARIO MONOGRÁFICO AL AÑO

Correspondencia a:

JUAN ANTONIO PÉREZ CLAROS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA
29071 - MÁLAGA
ENCUENTROSENLABIOLOGIA@UMA.ES

EQUIPO EDITORIAL

COMITÉ EDITORIAL EJECUTIVO

- Juan A. Pérez Claros
johnny@uma.es
Paleontología
Editor jefe.
- Ramón Muñoz-Chápuli
chapuli@uma.es
Biología del desarrollo y cardiovascular
*Director adjunto:
Coordinación de la edición electrónica, foros de la ciencia*
- Elena Rojano Rivera
elenarojano@uma.es
Bioinformática y biología de sistemas.
*Directora adjunta:
Maquetación*

COMITÉ EDITORIAL ASOCIADO

- Ana Grande Pérez
agrande@uma.es
Genética-virología,
Patogénesis virales.
Jóvenes científicos
- Antonio Diéguez
dieguez@uma.es

Filosofía de la ciencia

A debate, reseñaciones

- Beatriz Martínez Poveda
bmpoveda@uma.es
Biología molecular del cáncer y enfermedades cardiovasculares
- Enrique Viguera
eviguera@uma.es
Genética y genómica
Eventos especiales
- Francisco José Villena
francis.villena@icloud.com
Jóvenes científicos
- José M^a Pérez Pomares
jmperezp@uma.es
Biología del desarrollo y cardiovascular
Entrevistas
- M. Gonzalo Claros
claros@uma.es
Bioquímica, biología molecular y bioinformática.
Escribir bien no cuesta trabajo
- Miguel Á. Medina Torres
medina@uma.es

Biología molecular y de sistemas, biofísica y bioquímica
Monitor

- Belén Delgado Martín
belendm@uma.es
Bioquímica y Biología Molecular. *Maquetación*
- Jesús Olivero
jesusolivero@uma.es
Zoogeografía y biodiversidad animal
- Juan Antonio Guadix Domínguez
jaguadix@uma.es
Desarrollo embrionario, diferenciación celular y biología de células madre
- Juan Carlos Codina
jccodina@uma.es
Microbiología, educación secundaria
- Luis Rodríguez Caso
caso@eelm.csic.es
Técnicas de laboratorio
- María Rosa López Ramírez
mrlopez@uma.es
Química física,

astronomía

- Rafael Antonio Cañas Pendón
rcanas@uma.es
Biología Molecular de plantas
- A. Victoria de Andrés Fernández
deandres@uma.es
Biología animal aplicada
Directora de Ciencia Sin Límites
- Héctor Valverde Pareja
hvalverde@uma.es
Biología evolutiva molecular
Maquetación y difusión

COMITÉ EDITORIAL DE HONOR

- Salvador Guirado Hidalgo
guirado@uma.es
Biología Celular
- Esteban Domingo
edomingo@cbm.uam.es
Evolución de virus
- Gonzalo Álvarez Jurado
g.alvarez@usc.es
Genética

La portada



Mesa redonda «Edición del genoma humano con CRISPR. Posibilidades y límites». FEBS Special Session on Science and Society - The role of CRISPR in Personalized Medicine: Legal and Ethical Problems (12 de diciembre de 2017 en Málaga).

Índice

Editorial	3
Edición génica con CRISPR	5
Edición genética en humanos	11
CRISPR y coronavirus	16
Modificando la línea germinal humana	21
CRISPR en primera persona	24
La ciencia básica es bella y la aplicada es útil	26
Jóvenes científicos	30
Escribir bien no cuesta trabajo: Cómo debemos traducir CRISPR en español	33
La imagen comentada	35

Editorial

ESPECIAL CRISPR

Por Enrique Viguera Mínguez¹ y Antonio Diéguez Lucena².

¹Profesor titular de Genética. Universidad de Málaga. Vocal de la SEBBM.

²Catedrático de Filosofía de la Ciencia. Universidad de Málaga.

Era una de las primeras mesas redondas que se organizaba en Europa sobre los aspectos éticos de la edición del genoma humano. Fue organizada por los profesores de la Universidad de Málaga, Enrique Viguera (Profesor titular de Genética) y Antonio Diéguez (Catedrático de Filosofía de la Ciencia). Casi 400 personas abarrotaban el Aula Magna de la Facultad de Derecho de la Universidad de Málaga donde tuvo lugar el acto. La actividad contaba con el patrocinio de *Federation of European Biochemical Societies* (FEBS) y la colaboración de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM), la Facultad de Ciencias y la Facultad de Derecho de la Universidad de Málaga y se incluía dentro de la XV edición del ciclo de divulgación científica *Encuentros con la Ciencia*, organizado por los profesores

de la Universidad de Málaga Enrique Viguera y Ana Grande.

Acababan de conocerse las aplicaciones posibles de una de las más potentes herramientas biotecnológicas de las que el ser humano ha dispuesto hasta el momento: la técnica de edición genética CRISPR/cas9. El descubrimiento del sistema CRISPR se basa en el trabajo pionero del microbiólogo español Francisco Martínez Mojica, y sus aplicaciones ponen en nuestras manos la capacidad para modificar con una gran precisión y eficacia el genoma de cualquier ser vivo, y, por tanto, también el del ser humano. Las enormes expectativas, pero también los recelos, alimentados ambos por los medios de comunicación y por voces no siempre bien informadas, hacían imprescindible un debate multidisciplinar sobre las posibilidades reales de aplicación de las técnicas de edición genética, sobre sus beneficios previsibles y sobre los peligros que encierra. El cartel de ponentes fue excepcional: Francisco Martínez Mojica, profesor de la Universidad de Alicante, quien detalló su descubrimiento de las secuencias repetidas CRISPR, nombre que él mismo propuso. Francis Mojica identificó que algunas de las secuencias «espaciadoras» flanqueadas

por las secuencias CRISPR, eran idénticas a fragmentos de genomas de bacteriófagos y plásmidos conjugativos, lo que le llevó a proponer que dichas secuencias constituirían un sistema de inmunidad adquirida en bacterias y arqueas que le conferiría resistencia frente a un DNA exógeno. Sorprendentemente, la comunidad científica tardó muchos años en aceptar un descubrimiento que supone una de las mayores revoluciones en la historia de la Biología. Video de la conferencia del Dr. Mojica: <https://youtu.be/A0wrrbpxYK4> (a partir minuto 7:10')



El investigador Lluís Montoliu (Centro Nacional de Biotecnología, CSIC y CIBERER-ISCI) destacó que la herramienta de edición genética basada en CRISPR-Cas procedente de un sistema de defensa bacteriana supone un magnífico ejemplo de cómo la investigación básica acaba transformándose en aplicada. La tecnología basada en CRISPR-Cas9 permite reproducir en modelos celulares y animales enfermedades que nos afectan, como los defectos congénitos o las enfermedades raras, como el albinismo, que es la condición genética que investiga en su laboratorio. Las herramientas CRISPR permiten personalizar estos modelos y construir avatares, modelos animales que portan exactamente la misma alteración genética diagnosticada en pacientes. Según Montoliu, estas herramientas basadas en CRISPR suponen una revolución en las estrategias terapéuticas, con diferentes protocolos de terapia génica validados en modelos animales, que están a la espera de poder ser autorizados para su uso en pacientes. Sin embargo, destacó, hay que proceder con cautela antes de trasladar su uso a personas debido a las propias limitaciones de estas herramientas. Vídeo de la conferencia del Dr. Montoliu: <https://youtu.be/8SgxlW0S9Eg>

El desarrollo de unas herramientas que conduzcan a la modificación del genoma humano abre vías espe-

ranzadoras para la curación de diversas enfermedades, pero también abre vías más cuestionables para la mejora y potenciación de rasgos que han poseído los seres humanos desde sus orígenes como especie, e incluso para la incorporación de rasgos completamente nuevos, señaló el profesor de Filosofía de la Ciencia de la Universidad de Málaga Antonio Diéguez Lucena. ¿Debería limitarse el uso futuro de estas técnicas a funciones terapéuticas? Habrá sin duda que replantearse cuestiones de gran calado, tanto desde el punto de vista ético, como desde el político y el social, planteó en su charla. Vídeo de la conferencia del Dr. Diéguez Lucena: <https://youtu.be/xAk4wT4GU34>

No podíamos cerrar este debate sin contar con un experto jurista que nos hablara de la regulación jurídica de la edición genética en España. El profesor de la cátedra de Derecho y Genoma Humano de la Universidad del País Vasco Iñigo de Miguel Beriain desglosó los tres grandes documentos normativos que se ocupan de regular esta materia en España: el Convenio de Oviedo, la Ley 14/2007 de investigación biomédica y el Código Penal. Destacó el desfase entre las necesidades de la investigación biológica y la regulación jurídica, basada en normas elaboradas en un contexto histórico muy diferente al actual. Vídeo de la conferencia del Dr. de Miguel Beriain: <https://youtu.be/fIQEWes3qoM>

Nos gustaría destacar la implicación de nuestro alumnado de la asignatura Genética Humana del grado en Bioquímica quienes no dudaron en participar en la organización e incluso en la presentación del acto: Andrea Martín Merchante, Antonio Méndez Martín, Juan Muñoz Fernández, Javier Pichaco García y Santiago Priego Cubero. Video de la presentación del acto: <https://youtu.be/A0wrrbpxYK4>



EDICIÓN GÉNICA CON CRISPR: DE LAS SALINAS DE SANTA POLA (ALICANTE) A LA LUCHA CONTRA EL CORONAVIRUS SARS-CoV2 PASANDO POR LOS PRIMEROS HUMANOS EDITADOS GENÉTICAMENTE.

por ENRIQUE VIGUERA MÍNGUEZ¹ Y MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ CARRASCO²

¹PROFESOR TITULAR DE GENÉTICA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. VOCAL DE LA SEBBM.

²ESTUDIANTE GRADO EN BIOQUÍMICA, ESPECIALIDAD BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

EVIGUERA@UMA.ES

La técnica de edición genética CRISPR-Cas está suponiendo una auténtica revolución científica. Su utilización permite eliminar, adicionar, o reemplazar la información genética tanto en ensayos *in vitro* como *ex vivo* e *in vivo*. La lista de posibilidades y aplicaciones en biología, biotecnología y biomedicina es muy extensa: Inactivación de un gen, sustitución de una secuencia de DNA por otra, corrección de un cambio específico en el DNA responsable de la aparición de una determinada enfermedad, diseño de sistemas de diagnóstico con una sensibilidad impensable hasta la fecha, posibilidad de editar no sólo el DNA sino también el RNA, codificación de mensajes ocultos en el genoma de una bacteria... El investigador Lluís Montoliu, pionero en el uso de estas herramientas en España, nos dice en su libro «Editando genes: recorta, pega y colorea» que «el límite de las aplicaciones derivadas de la edición genética con las herramientas CRISPR está en la imaginación de los investigadores». Desde el año 2013 hasta ahora han aparecido casi 18.000 publicaciones científicas que utilizan el sistema CRISPR y han surgido múltiples variantes de edición genética basada en CRISPR, como los sistemas SHERLOCK, CARMEN, DETECTR y REPAIR.

Herramientas tradicionales de modificación genética

La primera herramienta de modificación genética fue desarrollada en la década de los 80 del pasado siglo por Mario Capecchi y Oliver Smithies (Premios Nobel 2007) basándose en la recombinación homóloga, un sistema de reparación del DNA por homología de secuencia que poseen las células, tanto eucariotas como procariotas, aunque con maquinarias proteicas diferentes. Este proceso, conservado a lo largo de la evolución, fue identificado en bacterias por el Premio Nobel de 1958 Joshua Lederberg. Capecchi demostró en células de mamíferos que podría darse un intercambio de material genético entre un fragmento de DNA introducido de manera exógena y los cromosomas celulares por dicho mecanismo. De esta forma, se abrió la puerta a la posibilidad de reparar genes defectuosos mediante recombinación homóloga con el DNA introducido. Así, si queremos corregir una mutación específica en un gen de una célula, podemos construir un vector (plásmido) que posea dicho gen con el cambio génico deseado, mientras que el resto de la secuencia permanece idéntica. De manera estocástica, se producirá algún evento de recombinación entre dichas secuencias, editada y original, introduciéndose el vector completo en el genoma y obteniéndose así la copia funcional del gen de interés.

Sin embargo, el principal problema de la recombinación homóloga de cara a ser utilizado como sistema

de modificación genética es su bajísima eficiencia, siendo efectivo en sólo uno entre cada millón de casos. La eficiencia más alta descrita en mamíferos es de uno en diez mil casos^[4], lo cual sigue siendo inviable como técnica.

Experimentos posteriores lograron aumentar la frecuencia de recombinación, desde 10^{-6} a 10^{-3} , cuando se inducía una rotura de doble hebra en la región del DNA que se pretendiera modificar mediante el uso de una enzima de restricción^[24]. El problema doble de esta técnica es que conlleva la fragmentación del genoma al existir secuencias diana, generalmente de 6 nucleótidos, en múltiples localizaciones del mismo; y que ofrece una menor especificidad para la edición deseada.

El descubrimiento de las meganucleasas, enzimas de restricción descubiertas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* cuyas secuencias de reconocimiento comprenden unos 20 nucleótidos^[6], permitió obtener frecuencias de recombinación mucho más altas, del orden de 10^{-1} . Si bien la importante limitación de esta técnica es la baja probabilidad de que exista el sitio de reconocimiento de la meganucleasa en la secuencia diana, sirvió de base para el resto de herramientas de edición genética desarrolladas posteriormente.

Así, en 2001 surgieron los primeros prototipos de las nucleasas programables guiadas por dedos de zinc, las Zinc-Finger Nucleases, ZFN^[20], constituidas por una enzima de restricción bacteriana (*FokI*) asociada a dominios de dedos de zinc procedentes de facto-

res de transcripción, los cuales poseen capacidad de unión al DNA. En 2011 se desarrollaron las herramientas de edición génica TALEN^[8], basadas en el mismo principio que ZFN, al fusionar dominios de factores de transcripción de bacterias patógenas de plantas a *FokI*, diseñándose específicamente frente a ambas hebras anexas a la región de corte. Poseían las mismas características que las ZFN, pero con una estructura abierta, pudiendo así diseñarse en laboratorio en una semana de trabajo.

Sistemas CRISPR-Cas

De manera paralela al desarrollo de estas técnicas surgió una nueva herramienta que revolucionaría el mundo de la edición génica: el sistema CRISPR-Cas. Esta herramienta es todo un ejemplo de cómo la investigación básica puede derivar en unas aplicaciones insospechadas. El español Francis Mojica publicó en el año 2000^[21] las pruebas experimentales de la existencia de unas secuencias de DNA repetidas compartidas en genomas de arqueas, bacterias y mitocondrias, que a la postre denominaría secuencias CRISPR. Francis pensó que el hecho de que estas secuencias estuvieran conservadas evolutivamente entre las tres grandes ramas filogenéticas indicaba que su origen era muy ancestral y debían tener, por tanto, una función muy importante. Paralelamente, otro grupo^[14] descubrió la existencia de unos genes adyacentes a las secuencias CRISPR que denominaron genes Cas, que codifican proteínas con actividad endonucleasa.

En el año 2005, tras diez años de trabajo y después de dos años de rechazo en revistas científicas de gran prestigio, Mojica publicó en *Journal of Molecular Evolution* el artículo «Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements», en el que incluyó la propuesta de que este sistema CRISPR-Cas representaría un sistema ancestral de inmunidad adquirida conservado en bacterias y arqueas^[22]. En él se describía que las secuencias repetidas están flanqueadas por unas secuencias espaciadoras que tienen similitud con secuencias de virus bacteriófagos y plásmidos conjugativos. Siempre nos maravillará la absoluta genialidad de Francis Mojica al ser capaz de intuir en la agrupación de las secuencias repetidas la existencia de un mecanismo de defensa a modo de sistema inmune bacteriano.

Grupos de investigación de todo el mundo vislumbraron las posibilidades que implicaban estos descubrimientos y comenzaron a aparecer publicaciones que confirmaban que los elementos CRISPR y las proteínas Cas confieren protección frente a virus en

diferentes bacterias, así como la elucidación del mecanismo molecular y el silenciamiento del sistema CRISPR-Cas en algunos grupos bacterianos. Publicaciones posteriores^[2,19,5,9,13] consiguieron elucidar el funcionamiento del sistema de defensa bacteriano basado en CRISPR. Así, cuando un virus introduce su material génico en la bacteria con el fin de infectarla, si esta infección no es exitosa, se incorporan fragmentos del genoma del virus (espaciadores) entre las secuencias CRISPR por medio de un determinado tipo de proteínas Cas, en un proceso denominado *Adaptación*. De esta forma, la bacteria queda «inmunizada» frente a una nueva infección. Al transcribirse la agrupación CRISPR se produce un RNA precursor (precrRNA), que es procesado dando lugar a moléculas de RNA derivadas de CRISPR (crRNA). Estas últimas se unen individualmente, o junto a una molécula de RNA denominada tracrRNA (según la variante del sistema CRISPR), a una proteína Cas formando complejos efectores (etapa denominada *Expresión*). Frente a un ataque de un virus similar, el complejo efector se une por medio de la secuencia espaciadora a una secuencia complementaria del virus, provocando que la proteína Cas, gracias a su actividad endonucleasa, produzca la rotura del material génico del virus y la consecuente inhibición de la infección, en una etapa denominada *Interferencia*. Este mecanismo en tres etapas, cuya dilucidación ha sido fruto del trabajo de muchos grupos de investigación internacionales, se detalla en la figura 1.

Las secuencias de DNA repetidas han sido utilizadas desde hace tiempo como sistema de tipado bacteriano. El primer firmante de este artículo, prof. Enrique Viguera, estuvo trabajando durante su etapa postdoctoral entre los años 1997-2001 en el *Laboratoire de Génétique Microbienne* (INRA, Francia) y en su nuevo laboratorio en Málaga en el estudio de las bases moleculares de la inestabilidad de las secuencias de DNA repetidas. El bloqueo de la DNA polimerasa durante la replicación de estas secuencias de DNA, capaces de adoptar determinadas estructuras secundarias, causa el cambio en el número de repeticiones por un mecanismo denominado error por deslizamiento de hebra o *replication slippage*^[25]. Las secuencias repetidas del DNA tienen, por tanto, una frecuencia de mutación mucho más alta que las secuencias no repetidas. Este hecho permite usarlas como marcadores para la identificación de cepas bacterianas en estudio con tan sólo determinar el número de unidades repetidas. Esta era la finalidad del grupo del Dr. Gilles Vergnaud (*Institut de Génétique et Microbiologie, Université Paris-Sud*), quien nos visitaba frecuentemente en busca de nuevas cepas para caracterizarlas por la técnica de MLVA (*Multi-Locus*

Variable Number Tandem Repeats Analysis) y con quien teníamos frecuentes seminarios en común.

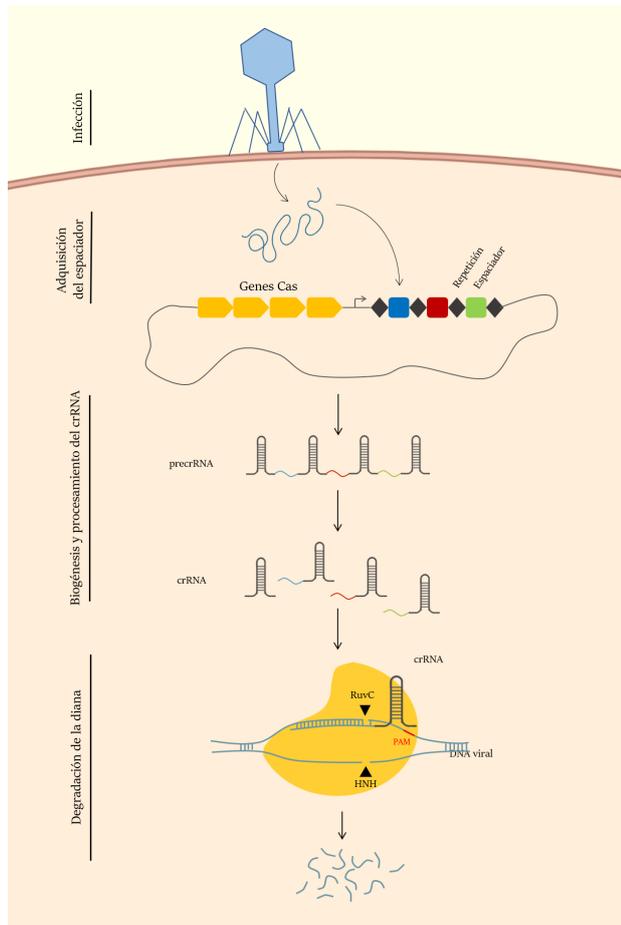


Figura 1. Mecanismo del proceso de inmunización bacteriana tras el ataque de un virus utilizando el Sistema CRISPR-Cas.

Como hemos dicho, Francis Mojica había propuesto en su artículo de 2005 antes citado que, cuando se encuentran en una misma célula una secuencia espaciadora del genoma de la bacteria y la secuencia idéntica en el genoma del virus, el resultado es una infección ineficaz^[22]. La bacteria de alguna forma se «vacuna» tras haber adquirido los espaciadores a partir de virus o plásmidos, impidiendo su propagación. Ese mismo año el grupo del investigador Gilles Vergnaud llegó a una conclusión similar al estudiar los espaciadores aislados en cepas de *Yersinia pestis*^[23] y el grupo de investigación en el que yo trabajaba, dirigido por uno de los investigadores más inteligentes que el primer firmante de este artículo ha conocido, el Dr. S. Dusko Ehrlich, publicaba meses más tarde, gracias a un potente análisis bioinformático, la identificación del origen extracromosómico de las secuencias espaciadoras de los elementos CRISPR^[3].

El primer firmante de este artículo guarda con cariño una libreta de laboratorio en la que, allá por el año 2001, en un seminario de laboratorio entre el

grupo de Ehrlich, Vergnaud y un conferenciante invitado, Gary Benson (*Mount Sinai School of Medicine, NY, EEUU*) describen la existencia de secuencias de DNA repetidas en *E. coli* que estaban flanqueadas por secuencias de «naturaleza desconocida»; al menos desconocidas en aquel momento en el que las bases de datos no tenían la riqueza que tendrían años más tarde. Estas secuencias debían tener una función biológica importante, de lo contrario habrían sido eliminadas durante la evolución por mutaciones del tipo deslizamiento de hebra, anteriormente descritas, pero en aquel momento ninguno de nosotros supo verlo. Sólo dos años más tarde Francis Mojica fue capaz de vislumbrar un mecanismo cuyas aplicaciones biotecnológicas están llamadas a revolucionar la Ciencia. Aun así, pasaron muchos años desde su descubrimiento hasta que fue reconocido en España ¿Habría sido igual si sus resultados hubieran sido aceptados en la revista *Nature*? En ocasiones nos dejamos guiar demasiado por el índice de impacto de una revista y no por la trascendencia del descubrimiento. El 11 de enero de 2016 Francis Mojica impartía la conferencia «Sistemas CRISPR-Cas, una revolución biotecnológica con origen bacteriano» que organizamos en la XIII edición de Encuentros con la Ciencia en Málaga (<https://youtu.be/GOK6FkfmHdQ>), figura 2. Se trataba de la primera conferencia divulgativa que impartía sobre el descubrimiento del sistema CRISPR publicado en 2005... ¡11 años más tarde! La sala de Ámbito Cultural de El Corte Inglés de Málaga, sede de las conferencias, estaba abarrotada de público, nadie se movía de sus asientos. Todos los asistentes sentíamos que estábamos delante de algo grande, figura 3.

Con el paso del tiempo, se han identificado diferentes sistemas CRISPR, que se han agrupado en dos clases^[16]. La Clase I, se encuentra conformada por los tipos I, III y IV, donde existe un elevado número de componentes; mientras que la clase II posee los tipos II (Cas9), V (Cas12) y VI (Cas13), con un número muy inferior de componentes. Es por ello que se hace uso de esta última clase para la construcción de herramientas de edición génica, al permitir una construcción más sencilla.

El salto a las aplicaciones de CRISPR en edición genética vino de la mano de las investigadoras Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier y por el grupo de Virginijus Siksnys^[15,10] quienes paralelamente demostraron *in vitro* la posibilidad de utilizar el sistema CRISPR para la edición de genes. Un año más tarde, el grupo de Feng Zhang y el de George Church publicaban el éxito de estas técnicas en la modificación génica *in vivo* en células de ratón y humanas^[7,18]. Basta sintetizar una pequeña molécula

la de RNA, denominada RNA guía (sgRNA), que contenga una región complementaria a la secuencia diana que queremos editar (secuencia crRNA) junto a la secuencia tracrRNA, y añadir en el mismo vector la secuencia codificante de la nucleasa Cas9 ligeramente modificada para producir una rotura de doble hebra específica en esta región. Una vez producido el corte de la doble hebra se induce la reparación del daño por parte de la célula, que puede darse por dos vías: mediante unión de extremos no homólogos (NHEJ), o bien vía reparación por recombinación homóloga (HDR). Ambos mecanismos pueden utilizarse para la edición génica. En el primero se induce la inactivación o modificación de un gen concreto, mientras que haciendo uso del segundo podemos insertar en el genoma una secuencia de DNA específica o un cambio determinado (inserción, delección, sustitución, duplicación, etc), al introducir una molécula de DNA con la secuencia deseada que posea en sus extremos complementariedad de secuencia con las regiones que flanquean la zona de corte. Este procedimiento permite modificar cualquier secuencia de DNA de cualquier organismo, ya sea animal o planta, lo que abría unas enormes expectativas en el campo de la terapia génica.



Figura 3. El investigador Francis Mojica impartiendo la conferencia «Sistemas CRISPR-Cas, una revolución biotecnológica con origen bacteriano» en la XIII edición del ciclo Encuentros con la Ciencia.

Variantes de CRISPR

Gracias a la secuenciación de genomas de bacterias y arqueas se han descubierto más de diez sistemas de defensa frente a fagos y plásmidos análogos a CRISPR con, posiblemente, muchas nuevas aplicaciones todavía por descubrir. El sistema más utilizado actualmente corresponde a CRISPR-Cas9 (tipo II, clase II), que realiza corte en doble hebra de DNA gracias a su actividad endonucleasa. Esta actividad es aportada por el dominio catalítico RuvC para una de las hebras, mientras que la otra es cortada por el dominio HNH. Además, para llevar a cabo dicha actividad requiere la ayuda del tracrRNA anteriormente citado. Mediante mutación dirigida puede inactivarse cualquiera de estos dominios de manera independiente, obteniendo un corte de hebra simple. Es la denominada Cas9 nickasa, o Cas9n^[12].

Se han identificado también las proteínas Cpf1 (Cas12a, tipo V, clase II), cuya acción no requiere de la presencia de un tracrRNA; así como Cas13 (tipo VI, clase II), que realiza el corte en RNA y no DNA. Estas proteínas Cas alternativas han posibilitado el desarrollo de técnicas como SHERLOCK, HOLMES o DETECTR orientadas hacia el diagnóstico genético de moléculas de DNA y RNA con una sensibilidad sin precedentes^[17].

Precisamente el sistema SHERLOCK acaba de ser puesto a punto por el laboratorio de Feng Zhang para la detección del coronavirus SARS-CoV2 causante de la enfermedad COVID-19 con una sensibilidad asombrosa, del orden de 10 copias del genoma por microlitro de muestra (Zhang et al, 2020). Este sistema se describe con detalle en este número en el artículo «CRISPR y coronavirus», por el Dr. Lluís Montoliu. Más recientemente se ha desarrollado un nuevo método basado en el sistema SHERLOCK denominado CARMEN (acrónimo de *Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nu-*

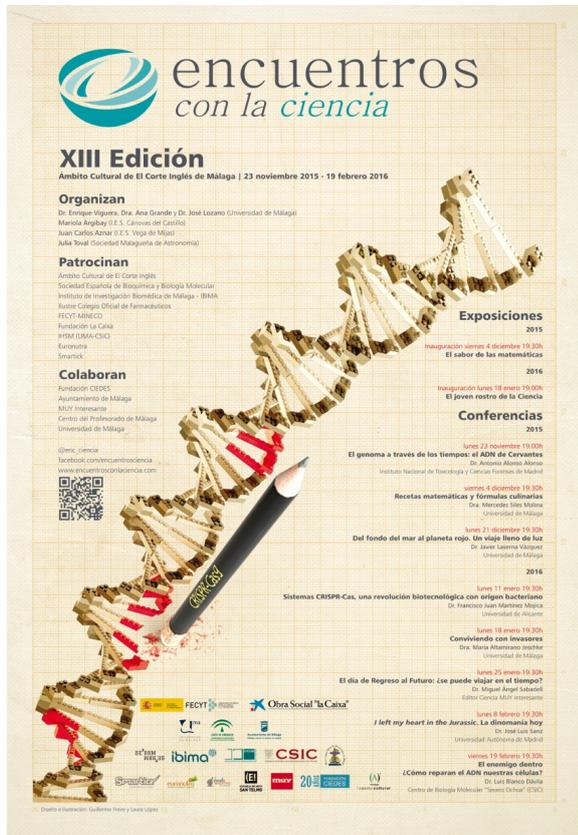


Figura 2. Cartel anunciador de la XIII edición de Encuentros con la Ciencia con el motivo de la edición CRISPR como imagen principal.

cleic acids) que permite la detección del coronavirus SARS-CoV2 en más de mil muestras clínicas o la detección simultánea de cientos de especies de virus en muestras clínicas (Ackerman et al. 2020).

Otra de las aplicaciones descritas para la proteína Cas es determinar la posición de una secuencia concreta en el núcleo celular mediante la utilización de una variante de Cas9, dCas9 (*dead Cas9*), inactiva catalíticamente, pero con capacidad de reconocer secuencias específicas al haberle acoplado un reportero como GFP; o mediante la fusión de esta con un efector para regular el control transcripcional de cierto gen o la modulación epigenética de una región. La versatilidad de combinaciones permite un sinnúmero de aplicaciones^[12].

Entre las últimas herramientas que han surgido relacionadas con los sistemas CRISPR encontramos los editores de bases desarrollados por el equipo de David Liu, consistentes en una proteína Cas9n fusionada con un dominio citidín desaminasa o adenosín desaminasa, convirtiendo al sistema CRISPR en una herramienta que puede editar específicamente bases en el DNA, ya que posibilita realizar los cuatro tipos diferentes de transiciones (C→T, G→A, A→G y T→C)^[11].

El mismo equipo de David Liu consiguió dar una nueva vuelta de tuerca con una nueva aplicación: el sistema *Prime Editing* (PE)^[1] que permitía realizar las 12 posibles conversiones de bases (transiciones y transversiones), además de inserciones y deleciones dirigidas por un RNA molde previamente diseñado en lugar de DNA, en un proceso en el que no se produce rotura de doble hebra. Esta aplicación conseguiría, por tanto, corregir la gran mayoría de mutaciones causantes de enfermedades congénitas.

Para ello, los investigadores diseñaron una proteína híbrida que contiene una fusión del dominio de la transcriptasa reversa M-MLC RT a Cas9n, e hicieron uso de un RNA denominado *prime editing guide RNA* (peg-RNA) que posee diferentes regiones específicas: una región con la misma secuencia que la diana que se pretenda editar y que, por lo tanto, permite dirigir al sistema frente a la región del genoma deseada; una región *loop*, que permite el anclaje del peg RNA a Cas9n (scaffold, 72 nucleótidos); una región que sirve como molde para M-MLC RT y que incluye la edición deseada (7-22 nucleótidos); y una región que es idéntica a una sección de la hebra complementaria, que sirve como cebador para la actividad M-MLC RT (región PBS, 5-6 nucleótidos, según contenido GC) y que, por tanto, permite realizar la síntesis de la nueva cadena de DNA. Adicionalmente, se han obtenido variantes más eficientes del sistema *Prime Editing* (PE2 y PE3) y tarde o temprano seguro que

se conseguirá reproducir estos resultados *in vivo*.

En este trabajo los investigadores aseguran que mediante esta metodología *Prime Editing* podrían corregirse hasta un 89 % de los más de 75.000 errores genéticos que causan enfermedades en seres humanos, aquellos producidos por transiciones, transversiones, deleciones, duplicaciones, inserciones u otro tipo de mutaciones. Sin embargo, hay que ser prudentes con estas afirmaciones ya que, de momento, estos experimentos se han realizado en células en cultivo, con diferente eficiencia dependiendo del tipo celular; así como no se ha profundizado en posibles efectos *off-target* en regiones del genoma no estudiadas.

Las posibilidades en los campos de la biotecnología animal y vegetal son enormes, pero aún es prematuro su traslado al paciente, dado que no es factible una técnica que puede reparar un cambio, pero también introducir mutaciones en sitios no deseados. Paralelamente, la rapidez a la que se están produciendo todos estos avances en edición genética han hecho saltar todas las alarmas. De ahí que planteáramos un debate sobre los aspectos éticos en la edición del genoma humano auspiciado por la FEBS y la SEBBM. ¿Qué es curar una enfermedad con base genética y qué es una mejora genética? ¿Debe limitarse el uso de la tecnología CRISPR a funciones terapéuticas? ¿Dónde están los límites? Surgen cuestiones en las que deben participar distintas disciplinas.

Dentro de todo este debate, el equipo del investigador chino He Jiankui comunicó que había usado la tecnología CRISPR para editar embriones humanos. Su objetivo era obtener embriones con una mutación en el gen CCR5 que impidiera al virus VIH utilizar este receptor para entrar en los linfocitos y de esta forma, generar individuos que nunca desarrollaran SIDA. Tras editar los embriones, los implantó y tuvo lugar el nacimiento de tres niñas, dos de ellas gemelas y llamadas Lulu y Nana. Los resultados obtenidos indican que al menos las gemelas son mosaico, es decir, no todas sus células fueron editadas y además contienen mutaciones *off-target* en otras partes del genoma, de consecuencias imprevisibles y que tendrán que ser monitorizadas durante toda su vida. A finales de diciembre de 2019 He Jiankui y dos de sus colaboradores, embriólogos, fueron condenados a penas de cárcel e inhabilitación profesional. Su propósito fue, posiblemente, tener el dudoso honor de ser las primeras personas en editar genéticamente seres humanos, aunque ello implicara saltarse todas las líneas rojas en un experimento que, en palabras del Dr. Lluís Montoliu, es ilegal, imprudente, irresponsable y éticamente inaceptable.

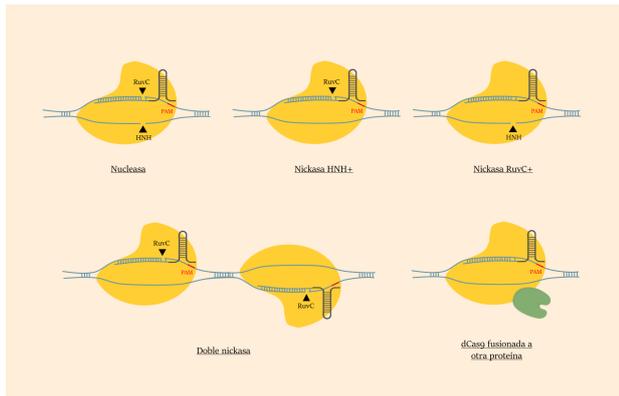


Figura 4. Se muestran diferentes aplicaciones y modificaciones del sistema CRISPR-Cas9. Arriba: pueden inactivarse la actividad endonucleasa de manera independiente para cada dominio, consiguiendo la Nickasa HNH+ o la Nickasa RuvC+. Abajo: puede dirigirse el corte de manera independiente a posiciones distintas en las dos hebras de DNA, lo que permite la formación de extremos cohesivos o bien puede fusionarse a otra proteína. Basado en [12].

Referencias

- [1] Anzalone, A. V., Randolph, P. B., Davis J. R., y otros. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature*, 576(7785), 149-157, 2019.
- [2] Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau H., y otros. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315(5819), 1709-1712, 2007.
- [3] Bolotin, A., Quinquis, B., Sorokin, A., y Ehrlich, S. D. Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology*, 151(8), 2551-2561, 2005.
- [4] Brinster, R. L., Braun, R. E., Lo, D., y otros. Targeted correction of a major histocompatibility class II E alpha gene by DNA microinjected into mouse eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(18), 7087-7091, 1989.
- [5] Brouns, S. J., Jore, M. M., Lundgren, M. y otros. Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science*, 321(5891), 960-964, 2008.
- [6] Choulika, A., Perrin, A., Dujon, B., y Nicolas, J. F. The yeast I-Sce I meganuclease induces site-directed chromosomal recombination in mammalian cells. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 317(11), 1013-1019, 1994.
- [7] Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., y otros. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 339(6121), 819-823, 2013.
- [8] Gaj, T., Gersbach, C. A., y Barbas III, C. F. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in Biotechnology*, 31(7), 397-405, 2013.
- [9] Garneau, J. E., Dupuis, M. È., Villion, M., y otros. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. *Nature*, 468(7320), 67-71, 2010.
- [10] Gasiunas, G., Barrangou, R., Horvath, P., y Siksnys, V. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(39), E2579-E2586, 2012.
- [11] Gaudelli, N. M., Komor, A. C., Rees, H. A., y otros. Programmable base editing of A · T to G · C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*, 551(7681), 464-471, 2017.
- [12] Hsu, P. D., Lander, E. S., y Zhang, F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262-1278, 2014.
- [13] Ishino, Y., Krupovic, M., y Forterre, P. History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. *Journal of Bacteriology*, 200(7), e00580-17, 2018.
- [14] Jansen, R., Embden, J. D. V., Gaastra, W., y Schouls, L. M. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular Microbiology*, 43(6), 1565-1575, 2002.
- [15] Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., y otros. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816-821, 2012.
- [16] Koonin, E. V., y Makarova, K.S. CRISPR-Cas: Evolution of an RNA-based adaptive immunity system in prokaryotes. *RNA Biol.* 10, 679-686, 2013.
- [17] Li, Y., Li, S., Wang, J., y Liu, G. CRISPR/Cas systems towards next-generation biosensing. *Trends in Biotechnology*, 37(7), 730-743, 2019.
- [18] Mali, P., Yang, L., Esvelt, K. M., y otros. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*, 339(6121), 823-826, 2013.
- [19] Marraffini, L. A., y Sontheimer, E. J. CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. *Science*, 322(5909), 1843-1845, 2008.
- [20] Miller, J. C., Holmes, M. C., Wang, J. y otros. An improved zinc-finger nuclease architecture for highly specific genome editing. *Nature Biotechnology*, 25(7), 778-785, 2007.
- [21] Mojica, F. J., Díez-Villaseñor, C., Soria, E., y Juez, G. Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Molecular Microbiology*, 36(1), 244-246, 2000.
- [22] Mojica, F. J., García-Martínez, J., y Soria, E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*, 60(2), 174-182, 2005.
- [23] Pourcel, C., Salvignol, G., y Vergnaud, G. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies. *Microbiology*, 151(3), 653-663, 2005.
- [24] Smithies, O., Gregg, R. G., Boggs, S. S., y otros. Insertion of DNA sequences into the human chromosomal β -globin locus by homologous recombination. *Nature*, 317(6034), 230-234, 1985.
- [25] Viguera, E., Canceill, D., y Ehrlich, S. D. Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation. *The EMBO Journal*, 20(10), 2587-2595, 2001.

EDICIÓN GENÉTICA EN HUMANOS Y LA NECESARIA PREGUNTA POR LOS FINES
GENETIC EDITING IN HUMANS AND THE NECESSARY QUESTION FOR THE PURPOSES

por ANTONIO DIÉGUEZ LUCENA

DEPARTAMENTO DE FILOSOFÍA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

DIEGUEZ@UMA.ES

Palabras clave: Edición genética en humanos, CRISPR-cas9, transhumanismo, biomejoramiento humano Enviado: 11/11/2019
Keywords: Human Gene Editing, CRISPR-cas9, transhumanism, human bioenhancement Aceptado: 02/12/2019

La aplicación de técnicas de edición genética precisas, como CRISPR-cas9 y otras que puedan sucederle, a la modificación del genoma humano abre vías esperanzadoras para la curación de diversas enfermedades, pero también abre vías más cuestionables para la mejora y potenciación de rasgos que han poseído los seres humanos desde sus orígenes como especie, e incluso para la incorporación de rasgos completamente nuevos. Esta posibilidad de biomejoramiento humano debería suscitar un debate público acerca de los fines que habrían de guiar su realización, si es que esta resulta posible de forma segura.

The application of precise genetic editing techniques, such as CRISPR-cas9 and others that may be discovered, to the modification of the human genome blazes a hopeful trail for the cure of various diseases, but also pave a more questionable way to the improvement and enhancement of traits possessed by human beings from their origins as a species, and even for the incorporation of completely new traits. This possibility of human bioenhancement should provoke a public debate about the aims that would guide its realization, if this realization is possible sometime in a safe way.

Si hace tan solo diez años nos hubieran dicho que una preocupación central en el debate filosófico-científico iba a ser el de las posibilidades abiertas por la edición genética en seres humanos y sus límites morales y político-sociales, muchos habríamos pensado que el interlocutor pretendía referirse a una situación futura no demasiado cercana en el tiempo, o que estaba describiendo un escenario de ciencia ficción. No es que hace una década la manipulación genética de seres humanos no fuera concebible, claro que lo era, pero pocos podían pensar de forma realista que pudiera llevarse a la práctica en un plazo previsible. El descubrimiento de las tijeras genéticas de precisión (y pegamento) que la técnica CRISPR-cas9 ha puesto en nuestras manos ha cambiado el panorama por completo, y de la noche a la mañana, como quien dice, ha puesto en nuestras manos una tecnología efectiva, realizable y al alcance de muchos investigadores; e incluso se nos informa ya del desarrollo de técnicas aún mejores, más eficientes, con menor índice de errores. Esto, unido al despegue notable de la biología sintética, ha significado una aceleración en el panorama de las aplicaciones biotecnológicas que ya se consideran factibles, incluyendo su uso en humanos.

las nuevas promesas. Algunos líderes científicos implicados directamente en estos avances, como George Church, catedrático de genética en Harvard, señalan el objetivo de crear genes nuevos, sintetizados artificialmente en el laboratorio, como medio para prevenir enfermedades o para producir nuevos medicamentos. Ya fueron sintetizadas, de hecho, usando la técnica CRISPR dos nuevas bases nucleotídicas artificiales que han permanecido de forma estable en *E. coli* tras ser insertadas en su genoma, e incluso han sido capaces de dar lugar a una nueva proteína parcialmente artificial^[12,13]; un logro, por cierto, que recibió mucha menos atención pública de la que habría merecido. Los investigadores que lo llevaron a cabo dejan muy claro en uno de sus artículos cuál era el objetivo último de sus trabajos:

La meta central de la biología sintética es crear nuevas formas de vida y funciones, y la ruta más general para lograr esta meta es la creación de organismos semi-sintéticos cuyo ADN albergue dos letras adicionales que forman un tercer par de bases no-natural. [...] El organismo semi-sintético codifica al tiempo que recupera información creciente y debe servir como una plataforma para la creación de nuevas formas de vida y funciones.

Las promesas de la ingeniería genética «clásica» han quedado incluso pequeñas en comparación con

Zhang y colaboradores, 2017^[13].

Es digno de resaltarse que en un solo párrafo repitan dos veces que de lo que se trata es de crear nuevas formas de vidas y de funciones biológicas. Y para sorpresa de todos, a comienzos de 2019 saltaba la noticia, y esta vez con una difusión mucho más amplia que la anterior, de la creación de cuatro nuevos nucleótidos sintéticos complementarios por parte de Steven A. Benner, de la Foundation For Applied Molecular Evolution de Florida, y su equipo. Estos cuatro nucleótidos sintéticos junto con los cuatro tradicionales, pudieron formar lo que se denominó «hachimoji DNA» (ocho letras, en japonés). Los cuatro nuevos nucleótidos se designan como P, Z, B y S.^[5] Estos científicos están ya trabajando para incorporar este ADN a una bacteria.



D. Antonio Diéguez Lucena

Así pues, en principio, ya es posible crear genes con capacidad para dotar a los seres vivos de funciones nuevas, y podemos especular con que en el futuro podrán dar lugar a funciones aún inimaginables. Estos genes sintéticos, introducidos en nuestro organismo, según Church y Regis^[1], podrían cambiar para siempre la naturaleza humana (si es que aceptamos esta expresión problemática), protegiéndonos de enfermedades y dotando a nuestra especie de características que jamás hubiera poseído; características que, en un escenario aún ficticio y quizás lejano, pero no descartable por imposible, los padres elegirían para su descendencia en una suerte de supermercado genético, hasta llegar a alumbrar finalmente una o varias especies nuevas, poshumanas, cuando las diferencias promovidas marcaran barreras reproductivas insalvables. Todo ello ha propiciado que tanto la comunidad científica como los interesados en las cuestiones filosóficas relacionadas con la biotecnología se sitúen ya ineludiblemente ante preguntas que

se venían demorando desde hace tiempo. Demora que no era casual, porque las dificultades para dar a las mismas una respuesta bien informada y capaz de despertar el acuerdo son enormes. Es, en efecto, bastante arduo despejar el camino para un debate sosegado en un asunto tan enrevesado como este, en el que ni la completa aceptación de los hechos consumados ni el rechazo radical de todo lo que haya de venir son opciones asumibles. La primera por imprudente, la segunda por poco realista.

La discusión, en efecto, ya ha comenzado. Los hechos mismos se atropellan en los últimos años y la hacen acuciante. En abril de 2015, un grupo de investigadores chinos anunció que habían utilizado la técnica CRISPR para editar el genoma de un cigoto humano triponeuclear (con dos núcleos procedentes de dos espermatozoides, además del núcleo procedente del óvulo). Era la primera vez que se aplicaba a la edición genética de embriones humanos. En agosto de 2017, un equipo de científicos, entre ellos algunos españoles, liderados por Shoukhrat Mitalipov, de la Oregon Health and Science University, publicó un artículo en el que se mostraba cómo habían conseguido reparar en embriones humanos un alelo causante de una cardiopatía relativamente común^[4]. Al día siguiente ya aparecían varios artículos en la prensa diaria que se situaban entre los dos extremos habituales en el debate: los que daban la bienvenida entusiasmados a una nueva especie poshumana, surgida gracias a la biotecnología, y los que reclamaban la prohibición de cualquier manipulación genética en la línea germinal humana por miedo a las terribles consecuencias que podría acarrear su realización. Sin embargo, estos son justamente los términos en los que, en mi opinión, no debería plantearse la discusión. Por desgracia, no es infrecuente en esta discusión el recurso a posiciones maximalistas y moralizantes, más emocionales que racionales, que desatienden los matices y son poco sensibles a la argumentación y a los datos¹

La noticia, sin embargo, que disparó todas las alarmas y que convenció a casi todos de que la discusión ética y filosófica sobre la edición genética en seres humanos debía tomarse en serio se produjo en noviembre de 2018. Un científico hasta entonces completamente desconocido de la South University of Science and Technology of China, He Jiankui, afirmaba en un vídeo colgado en Youtube — no en una publicación científica — que él y su equipo habían logrado llevar a buen término un embarazo de dos niñas

¹Por eso, quizás un primer paso deseable para introducir claridad y rigor en este contexto podría consistir en marginar las palabras o expresiones grandilocuentes, como «jugar a ser Dios» (¿qué significa eso exactamente?), «retorno de las prácticas eugenésicas», «violación de la naturaleza humana», etc., que tienden a polarizar el debate y a despertar sentimientos enconados, pero no aportan claridad al análisis.

mellizas que habían sido genéticamente modificadas para hacerlas inmunes al virus del sida, enfermedad que padece el padre. Por razones perfectamente comprensibles, puesto que con este trabajo se saltaba varias barreras éticas ampliamente asumidas en la comunidad científica, ninguna revista especializada lo ha publicado por el momento. La universidad en la que se realizó la investigación rápidamente se desvinculó de ella, aduciendo que se había realizado sin los correspondientes permisos y controles éticos y He Jiankui desapareció de la circulación, dejando noticias confusas sobre una posible reclusión en la propia universidad. La condena de este trabajo por parte de los especialistas fue casi unánime. Aunque, si bien muchos mostraron su sorpresa e indignación por la precipitación que este trabajo implicaba, dado el estado actual de los conocimientos, y la inmoral desconsideración que manifestaba acerca del futuro de las niñas genéticamente manipuladas, fue evidente también en los comentarios publicados que no pocos daban por sentado que llegaría el día en que ese tipo de manipulaciones genéticas se harían con la seguridad y legitimidad suficientes, y que, por lo tanto, habría en el futuro seres humanos editados genéticamente con el fin de introducir mejoras en sus cualidades fenotípicas. Como señalaba Benjamin Hurlbut en la revista *Nature*, resumiendo bien esta idea, lo problemático para muchos científicos no era lo que He Jiankui había hecho, sino cómo lo había hecho^[6].

Como en todo desarrollo tecnológico suficientemente sofisticado, es imposible predecir todas las consecuencias, positivas y negativas, que tendrán en el futuro las técnicas de edición genética aplicadas al ser humano. Una de las consecuencias positivas que sí son previsibles está en la mente de todos: con ellas podremos eliminar del genoma de nuestra especie diversos alelos que dan lugar a enfermedades genéticas graves. Las terapias génicas están empezando a dar resultados apreciables, aunque su coste sea aún desorbitado para el ciudadano medio, pero es muy probable que estos costes bajen y que su efectividad y su uso sean cada vez mayores. Estas terapias, al no afectar a la línea germinal, no despiertan recelos éticos mientras sean correctamente aplicadas. Con toda seguridad habrá otros muchos efectos beneficiosos. Las posibles consecuencias negativas, sin embargo, son más difíciles de determinar, porque para aceptarlas como riesgos verosímiles habría que asumir en muchos casos unas capacidades de transformación por parte de estas tecnologías que, por ahora, son solo meras expectativas de las que no tenemos garantías suficientes de realización.

No obstante, algo podemos decir ya al respecto.

En la actualidad, se están poniendo a punto modelos estadísticos basados en análisis masivos previos de información genética y estado de salud de centenares de miles de personas que podrían predecir con un alto grado de probabilidad, a partir del genoma de un embrión, la estatura, el color de la piel, la posibilidad de padecer diabetes o esquizofrenia, o el grado de inteligencia que tendrá el individuo adulto, por citar solo algunos rasgos. Y a nadie se le escapa que estas diferencias probabilísticas podrían determinar en un futuro no muy lejano la distancia entre nacer o permanecer en un congelador como una agrupación de células antes de ser finalmente destruido^[11].

La posibilidad de curar enfermedades causadas por mutaciones genéticas puntuales o que afecten a un solo alelo (y hay más de 10000 enfermedades o desordenes monogenéticos), corrigiendo el alelo mutante en las células somáticas del individuo que la padece, está siendo puesta en práctica en diversos lugares del mundo. A medida que su éxito se afiance, será inevitable plantearse si no podría intervenir también en la línea celular germinal, de modo que los descendientes de los individuos afectados no hereden la mutación causante de la enfermedad. Esto implicaría levantar la prohibición que ahora existe en muchos países, incluidos los de la Unión Europea, de tocar dicha línea germinal. Ahora bien, una vez levantada esa prohibición y mejorada la eficiencia y seguridad de las técnicas de edición genética, existiría la inevitable tentación de aplicarlas no solo a la curación de enfermedades, sino también a la elección de cualidades que mejoraran los rasgos de nuestros descendientes. Y cuando comience el biomejoramiento humano, ¿quién se resistirá? y ¿dónde estarán los límites?

Existe un temor bastante generalizado a que se abra así la puerta a la creación de bebés de diseño, poseedores de los rasgos que sus padres hayan querido seleccionar expresamente para ellos (aunque, en realidad, esta posibilidad está ya en cierto modo en nuestras manos — de una forma muy limitada y siempre con fines terapéuticos — en el caso del Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP)). Algunos temen la apertura de un supermercado genético y la puesta en marcha de una «eugenesia liberal» que proporcionarán una libertad mucho más amplia a los padres para que decidan sobre los rasgos fenotípicos de su descendencia, de modo que no solo puedan evitar la aparición de defectos físicos o de enfermedades, sino también potenciar las características de esos descendientes, e incluso introducir otras nuevas. Sus defensores consideran que a esta eugenesia liberal no podrían endosársele las mismas críticas que se han formulado numerosas veces en la literatura bioética

contra la eugenesia tradicional. La diferencia decisiva — según ellos — estaría en que en esta última la elección de rasgos venía dictada por ideales raciales impuestos por los gobiernos, ya fueran dictatoriales (como bajo el nazismo) o democráticos (como en EE. UU. o en algunos países del norte de Europa), cosa que no ocurriría con la eugenesia liberal. Con la eugenesia liberal, los padres elegirían según sus intereses y deseos, sin estar sujetos a presiones o imposiciones gubernamentales, o pudiendo esquivarlas al menos. Esta eugenesia estaría basada, por tanto, en la libre elección de los individuos y no en las decisiones de quienes detentan el poder acerca de quién merece o no nacer. Los rasgos predominantes serían el resultado de la combinación de muchas decisiones libres individuales, lo que podría fomentar la diversidad fenotípica y genotípica, en el caso ideal de que esta libertad fuera real y no estuviera sometida a presiones sociales. Para los críticos, no está claro, sin embargo, que la eugenesia liberal pueda evitar algunos de los problemas morales de los que adolecía la vieja eugenesia, puesto que sigue implicando decisiones delicadas acerca de quién debe nacer y quién no, y esas decisiones no suelen ser inocuas en sus efectos políticos y sociales. Ciertas transformaciones, como la posesión de una inteligencia muy superior a la normal, afectarían a la vida de otros individuos, por lo que parece lógico que la sociedad tenga algo que decir al respecto. Por no mencionar el hecho de que estas técnicas podrían ser también utilizadas por gobiernos totalitarios para imponer sus ideales raciales, como intentaron en el pasado^[2].

Con todo, no es aventurado pensar que muchas personas, entre aquellas que pudieran permitirse el coste económico de todo el proceso, estarían dispuestas a potenciar en sus hijos determinados rasgos que les proporcionarían mayor bienestar y ventaja comparativa, como la inteligencia, la altura, la resistencia a ciertas enfermedades, el metabolismo, la fortaleza física o la fortaleza mental. Cabe la posibilidad de que algunos de estos rasgos, que dependen de muchos genes, no puedan ser controlados por completo, pero los modelos estadísticos que mencionábamos antes pueden señalar con alta probabilidad los genes que habría que modificar para conseguir de forma significativa esa potenciación. En este sentido, no sería necesario que se diera un determinismo genético fuerte para considerar que la edición genética de estos rasgos pueda alcanzar un grado de efectividad muy notable. Una empresa ya comercializa por Internet, por menos de doscientos euros, una prueba genética para hacer en casa que permite predecir con bastante acierto qué estatura tendrán los hijos de una pareja^[11].

En la medida en que esta posibilidad se abriera, estaríamos ante la creación de una casta genéticamente mejorada basada en su previa ventaja económica. Es decir, una desigualdad social podría verse transformada en una desigualdad biológica, y de este modo quedaría perpetuada y peligrosamente agravada. Si, por el contrario, debido al abaratamiento de costes o a medidas redistributivas, fueran muchas las parejas que pudieran acceder a la aplicación de estas tecnologías, estaríamos modificando de forma significativa el acervo genético de la humanidad, y por tanto, tomando decisiones quizás irreversibles y poco atinadas acerca de la evolución de nuestra especie. Esta posibilidad extrema ha sido saludada con alegría por los partidarios de un movimiento filosófico y cultural conocido como «transhumanismo». Los transhumanistas anhelan el mejoramiento humano a través de la tecnología, y creen que, cuando todo esta tecnología esté disponible, debería permitirse su uso irrestricto.

Para evitar estos escenarios distópicos, los más precavidos suelen aducir que, mientras que el uso terapéutico de las técnicas de edición genética sería en principio legítimo, no lo sería en cambio su uso meliorativo, es decir, su uso potenciador. No obstante, cabe preguntarse si resulta muy realista e incluso éticamente justificable la pretensión de una prohibición total de cualquier tipo de mejora. Algunas mejoras serían aparentemente deseables y poco problemáticas, como las que procuraran un alivio a las dolencias de la vejez, y no se ve ninguna razón clara por la que debieran prohibirse si no tuvieran efectos secundarios perjudiciales. Y, por otro lado, la distinción entre lo terapéutico y lo meliorativo es más borrosa de lo que se cree habitualmente y no establece una barrera moral absoluta^[3,9].

En mi opinión, no debería asustarnos la realización de ciertos cambios, incluso de cambios significativos, en las características de nuestra especie, lo cual implica la modificación genética en la línea germinal. El ser humano, como ya señaló Ortega, ha sido siempre un ser técnico. Lleva mucho tiempo, desde su origen mismo como especie, construyéndose a sí mismo mediante la tecnología. El problema no está en querer procurarnos cambios que mejoren nuestra condición, sino en saber elegirlos bien y en hacerlos de forma segura, si es que eso es posible alguna vez. Es decir, el problema está en los fines que deseamos alcanzar con ellos y en la fiabilidad de los medios. Como también enseñó Ortega, el mayor desafío que presenta la moderna tecnología reside en la ofuscación que induce en lo concerniente a la elección de los fines: con la hipertrofia de la técnica el ser humano ya no sabe bien qué desear. Una de

las promesas que más se repiten en relación con el biomejoramiento humano es la del alargamiento indefinido la vida, hasta el punto de que podamos alguna vez considerarnos como potencialmente inmortales, exceptuando los casos en que se den accidentes o el individuo decida suicidarse. Quizás muy pocas personas rechazarían la posibilidad de alargar algo su vida, incluso de extenderla en un plazo muy largo, pero elegir la «inmortalidad» no parece que sea algo que deba hacerse a la ligera. Exigiría una previa reconsideración del sentido de esa decisión y una detenida reflexión acerca de en qué consiste tener una vida buena. Porque cabe la posibilidad de que acabemos teniendo una vida interminable pero indigna de ser vivida.

Finalmente, no puede ni debe obviarse la consideración de los daños moralmente censurables que puedan producirse en la aplicación de estas tecnologías. Estos daños pueden afectar a individuos concretos — como podría suceder si unos padres buscaran explícitamente unos rasgos objetivamente perjudiciales para alguno de sus hijos —, pero pueden tener también un carácter social — como los que resultarían de una preferencia colectiva por un fenotipo racialmente definido, en detrimento de otros fenotipos más habituales en razas tradicionalmente marginadas, que podrían incluso desaparecer a largo plazo, o los que resultarían de un alargamiento generalizado de la duración de la vida, lo que impediría el nacimiento de nuevos seres humanos.

El genetista y filósofo de la Universidad de Valencia Andrés Moya ha distinguido en algunas de sus publicaciones entre la ciencia fáustica y la ciencia prometeica^[10]. La primera busca avanzar a toda costa, obtener productos, resultados, sin preocuparse por los fundamentos ni por los problemas colaterales que se suscitan en la práctica. Desde esta perspectiva, lo que importa es transformar la naturaleza según nuestros deseos, pues como Goethe le hace decir a Fausto, revirtiendo el comienzo del evangelio de San Juan, «en el principio era la acción», y la acción se justifica a sí misma por su éxito práctico. La segunda se detiene en los fundamentos, en los «porqués» y los «para qué», y busca la comprensión antes de la acción. El desarrollo de las técnicas de edición genética y su previsible aplicación en seres humanos hará que la ciencia prometeica sea más necesaria que nunca y quizás sirva de contrapeso al empeño de algunos en promover la ciencia fáustica. Pero esa ciencia prometeica no será posible sin una gestión pública democrática adecuada de la propia investigación científica, como vienen reclamando algunos filósofos de la ciencia desde hace tiempo (véase, por ejemplo,^[7] y^[8]). Mejor de lo que yo lo pueda expresar lo ha escrito ya Benjamin Hurlbut en el artículo de Nature

arriba mencionado, y no me resisto a terminar éste con sus palabras:

El futuro debe trazarse sobre diversas tradiciones de pensamiento — en el derecho, la teoría política, las humanidades, las artes y la religión —, así como sobre la riqueza de la experiencia humana. Sin embargo, algunos líderes científicos están buscando desvincularse [de la sociedad] y autorregularse, invocando de nuevo como precedente la Conferencia de Asilomar en 1975 sobre el ADN recombinante. Esto no es buena historia ni es buena gobernanza. En Asilomar, los científicos resolvieron un asunto de interés público sin participación pública. Como señaló el senador de los Estados Unidos Edward Kennedy: «Están haciendo política pública. Y la están haciendo en privado». Esto permitió proseguir a la investigación, pero al precio de la confianza pública.

Hurlbut, 2019.

Referencias

- [1] Church, G. y E. Regis 2012. Regenesi: How Synthetic Biology Will Reinvent Nature and Ourselves. *Philadelphia: Basic Books*.
- [2] Diéguez, A. 2017. Transhumanismo. La búsqueda tecnológica del mejoramiento humano. *Barcelona: Herder*.
- [3] Harris, J. 2007. Enhancing Evolution. The Ethical Case for Making Better People, chap 3. *Princeton: Princeton University Press*.
- [4] Hong, M. et al. 2017. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature* 548: 413–419, doi:10.1038/nature23305
- [5] Hoshika S, et al. 2019. Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. *Science*. 363 (6429): 884–887. doi:10.1126/science.aat0971
- [6] Hurlbut, B. 2019. Human genome editing: Ask whether, not how. *Nature* 565: 135. doi: 10.1038/d41586-018-07881-1
- [7] Kitcher, Ph. 2001. Science, Truth and Democracy. *Oxford: Oxford University Press*.
- [8] Kitcher, Ph. 2011. Science in a Democratic Society. *Nueva York: Prometheus Books*.
- [9] Lin, P. 2009. Therapy and Enhancement: Is There a Moral Difference?. *Gen, Genetic Engineering & Biotechnology News*, July 01, Vol. 29, N.º. 13, www.genengnews.com
- [10] Moya, A. 2011. Naturaleza y futuro del hombre, *Madrid: Síntesis*.
- [11] Regalado, A. 2017. Eugenics 2.0: We're at the Dawn of Choosing Embryos by Health, Height, and More. *MIT Technology Review*. www.technologyreview.com
- [12] Zhang, Y. et al. 2017. A semisynthetic organism engineered for the stable expansion of the genetic alphabet. *PNAS* 114(6): 1317–1322, doi: 10.1073/pnas.1616443114
- [13] Zhang, Y. et al. 2017. A semi-synthetic organism that stores and retrieves increased genetic information. *Nature* 551, 644–647, doi:10.1038/nature24659

CRISPR y coronavirus

Dr. Lluís Montoliu.

Artículo publicado en el blog NAUKAS el 3 de abril de 2020



¿Que pueden aportar las herramientas de edición genética CRISPR en la investigación para detectar y derrotar al coronavirus SARS-CoV-2 causante de la COVID-19? Fotografía: Lluís Montoliu

Los que me hayáis escuchado alguna vez impartiendo una **charla sobre CRISPR**, o hayáis leído mi libro «**Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR**» (NextDoor Publishers, 2019) ya sabréis que una de las frases que más repito yo es: «**la imaginación es el límite de las aplicaciones CRISPR**». Por eso no nos debería sorprender que el universo CRISPR también tenga algo que decir en la crisis actual sanitaria mundial causada por el **coronavirus SARS-CoV-2, causante de la COVID-19**. En este artículo explicaré los dos grandes grupos de aplicaciones CRISPR para **DIAGNOSTICAR** y para **COMBATIR** el coronavirus.

Diagnóstico del coronavirus mediante CRISPR

La primera «aplicación» CRISPR para el **nuevo coronavirus** vino de la mano del **laboratorio de Feng Zhang** (BROAD-MIT, Boston, MS, USA), el inventor de la técnica de diagnóstico mediante CRISPR llamada **SHERLOCK** (nombre con evidente gancho y doble sentido, que es un acrónimo de las palabras en inglés *Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing*), y que su laboratorio describió en 2017. El diagnóstico mediante CRISPR y la técnica SHERLOCK está ilustrado en la figura que encabeza este artículo. Esencialmente el protocolo se basa en una nueva proteína efectora Cas, que ya no es Cas9 sino que es **Cas13a**, de otra bacteria. La

Cas13a tiene la capacidad de cortar ARN (y no ADN, como Cas9), y de activarse gracias a una pequeña guía de ARN específica que sea complementaria al ARN que se quiere cortar y degradar. El **grupo de Feng Zhang encontró** que al activarse *in vitro* (en el laboratorio) esta RNasa (nucleasa que degrada el ARN) esta parecía volverse loca y acababa cortando y degradando no solamente el ARN complementario diana sino todos los ARN que hubiera en el ensayo¹. Este hallazgo, que hubiera sido interpretado como un gran fiasco por la mayoría de investigadores, despertó la perspicacia y el talento de Feng Zhang, y acabó convirtiendo un resultado negativo inesperado en **una nueva aplicación para diagnosticar la presencia de moléculas de ADN (y ARN) presentes en ínfimas cantidades en una muestra**².

La idea magistral que se oculta tras **SHERLOCK** es la adición de **unas pequeñas moléculas de ARN** (de color morado en la ilustración de cabecera) que tienen en uno de sus extremos una molécula fluorescente (F) y en el otro extremo una molécula inhibidora de esa fluorescencia (N). Cuando las dos moléculas F y N están juntas no se emite fluorescencia. Tras activarse el corte del ARN diana por parte de la proteína Cas13a, gracias a una guía específica de ARN, complementaria al ARN a detectar, la Cas13a no solo corta ese ARN sino todos los presentes en la mezcla, incluyendo las pequeñas moléculas de ARN de color morado. Estas, al partirse, liberarán las moléculas F y N por separado y,

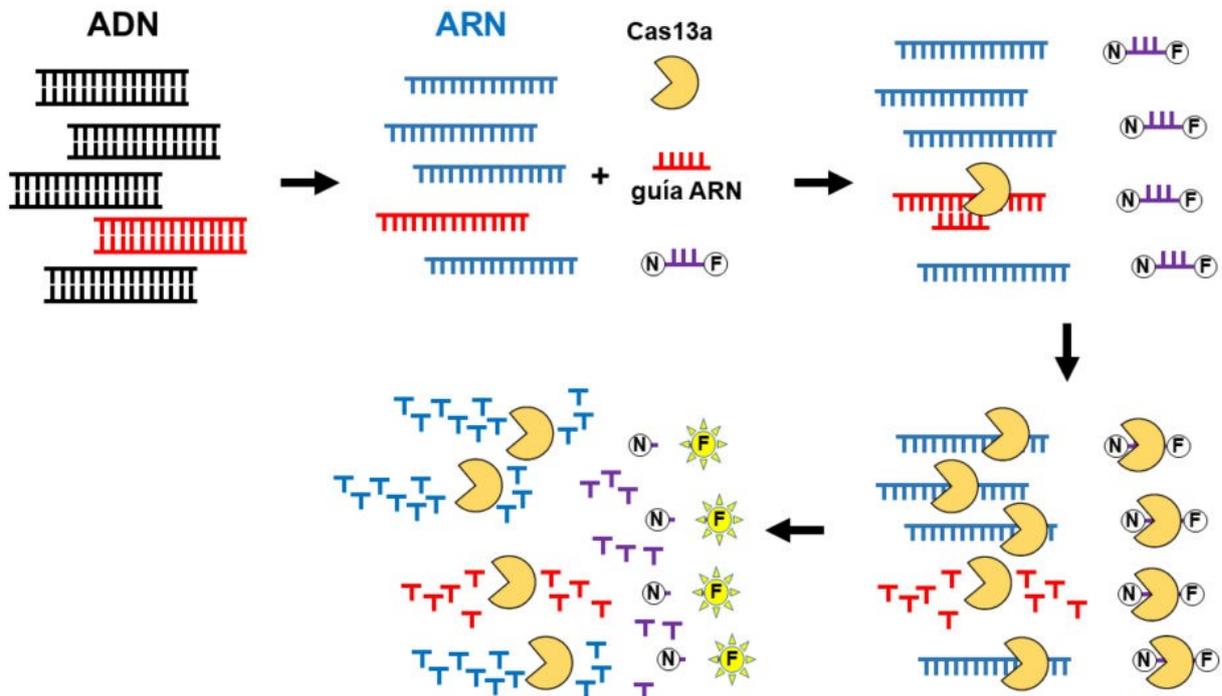
¹J.S. Gootenberg y otros. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, 356(6336):438-442, 2017. doi: 10.1126/science.aam9321

²M. J. Kellner y otros. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nature protocols*, 14, 2986–3012, 2019.

entonces, la molécula F podrá brillar y mostrar su fluorescencia, siendo posible detectar este brillo de luz mediante detectores lumínicos específicos. Dado que la fluorescencia no aparece hasta que se inicie la degradación de los ARN y, dado que esta degradación no se inicia si no es en presencia del ARN complementario a la guía ARN específica, el sistema SHERLOCK representa un método muy específico y sensible (se estima su sensibilidad en el orden de attomolar, esto es detecta una molécula de ARN que esté diluida hasta una concentración de 10^{-18} molar) para detectar un ADN (que debe ser convertido primero a ARN mediante una transcripción *in vitro* o un ARN (que no necesita ese primer paso y puede aplicarse directamente).

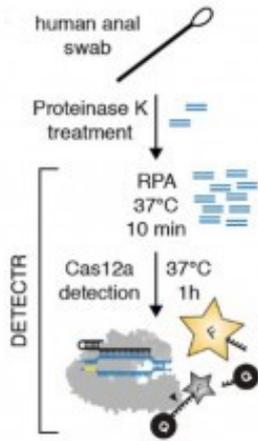
Efectivamente, a principios de este año, y tras conocerse la secuencia del genoma ARN del coronavirus SARS-CoV-2, causante de la COVID-19, el laboratorio de Feng Zhang hizo público un protocolo de detección del coronavirus mediante SHER-

LOCK y compartió el protocolo y los detalles técnicos para llevarlo a cabo en una publicación abierta a todo el mundo. El protocolo es relativamente sencillo (si se tienen todos los reactivos, fácilmente obtenibles desde Addgene y otros proveedores) y puede completarse en apenas 1 hora. La sensibilidad del método permite detectar hasta 10-100 moléculas del genoma del coronavirus por microlitro (20-200 aM) Como ellos mismos indican en su protocolo de detección, este no está todavía homologado ni autorizado para aplicarlo en el diagnóstico clínico del coronavirus (algo que tendrá que aprobar eventualmente la FDA, tras realizar las revisiones y análisis correspondientes), pero si puede usarse de forma experimental, en los laboratorios. La empresa creada por Zhang «Sherlock Biosciences» está desarrollando el kit de detección y esperando poder aplicar esta tecnología para realizar diagnósticos masivos del coronavirus SARS-CoV-2 mediante SHERLOCK.



Esquema que ilustra el protocolo de diagnóstico de ADN mediante CRISPR-Cas13a, diseñado por el equipo de Feng Zhang (BROAD-MIT, EE UU) y denominado SHERLOCK. El mismo protocolo puede aplicarse para detectar ARN (p.e. el genoma del coronavirus SARS-CoV-2) simplemente saltándose el primer paso. Esquema realizado por Lluís Montoliu. Esta figura aparece ilustrando uno de los capítulos del libro «Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR», Lluís Montoliu, NextDoor Publishers 2019.

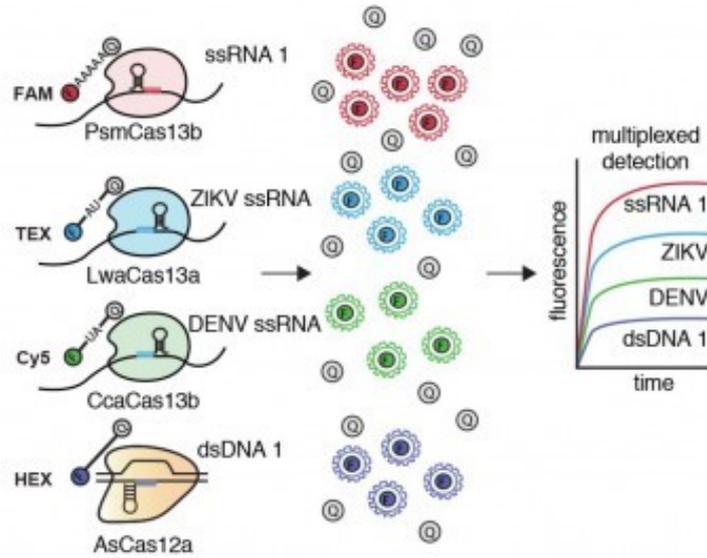
Doudna Lab



J. S. Chen et al., Science
10.1126/science.aar6245 (2018)

DETECTR

Zhang Lab



J. S. Gootenberg et al., Science
10.1126/science.aaq0179 (2018)

SHERLOCKv2

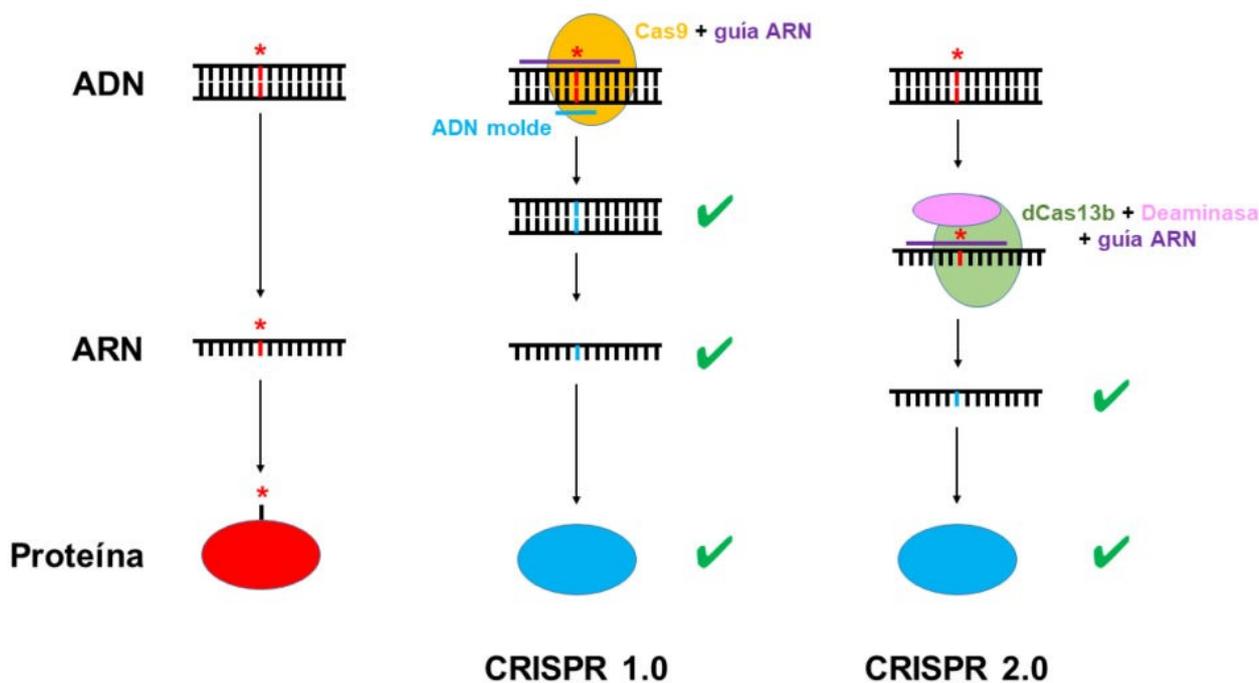
Tras el sistema SHERLOCK aparecieron dos métodos mejorados de diagnóstico genético mediante CRISPR, desarrollados por los laboratorios de Feng Zhang (SHERLOCKv2) y Jennifer Doudna (DETECTR), como [expliqué en una entrada previa de este blog](#).

A principios de 2018, el laboratorio de Jennifer Doudna (UC Berkeley, CA, USA), una de las pioneras de la revolución CRISPR y sus aplicaciones en edición genética, desarrolló un test de diagnóstico genético CRISPR análogo a SHERLOCK pero basado en otra proteína Cas con propiedades similares a Cas13a. En este caso se trataba de la proteína **Cas12a** y al método resultante lo bautizaron como **DETECTR** (nombre también con doble sentido y cuidadosamente elegido, que es un acrónimo de las palabras en inglés *DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter*). En paralelo, el laboratorio de Feng Zhang respondió combinando hasta cuatro proteínas Cas con actividades RNAsa (Cas13b de dos bacterias distintas, Cas13a y Cas12a) para detectar hasta cuatro moléculas de ADN (o ARN) distintas, en un desarrollo tecnológico que llamó naturalmente como **SHERLOCKv2**. En una [entrada anterior de este blog](#) comparé y expliqué en detalle los dos sistemas de diagnóstico basados en CRISPR: DETECTR y SHERLOCK.

Naturalmente el sistema DETECTR también puede aplicarse para detectar el coronavirus SARS-CoV-2. Han aparecido publicaciones que usan la proteína Cas12a para

diagnosticar la presencia del coronavirus de forma rápida, sencilla y asequible. Alguno de estos métodos que usan la proteína Cas12a es capaz de [detectar el virus HIV, causante del SIDA, y el coronavirus SARS-CoV-2, simultáneamente](#). La empresa fundada por Jennifer Doudna, **Mammoth Biosciences**, de igual forma que Sherlock Biosciences, también está desarrollando sistemas de detección del coronavirus basados en la tecnología DETECTR, que anuncian que pueden ser todavía más rápidos (20 minutos), simples y programables.

De cualquier manera, estos métodos innovadores de diagnóstico de la presencia del genoma ARN del coronavirus mediante SHERLOCK o DETECTR representan la punta de lanza biotecnológica de los diagnósticos genéticos basados en CRISPR, y seguramente serán la [respuesta que necesitamos para poder detectar este virus de forma masiva, rápida y sencilla](#). Por el momento, en un [listado en el que aparecen la mayoría de test de diagnóstico de SARS-CoV-2 comerciales o en desarrollo](#) solo se menciona un [kit de diagnóstico, en desarrollo, basado en la tecnología CRISPR](#).



Normalmente las herramientas CRISPR de edición genética son capaces de editar ADN. Esta es su aplicación más común y se la conoce con el nombre de aplicaciones **CRISPR 1.0**. Sin embargo algunas variantes de las herramientas CRISPR pueden también editar ARN, y son conocidas como las aplicaciones CRISPR 2.0. La figura representa un ejemplo de cada tipo. Esquema realizado por Lluís Montoliu. Esta figura aparece ilustrando uno de los capítulos del libro «Editando genes: recorta, pega y colorea. Las maravillosas herramientas CRISPR», Lluís Montoliu, NextDoor Publishers 2019.

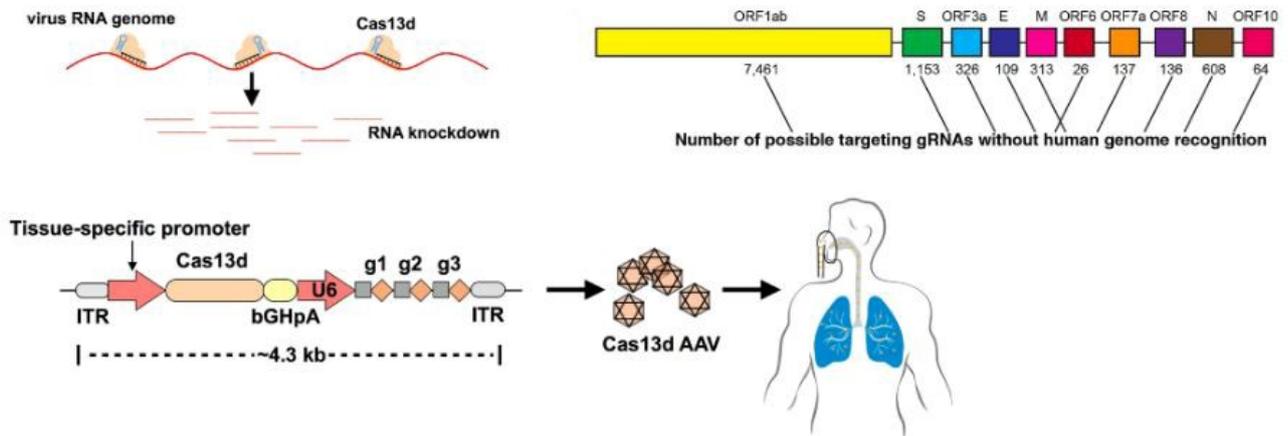
Combatir al coronavirus mediante CRISPR

Generalmente todos tenemos en mente que las herramientas CRISPR son capaces de editar cualquier secuencia de ADN. Y esto es cierto. Las variantes más comúnmente utilizadas (CRISPR-Cas9) cortan y promueven la edición de ADN. Son las llamadas herramientas **CRISPR 1.0**. Adicionalmente, como he explicado en el apartado anterior, existen diversas proteínas Cas con capacidad de cortar ARN de forma específica. Algunas de ellas, como la Cas13b, han sido modificadas en el laboratorio, eliminando su capacidad de corte y combinándolas con actividades desaminasas que son capaces de cambiar directamente, químicamente, algún ribonucleótido específico (alguna letra concreta del ARN, la A por la G, o la C por la U), permitiendo la edición directa del ARN, lo que se ha venido a llamar las herramientas de edición CRISPR 2.0, como están ilustradas en la figura anterior. Estas herramientas (de las que existen diversas modalidades ya disponibles) podrían usarse, por ejemplo, para alterar la secuencia del genoma ARN del coronavirus SARS-CoV-2 mutando aquellos genes que le confieren la virulencia y, por ello, convirtiéndose en herramientas CRISPR para combatir la infección del coronavirus.

Sin embargo, una forma todavía más efectiva de com-

batir al coronavirus SARS-CoV-2 mediante CRISPR es precisamente usando la capacidad que tienen algunas de estas proteínas Cas13 para cortar, degradar y destruir moléculas de ARN específicas. En particular usando la proteína Cas13d, con actividad RNAsa específica, guiada por una pequeña molécula de RNA.

En febrero de este año apareció publicado en la revista *Cell Research* un artículo, lanzado desde la Facultad de Medicina de Harvard, en EE.UU., que postulaba un diseño terapéutico basado en Cas13d para combatir el coronavirus mediante CRISPR. Los autores de la propuesta habían localizado múltiples dianas para usar como complementarias a las guías ARN de la proteína Cas13d en el genoma del coronavirus SARS-CoV-2. Su propuesta incluía introducir dentro de partículas virales AAV (virus adeno-asociados, muy utilizados en terapia génica) el gen que codifica la proteína Cas13d y un bloque de expresión de tres guías de ARN que usaría la Cas13d para cortar el genoma del coronavirus. El AAV recombinante resultante podría administrarse por vía aérea, para que llegará fácilmente a los pulmones, entrara en las células cargadas de coronavirus y los destruyera. En teoría. **Ahora falta demostrar en la práctica toda esta propuesta, de momento lanzada como una propuesta interesante, innovadora, pero teórica, todavía en desarrollo.**



Uso de la proteína CRISPR-Cas13d incluida dentro de AAV, junto a guías de ARN específicas, para combatir el genoma ARN del coronavirus SARS-CoV-2 rompiendo la molécula de ARN del virus en diferentes partes y promoviendo con ello su degradación. Figura modificada de la publicación [Nguyen et al. Cell Research \(2020\)](#).

Otro estudio, [este sí ya completado experimentalmente](#), desarrollado en la costa oeste de EE.UU., en la Universidad de Stanford, acaba de ser [depositado en el servidor de pre-prints bioRxiv](#), el pasado 14 de marzo de 2020, y en él los investigadores también [usan la estrategia de Cas13d para combatir a diferentes virus RNA](#). En este trabajo los autores prepararon una línea de células humanas epiteliales de pulmón a las que previamente transformaron con una construcción génica para que produjeran constantemente proteína Cas13d y un marcador fluorescente. Posteriormente estas células las transfectaban con nuevas construcciones capaces de producir las guías RNA que necesita la proteína Cas13d para cortar el ARN en posiciones específicas y exponían las células o bien a construcciones que simulan la infección con el coronavirus SARS-CoV-2 o a virus de la gripe (IAV), que también tiene moléculas de ARN en su genoma. En ambos casos tuvieron éxito, **consiguiendo una degradación de las secuencias del ARN del SARS-CoV-2 y una inhibición en la replicación del virus de la gripe**. Los autores bautizaron su método con el no menos ingenioso nombre de **PAC-MAN** (acrónimo de las palabras en inglés *Prophylactic Antiviral CRISPR in huMAN cells*). Los autores realizaron un análisis comparativo de los genomas de todos los coronavirus humanos conocidos y llegaron a encontrar seis moléculas de ARN que pueden actuar

como guía para la proteína Cas13d, capaces de aparearse con secuencias comunes a todos los coronavirus conocidos que nos infectan a los seres humanos, lo cual, de poder verificarse, representaría **una arma antiviral profiláctica y terapéutica extraordinariamente vesátil y poderosa, basada en herramientas CRISPR**. Aunque sabemos poco de las nuevas versiones CRISPR, de estas proteínas Cas13d, ya **sabemos que pueden funcionar también bien in vivo, en animales**. [Miguel Ángel Moreno Mateos](#), investigador Ramón y Cajal de la [Universidad Pablo de Olavide](#), en el [Centro Andaluz de Biología del Desarrollo \(CABD\)](#) en Sevilla, ha demostrado, [en un estudio reciente](#), depositado en bioRxiv el 14 de enero de 2020, que este sistema CRISPR-Cas13d funciona para reducir la expresión de genes específicos en embriones de pez cebra, de pez medaka, de pez killi y de ratón. Unos datos muy interesantes que permiten albergar esperanzas para su futuro uso en animales adultos y, eventualmente, si todos los análisis previos fueran exitosos, en personas. Las herramientas CRISPR no dejan de sorprendernos. Han aparecido en los laboratorios, [apenas hace siete años](#), y han venido para quedarse. Y la imaginación desbordante y sin límites de los investigadores hace el resto. **¡Larga vida a las CRISPR! ¡Mucho éxito diagnosticando y combatiendo a los coronavirus!**

MODIFICANDO LA LÍNEA GERMINAL HUMANA: UN ESTUDIO DE LA NORMATIVA ESPAÑOLA APLICABLE

por IÑIGO DE MIGUEL BERIAIN

GI CÁTEDRA DE DERECHO Y GENOMA HUMANO, UPV/EHU

INIGO.DEMIGUEL@EHU.EUS

Palabras clave: Línea Germinal, Genética Humana, Normativa Española

Keywords: Germinal Line, Human Genetics, Spanish Normative

Introducción

La cuestión de la regulación jurídica de la edición genética en España es, cuando menos, espinosa, por cuanto abarca, en general, normas elaboradas en un contexto histórico muy diferente al actual, un contexto en el que las terapias génicas se consideraban aún sumamente peligrosas. De ahí que la regulación de la época fuera muy estricta, primando la seguridad sobre el posible (aunque poco probable) beneficio que su uso pudiera reportar. A ello hay que añadir que la técnica legislativa utilizada no fue depurada, por cuanto contenía cláusulas arcanas, de difícil comprensión y dúctil interpretación, lo que no ayudaba demasiado a obtener la preciada seguridad jurídica.

Por desgracia, este marco no ha experimentado cambios sustanciales hasta ahora a pesar de que el estado de la ciencia ciertamente sí lo ha hecho. Como consecuencia, no nos queda sino hablar de un cierto desfase entre las necesidades de la investigación biológica y las respuestas jurídicas que, esperamos, se solucionará en cualquier momento. Entrando ahora a exponer las claves del sistema, conviene subrayar que hay tres grandes documentos normativos que se ocupan de regular esta materia: el Convenio de Oviedo, la Ley 14/2007, de investigación biomédica y el mismo Código Penal. En las siguientes páginas nos dedicaremos a exponer qué es lo que cabe exactamente (y lo que no cabe) deducir de su articulado.

El Convenio de Oviedo

La norma de referencia en el campo de la investigación biomédica es tanto en el derecho internacional como en el derecho interno de los países que lo han ratificado, el Convenio para la protección de los Derechos Humanos y la Dignidad del Ser Humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina, habitualmente denominado Convenio de Oviedo, que fue elaborado en el marco del Consejo de Europa, aprobado el 4 de abril de 1997 y ratificado por España en 1999. Dicho documento se ocupa de la edición genética en su artículo 13, titulado “Intervenciones sobre el genoma humano” que, textualmente, dice: “Únicamente podrá efectuarse una intervención que tenga por objeto modificar el genoma humano por razones preventivas, diagnósticas o terapéuticas y sólo cuando no tenga por finalidad la introducción de una modificación en el genoma de la descendencia”¹.

A primera vista, la redacción del texto deja poco espacio para la duda, como algunos expertos han sostenido^[1]: parece que los autores del texto quisieron vetar cualquier forma de edición genética que modificara la línea germinal humana sin venir respaldada por razones preventivas, diagnósticas o terapéuticas. Sin embargo, una lectura más atenta de los términos involucrados permite alcanzar conclusiones diferentes en función de la interpretación que quepa otorgar a cada uno de ellos. Así, por ejemplo, es notoriamente complejo dilucidar qué significa alterar el genoma humano. ¿Lo modifica una intervención que cambia la expresión patológica de un gen por otra que no lo es? Sin duda, un acto de este tipo varía el genoma del sujeto afectado, tal vez incluso el de sus descendientes, pero ¿también atañe al genoma humano como tal? Si tenemos presente que no se introduce novedad alguna en el reservorio génico de nuestra especie, resulta complejo sostener esta conclusión, con lo que tal vez deberíamos aceptar su contraria^[3].



D. Íñigo de Miguel Beriain

¿Y qué decir de una intervención que no cura una patología, que tal vez ni siquiera afecta a algo que se considere una patología, pero que sin duda tiene un efecto en la salud, entendida como bienestar global de un individuo? Pensemos en la combinación genética que causa una

¹<https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/164>

¹<https://www.xatakaciencia.com/genetica/el-alcohol-activa-un-gen-agresivo-en-los-finlandeses>

peculiar agresividad a algunos finlandeses (especialmente cuando ingieren alcohol¹). Una modificación que alterase esos genes, ¿estaría prohibida por el Convenio? ¿O cabría considerarla incluida en el capítulo de lo terapéutico o preventivo? De nuevo, nos asaltan las dudas.

Piénsese, por fin, que el Convenio apela a un concepto tan complejo como el de la finalidad de una intervención a la hora de determinar qué conductas estarán prohibidas. Pero, ¿qué ha de entenderse por finalidad exactamente? Esto es muy complicado, porque, como es de sobra conocido, en medicina hay fines que se persiguen y fines que se aceptan como efectos secundarios necesarios para obtener una mejora en la salud del paciente. Si realizamos una edición genética encaminada a curar una patología que, no obstante, causará un cambio en la línea germinal, ¿estaremos violentando esta cláusula? Esto es muy difícil de determinar a primera vista, ya que todo dependerá de lo que se considere que comprende el término “finalidad”.

Podríamos seguir enumerando dudas y proponiendo acertijos, pero creemos que lo ya expresado es suficiente para mostrar la extrema ambigüedad de la cláusula analizada^[4], ambigüedad que no fue tanto accidental como deliberadamente buscada, si uno se lee las actas de las reuniones de los grupos de trabajo que la redactaron. El problema, por supuesto, está en que esa nebulosidad jurídica podía tener un sentido en los años noventa, pero supone ahora un grave obstáculo para el avance de la ciencia que conviene solucionar. Y, como veremos, el resto de nuestra normativa nacional no contribuye demasiado a satisfacer adecuadamente esta necesidad.

La Ley 14/2007, de investigación biomédica

La Ley 14/2007 de investigación biomédica constituye el marco legal básico de la regulación de la investigación biomédica de carácter básico y clínico en nuestro país, con la excepción en este último caso de los ensayos clínicos con medicamentos y productos sanitarios, que se regirán por su normativa específica. Por tanto, sus disposiciones acerca de la modificación de la línea germinal humana resultan particularmente relevantes.

El núcleo fundamental de su abordaje de esta materia se encuentra en el artículo 74. 2 C), que califica como infracciones muy graves: “a) *La realización de cualquier intervención dirigida a la introducción de una modificación en el genoma de la descendencia*”. A su vez, el artículo 75, que explicita las sanciones administrativas aplicables a esas infracciones establece que éstas oscilarán entre los 10.001 euros y los 1.000.000 de euros, cuantía que se graduará teniendo en cuenta “*el riesgo generado, la repercusión social de la infracción, el beneficio que haya reportado al infractor la conducta sancionada y la previa comisión de una o más infracciones contra esta Ley*”.

Como cabrá observar, el texto de esta norma recoge, en cierta medida, lo ya expuesto por el Convenio de Oviedo. Sin embargo, las restricciones impuestas a la modificación del genoma de la descendencia son de hecho mucho más estrictas, por cuanto se refieren a todas las modificaciones, sin salvedad alguna, por contraposición a las excepciones admitidas por el Convenio, que permitía, como hemos mos-

trado ya, este tipo de conductas cuando se realizaban por razones preventivas, diagnósticas o terapéuticas. Queda, no obstante, la duda de si el legislador quiso efectivamente o no vetar toda modificación de la línea germinal de un ser humano, por cuanto la expresión “dirigida a” parece incluir un elemento de voluntad que, como hemos expresado antes, no resulta tan fácil de valorar. En todo caso, es necesario resaltar que la realización de cualquier práctica que supusiera una modificación del genoma de un ser humano requeriría en todo caso, además del consentimiento del sujeto, probablemente un pronunciamiento favorable de un Comité de Ética de la Investigación o un Comité de Ética Asistencial, dependiendo del tipo de práctica que se quisiera acometer.

El Código Penal

En lo que respecta, por fin, al Código Penal español, que es, a fin de cuentas, la norma que más impacto puede llegar a tener en la modulación de las conductas, hay que mencionar necesariamente su Artículo 159, que indica textualmente lo siguiente:

1. *Serán castigados con la pena de prisión de dos a seis años e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de siete a diez años los que, con finalidad distinta a la eliminación o disminución de taras o enfermedades graves, manipulen genes humanos de manera que se altere el genotipo.*

2. *Si la alteración del genotipo fuere realizada por imprudencia grave, la pena será de multa de seis a quince meses e inhabilitación especial para empleo o cargo público, profesión u oficio de uno a tres años.*

Podemos colegir, por tanto, que cualquier alteración en la línea germinal humana realizada de forma dolosa o imprudente será merecedora de sanción, que puede llegar al internamiento en prisión en su modalidad dolosa, siempre que el objetivo de la intervención no fuera la eliminación o disminución de taras o enfermedades graves^[5,6,7]. De nuevo, la severidad del precepto resulta superior a la del Convenio de Oviedo, por cuanto para excluir la antijuricidad de la conducta se habla exclusivamente de taras o enfermedades graves. Por tanto, parecerían a primera vista punibles las intervenciones que pudieran ir encaminadas a modificar los genes para eliminar o disminuir taras o enfermedades leves o para fines diagnósticos o de índole preventiva. A buen seguro, la considerable extensión de las conductas incluidas en el tipo resulta cuando menos criticable, pero no nos queda otra, de momento, que certificar que, efectivamente, un investigador que traspase estos exiguos límites podría exponerse a sanciones más que considerables.

Algunas consideraciones finales

Teniendo presente todo lo expuesto, no nos queda sino concluir que, efectivamente, es necesaria una reforma normativa urgente, que aporte mayor claridad a la situación jurídica. Y, si hemos de opinar al respecto, permítasenos

señalar que lo ideal sería que sea una reforma que dote de más amplias opciones a nuestros investigadores^[8]. Y ello tanto por un motivo de respecto a la libertad de investigación, como por la obligación moral de contribuir al bienestar de la humanidad en la medida de lo posible. Pero también, desde luego, por consideraciones de prevención de riesgos: porque una tecnología tan barata y fácil de utilizar no se podrá controlar fácilmente, por lo que lo adecuado sería estimular un desarrollo científico capaz de limitar sus efectos negativos. Pero esto sólo se puede hacer con una normativa más proclive a los intereses de la investigación.

Referencias

- [1] Bellver, V. La revolución de la edición genética mediante CRISPR-Cas9 y los desafíos éticos y regulatorios que comporta *Cuadernos de Bioética*, 27(90):1132-1989, 2016.
 - [2] Morar, N. An Empirically Informed Critique of Habermas' Argument from Human Nature. *Science and Engineering Ethics*, 2014.
 - [3] Morar, N. An Empirically Informed Critique of Habermas' Argument from Human Nature. *Science and Engineering Ethics*, 2014.
 - [4] Isasi R, Kleiderman E, Knoppers B M. Editing policy to fit the genome? *Science*, 351(6271), 337-339 (2016).
 - [5] Barreiro J. Los delitos relativos a la manipulación genética en sentido estricto», en Carlos María Romeo Casabona. *Genética y Derecho Penal. Previsiones en el Código Penal Español de 1995*, 2001.
 - [6] Casabona R. Los llamados delitos relativos a la manipulación genética: ¿Derecho penal simbólico? *Genética y Derecho*, 2001.
 - [7] Malanda R. Intervenciones genéticas sobre el ser humano y Derecho penal. Consideraciones político-criminales y consecuencias dogmáticas. *Cátedra Interuniversitaria de Derecho y Genoma Humano-Comares*, 2006.
 - [8] Isasi, R., Knoppers, B.M. Oversight of human inheritable genome modification. *Nature Biotechnology*, 33, 454-455. 2015.
-

CRISPR EN PRIMERA PERSONA

por FRANCISCO R. VILLATORO

PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE LENGUAJES Y CIENCIAS DE LA COMPUTACIÓN – UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

VILLA@LCC.UMA.ES

Reseña de Lluís Montoliu, «Editando genes: recorta, pega y colorea», Next Door Publishers (2019)

La ciencia está repleta de buenas historias. Relatos que resultan más convincentes y se disfrutan más si están escritos en primera persona. La ciencia es paciencia, perseverancia y humildad. Por ello, los grandes científicos no suelen salir de su torre de marfil para escribir su propia autobiografía, o la historia de su logro más relevante. Las editoriales suelen asignar esta tarea a comunicadores científicos profesionales, que presentan el libro en coautoría, aunque la portada suele destacar el nombre del científico. Pero hay excepciones, investigadores en activo que aceptan el reto y se embarcan en esta descomunal tarea.

Un buen ejemplo es Lluís Montoliu, investigador del Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid, que nos cuenta la historia del sistema de edición genética CRISPR-Cas9 en su libro «Editando genes», Next Door Publishers (2019). Al hilo de su propio trabajo, desde 2014 usa esta técnica en albinismo y enfermedades raras, nos relata la biografía de Francis Mojica, de la Universidad de Alicante, descubridor en 1993 del sistema inmune CRISPR-Cas9 en procariontes. Firme candidato español al Premio Nobel, Montoliu le conoció por pura serendipia y se erigió en su adalid, defendiendo a capa y espada su rol en la herramienta genética que ha revolucionado la biología molecular en el último lustro.

Montoliu no es un escritor profesional, pero su pluma derrocha pasión y sabiduría. Así nos hace olvidar pequeños defectos formales, como que a veces repite demasiado ciertos conceptos básicos y el rol de Mojica. Como el libro está dirigido a legos, quizás su intención es la misma que la de los maestros de la vieja usanza, machacar lo más relevante. Pero que nadie se lleva a engaños, el libro se lee muy bien y se disfruta desde el principio. Casi se podría decir que es adictivo para todo buen aficionado a la divulgación. Además, está decorado con ilustraciones del propio autor, a las que solo les falta un poco de color en la edición impresa.

El libro tiene 434 páginas en 17 capítulos tras el prefacio del autor, que glosa la serendipia en ciencia, y el prólogo escrito por Mojica. El capítulo 1 se inicia con los avatares de la tesis doctoral de Mojica sobre *Haloferox* y unas curiosas secuencias repetidas, bautizadas por él como CRISPR en 2002, aunque en un artículo científico sin su firma. Su momento *Eureka* fue descubrir en 2003

que se trataba de un nuevo sistema inmune bacteriano; pero publicarlo fue todo un calvario. De hecho, los experimentos que lo confirmaron fueron realizados por otros, como se relata en el capítulo 2. Así llegamos a 2012 y el artículo en *Science* liderado por Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier que propuso la edición genética CRISPR-Cas9.

El capítulo 3 nos relata el primer encuentro entre Montoliu y Francis, glosando el capítulo 4 a los científicos menos conocidos, pero más relevantes, del mundo CRISPR. Tras la «guerra abierta por la patente CRISPR», nos adentramos en el estado actual de todas las técnicas de edición genética en el capítulo 5; se destaca lo que aún no conocemos y controlamos. La palabra más llamativa del título del libro, «colorea», se refiere a las técnicas de edición de bases que usan la proteína Cas9 inactivada; Montoliu aprovecha los capítulos 6, 7 y 8 para relatar su trabajo en ratones avatar de humanos con albinismo y enfermedades congénitas raras usando dichas técnicas. Múltiples aplicaciones biotecnológicas se presentan en los capítulos 9, 10, 11 y 12.

En ciencia, ¿se debe hacer todo lo que se puede hacer? El debate ético y moral asociado a la edición genética se describe en los capítulos 13 y 14. El libro se acabó de escribir en noviembre de 2018, pero incluye una discusión detallada de la edición genética de dos gemelas chinas realizada por He Jiankui, que se anunció dicho mes. Los tres últimos capítulos repasan lo último de la investigación en herramientas CRISPR, como las técnicas SHERLOCK, DETECTR, REPAIR y el uso del genoma como un disco duro para grabar información.

Tras una extensa bibliografía, que por desgracia no se cita en el texto de forma sistemática, finaliza un libro que nos recuerda que hay que seguir realizando investigación básica y seguir explorando los sistemas CRISPR en bacterias. Seguro que el futuro nos reserva muchas sorpresas que acabarán conduciendo a nuevas revoluciones en la edición genética en el próximo lustro. Por ello recomiendo este libro tanto a legos como a expertos, en especial, a estudiantes y profesores de universidad. Tras su lectura, uno se queda con ganas de seguir profundizando en la edición genética CRISPR-Cas9; para ello recomiendo la web CRISPR de Montoliu en tinyurl.com.



Lluís Montoliu (Barcelona 1963) se define como biotecnólogo y genetista. Por formación es biólogo (Universidad de Barcelona 1986), premio extraordinario de licenciatura y doctor en biología (Universidad de Barcelona 1990). Durante su tesis doctoral, realizada en genética molecular de plantas en el laboratorio del Prof. Pere Puigdomènech, del Centro de Investigación y Desarrollo del CSIC, en Barcelona, describió genes con expresión preferente en las raíces del maíz cuyas secuencias reguladoras se usaron para generar las primeras plantas transgénicas del país. Tras finalizar su tesis se trasladó al Centro Alemán de Investigación sobre el Cáncer (DKFZ), en Heidelberg, al laboratorio dirigido por el Prof. Günther Schütz, donde aprendió a trabajar con modelos animales, ratones modificados genéticamente y desarrolló técnicas pioneras como el uso de cromosomas artificiales en transgénesis animal. Cinco años más tarde, en 1995, regresó a España para incorporarse al laboratorio de la Prof. Fátima Bosch, en la Universidad Autónoma de Barcelona, donde contribuyó a generar diversos modelos animales para el estudio de la diabetes. En 1996 obtuvo una plaza de científico titular del CSIC, en el Centro Nacional de Biotecnología, en Madrid, incorporándose a principios de 1997 y donde sigue en la actualidad, dirigiendo su laboratorio. Actualmente es investigador científico del CSIC, investigador del Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), del ISCIII, y profesor honorario de la Universidad Autónoma de Madrid, como coordinador de una asignatura del máster de la UAM sobre modificación genética en mamíferos desde 1998. En su laboratorio investiga en temas básicos (cómo se organizan los genes en el genoma para funcionar correctamente) y aplicados (modelos animales para el estudio de enfermedades raras humanas, como el albinismo). Durante su carrera profesional ha trabajado con organismos modificados genéticamente desde 1986, y con animales modificados genéticamente desde 1990. En 2006 fundó la Sociedad Internacional de Tecnologías Transgénicas (ISTT) de la que fue su Presidente hasta 2014. Su laboratorio fue pionero y promotor en la introducción de las herramientas CRISPR en nuestro país, publicando los primeros ratones editados genéticamente mediante CRISPR en España a principios de 2015. Además de la investigación le interesan y apasionan los temas de bioética, la formación y la divulgación científica.

Editando genes: recorta, pega y colorea

Las maravillosas herramientas CRISPR

Lluís Montoliu

Prólogo de Francisco J. Martínez Mojica



Colección El Café Cajal

NEXT—
DOOR...
PUBLISHERS



La ciencia básica es bella y la aplicada es útil

Entrevista a Francis Mojica (FM), Lluís Montoliu (LM) e Íñigo de Miguel Beriain (IMB)
Realizada por Marta Cazorla Calvente, Sara Fontalva Ostio y Enrique Viguera Mínguez

Como investigador, ¿cómo se siente al comprobar que sus descubrimientos han revolucionado el mundo de la investigación científica?

FM: Pues es difícil de asimilar. La alegría es inmensa. Últimamente, desde hace 3 o 4 años, se habla de CRISPR unas 15 veces al día si simplemente miras en PubMed, por lo que ya te puedes imaginar lo que ello significa para mí. No es inesperado que se obtengan aplicaciones y se saquen frutos de la investigación, lo que es inesperado es que haya ocurrido de esta forma tan explosiva y que haya ocurrido a pesar de que hace más de 20 años que se empezó a trabajar en esto. Se puede decir que, en realidad, no ha sido tanto tiempo: 25 años en investigación no es tanto. Pero, cuando se define tan claramente el inicio de una investigación con un fruto 25 años después del tamaño de esta área CRISPR, es irrefutable decir que es inmenso.

¿Cómo siguió investigando sobre el tema cuando nadie la daba importancia?

FM: Hay que ser sincero: no encontré nada más interesante. Estuve buscando, lo digo totalmente en serio. Cuando volví del postdoc, estuve intentando montar un grupo de investigación y quería tener claro que fuera algo que mereciera la pena meterse en ello y no encontré nada más interesante que esto. Estoy hablando del año 1997.

¿En algún momento pensó en dejarlo?

FM: Mil veces (se ríe), pero eso le pasa a cualquiera que hace investigación. Cada vez que te sale mal un experimento y eso ocurre, como bien sabéis, con muchísima frecuencia...

LM: Lo que tiene Francis y lo que tienen los buenos científicos como él es persistencia porque las cosas no se resuelven fácilmente ni en un año ni en dos. Puede ser que tardes un buen número de años en darte cuenta hasta que se den las condiciones para que puedas dar un salto cualitativo de conocimiento que te sirve para resolver tus preguntas y quizá para iluminar a otros que hasta entonces no se habían fijado en tu trabajo y que ahora se fijan y además lo leen de una manera distinta. Esto último fue exactamente lo que pasó con Francis, que otros leyeron su trabajo de una forma distinta y se dieron cuenta de que esto podía servir como edición genética.

Los sistemas CRISPR-cas son un ejemplo remarkable de la enorme recompensa de la investigación básica, ¿cree que está infravalorada este tipo de investigación?

FM: Depende de quién lo valore. Evidentemente, los que trabajamos en investigación básica creemos en ella y tenemos muy claro que, a pesar de que se pueden obtener muchas aplicaciones de la investigación básica y eso hace que se deriven muchos fondos a esta investigación e incluso grupos se pasan a esta investigación, es la mejor fuente de aplicaciones y utilidades. Lo más útil que se puede hacer es investigación básica. Está infravalorada, sobre todo, desde el punto de vista de la financiación. La investigación básica está maltratada y cuesta mucho convencer a los que tienen que decidir que merece la pena invertir en ella.

LM: La investigación básica es la que nos va a sacar de cualquier problema en el cual estemos atascados. Muchas veces las soluciones vienen desde ángulos o desde lugares insospechados. ¿Quién le iba a decir Francis que estaba investigando en unas arqueas que viven en las Salinas de Santa Pola que gracias a su trabajo estaríamos hablando aquí de corregir embriones humanos?

FM: Yo esto ni lo pensaba ni era mi intención. Nunca me lo hubiera planteado.

LM: La belleza del conocimiento es que alguien, leyendo los trabajos de Francis y de otros, se da cuenta de que tiene la posibilidad de aplicarse en otro sentido. Eso es lo bonito.

LM: La ciencia básica es bella, es bonita; la aplicada es útil.



¿Cómo ve que deba, ya sea modificarse o mantenerse, el control europeo respecto al determinismo y la autonomía de la tecnociencia?

LM: Yo lo que creo es que, por supuesto, la ciencia siempre está por delante de las normas legislativas, pero necesitamos unas normas; lo que pasa que estas normas deben ser propuestas por un conjunto de expertos, tanto los técnicos como los legislativos, y tienen que ser adaptadas por la sociedad, validadas por el parlamento correspondiente, etc. Siempre vamos detrás, lo que quiero decir es que la ciencia nos va a aportar soluciones, nuevas maneras de acercarnos a curar enfermedades, desarrollar

objetivos que ni los podríamos imaginar... Y lo que tenemos que hacer es adaptar la norma. Yo soy de los convencidos de que una de las cosas que nos falta ahora en el campo de la edición genética es que todavía no tenemos un marco de acción. Deberíamos saber de todas las cosas que se pueden hacer, qué es lo que deberíamos hacer o deberíamos poder hacer, y qué es lo que no deberíamos hacer.

Actualmente aún existe personas que desconfían sobre las vacunas o el uso de alimentos transgénicos, ¿considera que la población está o estará lo suficientemente concienciada con respecto al tema de la modificación genética?

LM: Has tocado dos temas que a mí me preocupan mucho y que yo estoy encantado de rebatirlo. Esto, más que echarle las culpas a nadie, al primero que hay que echarle las culpas es a nosotros mismos, al colectivo investigador. Hay que salir a la sociedad y hay que contar en palabras llanas lo que creemos que es de beneficio; no hay que generar falsas expectativas, pero sí explicarlo bien, tanto si son vacunas como si son alimentos transgénicos, y hay que contrarrestar la agenda y los programas de hoy de otros grupos que son contrarios a todos estos procesos que tienen otros intereses y que, si nosotros no los contrarrestamos, es la única fuente de información que tiene la sociedad. Esto acaba en que gran parte de la gente, si no tiene acceso a una fuente adicional de información, cree que aquello es verdad cuando no lo es. Evidentemente que nos tenemos que vacunar, evidentemente que son seguros los alimentos modificados genéticamente, pero no hay que tener problema en decirlo y hay que explicar y salir a la palestra, y decirlo tantas veces como sea necesario. Si tú no sabes, alguien va a hablar por ti; si tú no hablas, alguien va a hablar por ti. Estoy convencido de que esta es una de las cosas que hay que aprender.

IMB: Si tú no entras en un debate, cedes el terreno al adversario. El silencio es lo ideal para el opaco. ¿Sabes cuántos debates celebró en su vida Adolf Hitler? Cero, ninguno. Nunca debatió con nadie por una razón muy simple: él sabía o debía sospechar que en un debate intelectual razonable cara a cara era muy fácil ridiculizar muchas cosas de las que decía. En muchos de estos casos, lo que ocurre es que hay gente que predica.

LM: Cuando me vienen del partido animalista, he estado en debate con gente del PACMA, en las que digo que tenemos muchas más cosas en común de las que creen que nos separan. Si a mí me vienen a buscar para estar en contra del Toro de la Vega, ahí estoy con ellos, pero que no me metan en el mismo saco aquellos animales que utilizamos como modelo de enfermedad. Y, en particular, que no me digan que para resolver el problema del cáncer no tenemos que curar a ratones, sino que tenemos que curar a personas y, por lo tanto, tenemos que investigar a personas. Esto es un mensaje muy sencillo que la gente aparentemente lo entiende y dice que es verdad, pero en ese caso yo siempre les digo: estupendo, vamos a empezar con tus hijos y es posible que lo que se nos ocurra no vaya a funcionar a la primera. Hoy en día, siguen siendo necesarios los animales para estudiar las enfermedades, tanto para estudiarlas como para desarrollar terapias.

Cuando dejen de ser necesarios, seremos los primeros en decirlo, pero no estamos ahí todavía.

Existiendo hoy en día métodos como el diagnóstico genético preimplantacional, ¿piensan que la edición genética en embriones humanos es la aplicación futura de las herramientas CRISPR?

LM: Aquí tengo una posición muy clara y es que no. En estos momentos, creo que hay que posicionarse y argumentar. Creo que no tenemos que invertir recursos ni desarrollar aplicaciones para editar el genoma humano y para editar embriones. Primero porque no tenemos todavía la certeza de que las ediciones que vayamos a hacer sean todo lo correctas que nosotros quisiéramos. Hay un nivel de incertidumbre que todavía no controlamos o que no sabemos cómo gestionar en humanos, por lo que creo que no es prudente. Pero es que, además, creo que tenemos millones de pacientes de las miles de enfermedades raras de base genética, muchas de ellas incurables, que tienen una esperanza cierta; y esto no son falsas expectativas, yo creo que lo que tengo que hacer es invertir todo mi tiempo, todos mis recursos en desarrollar algún tipo de terapia que pueda aliviar y, en el mejor de los casos, curar alguno de estos pacientes. Si esto lo podemos hacer con edición genética, es ahí donde tenemos que investigar. O sea, antes de ir a curar a la persona que todavía no ha nacido, vamos curar a las personas con estas enfermedades.

IMB: Yo estoy de acuerdo con él. A corto plazo, es ridículo meterse en edición genética en embriones, es mucho más fácil el diagnóstico genético preimplantacional, además se der lo mejor que tenemos ahora mismo. Solo hay muy pocas familias que no pueden beneficiarse de este diagnóstico. Con todo, a medio plazo, desde mi punto de vista, es obvio que edición genética como mecanismo conceptual es superior al diagnóstico genético preimplantacional.

LM: El diagnóstico genético preimplantacional separa el mutante del que no lo es. En cambio, la edición es una intervención directa.

IMB: Con la edición, yo soluciono el problema, no es que descarto. Además, hay un problema que es ideológico: hay gente que el diagnóstico genético preimplantacional no lo acepta por motivos ideológicos porque supone un descarte de embriones.

LM: Los que trabajamos con embriones de mamífero, yo trabajo con embriones de ratones, sabemos que del 100% de embriones que modificamos solo hay un 7-10% de ratones que se modifican de acuerdo a lo que queríamos, lo cual es un porcentaje extraordinario. El 90% de los otros tienen alteraciones que no queríamos y que no podemos controlar. Toda la precisión de las herramientas que descubrió Francis Mojica resulta que los mecanismos de reparación que actúan a continuación no son tan precisos todavía; y es ahí donde tenemos que incidir.

IMB: En realidad, es como casi todo: es una cuestión de seguridad, de cuándo compensa el riesgo-beneficio introducirlo ahí.

LM: Probablemente, habrá excepciones, caso a caso y paso a paso. Sigue siendo todavía bastante arriesgado e imprudente utilizar estas herramientas in vivo, es decir, inyectar estas herramientas de edición en sangre. El día

13 de noviembre de este año un paciente en Oaklan (California) fue inyectado con unas herramientas de edición, en este caso no fueron CRISPR, pero da lo mismo, eran nucleasas con dedos de zinc (*ZFN*). Asumió el riesgo, estaba autorizado, cosa que no se podría haber hecho hoy en día en Europa, pero se ha hecho en Estados Unidos. Con lo cual, vivimos en un mundo global, en un mundo complejo, lo que prohibamos aquí se va a desarrollar en otros sitios.

IMB: En diciembre de 2014, los chinos dijeron que esto no lo iban a parar, y que los demás hicieran lo que quisieran.

LM: Y, en abril de 2015, el primer equipo chino utilizó embriones descartados de procedimientos de fertilización *in vitro* para hacer investigaciones de edición genética y se encontraron cosas parecidas a las que encontrábamos en ratones. Encontraban las modificaciones que querían, pero

también muchas otras modificaciones que no tenían, con lo cual constataron que los embriones humanos no eran tan distintos del resto de embriones de los mamíferos.

¿Qué consejos les darían a los alumnos que se van a graduar dentro de poco? ¿Les recomendarían la carrera científica?

LM: Sí, pero tiene que apasionar. Esto es un trabajo pasional. Sin pasión, no puedes hacer este trabajo. También les diría que hay un montón de cosas por hacer, apenas conocemos herramientas de unas pocas bacterias. Hay centenares de miles o millones de bacterias, cada una de ellas con herramientas CRISPR por descubrir y quizá algunas mucho mejores. Deberían dedicarse a estudiar los mecanismos de reparación, que son los que generan los problemas.

Jóvenes científicos

Hola, soy Ana Isabel Cotilla Martín, este año ya acabo el Grado de Biología. Estoy muy satisfecha de haber elegido estudiar este grado para formarme como bióloga. Esta rama de la ciencia está formada por muchas disciplinas interconectadas que son fascinantes. Para ser biólogo es muy importante entender que al especializarte en una disciplina no sólo vas a enfocarte en esas disciplinas sino que vas a necesitar conocer de otras, además debes ser curioso y preguntarte el porqué de las cosas. En mi caso yo soy alumna interna del departamento de Microbiología, y actualmente estoy realizando una investigación que tiene que ver con la parte más molecular de esta área. Por esta razón, cuando se me dio la oportunidad de entrevistar a Carmen Pizarro Martín, acepté sin pensarlo dos veces ya que ella está especializada en una nueva técnica molecular de edición de genomas CRISPR/Cas9 y para poder evolucionar como bióloga es necesario conocer todo tipo de técnicas.



ANA ISABEL COTILLA MARTÍN

Carmen Martín Pizarro. Investigadora en el Área de Biología molecular y Bioquímica de la UMA está investigando junto a su grupo sobre los factores de transcripción involucrados en la maduración de las fresas, a la vez que tratan de identificar genes que estén implicados en caracteres de calidad como el aroma de esta fruta tan popular y de tanta importancia en Andalucía. Carmen es licenciada en Biología por la Universidad de Málaga en el año 2003 y Máster 2005. Ha participado en varias publicaciones como «Functional analysis of the TM6 MADS-box gene in the octoploid strawberry by CRISPR/Cas9-directed mutagenesis» Enero 2019, Carmen Martín-Pizarro, Juan Carlos Triviño, David Posé. En este artículo se describe por primera la aplicación de la tecnología de edición génica CRISPR/Cas9 a la fresa cultivada.

Ana Isabel Cotilla Martín (AICM): Buenos días Carmen, gracias por atenderme. Para comenzar nos podrías contar un poco sobre tu grupo de investigación.

Carmen Martín Pizarro (CMP): Buenos días, no hay de qué. Estoy trabajando en el grupo del Dr. David Posé, el cual obtuvo en 2015 un proyecto de la European Research Council. En el grupo trabajamos con fresas, tanto la especie cultivada (*Fragaria x ananassa*), la cual es una especie octoploide, como la especie silvestre (*Fragaria vesca*), diploide, y la cual es la especie modelo de la fresa cultivada. Se trata de un proyecto muy ambicioso en el cual, uno de los principales objetivos es identificar factores de transcripción implicados en la maduración del fruto de la fresa. El grupo está formado por 4 personas y cada uno es responsable de una parte diferente del proyecto, y con respecto a este objetivo general, cada uno está a cargo de una serie de estos factores de transcripción. Para el estudio de los mismos hemos generado plantas transgénicas en los cuales estos genes están silenciados como sobreexpresados, para así determinar y estudiar el efecto que tiene esto sobre diferentes aspectos de la maduración.

AICM: Para realizar estas construcciones usáis la técnica de CRISPR/Cas9. ¿Cómo habéis abordado este reto?

CMP: Uno de los objetivos de este proyecto era aplicar la

técnica de edición génica CRISPR/Cas9 en un organismo genéticamente tan complejo como es la fresa octoploide, ya que hasta la fecha no se había nada descrito en plantas tan complejas genéticamente y con ese grado de poliploidía. Hasta ahora, todos los estudios funcionales en fresa se habían hecho silenciando el gen de interés mediante el uso de construcciones de ARN interferente, pero a veces esta estrategia no es lo suficientemente eficiente, de manera que el gen puede no estar muy silenciado. Por ello, la posible aplicación de CRISPR permitiría tener fresas que sean mutantes (knock-outs) estables. Aunque hace poco se publicó un trabajo en el cual se aplicaba CRISPR en la especie silvestre (diploide), nosotros teníamos desde el principio el objetivo de comprobar la eficiencia de este sistema en la especie octoploide. Es un proceso complejo, ya que la transformación genética en fresa, aunque no es especialmente complicada, es lenta, ya que te puede llevar 6-8 meses hasta conseguir líneas transgénicas estables, tener un número de líneas importante, comprobarlas, y llevarlas a invernadero. Otro problema añadido es que la variedad con la que trabajamos (Camarosa) florece solo una vez al año, por lo que la disponibilidad de frutos es bastante limitada. Pero a pesar de esto, se aprende mucho al afrontar este reto y al solventar los problemas que van surgiendo.



La doctora Carmen Martín Pizarro en el laboratorio de Biología Molecular y Bioquímica de la UMA donde desarrolla su labor investigadora.

AICM: Por lo que has hablado de la técnica de CRISPR, vosotros pretendíais poner a punto esta técnica en la fresa, pero ¿cómo lo habéis realizado?

CMP: Muchos estudios que hacen CRISPR por primera vez en plantas seleccionan como gen diana la Fitoeno desaturasa (*PDS*), la cual cuando se muta da un fenotipo albino. Es una elección muy buena para ver si funciona la edición o no de una manera rápida. Pero nosotros quisimos ir un poco más allá y seleccionar un gen del cual no se conociese su función en fresa, en concreto un factor de transcripción candidato a estar involucrado en el desarrollo de pétalos y estambres de la flor de fresa (*TM6*). Este gen nos pareció un buen candidato porque en caso de tener edición podíamos ver un fenotipo muy claro en flores. Para ello diseñamos dos RNAs guías (sgRNAs) frente a *TM6* para intentar aumentar la eficiencia del sistema. Además, el uso de dos sgRNAs puede generar una deleción grande, lo cual favorece la obtención de knock-outs. Una vez generadas las construcciones, la comprobamos realizando transformaciones transitorias de frutos en la especie diploide. A pesar de que la eficiencia de esta estrategia no es muy buena, comprobamos que había edición y que la nucleasa Cas9 cortaba en ambas guías. Comprobada la funcionalidad del sistema, pasamos a hacer directamente la transformación estable en la especie comercial octoploide. Fue bastante difícil analizar las secuencias de los alelos mutados, ya que al hecho de que se trata de un octoploide hay que añadirle que se generan quimeras por lo que el número de variantes alélicas que se genera es alto. No obstante, pudimos identificar todas las mutaciones. Además, lo más importante es que nuestros resultados mostraron que, a pesar de la complejidad genética de esta especie, es perfectamente aplicable, con una gran eficiencia, de manera que puede ser usado como estrategia en estudios funcionales de genes.

Además, nos permitió estudiar el papel de *TM6*, el cual confirmamos que es clave para un desarrollo correcto de pétalos, estambres y polen.

AICM: Y dentro de este gran proyecto de investigación, ¿en qué te has especializado?

CMP: Yo me he centrado en optimizar esta técnica para que pueda usarse para el estudio de cualquier gen de interés. Aparte también estoy estudiando varios factores de transcripción que están implicados en maduración. En concreto, hemos identificado uno, que llamamos *RIF* (*Ripening Inducing Factor*), el cual es clave para la maduración. Líneas silenciadas muestran un retraso general de la maduración, mostrando un menor contenido de antocianinas (responsable del color rojo de la fresa), y mayor dureza del fruto, sin cambios extremadamente relevantes en cuanto a contenido de azúcares. Hemos estudiado que genes están alterados en estas plantas y qué procesos biológicos. Es un proyecto también muy bonito donde hemos encontrado un gen clave, el cual podría tener mucha importancia biotecnológica porque permitiría ampliar la vida de la fresa una vez recolectada.

AICM: Con respecto al trabajo usando CRISPR. Puesto que esta técnica se basa en la edición génica, ¿habéis tenido algún problema a nivel de bioética?

CMP: No existe ningún problema ético en el uso de CRISPR para investigación, que es lo que hemos hecho nosotros. Ni siquiera tenemos problemas relacionados con la patente, ya que el producto (las fresas que generamos) no serán comercializadas. El uso de CRISPR puede ayudar a mejorar muchos cultivos. Ahora mismo hay un montón de bibliografía donde se observa que la técnica de CRISPR va avanzando a pasos agigantados. Hay mejoras en tamaño de frutos, mayor producción, mayor número de flores, en resistencia a patógenos... Además, permite eliminar por segregación el transgen en aquellos organismos que se puedan reproducir sexualmente, algo que en la fresa cultivada es más complicado ya que las variedades se multiplican de manera vegetativa. En cualquier caso, en Europa, el uso de esta herramienta se ha legislado de manera que los organismos editados genéticamente se consideran organismos modificados genéticamente, por lo que están sujetos a la misma restricción que los organismos transgénicos.

AICM: El director de tu investigación es David Posé, ¿cómo es trabajar con él y como se desenvuelve en el laboratorio?

CMP: Él ya no trabaja en el laboratorio como tal, aunque trata de buscar huecos para hacer alguna cosa. Su trabajo es fundamentalmente de gestión y de supervisión científica del grupo. Es un jefe muy flexible y una persona muy tranquila. Se preocupa mucho porque las cosas vayan bien y ante cualquier duda, él siempre te da una solución. En el grupo hay muy buen ambiente y todos nos ayudamos en lo que podemos, son unos compañeros fenomenales. Me siento muy afortunada de formar parte de su grupo.

AICM: Muchísimas gracias por concederme esta entrevista Carmen, pero antes de irnos ¿algún consejo para nuestros futuros investigadores?

CMP: Lo primero es saber cuál es la rama que te gusta y que más te llama la atención. La investigación es dura pero a mí me resulta muy gratificante. Es verdad que hay periodos duros pero ya depende de lo que cada uno quiera. La investigación te permite conocer a mucha gente, viajar, y trabajar en algo que, si te gusta y tienes vocación, no te parece realmente un trabajo. Yo disfruto mucho aunque a veces aparezcan problemas, pero eso ocurre en

todos los trabajos. Al final el balance es muy positivo. Si verdaderamente te gusta, a por ello. Alumnos que se empiezan en departamentos y hacen TFG o TFM tienen una oportunidad para tener un primer contacto con la investigación y ver si realmente les gusta.

AICM: Muchas gracias por tu simpatía y por contagiarme con tus ganas de investigar y disfrutar de tu trabajo, eres una gran profesional. Espero que os vaya todo muy bien a vuestro equipo de investigación y que obtengáis frutos de vuestra investigación lo más pronto posible. Muchas suerte en tu actual y futuros proyectos.

Escribir bien no cuesta trabajo

Cómo debemos traducir CRISPR en español

El significado de CRISPR

En un artículo de *Science* de 2012, el equipo de las científicas Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier convirtió un mecanismo de defensa bacteriano, descrito por el ilicitano Mojica y sus colaboradores en 2005, en un revolucionario procedimiento biotecnológico que ya les ha hecho merecer el premio Princesa de Asturias de 2015¹. Podemos informarnos sobre dicha técnica, de manera más accesible, en muchos otros sitios: en la Wikipedia², en la Agencia SINC³, en los artículos del divulgador Lluís Montoliu⁴, o incluso en la revista *Investigación y Ciencia*⁵. De manera resumida, como habrá quedado claro tras la lectura de este número especial de *Encuentros en la Biología*, se trata de aprovechar la ingeniería genética para reescribir a voluntad el código de un gen. Hoy se encuentra entre una de las técnicas preponderantes de **corrección génica** (mejor que «edición génica» para lo que se denomina en inglés *gene editing*).

CRISPR es la sigla que acuñó Mojica en su trabajo para *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*. Como se puede ver, el clásico ejemplo de sustantivos y adjetivos encadenados sin preposiciones, que solo entienden los que saben de qué va el tema. En algunos de los sitios se proponen traducciones al español que prefiero no difundir para que no parezca que les doy validez. Si vamos al experto, Francis Mojica ha indicado en distintas entrevistas en 2016⁶ y 2018⁷ que el significado de dichas siglas fue una «ocurrencia» al encontrar «repeticiones regularmente espaciadas» (sic), y que denominaron repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespariadas (sic).

Muchos lectores la encontrarán apropiada, sobre todo

porque lo dice quien lo creó, olvidando que seguramente la ideó en inglés y no en español. De hecho, la propuesta de Mojica contiene varios errores idiomáticos en los que incurrimos los científicos cuando pensamos en español lo que hemos leído en inglés. Por un lado, ese adverbio de modo «regularmente» en la definición chirría a cualquier otro lector porque, a diferencia del inglés, el español huye de este tipo de adverbios como el gato del agua. Por otro lado, suena muy artificioso ese encadenamiento anormal de adjetivos que modifican a «repeticiones». Por tanto, mi propuesta es que los denominemos **grupos de repeticiones palindrómicas cortas en intervalos regulares** en el que no hay más de dos adjetivos juntos y se incluyen dos preposiciones que dan una enorme naturalidad a la frase. Obviamente, se pueden hacer variaciones en las que agrupamientos sustituya a «grupos», o donde se ponga espaciadas con regularidad o separadas con regularidad en lugar de «a intervalos regulares». Eso ya es cuestión de gustos o estilo.

¿Y la sigla?

Si nos fijamos, ninguna de las traducciones posibles mencionadas más arriba ofrece una sigla medianamente pronunciable en español: GRPCIR, ARPCIR, GRPCSR, etc. Parece, pues, lógico que acabemos manteniendo la sigla inglesa **CRISPR** de uso preponderante hoy día. También debemos contemplar seriamente que se acabe imponiendo la forma lexicalizada de su pronunciación habitual entre los científicos: **crísper** (sí, con acento en la i al ser llana acabada en consonante que no es n ni s), al igual que hacemos con *esnip* (para SNP) y *esnurp* (para snRNP).

¹<https://www.fpa.es/es/premios-princesa-de-asturias/premiados/2015-emmanuelle-charpentier-y-jennifer-doudna.html>

²<https://en.wikipedia.org/wiki/CRISPR>

³<https://www.agenciasinc.es/Reportajes/El-sueno-de-editar-el-libro-de-la-vida>

⁴<https://www.comunicabiotec.org/2015/06/16/las-herramientas-crispr-un-regalo-inesperado-de-las-bacterias-que-ha-revolucionado-la-biotecnologia-animal/>

⁵<https://www.investigacionyciencia.es/noticias/mejoras-en-la-technica-de-edicion-genica-crispr-13589>

⁶https://genotipia.com/genetica_medica_news/francis-mojica-crispr/

⁷<https://www.elmundo.es/papel/historias/2018/01/27/5a69c4af468aeb9d738b4638.html>

Para saber más:

M.G. Claros [El nanoblog del Gonz.](#) 2019 [consulta: 11-XII-19]

M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J.A. Doudna y E. Charpentier (2012) A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* **337**(6096), 816-821. DOI: [10.1126/science.1225829](https://doi.org/10.1126/science.1225829).

F.J.M. Mojica, C. Díez-Villaseñor, J. García-Martínez y E. Soria (2005) Intervening Sequences of Regularly Spaced Prokaryotic Repeats Derive From Foreign Genetic Elements. *J. Mol. Evol.* **60**(2), 174-82. DOI: [10.1007/s00239-004-0046-3](https://doi.org/10.1007/s00239-004-0046-3).

F.A. Navarro. [Laboratorio del lenguaje.](#) 2019 [consulta: 11-XII-19]

F.A. Navarro. [Diccionario de dudas y dificultades de traducción del inglés médico](#) v 3.14. Ed Cosnautas. 2019

M. GONZALO CLAROS

eb

La imagen comentada

**RATONES EDITADOS GENÉTICAMENTE CON LA HERRAMIENTA CRISPR.**

Ratones editados genéticamente con las herramientas CRISPR para estudiar el albinismo. Al ratón de la izquierda, más claro, se le ha eliminado, mediante CRISPR, unas secuencias de ADN reguladoras que dirigen la expresión del gen de la tirosinasa, que determina la síntesis de melanina. El efecto de la eliminación específica de ADN es la pérdida

de pigmentación. El ratón de la derecha es un individuo control, intacto, con el nivel de pigmentación normal que le corresponde.

Dr. Lluís Montoliu (CNB-CSIC). Seruggia et al. *Nucleic Acids Research* 2015. 43(10):4655-67 doi: [10.1093/nar/gkv375](https://doi.org/10.1093/nar/gkv375).

Ámbito y política editorial

La revista *Encuentros en la Biología* (ISSN 1134-8496) es una revista de divulgación científica con carácter interdisciplinar, está editada por la Universidad de Málaga y publica periódicamente (primavera, verano, otoño, invierno) aquellas contribuciones originales que se enmarcan en un ámbito de encuentro entre las ciencias biológicas y las demás fuentes de conocimiento científico; esto es, conocimiento testado experimentalmente y avalado al menos por una fuente primaria de documentación. Aceptará también la edición de biografías de autores relevantes, de reseñas de libros y trabajos especializados, de imágenes para la portada, la sección «La imagen comentada» y otras secciones especializadas, así como noticias, comunicaciones y eventos relacionados con la biología. La editorial valorará positivamente la contribución de los trabajos en un formato ameno y accesible para estudiantes y profesores de todas las áreas de la biología, al igual que la presentación de las últimas novedades científicas en este área.

Encuentros en la Biología es un foro de difusión abierto para todas aquellas personas que estén interesadas en enviar sus aportaciones. Las contribuciones así presentadas deberán ajustarse a la política editorial y a las normas que a continuación aparecen como «Instrucciones para los Autores». La revista se reserva el derecho a realizar cuantas modificaciones en forma y diseño estime oportunas.

Instrucciones para los autores

1. Todas las contribuciones serán inéditas o contarán con la autorización expresa del organismo que posea los derechos para su reproducción, en cuyo caso la edición incluirá la referencia de su autoría. Los manuscritos recibidos podrían revisarse con medios técnicos para detección de plagios.
2. Cada contribución constará de un título, el nombre completo del autor o autores, su afiliación (institucional, académica o profesional) y correo electrónico. Para distinguir la afiliación de diferentes autores utilice símbolos (*, †, ‡, §, ¶, etc.) después del nombre de cada uno.
3. El documento se puede enviar en formato txt, rtf, sww/odt (OpenOffice/LibreOffice), doc/docx (MS-Word) o tex (L^AT_EX). Manuscritos largos pueden dividirse en varias partes que aparecerían en números distintos.
4. Los nombres de las proteínas se escribirán en mayúsculas y redondilla (ABC o Abc). Los de genes y especies aparecerán en cursiva (*ABC*, *Homo sapiens*). También se pondrán en cursiva los términos que se citen en un idioma distinto al castellano.
5. Los autores que no sean castellanohablantes pueden remitir sus manuscritos en inglés. Una vez aceptado, el equipo editorial elaborará un resumen en castellano.
6. Las tablas, figuras, dibujos y demás elementos gráficos deberán adjuntarse en ficheros independientes. Cuando sea posible, utilice el formato vectorial no propietario pdf, svg, eps o ps. En caso de fotografías o figuras tipo *bitmap* se pueden enviar en formato jpg, tif o png con una resolución mínima de 300 ppp. Existe la posibilidad de incorporar breves animaciones en formato gif a baja resolución.
7. Las referencias bibliográficas se citarán dentro del propio texto, numeradas por orden de aparición, entre corchetes en superíndice^[1]. Al final del mismo, se incluirá la sección de *Bibliografía* o *Referencias* de acuerdo con el estilo del siguiente ejemplo:
¹Einstein Z y Zwestein D. Spatial integration in the temporal cortex. *Res Proc Neurophysiol Fanatic Soc* 1: 45-52, 1974.
 Si hay más de dos autores, se citará el primero seguido de «y otros».
 Si el texto principal no incluye referencias bibliográficas, se ruega a los autores que aporten 3-4 referencias generales «para saber más» o «para más información».
8. Se anima a contribuir a la sección *la imagen comentada* con imágenes originales o de libre distribución (300 ppp de resolución como mínimo) acompañadas en documento aparte con un breve comentario de unas 300 palabras relacionado con la misma (descripción, información, técnica, etc.).
9. Se considerará cualquier contribución para las distintas secciones de la revista.
10. Envío de contribuciones: el original se enviará por correo a los coeditores o a cualquier otro miembro del comité editorial que consideren más afín al tema de la contribución. Como último recurso, se pueden enviar por correo postal acompañados de un CD. No se devolverá ningún original a los autores.
11. La aceptación de todas las contribuciones se hará a petición de los miembros del equipo editorial, manteniendo en todo caso los coeditores la decisión final sobre la misma. También se podrá sugerir al autor mejoras formales o de contenido para adaptar el artículo al perfil de la revista. La notificación se enviará por correo electrónico al autor que figure como corresponsal.