



CRISPR Cas9: el regalo de las bacterias que cambiará el mundo

Guamán, Linda ¹

¹ Centro de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo, Universidad UTE, Quito, Ecuador

Correo para correspondencia: linda.quaman@ute.edu.ec

Resumen

Durante 3,5 mil millones de años, las bacterias unicelulares han utilizado el sistema CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas) para defenderse de los ataques virales causadas por bacteriófagos, constituyéndose en un verdadero sistema inmune bacteriano que reconoce secuencias de ADN con precisión y las corta para evitar infecciones gracias a la actividad de dos componentes clave: la proteína Cas9 y el ARN guía. En 2012, La comunidad científica demostró que CRISPR/Cas9 podía reprogramarse para reconocer y modificar cualquier secuencia de ADN y efectuar cortes en la doble cadena con la misma precisión que un cirujano. Desarrollada hace menos de una década, la tecnología CRISPR/Cas9 se ha convertido ya en una herramienta innovadora para editar genomas. Sus aplicaciones más estudiadas así como controversiales se centran en el área médica en donde el potencial para curar enfermedades, mejorar las técnicas de diagnóstico así como el desarrollo de terapia génica representan posibilidades que prometen revolucionar la biomedicina cómo ninguna herramienta lo ha hecho hasta la fecha.

Palabras clave: CRISPR Cas9, edición genética.

Abstract

For 3.5 billion years, unicellular bacteria have used the CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) system to defend themselves against viral attacks caused by bacteriophages, constituting a true bacterial immune system that recognizes DNA sequences with precision and cuts them to avoid infections thanks to the activity of two key components: the Cas9 protein and the guide RNA. In 2012, scientists showed that CRISPR/Cas9 could be reprogrammed to recognize and modify any DNA sequence and make double-stranded cuts with the same precision as a surgeon. Developed less than a decade ago, CRISPR/Cas9 technology has already become an innovative tool for editing genomes. Its most studied and controversial applications focus on the medical area where the potential to cure diseases, improve diagnostic techniques as well as the development of gene therapy represent possibilities that promise to revolutionize biomedicine in a way that no other tool has done to date.

Keywords: CRISPR Cas9, genetic editing.

Artículo

Hasta hace pocos años, tomar un taxi en una ciudad tan grande cómo Manhattan, y llegar a una dirección sin la ayuda de un GPS representaba una tarea que si bien no era imposible, estaba lejos de ser rápida. Los taxis tienen la capacidad de moverse por la ciudad, pero las coordenadas dadas por el GPS hacen que los mismos lleguen con precisión a su destino. De la misma forma en

el sistema CRISPR Cas9, la proteína Cas9 es el vehículo que puede desplazarse a lo largo del genoma, y el ARN guía sirve como las coordenadas que le permitirán llegar con precisión a la región del genoma deseado.

En 1953 se dio a conocer que nuestro código genético está escrito con 4 letras ATCG, sin embargo, hace apenas unos días fue posible identificar el 100% del orden en el que estas letras se encuentran en nuestro genoma (1,2) Conocer la secuencia de los genes es solo un primer paso hacia entender el sentido funcional de los mismos y aquí es cuando la edición genética entra en juego permitiendo una amplia gama de aplicaciones biomédicas.

CRISPR el sistema inmune más antiguo del mundo

Al igual que nosotros, las bacterias también son propensas a adquirir infecciones virales. Si consideramos que estos microorganismos han tenido 3.5 billones de años para perfeccionar herramientas de defensa, no sorprende que en 2010 se haya identificado que en sus genomas las bacterias tengan un sistema inmune que lucha en contra de los virus (3). Las bacterias guardan en su genoma una región llamada CRISPR por las siglas en inglés de “repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y espaciadas regularmente”, que contiene pequeños pedazos de ADN viral de infecciones pasadas, una copia de ese ADN- CRISPR se produce la siguiente vez que el virus regresa a infectar la bacteria, y una pequeña parte de esa copia (ARN guía) se une a la proteína Cas9 para buscar ese fragmento complementario de ADN que se encuentra en el virus que la está atacando, destruyéndolo con un corte letal de doble cadena evitando así la infección (4). Esta capacidad de encontrar secuencias de ADN con precisión quirúrgica y luego cortarlas, es la base de la gran mayoría de aplicaciones biomédicas que serán descritas a continuación.

CRISPR Cas: Aplicaciones médicas

Terapias celulares y génicas

En el 2019 Victoria Gray, fue la primera paciente en recibir un tratamiento experimental con esta herramienta, ella recibió más de dos billones de sus propias células de la médula ósea modificadas genéticamente con CRISPR para producir hemoglobina fetal, aliviando los síntomas de la anemia falciforme. Más de dos años después, sus síntomas han desaparecido casi por completo (5,6).

CRISPR también puede usarse para inmunoterapia aplicada a cáncer a través de la remoción de células inmunes de un paciente con cáncer, las cuales se cultivan en el laboratorio y se editan in vitro introduciendo un gen particular como por ejemplo un receptor celular de cáncer. Posteriormente estas células editadas se reintroducen al paciente permitiendo que estas células estén ahora armadas para encontrar y destruir las células de cáncer (7)

Diagnóstico

Cuando se usan herramientas de diagnóstico basadas en CRISPR, los componentes CRISPR-Cas se modifican para emitir una señal de color o fluorescente en respuesta a la detección positiva o negativa de la secuencia genética objetivo, generalmente indicativa de un estado de enfermedad, en este caso se utiliza la función de búsqueda de Cas9 para detectar material genético del virus, empleando nucleasas Cas naturales, como Cas12 y Cas13 (8,9)

Durante la pandemia de COVID 19, la empresa Mammoth Biosciences comercializó en los Estados Unidos estas pruebas basadas en CRISPR Cas las cuales recibieron aprobación de emergencia de la FDA para su uso (10)

Células madre y organoides

Las células madre son pluripotentes, lo que significa que pueden diferenciarse en cualquier tipo de célula. Esto los hace increíblemente valiosos en la investigación médica, sin embargo, la recolección de células madre de embriones es muy controversial. El advenimiento de las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) fue un gran avance, porque son células adultas (como las de la piel o las sanguíneas) que han sido reprogramadas para volverse pluripotentes gracias a la edición genética mediada por CRISPR Cas (11), la cual además ha sido fundamental para identificar una relación causal entre una mutación genética y el comportamiento de células madre, ya que ha sido usado para inducir mutaciones cuádruples en cuatro de los genes más comúnmente mutados de la neoplasia intestinal, lo que indica que este cambio fue suficiente para convertir las células madre intestinales en tejido tumoral (12)

Perspectivas del uso de CRISPR Cas9 en el área médica

Para comprender mejor la variedad de efectos beneficiosos y adversos de esta tecnología en humanos es necesario que esta herramienta se utilice de manera responsable. El próximo gran hito para CRISPR será demostrar que es seguro y eficaz como tratamiento en ensayos clínicos a gran escala. En cualquier caso, el impacto de CRISPR en biología ya ha pasado a la historia como el más grande avance de la ciencia de este siglo y como el descubrimiento que le otorgó por primera vez en la historia el premio Nobel de Química a dos mujeres Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier en 2020.

Referencias

- [1] Watson, J.D.; Crick, F.H., Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953 Apr 25;171(4356):737–8.
- [2] Green, E., The human genome sequence is now complete [Internet]. National Human Genome Research Institute. 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.genome.gov/about-nhgri/Director/genomics-landscape/april-7-2022-the-human-genome-sequence-is-now-complete> [Accedido: abril 11, 2022].
- [3] Garneau JE, Dupuis M-È, Villion M, Romero DA, Barrangou R, Boyaval P, et al. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. *Nature*. 2010, 4;468(7320):67–71.
- [4] Mojica, F.J.; Díez-Villaseñor, C.; Soria, E.; Juez, G. Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Mol Microbiol*. 2000, 244–6.
- [5] Stein, R.; CRISPR gene-editing treated her sickle cell disease and she's still thriving. 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.npr.org/sections/health-shots/2021/12/31/1067400512/first-sickle-cell-patient-treated-with-crispr-gene-editing-still-thriving> [Accedido: abril 09, 2022].
- [6] Mataveia, E.R.F.; Aplicabilidade clínica da técnica CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) no tratamento da anemia falciforme: uma revisão integrativa. 2020, 18.
- [7] Khalaf, K.; Janowicz, K.; Dyszkiewicz-Konwińska, M.; Hutchings, G.; Dompe, C.; Moncrieff, L., et al. Crispr/cas9 in cancer immunotherapy: animal models and human clinical trials. *Genes (Basel)*. 2020, 11;11(8).
- [8] Myhrvold C, Freije CA, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Metsky HC, Durbin AF, et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science*. 2018 Apr 27;360(6387):444–8.

- [9] Broughton, J.P.; Deng, X.; Yu, G.; Fasching, C.L.; Singh, J.; Streithorst, J., et al. Rapid Detection of 2019 Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Using a CRISPR-based DETECTR Lateral Flow Assay. medRxiv. 2020
- [10] Mustafa, M.I.; Makhawi, A.M.; SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas Systems as Potential Rapid Diagnostic Tools for Emerging Infectious Diseases. J Clin Microbiol. 2021, 18;59(3).
- [11] Geng, B-C.; Choi, K-H.; Wang, S-Z.; Chen, P.; Pan, X.; Dong, N-G, et al. A simple, quick, and efficient CRISPR/Cas9 genome editing method for human induced pluripotent stem cells. Acta Pharmacol Sin. 2020 41(11):1427–32.
- [12] Takeda, H.; Kataoka, S.; Nakayama, M.; Ali, M.A.E.; Oshima, H.; Yamamoto, D.; et al. CRISPR-Cas9-mediated gene knockout in intestinal tumor organoids provides functional validation for colorectal cancer driver genes. Proc Natl Acad Sci USA. 2019, 116(31):15635–44.