

EL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2020

Las tijeras genéticas: una herramienta para reescribir el código de la vida

Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna han recibido el Premio Nobel de Química 2020 por descubrir una de las herramientas más útiles usadas en la tecnología genética: **las tijeras genéticas o CRISPR/Cas9**. Los investigadores pueden utilizarlas para cambiar el ADN de animales, plantas y microorganismos con una precisión extremadamente alta. Esta tecnología ha revolucionado las ciencias biológicas, trayendo nuevas oportunidades para el mejoramiento de los cultivos o contribuyendo a terapias innovadoras contra el cáncer que pueden hacer realidad el sueño de curar enfermedades hereditarias.

Una de las características de la ciencia es que es impredecible: nunca se puede saber de antemano adónde nos puede conducir una idea o una pregunta. A veces nos encontraremos en un callejón sin salida, otras con un complicado laberinto que lleve años atravesar. Pero, de vez en cuando, nos damos cuenta de que somos la primera persona en contemplar un horizonte de posibilidades desconocidas.

El editor de genes llamado CRISPR-Cas9 es uno de esos descubrimientos inesperados con un potencial impresionante. Cuando Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna comenzaron a investigar el sistema inmunológico de una bacteria *Streptococcus*, pensaban que tal vez podrían desarrollar un nuevo antibiótico. En cambio descubrieron una herramienta molecular que puede usarse para hacer cortes muy precisos en el material genético, posibilitando cambios en el código de la vida.



Una poderosa herramienta que nos afecta a todos

Apenas ocho años después de su descubrimiento estas tijeras genéticas han revolucionado la biología. Los bioquímicos y biólogos celulares pueden ahora investigar fácilmente las funciones de diferentes genes y su posible papel en la génesis y desarrollo de las enfermedades. En agricultura se puede dotar a las plantas de características específicas, como la capacidad de resistir las sequías. En medicina el editor de genes está contribuyendo a nuevas terapias contra el cáncer y a los primeros estudios que intentan curar enfermedades hereditarias.

Hay ejemplos casi infinitos de cómo se podría usar CRISPR-Cas9, incluyendo aplicaciones poco éticas. Al igual que cualquier tecnología poderosa su uso debe regularse.

En 2011, ni **Emmanuelle Charpentier** ni **Jennifer Doudna** sabían que su primer encuentro, en un café de Puerto Rico, les iba a cambiar la vida. Empezaremos presentando a Charpentier, de quien partió la idea de una colaboración entre ambas.

La fascinación de Charpentier por las bacterias patógenas

Algunas personas la consideran una persona motivada, atenta y minuciosa. Otros dicen que Emmanuelle Charpentier siempre busca lo inesperado. A ella le gusta citar a Louis Pasteur, "*El azar favorece a las mentes preparadas*". El impulso de hacer nuevos descubrimientos y el deseo de ser libre e independiente han marcado su vida. Ha realizado estudios de doctorado en el Institut Pasteur de París, ha vivido en cinco países diferentes, siete ciudades diferentes y ha trabajado en diez instituciones diferentes.

La mayor parte de su investigación tiene un denominador común: las bacterias patógenas. ¿Por qué son tan agresivas? ¿Cómo desarrollan su resistencia a los antibióticos? ¿Es posible encontrar nuevos tratamientos contra ellas?

En 2002, cuando Emmanuelle Charpentier fundó su propio grupo de investigación en la Universidad de Viena, se centró en una de las bacterias que más daño causa a la humanidad: el *Streptococcus pyogenes*, que cada año infecta a millones de personas, provocando a menudo infecciones fácilmente tratables como amigdalitis e impétigo (infección de la piel que afecta principalmente a bebés y niños). Sin embargo también puede causar una sepsis potencialmente mortal y degradar los tejidos blandos del cuerpo, por lo que se le conoce como "la bacteria devoradora de carne".

Para comprender mejor la bacteria *S. pyogenes*, Charpentier comenzó investigando a fondo sus genes. Esta decisión fue el primer paso en el camino hacia el descubrimiento de las tijeras genéticas, pero antes hablaremos de Jennifer Doudna, porque mientras Charpentier realiza sus detallados estudios de *S. pyogenes*, Doudna escucha, por primera vez, una abreviatura que suena como “*crisper*”.

La ciencia: tanta aventura como en una historia de detectives

Incluso cuando era una niña en Hawai, Jennifer Doudna tenía una gran necesidad de saber cosas. Un día su padre colocó el libro de James Watson *The Double Helix* sobre su cama. La apasionante historia sobre cómo James Watson y Francis Crick resolvieron la estructura de la molécula de ADN no se parecía en nada a lo que había leído en sus libros de texto. Jennifer quedó cautivada por el método científico y descubrió que la ciencia es algo más que simples datos.

Sin embargo, cuando comenzó a investigar, su atención no se dirigió al ADN, sino hacia su hermano molecular: el ARN. En 2006 Jennifer Doudna dirigía un grupo de investigación en Berkley (Universidad de California) y ya acumulaba dos décadas de experiencia trabajando con ARN. Estaba considerada como una investigadora de éxito, con olfato para proyectos innovadores, que recientemente había entrado en un campo nuevo y emocionante: el ARN interferente

Durante muchos años los investigadores habían creído que entendían la función básica del ARN, pero de pronto descubrieron muchas moléculas pequeñas de ARN que ayudan a regular la actividad genética en las células. Las investigaciones de Jennifer Doudna sobre el **ARN interferente** fueron la razón por la que, en 2006, recibe una llamada telefónica de un colega de otro departamento.

Las bacterias poseen un sistema inmunológico antiguo

Un colega, microbiólogo, le comenta a Doudna su descubrimiento: cuando se comparan el material genético de diferentes bacterias, y también de las arqueas (un tipo de microorganismo), se encuentran secuencias de ADN repetitivas que están sorprendentemente bien conservadas. El mismo código aparece una y otra vez, pero entre las repeticiones hay secuencias que llaman la atención (figura 2). Es como si, en un libro, una misma palabra se repitiera entre las oraciones.

Estas matrices de secuencias repetidas se denominan **repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas y regularmente espaciadas (clustered regularly interspaced short palindromic repeats), abreviadas como CRISPR**. Lo interesante es que las secuencias únicas y no repetitivas en CRISPR (situadas tras las repeticiones) parecen coincidir con el código genético de varios virus, por lo que el pensamiento actual es que son una parte de un antiguo sistema inmunológico que protege a las bacterias y arqueas de los virus. La hipótesis es que si una bacteria ha logrado sobrevivir a una infección por virus, agrega una parte del código genético del virus a su genoma como un recuerdo de la infección.

Nadie sabe todavía cómo funciona todo esto pero la sospecha es que es el mecanismo que utilizan las bacterias para neutralizar virus similares al estudiado por Doudna.

Doudna mapea una maquinaria compleja

Esta noticia es a la vez importante y emocionante. Si es cierto que las bacterias conservan un sistema inmunológico ancestral, habría que investigar el por qué. Intrigada por este problema Jennifer Doudna comienza a estudiar lo que se conoce sobre el sistema CRISPR.

Resulta que, además de las secuencias CRISPR, los investigadores han descubierto genes especiales, asociados a CRISPR, que han denominado con la abreviatura **CAS**. Doudna se da cuenta de que estos genes son muy similares a los genes que codifican las proteínas que desenrollan y cortan el ADN. Entonces, ¿las proteínas Cas tienen la misma función? ¿Cortan el ADN del virus?

Su grupo de investigación comienza a trabajar en este problema y, después de unos años, logran revelar la función de varias proteínas Cas diferentes. Paralelamente otros grupos de investigación de otras universidades están estudiando el **sistema CRISPR-Cas** recién descubierto. Su mapeo muestra que el sistema inmunológico de las bacterias puede adoptar formas muy diferentes. El sistema CRISPR -Cas estudiado por Doudna pertenece a la clase 1; es una maquinaria compleja que requiere muchas proteínas Cas diferentes para desarmar un virus. Los sistemas de clase 2 son significativamente más simples porque necesitan menos proteínas. En otra parte del mundo, Emmanuelle Charpentier acaba de encontrar un sistema de este tipo. Volvamos a ella.

Una pieza nueva y desconocida del rompecabezas del sistema CRISPR

Dejamos a Emmanuelle Charpentier en Viena, pero en 2009 se traslada a la Universidad de Umeå en el norte de Suecia. Un lugar bastante remoto donde el largo y oscuro invierno le traería la paz y tranquilidad necesaria para su trabajo.

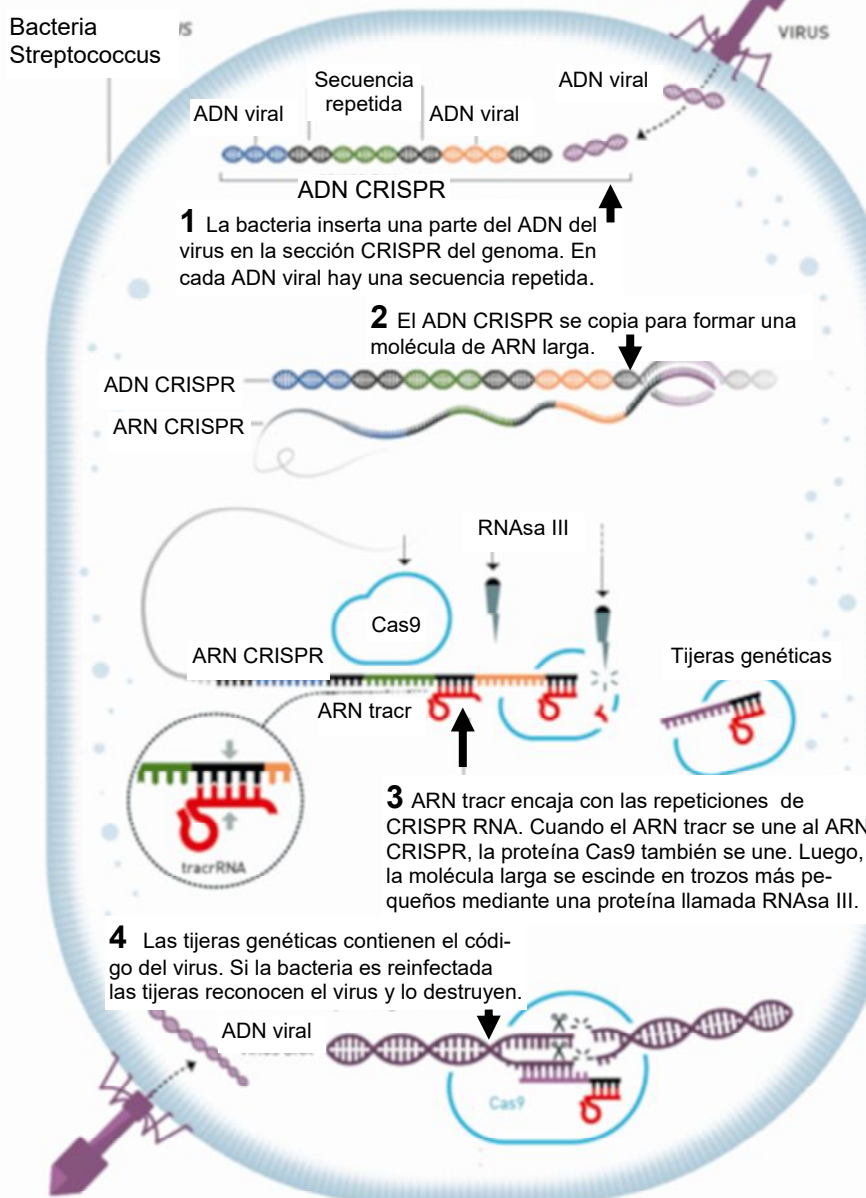
Investigaba las pequeñas moléculas de ARN que regulan los genes y, en colaboración con investigadores de Berlín, había mapeado los pequeños ARN que se encuentran en *S. pyogenes*. Los resultados le han dado qué pensar, porque una de las pequeñas moléculas de ARN que existe en grandes cantidades en esta bacteria era una variante desconocida, y el código genético de este ARN es muy cercano a la peculiar secuencia CRISPR en el genoma bacteriano.

Las similitudes entre los dos hacen que Charpentier sospeche que están vinculados. El análisis cuidadoso de sus códigos genéticos también revela que una parte de la molécula de ARN desconocida coincide con la parte de CRISPR que se repite. Es como encontrar dos piezas de un rompecabezas que encajan perfectamente (figura 2). Charpentier nunca había trabajado con CRISPR, pero su grupo de investigación inicia un minucioso trabajo microbiológico para mapear el sistema CRISPR en *S. pyogenes*. Ya se sabía que este sistema, que pertenece a la clase 2, solo requiere una única proteína Cas, **Cas9**, para escindir el ADN del virus. Charpentier muestra que la molécula de ARN, que denomina **ARN *crispr* trans-activador (ARN *tracr*)**, también tiene una función decisiva, es necesario para que el ARN que se crea a partir de la secuencia CRISPR en el genoma evolucione hacia su forma activa (figura 2).

El sistema inmunológico natural del estreptococo contra los virus: CRISPR/Cas9

Figura 2

Cuando los virus infectan una bacteria depositan su ADN. Si la bacteria sobrevive a la infección inserta una parte del ADN del virus en su genoma, como un recuerdo del virus. Este ADN luego se usa para proteger a la bacteria de nuevas infecciones.



Después de una experimentación intensiva y específica, Emmanuelle Charpentier publica el descubrimiento de *ARN tracr* en marzo de 2011. Sabe que está tras la pista de algo importante. Tiene muchos años de experiencia en microbiología, pero en su investigación del sistema CRISPR-Cas9 necesita la colaboración de un bioquímico. Jennifer Doudna es la elección más lógica. Así que esa primavera, cuando Charpentier es invitada a una conferencia en Puerto Rico para hablar sobre su trabajo, su objetivo es conocer a esta hábil investigadora de Berkeley.

Una reunión en un café puertorriqueño que te cambiará la vida

El segundo día del congreso se encuentran por casualidad en un café. Un colega de Doudna las presenta y, al día siguiente, Charpentier propone que visiten juntas la zona antigua de la capital. Mientras pasean por las calles adoquinadas, comienzan a hablar sobre sus investigaciones. Charpentier pregunta si Doudna está interesada en una colaboración: ¿te gustaría participar en el estudio de la función de Cas9 en el sistema simple de clase 2 de *S. pyogenes*?

Jennifer Doudna se muestra interesada y mediante reuniones digitales se pone en contacto con su equipo para iniciar el proyecto. La sospecha es que el CRISPR-ARN es necesario para identificar el ADN de un virus y que Cas9 es la tijera que corta la molécula de ADN. Sin embargo las pruebas in vitro no lo confirman. La molécula de ADN permanece intacta. ¿Por qué? ¿Hay algún problema con las condiciones experimentales? ¿O Cas9 tiene una función completamente diferente?

Después de muchas discusiones y numerosos experimentos fallidos añaden *ARN tracr* a sus pruebas. Se creía que el *ARN tracr* solo era necesario cuando CRISPR-ARN se escindía en su forma activa (figura 2), pero una vez que Cas9 tuvo acceso a *ARN tracr*, sucedió lo que todos esperaban: la molécula de ADN se dividió en dos partes.

Las soluciones que la evolución adopta a menudo sorprenden a los investigadores, pero esto fue algo extraordinario. La herramienta que los estreptococos han desarrollado como protección contra los virus es simple y efectiva, brillante incluso. La historia de las tijeras genéticas podría haberse detenido aquí; Charpentier y Doudna habían descubierto, en una bacteria que causa un gran sufrimiento a la humanidad, un mecanismo fundamental. Ese descubrimiento fue asombroso en sí mismo, pero el azar favorece a las mentes preparadas.

Un experimento que hace época

Los investigadores deciden intentar simplificar las tijeras genéticas. Usando lo que conocen sobre *ARN tracr* y CRISPR-ARN, descubrieron cómo fusionar los dos en una sola molécula, a la que llamaron **ARN guía**. Con esta variante simplificada de las tijeras genéticas emprenden un experimento que hace época, investigan si pueden controlar esta herramienta genética para que corte el ADN en un lugar previamente seleccionado.

Saben que están cerca de un gran avance. Toman un gen en el laboratorio de Doudna y seleccionan cinco lugares diferentes donde el gen debe dividirse. Luego cambian la parte CRISPR de las tijeras para que su código coincida con el código donde se realizarán los cortes (figura 3). El resultado fue extraordinario. Las moléculas de ADN se escindieron exactamente en los lugares seleccionados.

Las tijeras genéticas cambian las ciencias de la vida

Poco después de que Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna publicaran su descubrimiento de las tijeras genéticas CRISPR-Cas9 en 2012, varios grupos de investigación demuestran que esta herramienta se puede utilizar para modificar el genoma de las células, tanto de ratones como de humanos, lo que lleva a un desarrollo explosivo. Hasta la fecha cambiar los genes de una célula, planta u organismo requería mucho tiempo y, a veces, era imposible. Usando las tijeras genéticas los investigadores pueden, en principio, hacer los cortes que deseen en el genoma. Después de esto es fácil utilizar los sistemas naturales de la célula para la reparación del ADN de manera que reescriban el código de la vida (figura 3).

Debido a que esta herramienta genética es tan fácil de usar, actualmente está muy extendida en la investigación básica. Se utiliza para cambiar el ADN de células y animales de laboratorio con el fin de comprender cómo funcionan e interactúan los diferentes genes, por ejemplo, durante el curso de una enfermedad.

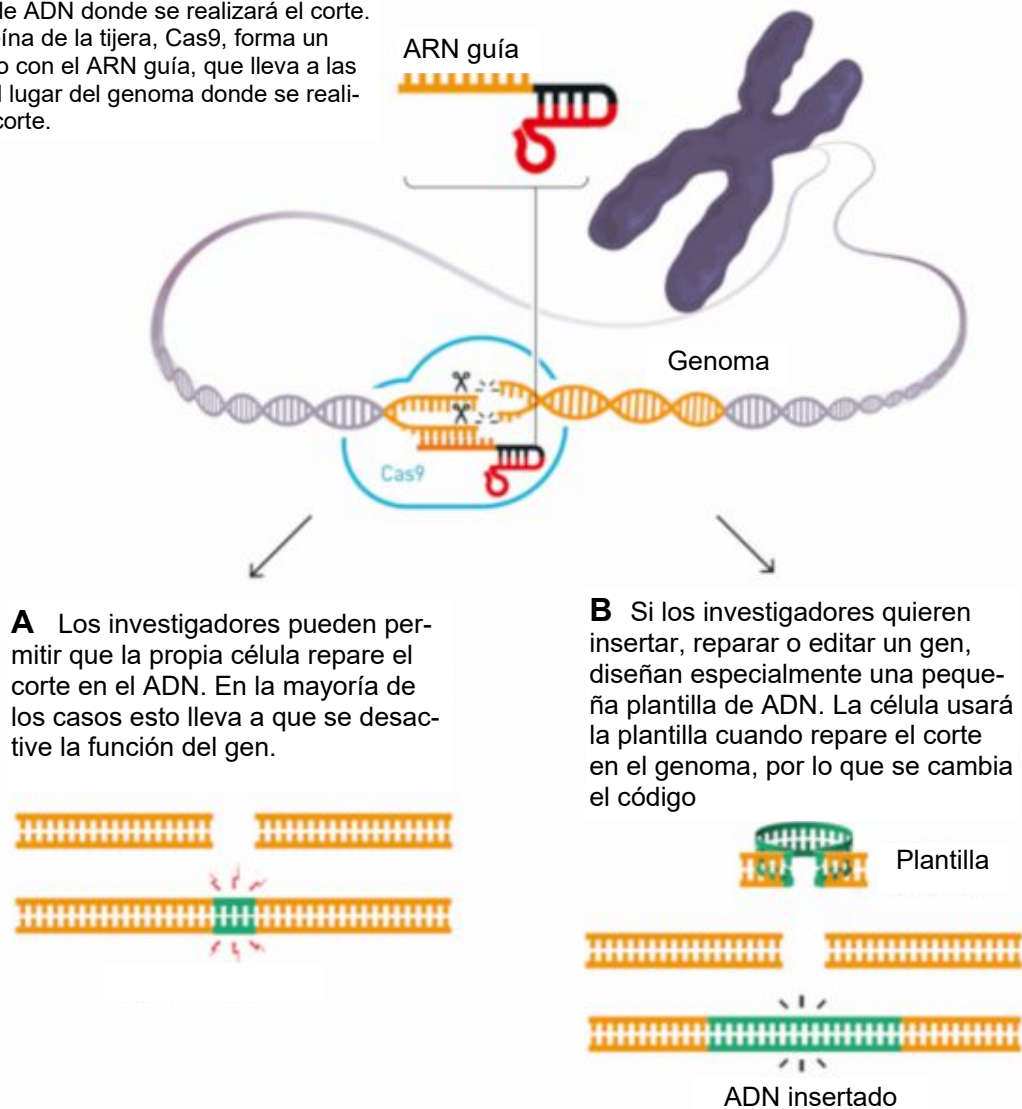
Las tijeras genéticas también se han convertido en una herramienta estándar en el mejoramiento de los cultivos. Los métodos utilizados anteriormente por los investigadores para modificar los genomas de las plantas a menudo requerían la adición de genes que podían producir resistencia a los antibióticos. Cuando se realizan los cultivos existe el riesgo de que esta resistencia a los antibióticos se extienda a los microorganismos circundantes. Gracias a las tijeras genéticas los investigadores ya no necesitan utilizar estos métodos, ya que ahora pueden realizar cambios muy precisos en el genoma. Entre otras cosas han editado los genes que hacen que el arroz absorba metales pesados del suelo, lo que lleva a variedades mejoradas de arroz con niveles más bajos de cadmio y arsénico. Los investigadores también han desarrollado cultivos

que resisten mejor la sequía en un clima más cálido y que resisten insectos y plagas que de otro modo tendrían que ser combatidos con pesticidas.

Las tijeras genéticas CRISPR/Cas9

Cuando los investigadores van a editar un genoma usando las tijeras genéticas, construyen un ARN guía, que coincide con el código de ADN donde se realizará el corte. La proteína de la tijera, Cas9, forma un complejo con el ARN guía, que lleva a las tijeras al lugar del genoma donde se realizará el corte.

Figura 3



Una esperanza para curar enfermedades hereditarias

En medicina las tijeras genéticas están contribuyendo a desarrollar nuevas inmunoterapias para el cáncer y se están realizando ensayos para hacer realidad un sueño: curar enfermedades hereditarias. Ya se están realizando ensayos clínicos para investigar si se puede usar CRISPR-Cas9 para tratar enfermedades de la sangre como la anemia falciforme y la beta talasemia, así como enfermedades oculares hereditarias.

También se están desarrollando métodos para reparar genes en órganos grandes, como el cerebro y los músculos. Los experimentos con animales han demostrado que virus especialmente diseñados pueden llevar las tijeras genéticas a las células deseadas, tratando modelos de enfermedades hereditarias devastadoras como la distrofia muscular, la atrofia muscular espinal y la enfermedad de Huntington. Sin embargo, se necesita mejorar esta tecnología antes de que pueda probarse en humanos.

El poder de las tijeras genéticas requiere regulación

A pesar de los beneficios que comportan, las tijeras genéticas también pueden ser mal utilizadas. Se pueden utilizar, por ejemplo, para crear embriones modificados genéticamente. Sin embargo, durante muchos años, ha habido leyes y regulaciones que controlan la aplicación de la ingeniería genética, que incluyen prohibiciones de modificar el genoma humano de una manera que permita heredar los cambios. Además, los experimentos que involucran a humanos y animales siempre deben ser revisados y aprobados por comités de ética antes de que se lleven a cabo.

Una cosa es cierta: esta tecnología nos afectan a todos. Enfrentaremos nuevos problemas éticos, pero esta nueva herramienta bien puede contribuir a resolver muchos de los desafíos que ahora enfrenta la humanidad. A través de su descubrimiento, **Emmanuelle Charpentier** y **Jennifer Doudna** desarrollaron una herramienta que ha llevado las ciencias de la vida a una nueva época. Nos han hecho contemplar un vasto horizonte de potencial inimaginable y, en el camino, mientras exploramos este nuevo territorio, tenemos la garantía de realizar descubrimientos nuevos e inesperados.

OTRAS LECTURAS

En el sitio web de la Real Academia Sueca de Ciencias, www.kva.se, y *en* www.nobelprize.org, se puede obtener información adicional sobre los premios de este año, incluidos vídeos de las conferencias de prensa, las *Nobel Lectures* y más. La información sobre exposiciones y actividades relacionadas con los Premios Nobel y el Premio de Ciencias Económicas está disponible en www.nobelprizemuseum.se

La Real Academia de Ciencias de Suecia ha decidido otorgar el Premio Nobel de Química 2020 a

<p>EMMANUELLE CHARPENTIER</p> <p>Born 1968 in Juvisy-sur-Orge, France. Ph.D. 1995 from Institut Pasteur, Paris, France. Director of the Max Planck Unit for the Science of Pathogens, Berlin, Germany</p>	<p>JENNIFER A. DOUDNA</p> <p>Born 1964 in Washington, D.C, USA. Ph.D. 1989 from Harvard Medical School, Boston, USA. Professor at the University of California, Berkeley, USA and Investigator, Howard Hughes Medical Institute.</p>
<p><i>“Por el desarrollo de un método para la edición del genoma”</i></p>	