

# Bienvenidos a la nueva era de la Ingeniería

**Dr. Enrique Reynaud Garza**  
Instituto de Biotecnología, UNAM

El Dr. Enrique Reynaud ha sido ya colaborador en este espacio. Estudió la licenciatura, maestría y doctorado en la UNAM e hizo un postdoctorado en la Universidad de Stanford. Su laboratorio se dedica a estudiar las bases genéticas del desarrollo del sistema nervioso y del comportamiento, así como las causas genéticas de las enfermedades neurodegenerativas usando como modelo a la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. LA AC-Mor agradece a **Biotecnología en Movimiento**, órgano de divulgación del Instituto de Biotecnología de la UNAM (<https://biotecnologiaibtunam.wordpress.com>), habernos compartido este texto. Responsable: Agustín López Munguía.

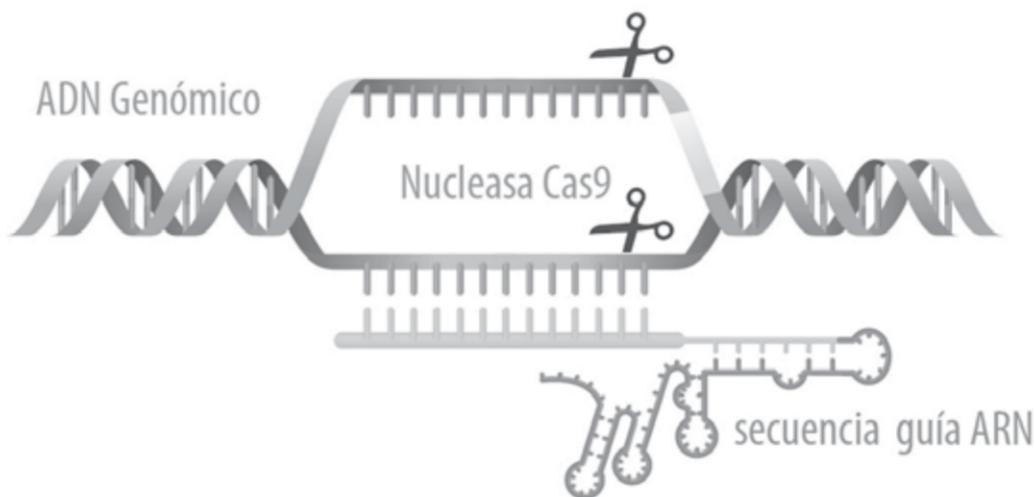
*William Gibson, quien escribió la novela en la que se basa la película "Matrix" dijo: "El futuro ya está aquí; solamente no está bien distribuido..."*

## Introducción

Imagínense un mundo en el que el sufrimiento es opcional. Un mundo donde los huevos, las fresas, los cacahuates y los camarones no le causan alergias a nadie; no hay mosquitos que transmitan Malaria, Dengue, Zika o Chikungunya; donde las abejas no se están muriendo y no son africanizadas; en este mundo nuevos mamuts viven felices en los bosques de Siberia y el norte de Canadá; hay HVACUNAS y proteínas terapéuticas que se ordeñan directamente de la vaca. Hagan un esfuerzo conmigo y sigan imaginando un mundo en el que se pueden curar y posiblemente erradicar las enfermedades genéticas de los humanos y de los animales; donde no hay fibrosis quística, fenilcetonuria, enfermedad de Tay-Sachs o Huntington; un mundo donde ningún perro tiene displasia de cadera. Imagínense que no haya escases de órganos para trasplante porque los cochinitos son modificados genéticamente para que sus órganos sean compatibles con todos nosotros (personalmente, a mí no me importaría tener un corazón de puerco).

Bueno, la verdad es que ya no se lo tienen que imaginar, este mundo ya está aquí, o mejor dicho, las herramientas para hacer un mundo así ya están aquí, ahora tenemos que pensar cómo implementarlo...

En el año 2012, Jennifer Doudna, de la Universidad de California, Berkeley y Emmanuelle Charpentier, quien es ahora investigadora del



**La eficiencia de CRISPR-Cas9 es casi inimaginable, es capaz de encontrar y cortar un sitio único entre los 3,000,000,000 (tres mil millones) de nucleótidos que constituyen la secuencia del genoma humano.**

Instituto Max Planck de Biología de las Infecciones en Berlín, publicaron un artículo en el que demostraban que la enzima bacteriana Cas9 podía ser programada para editar el material genético cambiando la secuencia de ARN asociada a ella para que cortara sitios específicos en ADN, estableciendo las bases teóricas y moleculares del sistema CRISPR-Cas9. En el 2013 Feng Zhang de Harvard y el MIT publicó otro artículo donde demostraba que el sistema CRISPR-Cas9 funcionaba en células de mamífero. A partir de ese momento una oleada extraordinaria de artículos científicos ha demostrado que CRISPR-Cas9 se puede utilizar para modificar el genoma de prácticamente cualquier célula, lo que incluye a bacterias, animales, vegetales y hongos, incluida la línea germinal de todos ellos, lo que permite crear linajes de cualquier organismo, incluso humanos, genéticamente modificados. La era de la ingeniería genética y la terapia génica acaba de llegar a su plenitud.

## El poder de las tijeras

Al principio CRISPR-Cas9 no parece tan espectacular, no es más que una tijera molecular que corta el ADN, ¿para qué puede servir eso? La respuesta a esta pregunta está en el hecho de que son tijeras, pero son tijeras programables, algo así como un robot molecular cuyo único fin es encontrar una secuencia específica en el genoma de cualquier célula y cortar el ADN únicamente en ese sitio. La eficiencia de CRISPR-Cas9 es casi inimaginable, es capaz de encontrar y cortar un sitio único entre los 3,000,000,000 (tres mil millones) de nucleótidos que constituyen la secuencia del genoma humano. Lo interesante es que se puede programar el sistema CRISPR-Cas9 para que corte específicamente la secuencia de un gene mutado, digamos el responsable de una enfermedad como la fibrosis quística,

y al introducirlo en una célula el sistema cortará con una frecuencia muy alta únicamente esa secuencia; más interesante aún, la maquinaria que protege la integridad del genoma trata de reparar este corte y al hacerlo puede introducir cambios y mutaciones que alteren la secuencia original que se cortó. La cosa se pone aún más interesante cuando nos damos cuenta que si combinamos a CRISPR-Cas9 con algunos "trucos moleculares" -tales como introducir con un fragmento de ADN homólogo al sitio de corte pero con algunos cambios en su secuencia- podemos sustituir una secuencia por otra. Es decir, tenemos las herramientas moleculares que nos permiten editar y reescribir el genoma de cualquier organismo, desde una humilde bacteria, hasta el de un elefante, y esto es algo extraordinario. Hace cinco años era ciencia ficción.

## ¿Qué es CRISPR-Cas9?

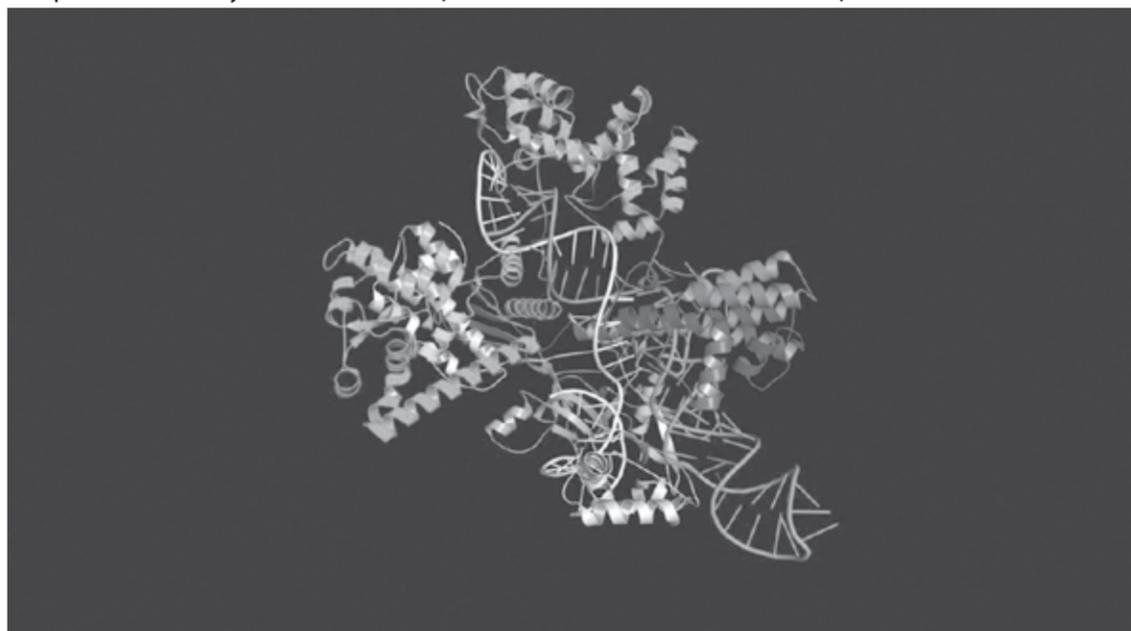
Las bacterias se tienen que defender de unos virus llamados *fagos*. Existen diferentes tipos de fagos y las bacterias se encuentran con ellos todo el tiempo en el medio ambiente. A veces, son fagos con los que las bacterias ya se habían

encontrado y a veces son fagos con los que la bacteria nunca había tenido contacto. Pues bien, Cas9 es parte del sistema de defensa de las bacterias contra los fagos. Cuando una bacteria es atacada por un fago y sobrevive, el sistema Cas, que tiene muchos elementos, inactiva y fragmenta el genoma del fago y "archiva" estos fragmentos en una zona del genoma de la bacteria que contiene repeticiones palindrómicas (una secuencia palindrómica se denomina así pues se lee igual de izquierda a derecha que al revés) cortas, agrupadas y regularmente inter-espaciadas, de donde su nombre, CRISPR, por sus siglas en inglés: **C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats. Estas regiones repetidas se convierten en un gen cuyo ARN es procesado y estos fragmentos de ARN se unen a la proteína Cas9 "programándola" para cortar el ADN de los fagos de donde proviene, de manera que si la bacteria se encuentra con un fago al que ya estuvo expuesta, lo inactiva inmediatamente y ya no la puede infectar. El sistema CRISPR-Cas9 es el equivalente bacteriano de nuestra capacidad de hacer anticuerpos. Lo que hicieron Jennifer Doudna

y Emmanuelle Charpentier, fue genial, ya que se les ocurrió que si sustituían la secuencia de fago por otra, harían que Cas9 cortara el ADN en la nueva secuencia y cuando demostraron esto, empezaron a cambiar al mundo.

## ¿Cuál es el impacto de CRISPR-Cas9?

En cuanto a la salud humana, CRISPR-Cas9 promete tener un impacto casi inconcebible. Su altísima eficiencia y precisión (que cada día aumenta con nuevas alteraciones de ingeniería genética) lo convierte en la mejor plataforma para hacer terapia génica somática (en las que las modificaciones, a diferencia de la germinal, no se transmiten a las siguientes generaciones), por ejemplo, para reparar la mutación que causa la fibrosis quística en las células de los pulmones, de manera que estos recuperen su función normal sin alterar al resto del organismo. Terapias génicas somáticas similares, basadas en CRISPR-Cas9, se están probando o están a punto de ser probadas para otros defectos genéticos de órganos específicos, particularmente para enfermedades genéticas que causan deficiencias metabólicas del hígado y enfermedades somáticas del sistema inmune. Estas son las primeras aproximaciones ya que tanto los pulmones, como el hígado y las células precursoras del sistema inmune son fácilmente accesibles y modificables con este sistema. En un futuro muy próximo se van a desarrollar metodologías para modificar otros órganos menos accesibles. La capacidad de modificar células del sistema inmune a voluntad y reintroducirlas al organismo va a tener un impacto inmediato en enfermedades tales como el cáncer y enfermedades auto inmunes como la artritis reumatoide, el lupus y la esclerosis múltiple, entre otras muchas más.



**Estructura molecular de CRISPR-Cas9**

# Genética

Cualquier enfermedad cuya causa sea la deficiencia en la producción de una proteína o la producción de una proteína defectuosa y tóxica, como es el caso de las enfermedades neurodegenerativas tales como el Alzheimer, el mal de Huntington y el Parkinson, serán, al menos en principio, prevenibles con este tipo de terapias. En un futuro un poco más lejano se podrá considerar la posibilidad no sólo de modificar el linaje somático de las personas que sufran enfermedades genéticas, sino también será posible modificar la línea germinal (en este caso los óvulos y los espermatozoides) de estas personas, de manera que las mutaciones -y por ende las enfermedades- dejen de ser heredables.

La modificación de la línea germinal de las personas tiene implicaciones éticas y filosóficas extremadamente serias y profundas, ya que implica modificar permanente a los descendientes de estas personas y erradicar de la poza genética ciertos tipos de diversidad humana, por lo que tiene que meditarse y ponderarse muy cuidadosamente. Otro factor que hay que tomar en cuenta a la hora de hacer ingeniería genética de humanos, es que si bien CRISPR-Cas9 es extremadamente precisa, aún es capaz de cometer errores que pueden tener consecuencias graves tales como desencadenar cáncer, por lo que mientras no se modifique y mejore la tecnología hasta tener la precisión necesaria, no se debiera usar para hacer modificaciones de embriones humanos. Hay que hacer énfasis en que CRISPR-Cas9 es perfectamente capaz de modificar embriones humanos y la evidencia de ello se obtuvo en abril del 2015, cuando la revista *Protein&Cell* publicó un artículo en el que se reportó la modificación exitosa de embriones humanos con CRISPR-Cas9, demostrando inequívocamente que esta tecnología es lo suficientemente poderosa para hacerlo. Cabe mencionar que para evitar conflictos éticos, los autores de este artículo modificaron embriones humanos incapaces de desarrollarse hasta convertirse en un bebé viable. Sin embargo, no existe ninguna limitación técnica para hacerlo con embriones viables capaces de llegar a término. Esto significa que la pregunta no es ¿se pueden hacer humanos genéticamente modificados?, sino más bien es ¿cuándo los van a hacer? Personalmente creo que la modificación de embriones humanos va a traer muchos más beneficios que problemas, ya que esto significa la eliminación



**CRISPR-Cas9 promete tener un impacto casi inconcebible en la salud humana, por ejemplo para reparar el gene que tiene la mutación que causa la fibrosis quística en las células de los pulmones, de manera que estos recuperen su función normal sin alterar al resto del organismo.**



**El impacto biotecnológico y económico de CRISPR-Cas9 es aún más grande e inmediato que el biomédico. CRISPR-Cas9 hace que todo el ecosistema terrestre sea modificable, que todo organismo vivo puede ser modificado de manera racional de forma extremadamente precisa.**

del sufrimiento causado por las enfermedades genéticas que se originan por defectos en un sólo gen (monogénicas). El espectro de hacer humanos superdotados que subyuguen al resto de la raza humana es, al menos en el mediano plazo, extremadamente improbable ya que realmente no sabemos qué genes hay que modificar para crear a alguien "super-inteligente" o "super-fuerte" o cualquiera que sea la pesadilla o el sueño personal al estilo Jean-Claude Van Damme del querido lector.

El impacto biotecnológico y económico de CRISPR-Cas9 es aún más grande e inmediato que el biomédico. CRISPR-Cas9 hace que todo el ecosistema terrestre sea modificable, que todo organismo vivo pueda ser modificado de manera racional de forma extremadamente precisa. El Dr. George Church de la Universidad de Harvard y el Instituto Tecnológico de Massachusetts (Massachusetts Institute of Technology, MIT) están usando CRISPR-Cas9 para modificar el genoma del cerdo de manera tal que se vuelva inmunológicamente

compatible con los seres humanos. Su compañía *eGenesis*, ha creado un puerco con modificaciones en 62 lugares independientes del genoma usando CRISPR-Cas9, y piensan hacer trasplantes experimentales de órganos de este cerdo a primates en 2017. Mientras tanto, otra compañía, *United Therapeutics*, en consorcio con la compañía de Craig Venter, *Synthetic Genomics*, construyen un complejo especializado en la producción masiva de estos órganos y calculan que van a poder producir mil órganos para trasplantes humanos al año y predicen que estarán en la fase de pruebas clínicas de trasplantes de pulmón de cerdo a humanos en el 2020. Aquí la principal limitación no es técnica, sino regulatoria ya que existe el riesgo de que virus no identificados de cerdo infecten a los receptores humanos por lo que hay que esperar las pruebas de seguridad biológica.

George Church también ha propuesto seriamente la posibilidad de utilizar la información genética obtenida de la secuenciación del genoma de mamuts congelados

en el permafrost y que es muy parecida a la de los elefantes, para hacer los cambios correspondientes con CRISPR-Cas9 para que a los elefantes asiáticos les crezca lana y se vuelvan resistentes al frío, de manera que se puedan "reintroducir" a reservas en la estepa Siberiana y se garantice la persistencia de los elefantes en el mundo.

Proyectos menos arriesgados se están llevando a cabo en Australia por Timothy Doran del "Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation". Su grupo de trabajo está interesado en la producción de huevos hipo-alérgicos, usando CRISPR-Cas9 para eliminar los genes de las proteínas de la clara que causan alergia. Brian Gillis en San Francisco, intenta modificar el genoma de las abejas para que sean resistentes a los parásitos que parecen ser responsables del síndrome del colapso de las colmenas. Otros investigadores están modificando ganado para hacerlo resistente a enfermedades tropicales.

Por otro lado, las variaciones de CRISPR-Cas9 permiten la introducción de nuevas secuencias de ADN a todo tipo de organismos y hay muchos grupos que están desarrollando vacas que producirán nuevos fármacos en la leche y gallinas que los producirán en la clara del huevo. Por otro lado, se han desarrollado y demostrado a nivel de laboratorio esquemas utilizando a CRISPR-Cas9 y un fenómeno genético llamado "genetic drive" que permiten erradicar vectores de enfermedades como los mosquitos transmisores de Dengue, Zika y Chikungunya.

Así mismo, usando esta herramienta se optimiza la producción de alimentos ya que, peces, plantas y animales están siendo modificados para aumentar su producción o para alterar la proporción de animales hembras o macho, dependiendo de cuál sea más útil, de manera que se evite el sacrificio y desperdicio de los animales no deseados. Por ejemplo, en las gallinas ponedoras se podría disminuir la producción de machos (que no ponen huevos) y en el ganado vacuno sería posible aumentarlos, pues producen más carne. En abril de este año (2016) se introdujo una variedad de champiñón a la que, con la herramienta con CRISPR-Cas9, se le inactivó un gene que codifica para una enzima involucrada en la maduración, alargando la vida de anaquel de los hongos. Y en vista de que la modificación genética no fue causada por la adición de ADN foráneo (transgene), el hongo modificado con CRISPR-Cas9 fue clasificado por la Oficina de Salud Americana (Food and Drug Administration, FDA) y por la Unión Europea, como "mutante" y no como "organismo genéticamente

modificado" (OGM), por lo que se convirtió en el primer producto modificado con CRISPR-Cas9 autorizado para el consumo humano. Así mismo, con CRISPR-Cas9 se están modificando animales de laboratorio de manera que tengan varias mutaciones homólogas a las encontradas en los síndromes genéticos humanos, para así generar nuevos modelos de estudio de enfermedades humanas que nos permitirán entender los mecanismos que llevan a estas patologías y sugerir soluciones a ellas.

## Conclusión

La aparición de CRISPR-Cas9 ha hecho que la modificación genética de prácticamente cualquier organismo se convierta en un trabajo de rutina relativamente sencillo. Su bajísimo costo (cientos de dólares por organismos genéticamente modificados comparado con decenas de miles de dólares con otras técnicas) y su enorme eficiencia, ha democratizado la capacidad de crear nuevos organismos con valores agregados inimaginables, permitiendo que grupos de investigación relativamente pequeños y con recursos limitados hagan ciencia básica y biotecnología de frontera.

## Reflexión personal

Hace casi 35 años el Dr. Francisco Bolívar Zapata fundó visionariamente el Centro de Investigación sobre Ingeniería Genética y Biotecnología de la UNAM (CEIN-GEI) que después se convirtió en el Instituto de Biotecnología con sede en Cuernavaca, Morelos. En esa época, él, sus colaboradores y cientos de investigadores alrededor del mundo sembraron las primeras y más fundamentales semillas de la ingeniería genética que después de millones de horas-hombre de investigación en ciencia básica y aplicada, rinden ahora frutos tan extraordinarios como son CRISPR-Cas9 y otras muchas tecnologías que se están desarrollando en este momento. Estamos verdaderamente al principio de la plenitud de la era de la ingeniería genética y el mundo se va a transformar más de lo que lo hizo a causa de la revolución industrial.

## Bibliografía

- 2016: <http://www.nature.com/news/crispr-everywhere-1.19511>
- 2016: <http://www.nature.com/news/gene-editing-research-in-human-embryos-gains-momentum-1.19767>
- 2016: <http://geneticexperts.org/usda-considers-whether-crispr-edited-mushroom-is-regulated/>
- 2016: <http://www.upsc.se/about-upsc/news/4815-greenlight-in-the-tunnel-swedish-board-of-agriculture-a-crispr-cas9-mutant-but-not-a-gmo.html>