

## La revolución de los CRISPR, o cómo nuevamente una rareza microbiana se convierte en una herramienta revolucionaria que permite editar cualquier genoma

María Julia Pettinari

*Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.*

*Universidad de Buenos Aires. IQUIBICEN. CONICET. Buenos Aires. Argentina*

jul@qb.fcen.uba.ar

Las siglas CRISPR corresponden al nombre en inglés que se le dio a estas particulares secuencias, que significa aproximadamente: repeticiones palindrómicas agrupadas espaciadas a intervalos regulares (Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats). Estas secuencias, que fueron descubiertas hace unos 20 años en microorganismos, se han convertido rápidamente en una herramienta de Ingeniería Genética tan útil como las enzimas de restricción. Paradójicamente, éstas también son de origen microbiano, y su historia es similar, ya que su descubrimiento se produjo hace menos de 50 años a consecuencia de otro fenómeno que inicialmente era de interés exclusivo de los microbiólogos: los sistemas utilizados por las bacterias para defenderse de los bacteriófagos (virus bacterianos) y otros ácidos nucleicos invasores [1].

La historia de las CRISPR comienza, como en muchos casos, con una simple observación, el descubrimiento de un grupo de secuencias particulares en el genoma del microorganismo *Haloferax mediterranei*. El científico que realizó esta observación inicial, Francisco Mojica, encontró luego estructuras similares en muchos otros microorganismos, y a raíz de ello comenzó a buscar una posible función a estas regiones [2].



Figura 1. Estructura de las regiones CRISPR. Las repeticiones están representadas por rombos negros, y las regiones espaciadoras en color.

La primera pista se obtuvo al descubrir que algunas de las regiones situadas entre las repeticiones (denominadas espaciadores) eran similares a secuencias encontradas en bacteriófagos (figura 1). Esto también fue observado por otros grupos de investigación independientes, y llevó a proponer que estas estructuras, que para entonces ya habían sido denominadas CRISPR, podrían constituir una especie de “sistema inmune” de los microorganismos [3].

Varios grupos de investigación siguieron analizando la posible función de estos sitios. Dentro de ellos se destacan grupos que trabajaban en bacterias utilizadas en la industria láctea, susceptibles de ataques por bacteriófagos, con las consecuentes pérdidas económicas. Frente a esta problemática, resultaba de sumo interés estudiar un posible mecanismo de resistencia que pudiera evitar la lisis de los cultivos [3]. A partir de estos estudios se observó que los CRISPR permitían a los microorganismos tomar fragmentos de información (ácidos nucleicos) de los invasores y guardar estos fragmentos en “archivos de memoria de infecciones pasadas”, para luego utilizar la información contenida en esos archivos para reconocer y atacar a los invasores, cortando sus ácidos nucleicos en los sitios reconocidos.

El análisis de los mecanismos de acción y los componentes de estos sistemas revelaron una cantidad relativamente pequeña de elementos, lo que permitió el diseño de protocolos para poder utilizar el sistema *in vitro* primero, y transferirlo más tarde a otros organismos [4]. Entre los diferentes sistemas CRISPR descritos, cada uno con elementos y mecanismos diferentes, pronto se destacó uno cuyas características lo hicieron ideal para ser utilizado para numerosas aplicaciones. Se trata del sistema CRISPR de tipo II de la bacteria láctica *Streptococcus thermophilus* y el componente principal del sistema, la enzima multifuncional Cas9. En esta etapa otros investigadores, expertos en proteínas e interacciones moleculares, se sumaron a los microbiólogos y biólogos moleculares y

obtuvieron diferentes variantes de la enzima Cas9, posibilitando numerosas manipulaciones en todo tipo de organismos diferentes.

En los últimos 2 o 3 años los avances en esta tecnología han sido muy rápidos, y debido a su versatilidad y sencillez esta se convirtió rápidamente en la herramienta más conveniente para la manipulación de genomas. Mediante técnicas basadas en CRISPR se ha logrado eliminar, cambiar o agregar información a células de diferentes organismos, incluyendo humanos. Mientras el mundo está tratando de generar un marco ético que permita regular esta nueva tecnología, un grupo de científicos chinos ya ha realizado la primera prueba terapéutica utilizando CRISPR para modificar células de un paciente humano [5].


Tal como en los años 70 las enzimas de restricción abrieron la posibilidad de cortar y pegar fragmentos de ácidos nucleicos, iniciando la era de la ingeniería genética, otro sistema de defensa bacteriano, los CRISPR, proveen a inicios del siglo XXI una herramienta que facilita fundamentalmente la manipulación de genomas. Después de millones de años de silenciosa actividad dentro de las bacterias, los sistemas de defensa microbianos ahora en manos de los científicos abren enormes posibilidades. Al igual que otros grandes avances tecnológicos, deben ser usados con precaución y responsabilidad, de manera de que puedan contribuir a lograr los enormes beneficios para toda la humanidad que prometen.

## Referencias

1. **Smith HO, Wilcox KW** (Jul 1970). "A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae*. I. Purification and general properties". *Journal of Molecular Biology* 51 (2): 379–91.
2. **Mojica, F.J.M., Díez-Villaseñor, C., Soria, E., and Juez, G.** (2000). Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Mol. Microbiol.* 36, 244–246.
3. **Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D.A., and Horvath, P.** (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315, 1709–1712.
4. **Wright, A. V., Nuñez, J. K., & Doudna, J. A.** (2016). Biology and Applications of CRISPR Systems: Harnessing Nature's Toolbox for Genome Engineering. *Cell*, 164(1), 29-44.

5. **Cyranoski, David.** (2016) CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. Nature news  
doi:10.1038/nature.2016.20988

**La autora es directora adjunta de Química Viva, profesora e investigadora de CONICET**

 <p>ISSN 1666-7948 <a href="http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar">www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar</a></p>	<p><i>Revista <b>QuímicaViva</b></i> <i>Número 3, año 15, diciembre 2016</i> <a href="mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar"><u>quimicaviva@qb.fcen.uba.ar</u></a></p>
--	--