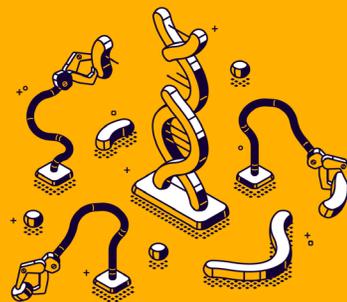


EDICIÓN GENÓMICA CON CRISPR/CAS9: PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2020



Braulio Edgar Herrera-Cabrerd, Rafael Salgado-Garciglia², Luis German López-Valdez³, César Reyes⁴, Jorge Montiel-Montoya⁵, Fabiola Zaragoza-Martínez⁶, Gonzalo Guillermo Lucho-Constantino⁷ Hebert Jair Barrales-Cureño²

La Real Academia Sueca de Ciencias otorgó el Premio Nobel de Química 2020 a dos científicas, la Dra. Emmanuelle Charpentier de la Unidad Max Planck para la Ciencia de los Patógenos (Berlín, Alemania), y la Dra. Jennifer A. Doudna de la Universidad de California (Berkeley, Estados Unidos), por el desarrollo de un método para la edición del genoma, una de las herramientas más resonantes de la última década: las tijeras genéticas CRISPR/Cas9. Actualmente, los científicos pueden modificar el ADN de animales, plantas y microorganismos con una precisión extremadamente alta. La nueva tecnología CRISPR/Cas9 también tiene un impacto revolucionario en la medicina humana, y contribuye a generar nuevas terapias contra el cáncer e, incluso, a curar enfermedades hereditarias. Los objetivos del presente trabajo son mencionar los antecedentes, la importancia del descubrimiento de la edición genómica con CRISPR/Cas9, el mecanismo molecular y las aplicaciones actuales de esta valiosa herramienta biotecnológica en humanos, animales, plantas y microorganismos.

Palabras clave: Edición genómica, endonucleasas, fagémidos, impulsores genéticos, Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas.

The Royal Swedish Academy of Sciences awarded the 2020 Nobel Prize in Chemistry to two scientists, Dr. Emmanuelle Charpentier of the Max Planck Unit for Pathogen Science (Berlin, Germany), and Dr. Jennifer A. Doudna of the University of California (Berkeley, USA), for the development of a method for genome editing, one of the most resonant tools of the last decade: CRISPR/Cas9 genetic scissors. Nowadays, scientists can change the DNA of animals, plants and microorganisms with extremely high precision. The new CRISPR/Cas9 technology also has a revolutionary impact on human medicine, helping to generate new cancer therapies and even curing inherited diseases. The objectives of the present work are to mention the background, the importance of the discovery of genomic editing with CRISPR/Cas9, the molecular mechanism and the current applications of this valuable biotechnological tool in humans, animals, plants and microorganisms.

Keywords: Genomic editing, endonucleases, phagemids, gene drive, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats.

¹Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores No 205 Santiago Momoxpan, Puebla. C.P. 72760.

 <https://orcid.org/0000-0001-9670-8721>

²Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edificio B-3, Ciudad Universitaria, 58030, Morelia, Michoacán, México. Corresponding author:

hebert.jair@uipe.edu.mx; hebert.barrales@umich.mx

 <https://orcid.org/0000-0002-8431-2102>

 (Rafael Salgado): <https://orcid.org/0000-0001-5920-6562>

³Laboratorio de Productos Naturales, Área de Química. AP74 Oficina de correos Chapingo, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Texcoco, Estado de México, México.

 <https://orcid.org/0000-0002-3238-5035>

⁴Universidad Intercultural del Estado de Puebla, Calle Principal a Li-puntahuaca S/N, 73475, Puebla, México.

 <https://orcid.org/0000-0001-9016-8672>

⁵Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional Unidad Sinaloa, Boulevard Juan de Dios Bátiz 250, Col. San Joaquín, Guasave, Sinaloa, México.

 <https://orcid.org/0000-0002-4089-8033>

⁶Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, Gustavo A. Madero, 07360, Ciudad de México, México. Indicar

 <https://orcid.org/0000-0002-6341-7028>

⁷Universidad Tecnológica de Gutiérrez Zamora, Veracruz. Prolongación Dr. Miguel Patiño S/N, Centro, 93556, Veracruz, México.

 <https://orcid.org/0000-0002-2857-8352>



La secuenciación del Genoma Humano se realizó en el 2003, año en el cual también se elucidó el código genético con el que está programado nuestro organismo, lo cual abrió las puertas a que este pudiera ser editado. Las ganadoras del Premio Nobel de Química 2020, las Doctoras Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna descubrieron las tijeras genéticas CRISPR/Cas9, una de las herramientas más importantes de la edición genética, y que han revolucionado el panorama biotecnológico porque permiten editar el código genético con sencillez y gran rapidez. Actualmente, el nombre CRISPR se usa en varios escenarios científicos¹⁻³, siendo esta una técnica cada vez más depurada de edición genómica. La tecnología CRISPR/Cas9 se inspiró en un proceso que se descubrió en los organismos más antiguos del planeta: arqueas y bacterias⁴⁻⁵. Las arqueas usan a CRISPR/Cas9 como un sistema de defensa contra los virus. Cuando las arqueas son infectadas por un virus, el complejo CRISPR/Cas9 corta su material genético y los elimina. ¿Qué es, entonces, CRISPR/Cas9? Es un sistema de elementos genéticos que incluye unas enzimas llamadas Cas (*CRISPR-associated*), las cuales funcionan como tijeras moleculares que cortan y modifican el ADN con un alto grado de precisión y especificidad. Fue 2012 el año en el que estos conocimientos sobre CRISPR/Cas9 se adaptaron para ser usados como una herramienta biotecnológica. Esta tecnología se utiliza para

modificar los genomas de infinidad de especies como células humanas en cultivo⁶⁻⁹, bacterias¹⁰, nematodos¹¹, gusanos de seda¹², ascidias¹³, pez cebra¹⁴, anfibios¹⁵, roedores¹⁶ y plantas¹⁷⁻¹⁸. Las posibilidades que abre esta herramienta para la medicina son innumerables, desde el tratamiento del cáncer¹⁹ hasta incluso la modificación genética de ciertos mosquitos para que no puedan transmitir la malaria²⁰. Los objetivos del presente trabajo son mencionar los principales antecedentes, la importancia del descubrimiento de la tecnología CRISPR/Cas9, el mecanismo molecular y las aplicaciones actuales en humanos, animales, plantas y microorganismos.

ANTECEDENTES

La Dra. Emmanuelle Charpentier descubrió en el año 2011 una molécula previamente desconocida, el *trans-activating CRISPR-RNA*, en la bacteria *Streptococcus pyogenes* (patógeno humano que causa faringitis, otitis, mastitis, escarlatina, erisipela y fiebre reumática). Ese mismo año, inició una colaboración con la Dra. Jennifer Doudna, a la cual conoció en un congreso en Puerto Rico, una bioquímica experimentada con un vasto conocimiento en biología estructural y ARN, que utilizó cristalografía y microscopía crioelectrónica para determinar la estructura de los componentes de un sistema CRISPR/Cas9. Juntas,

- Martínez Oliva, B.G. CRISPR, Una herramienta para editar genomas. *Gaceta Médica Boliviana*, **2020**, *43*, (2): 179-183.
- Jinek, M.; Jinek, M.; Taylor, W.D.; Sternberg, H.S.; Kaya, E.; Ma, E.; Anders, C.; Hauer, M.; Zhou, K.; Lin, S.; Kaplan, M.; Iavarone, T.A.; Charpentier, E.; Nogales, E.; Doudna, A.J. Structures of Cas9 endonucleases reveal RNA-mediated conformational activation. *Science*, **2014**, *343* (6176), 1215-1226.
- Nishimasu, H.; Ran, A.F.; Hsu, D.P.; Konermann, S.; Shehata, I.S.; Dohmae, N.; Ishitani, R.; Zhang, F.; Nureki, O.; Less, S. Crystal structure of Cas9 in complex with guide RNA and target DNA. *Cell*, **2014**, *156* (5), 935-949.
- Mojica, F.J.M.; Juez, G.; Rodríguez-Valera, F. Transcription at different salinities of *Haloflex mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. *Molecular Microbiology*, **1993**, *9*, 613-621.
- Mojica, F.J.M.; Ferrer, C.; Juez, G.; Rodríguez-Valera, F. Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the Archaea *haloflex mediterranei* and *Haloflex volcanii* and could be involved in replicon partitioning. *Molecular Microbiology*, **1995**, *17*, 85-93.
- Cho, S.W.; Kim, S.; Kim, M.J.; Jin-Soo, K. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nature biotechnology*, **2013**, *31* (3), 230-232.
- Cong, L.; Ran, A.F.; Cox, D.; Lin, S.; Barretto, R.; Habib, N.; Hsu, D.P.; Wu, X.; Jiang, W.; Marraffini, A.L.; Zhang, F. Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. *Science*, **2013**, *339* (6121), 819-823.
- Jinek, M.; East, A.; Cheng, A.; Lin, S.; Ma, E.; Doudna, J. RNA-programmed genome editing in human cells. *eLife*, **2013**, *2*, 1-9.
- Yang, H.; Wang, H.; Shivalila, C.S.; Cheng, A.W.; Shi, L.; Jaenisch, R. One-Step Generation of Mice Carrying Reporter and Conditional Alleles by CRISPR/Cas-Mediated Genome Engineering. *Cell*, **2013**, *154*, 6, 1370-1379.
- Jiang, W.; Bikard, D.; Cox, D.; Zhang, F. Marraffini, L.A. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nature Biotechnology*, **2013**, *31*: 233-239.
- Friedland, A.E.; Tzur, B.Y.; Esvelt, M.K.; Colaiácovo, P.M.; Church, M.G.; Calarco, J.A. Heritable genome editing in *C. elegans* via a CRISPR-Cas9 system. *Nature methods*, **2013**, *10* (8), 741-3.
- Ma, S.; Chang, J.; Wang, X.; Liu, Y.; Zhang, J.; Lu, W.; Gao, J.; Shi, R.; Zhao, P.; Xia, Q. CRISPR/Cas9 mediated multiplex genome editing and heritable mutagenesis of BmKu70 in *Bombyx mori*. *Scientific Reports*, **2014**, *4*, 1-6.
- Sasaki, H.; Yoshida, K.; Hozumi, A.; Sasakura, Y. CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Development, Growth & Differentiation*, **2014**, *56* (7), 499-510.
- Hwang, W.Y.; Fu, Y.; Reyon, D.; Maeder, M.L.; Kaini, P.; Sander, D.J.; Joung, K.J.; Peterson, T.R.; Jinek, R.; Rhee, J.Y. Heritable and Precise Zebrafish Genome Editing Using a CRISPR-Cas System. *PLoS ONE*, **2013**, *8* (7), 1-9.
- Nakayama, T.; Fish, B.M.; Fisher, M.; Oomen-Hajagos, J.; Thomsen, H.G.; Grainger, M.R. Simple and efficient CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in *Xenopus tropicalis*. *Genesis*, **2013**, *51* (12), 835-843.
- Wang, H.; Yang, H.; Shivalila, S.C.; Dawlaty, M.M.; Cheng, W.A.; Zhang, F.; Jaenisch, R. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by crispr/cas-mediated genome engineering. *Cell*, **2013**, *153*, (4), 910-918.
- Xie, F.; Ye, L.; Chang, C.J.; Beyer, I.A.; Wang, J.; Muench, O.M.; Kan, W.Y. Seamless gene correction of β -thalassemia mutations in patient-specific iPSCs using CRISPR/Cas9 and piggyBac. *Genome Research*, **2014**, *24*, (9): 1526-33.
- Jiang, W.; Bikard, D.; Cox, D.; Zhang, F.; Marraffini, A.L. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nature biotechnology*, **2013**, *31* (3), 233-239.
- Yin, H.; Xue, W.; Anderson, D.G. CRISPR-Cas: a tool for cancer research and therapeutics. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **2019**, *16*, (5): 281-295.
- Kyrou, K.; Kyrou, K.; Hammond, M.A.; Galizi, R.; Kranjc, N.; Burt, A.; Beaghton, K.A.; Nolan, T.; Crisanti, A. A CRISPR-Cas9 gene drive targeting *dou-blex* causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nature Biotechnology*, **2018**, *36*, 1062-1066.

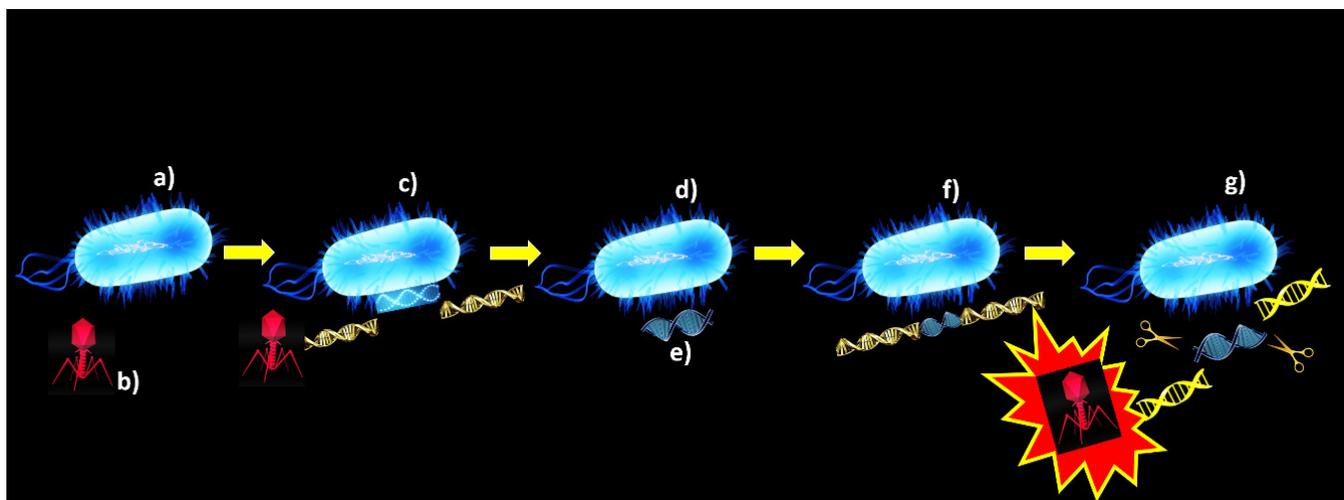


Figura 1. Proceso de generación de secuencias CRISPR en una bacteria. a) Bacteria que va a ser atacada, b) virus listo para el ataque, c) En caso de ataque, la bacteria es capaz de capturar extractos de ADN del virus que la invade, d) La bacteria crea entonces secuencias de ADN llamadas CRISPR, e) Las CRISPR permiten a la bacteria “recordar” el ataque del virus, f) Si el virus ataca de nuevo, la bacteria produce un segmento de ARN (molécula biológica) desde las CRISPR para atacar el ADN del virus, g) La bacteria utiliza luego una enzima llamada Cas9 para cortar el ADN del virus y desactivarlo. Imagen: H. J. Barrales.

lograron recrear las tijeras genéticas de la bacteria en un tubo de ensayo y simplificaron los componentes moleculares de las tijeras para que fueran más sencillas y fáciles de usar. El tracrRNA descubierto por la Dra. Emmanuelle Charpentier en conjunto con Jörg Vogel, es el encargado de reconocer las secuencias repetitivas en el ADN y forma parte del antiguo sistema inmunológico de las bacterias, CRISPR/Cas9, que desarma los virus al dividir su ADN y les confiere resistencia frente a estos y otros patógenos (**Figura 1**).

En 2012, ambas científicas publicaron un artículo en la revista *Science* que dio la vuelta al mundo, titulado: “A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity”²¹. Tras decidir trabajar juntas, acumularon nueva información: que Cas9 cortaba ADN purificado in vitro, que podía ser programado con ARN diseñado en laboratorio, que tanto el crRNA como el tracrRNA eran necesarios para que Cas9 hiciera su labor, y que ambos tipos de ARN podían fusionarse como una guía simple en una nueva molécula conocida como sgRNA, que es la forma en que se aplicaría el sistema para la edición de genomas. Para ello, se sintetiza la secuencia de 20 bases complementaria al ADN que se quiere modificar unida a un fragmento de repetición (todo ello junto forma la sgRNA), y se combina con Cas9. Una parte es la guía y la otra la tijera. Para que todo este proceso tenga lugar, es necesario que junto al lugar donde se quiere hacer el corte en el ADN, haya una secuencia especial de los nucleótidos, que es lo que se conoce como PAM (motivo protoespaciador adyacente)²².

QUÉ ES Y CÓMO ES EL MECANISMO MOLECULAR DE LAS TIJERAS GENÉTICAS

El CRISPR/Cas9 es un mecanismo de inmunidad adaptativa propio de bacterias y arqueas que proporciona una defensa frente a material genético invasor. El mecanismo funciona al incorporar secuencias cortas del genoma de virus y otros elementos genéticos móviles en el locus CRISPR/Cas9 del huésped, que se transcriben y procesan en pequeños ARN que guían a las nucleasas para destruir el material genético invasor²³. La hebra guía reconoce a la secuencia de ADN que se quiere cortar y que debe estar junto a una secuencia PAM, y gracias al resto de la hebra guía (crRNA), Cas9 corta el ADN en el punto seleccionado. Después intervienen los mecanismos propios de reparación del ADN (**Figura 2**). La enzima Cas corresponde a un locus asociado al CRISPR/Cas9 que codifica para proteínas nucleasas²⁴. El acrónimo CRISPR/Cas9 (del inglés *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, o en español, Repeticiones Palindrómicas Cortas y Regularmente Interespaciadas) hace referencia a una serie de secuencias de ADN que se leen igual en sentido 5’-3’ y en sentido 3’-5’ (**Figura 3**), y que contienen las secuencias que las bacterias han adquirido después de haberse enfrentado previamente a virus o a cualquier material genético considerado como perjudicial para el microorganismo, separadas por repeticiones directas. El acrónimo CRISPR/Cas9 es ampliamente utilizado, aun a sabiendas de que ni todas las secuencias son simétricas en

21. Jinek, M.; Chylinski, K.; Fonfara, I.; Hauer, M.; Doudna, J.A.; Charpentier, E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity, *Science*, **2012**, *17*, 816-821.

22. Fernández Bayo I. CRISPR. Crónica de una revolución genética. *Enlace de los químicos de Madrid*. **2017**, *41*, 1-9.

23. Hryhorowicz, M.; Lipiński, D.; Zeyland, J.; Slomski, R. CRISPR/Cas9 Immune System as a Tool for Genome Engineering. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, **2016**, *65*, (3): 233-240.

24. López M. Y. **2015**, Ingeniería genómica mediante sistemas CRISPR-Cas. Trabajo fin de Grado. Universidad de Alicante.

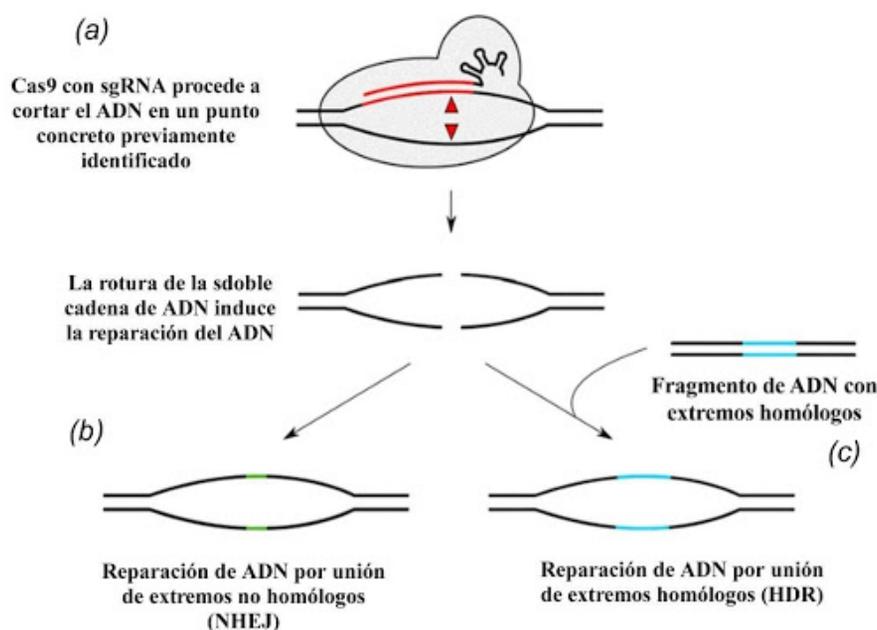


Figura 2. Fundamento básico de la tecnología CRISPR-Cas9. (a) Cas9 es guiada por un sgRNA para inducir una rotura de doble cadena de ADN en un locus genómico deseado. (b) El daño en el ADN puede ser reparado por unión de extremos no homólogos (NHEJ, *non-homologous end joining*) dando lugar a inserciones o deleciones cortas al azar en el sitio objetivo. Este tipo de inserciones produce habitualmente el *knock out* de algunos genes. Alternativamente, (c) se puede insertar una secuencia de ADN que muestre una complementariedad parcial con el sitio objetivo, lo que se conoce como reparación dirigida por homología (HDR, *homology-directed repair*). En esta alternativa, el ADN insertado contiene una secuencia de interés (marcada en azul) para lograr una edición precisa del genoma en una situación posterior. (adaptado de: Hille, F.; Charpentier, E. CRISPR-Cas: biology, mechanisms and relevance. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 2016, 371: 1-12. Licencia CC by 4.0. <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rstb.2015.0496>)

5'-GAATTC-3'
3'-CTTAAG-5'

Figura 3. Ejemplo de una secuencia palindrómica de ADN.

su totalidad ni mucho menos las repeticiones son palíndromos verdaderos en todos los casos, sino que, más bien, esto constituye la excepción²⁵.

En su forma natural, las tijeras reconocen el ADN de los virus, pero las dos doctoras demostraron que se pueden controlar para poder cortar cualquier molécula de ADN en un lugar predeterminado, lo que permite modificar el código genético de cualquier ser vivo, incluido el de nuestra especie. Es decir, con las tijeras moleculares se puede cortar el ADN para eliminar o incluir fragmentos y reescribir el código de la vida.

Modificar los genes en las células para descubrir el funcionamiento interno de la vida solía ser un trabajo que consumía mucho tiempo y era bastante complejo. Usando las tijeras genéticas CRISPR/Cas9, es posible cambiar el ADN en el curso de unos meses o incluso en pocas semanas. La revolucionaria técnica CRISPR/Cas9 deja atrás a sus predecesoras superando la necesidad de las anteriores técnicas de rediseñar mediante ingeniería cada proteína de

unión a ADN con cada secuencia diversa de ADN objetivo, limitándose en el caso de CRISPR/Cas9 a la obtención de una secuencia de RNA guía apropiada a cada ADN objetivo.

APLICACIONES DE LASTIJERAS GENÉTICAS

Las “tijeras moleculares” son capaces de cortar, pegar y editar el ADN, siempre que se conozca la secuencia objetivo y que el punto seleccionado para la modificación se encuentre junto a un motivo PAM. A continuación, se presentan algunas de las principales aplicaciones de la tecnología CRISPR/Cas9 en humanos, animales, plantas, microorganismos, insectos y alimentos.

Humanos

En medicina, la herramienta de edición del genoma CRISPR/Cas9 es de gran interés para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades genéticas, virales, cardíacas, mentales y oncológicas. Actualmente, con el sistema CRISPR/Cas9 se explora e investiga una amplia variedad de padecimientos y se emplea exitosamente para corregir las mutaciones, incluidos los trastornos de un solo gen, como la fibrosis quística, la hemofilia, la enfermedad de células falciformes, distrofia muscular y también para eliminar enfermedades virales como el virus de la hepatitis B y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), así como enfermedades mentales como el Alzheimer, e incluso la enfermedad de β -talasemia en líneas celulares humanas²⁶.

Con la tecnología CRISPR/Cas9 no se necesitan a las células madre o fibroblastos, sino que se trabaja directamente en el embrión, inyectando los componentes de

25. Mojica, F.J.M.; Garret, R.A. 2013, Discovery and Seminal Developments in the CRISPR Field. En CRISPR-Cas Systems RNA-Mediated Adaptive Immunity in Bacteria and Archaea. Barrangou, R. y van der Oost, J., eds. Springer, p. 299.

CRISPR/Cas9 para generar el “knock-out” (desactivación de uno o más genes)²⁷. La tecnología CRISPR/Cas9 posibilita la generación de modelos animales genéticamente modificados en especies muy diferentes, cuando anteriormente estaba limitado a ratas y ratones, lo que permite obtener, por ejemplo, modelos para el estudio de enfermedades humanas.

La tecnología CRISPR/Cas9 se puede combinar con la inmunoterapia, un nuevo tratamiento del cáncer que mejora células humanas inmunes mediante manipulación genética, dotándolas de unas moléculas especializadas que detectan los marcadores específicos de cáncer y así poder eliminar células cancerosas del cuerpo. Las aplicaciones de CRISPR/Cas9 han revolucionado los laboratorios de todo el mundo por sus innovadoras aplicaciones: permite realizar análisis sistemáticos de funciones de genes de células de mamíferos, estudios de rearreglos y progresión de cánceres y otras enfermedades, corregir mutaciones responsables de desórdenes hereditarios²⁷, e inclusive hacer diagnósticos en biomedicina²⁸. En el área de la investigación biomédica, también se ha usado para producir especies de monos modificadas donde se pueden imitar más fielmente los defectos genéticos humanos con objeto de poder estudiarlos mejor y así corregir enfermedades²⁹. Asimismo, ha demostrado ser útil para conseguir nuevos modelos de perros para investigación, pero también podría usarse para conseguir perros con rasgos favorables para otros fines³⁰. La tecnología CRISPR/Cas9 se ha utilizado también en cerdos, por ejemplo, para que sus tejidos puedan ser compatibles con los del ser humano y, por tanto, trasplantables.

Animales

La herramienta de edición genética CRISPR/Cas9 también presenta multitud de útiles aplicaciones en el ámbito de la producción animal. La tecnología CRISPR/Cas9, por ejemplo, es un gran avance en investigación ganadera porque permite realizar mejoras genéticas en animales de

consumo. Por ejemplo, con este sistema se pueden replicar las características de vacas con los mejores fenotipos, como pueden ser ciertas variantes del gen de la miostatina (proteína relacionada con el desarrollo muscular), que dan lugar a un mayor desarrollo muscular, característica deseable para la producción de carne. Pero la gran ventaja de la tecnología CRISPR/Cas9 es que permite reproducir exactamente el mismo alelo que ya existe de forma natural o generar otro diferente sin dejar rastro en el genoma, de manera que sería imposible distinguir si se ha producido espontáneamente o no²².

Los animales modificados genéticamente se utilizan como biofactorías, porque se consigue aumentar la generación de sustancias de interés respecto a su producción in vitro con células modificadas. En esta dirección, se han generado cabras modificadas genéticamente para producir proteínas de interés en la leche que se utilizan para tratar coagulopatías (trastornos hemorrágicos que se caracterizan por una tendencia a sangrar con facilidad) y angioedema (inflamación sin dolor debajo de la piel)²².

En ganadería, se ha utilizado también con éxito para generar cerdos inmunes a la enfermedad del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS por sus siglas en inglés: *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome*), que ocasiona pérdidas millonarias en todo el mundo³¹, así como para la producción de ganado lechero sin cuernos³², que evitaría la necesidad de cortárselos a las vacas.

Desde el punto de vista entomológico, la tecnología CRISPR/Cas9 se podría utilizar en el control de vectores de transmisión de enfermedades, como el mosquito del género *Anopheles* en el caso de la malaria. Se han trabajado dos opciones: o modificar la especie para generar infertilidad y controlar así la población, o introducir genes de resistencia a los parásitos protozoarios *Plasmodium*, que son los responsables de la enfermedad, para que el mosquito deje de transmitirla a humanos³³⁻³⁴.

Sin embargo, su implementación para eliminar ciertas especies invasivas o para alterar ciertas poblaciones salvajes (*gene drive*)³⁵ genera mucha controversia con respecto a las consecuencias ambientales de la eliminación de especies²⁹⁻³¹.

26. Firth, A.L.; Menon, T.; Parker, S.G.; Qualls, J.S.; Lewis, M.B.; Ke, E.; Dargitz, T.C.; Wright, R.; Khanna, A.; Gage, H.F.; Verma, M.I. [Functional gene correction for cystic fibrosis in lung epithelial cells generated from patient iPSCs](#). *Cell Reports*. **2015**, *12*, (9): 1385-1390.
27. Myhrvold, C.; Freije, C.A.; Gootenberg, S.J.; Abudayeh, O.O.; Met-sky, C.H.; Durbin, F.A.; Kellner, J.M.; Tan L.A.; Paul, M.L.; Parham, A.L.; Garcia, F.K.; Barnes, G.K.; Chak, B.; Mondini, A.; Nogueira, L.M.; Isern, S.; Michael, F.S.; Lorenzana, I.; Yoswiak, L.N.; MacInnis, B.; Bosch, I.; Gehrke, L.; Zhang, F.; Sabeti, C.P. [Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13](#). *Science* **2018**, *360* (6387): 444-448.
28. Gootenberg, J.S.; Abudayeh, O.O.; Kellner, M.J.; Joung, J.; Collins, J.J.; Zhang, F. [Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6](#). *Science*, **2018**; *360* (6387): 439-44.
29. Wan, H et al. [One-step generation of p53 gene biallelic mutant Cynomolgus monkey via the CRISPR/Cas system](#). *Cell Research*. **2015**, *25* (2): 258-261.
30. Zou, Q.; Wang, X.; Liu, Y.; Ouyang, Z.; Long, H.; Wei, S.; Xin, J;

- Zhao, B.; Lai, S.; Shen, J.; Ni, Q.; Yang, H.; Zhong, H.; Li, L.; Hu, M.; Zhang, Q.; Zhou, Z.; He, J.; Yan, Q.; Fan, N.; Zhao, Y.; Liu, Z.; Guo, L.; Huang, J.; Zhang, G.; Ying, J.; Lai, L.; Gao, X. [Generation of gene-targeted dogs using CRISPR/Cas9 system](#). *Journal of Molecular Cell Biology*. **2015**, *7* (6): 580-583.
31. Whitworth, K.M.; Rowland, R.R.R.; Ewen, L.C.; Tribble, R.B.; Kerrigan, A.M.; Cino-Ozuna, A.G.; Samuel, S.M.; Lightner, J.E.; McLaren, D.G.; Mileham, J.A.; Wells D.K.; Prather, S.R. [Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus](#). *Nature Biotechnology*. **2016**, *34* (1): 20-22.
32. Carlson, D.F. [Production of hornless dairy cattle from genome-ed-](#)

Plantas

La herramienta de edición genética CRISPR/Cas9 es también útil en el ámbito de la producción vegetal y cultivos resistentes a plagas. El método tradicional para la mejora genética de plantas es el cruce de especies, lo que puede durar décadas y esto no siempre garantiza que solo las características deseables sean transferidas. Una alternativa más rápida (que puede alargarse hasta un año) es la modificación genética en plantas con *Agrobacterium* (bacterias causantes de tumores en plantas). En este caso se suele conseguir una especie genéticamente modificada (OGM) con las mejoras buscadas. Sin embargo, con la edición genética utilizando CRISPR/Cas9 el tiempo de obtención puede reducirse a semanas, y solo se transfieren las propiedades deseadas. En general, CRISPR/Cas9 puede mejorar las características de las plantas para consumo o uso humano, como por ejemplo, producir soja con tolerancia a la sequía y la salinidad, hierba con retraso en el tiempo de floración o champiñones que no se ponen marrones³⁶, entre otros.

También se han editado genéticamente plantas para hacerlas resistentes a diversas enfermedades³⁷ e incluso, recientemente, se modificaron plantas de arroz para que sean resistentes a la contaminación radioactiva³⁸, siendo una gran oportunidad para cultivarlo en grandes extensiones de terreno agrícola que resultaron contaminadas por los accidentes en las centrales nucleares de Chernóbil y Fukushima. En el área de investigación agrícola, la tecnología CRISPR/Cas9 ha permitido editar exitosamente los genomas de *Arabidopsis*, tabaco, arroz, trigo, maíz y tomate³⁰.

Recientemente, se han realizado algunos estudios aplicando la edición genética por CRISPR/Cas9 para obtener cultivos resistentes al estrés abiótico. Un ejemplo relevante de esta aplicación son las plantas de maíz genéticamente modificado que presentan una productividad mayor que la variedad original en condiciones de sequía, y similar a la mostrada por ellas mismas bajo condiciones normales³⁹.

También se han obtenido variedades de arroz más saludables modificando la ruta de síntesis de su almidón mediante edición genética por CRISPR/Cas9. El almidón es un polisacárido que presenta dos formas moleculares, la amilosa y la amilopectina. El almidón es más saludable cuanto mayor sea su proporción de amilosa pues ayuda a prevenir infecciones serias y a reducir el índice glucémico⁴⁰. Aunque el porcentaje de amilosa en el almidón del arroz suele ser como máximo del 30%, se han conseguido arroces genéticamente modificados con índices de amilosa superiores a los no modificados usando la tecnología CRISPR/Cas9 en el gen que juega un papel importante en la síntesis de la amilopectina⁴¹.

La edición por CRISPR/Cas9 permite acelerar los procesos de domesticación de plantas. Así lo demostró el equipo de Zsögön et al. (2018), que logró domesticar una variedad silvestre de tomate en un solo ensayo mediante el *knock-out* de 6 genes⁴². Estas plantas modificadas genéticamente produjeron 10 veces más tomates que las no modificadas y los frutos tuvieron un tamaño superior y una calidad nutricional mejorada, acumulando 5 veces más licopeno.

El sistema CRISPR/Cas9 se utilizó exitosamente para realizar edición genómica en *Arabidopsis*, el organismo vegetal más estudiado. Por ejemplo, se ha reportado que la eficiencia de regeneración de plantas de *Arabidopsis thaliana* modificadas genéticamente es superior al 46%, con líneas germinales que contienen pequeñas inserciones o deleciones⁴³. Otro trabajo publicado sobre el uso del sistema CRISPR/Cas9 en *A. thaliana* se basó en la edición del gen reportero GFP, que codifica a la proteína verde fluorescente, con mutaciones que afectaron su funcionalidad. El gen GFP no funcional se integró al genoma de la planta, y posteriormente,

ited cell lines. *Nature Biotechnology*. 2016, 34 (5): 479-481.

33. Gantz, V.M.; Jasinskiene, N.; Tatarenkova, O.; Fazekas, A.; Macias, V.M.; Bier, E.; James, A.A. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112 (49): 736-743.
34. Hammond, A.; Galizi, R.; Kyrou, K.; Simoni, A.; Siniscalchi, C.; Katsanos, D.; Gribble, M.; Baker, D.; Marois, E.; Rusell, S.; Burt, A.; Windbichler, N.; Crisanti, A.; Nolan, T. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nature Biotechnology*, 2016, 34, 78-83.
35. Burt, A.; Crisanti, A. Gene Drive: Evolved and Synthetic. *ACS Chem Biol*. 2018, 13 (2): 343-346.
36. Waltz, E. With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time. *Nature Biotechnology*. 2018, 36 (1): 6-7.
37. Arora, L.; Narula, A. Gene Editing and Crop Improvement Using CRISPR-Cas9 System. *Frontiers in Plant Science*. 2017, 8, 1-21.
38. Nieves-Cordones, M.; Mohamed, S.; Tanoi, K.; Kobayashi, N.I.;

Takagi, K.; Vernet, A.; Guiderdoni, E.; Périn, C.; Sentenac, H.; Verý, A.A. Production of low-Cs+ rice plants by inactivation of the K+ transporter OsHAK1 with the CRISPR-Cas system. *The Plant Journal*. 2017, 92 (1): 43-56.

39. Shi, J.; Gao, H.; Wang, H.; Lafitte, H. R.; Archibald, R. L.; Yang, M.; Hakimi, S. M.; Mo, H.; Habben, J. E. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnology Journal*. 2017, 15(2): 207-216.
40. Parada, S.J.A.; Rozowski, N.J. Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural. *Revista Chilena de Nutrición*, 2008, 35(2): 84-92.
41. Sun, Y.; Jiao, G.; Liu, Z.; Zhang, X.; Li, J.; Guo, X.; Du, W.; Du, J.; Francis, F.; Zhao, Y.; Xia, L. Generation of High-Amylose Rice through CRISPR/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis of Starch Branching Enzymes. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8, 1-15.
42. Zsögön, A.; Čermák, T.; Naves, E. R.; Notini, M. M.; Edel, K. H.; Weinel, S.; Freschi, L.; Voytas, D. F.; Kudla, J.; Peres, L. E. P. De novo domestication wild of tomato using genome editing. *Nature biotechnology*, 2018, 36 (12): 1211-1216.
43. Woo, J.W.; Kim, J.K.; Won, S.I.; Corvalán, C.; Cho, S.W.; Kim, H.; Kim, S.G.; Kim, S.T. Choe, S.; Kim, J.S. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Na-*

se realizó la edición correspondiente con CRISPR/Cas9 para restaurar la función del gen, cortando el fragmento génico que provocaba la falta de funcionalidad de la proteína GFP. Con ello demostraron la herencia de modificaciones de la línea T1 a la línea T2, por lo que el sistema es prometedor para facilitar la edición de plantas⁴⁴. Hyun *et al.*⁴⁵, realizaron mutagénesis sitio dirigida del genoma nuclear de *A. thaliana* utilizando el sistema CRISPR/Cas9, con la finalidad de inducir la proliferación tisular durante la embriogénesis de la planta. Las secuencias guías que utilizaron pertenecen al locus T de floración (FT) y a la proteína de unión al promotor squamosa. El *knock out* realizado por CRISPR/Cas9 se observa en la generación T1 de las plantas, al mostrar una floración tardía que indicó que el gen FT había sido mutado. La secuenciación de alelos mutantes del gen en las generaciones T1, T2 y T3, reveló la delección o inserción de nucleótidos en la secuencia

Los agrónomos emplean esta técnica para desarrollar cultivos resistentes a las plagas, el moho o la sequía. Este tipo de aplicaciones pueden ayudar a preservar la diversidad genética natural (biodiversidad) de las especies, que representa la base de todo proceso de mejora y cuya pérdida con el paso del tiempo es uno de los problemas de la agricultura moderna.

ALIMENTOS, BACTERIAS Y LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Ya hemos visto que el sistema CRISPR/Cas9 se puede utilizar en el área de la biotecnología agropecuaria, pero lo cierto es que también se puede usar para mejorar los alimentos que consumimos y modificar las bacterias y otros microorganismos de uso industrial y alimentario. De hecho, esta tecnología ha facilitado y abaratado el uso de bacterias modificadas para la generación de proteínas específicas de interés que sean perfectamente funcionales²².

Pero no solo eso, CRISPR/Cas9 se utiliza para identificar cepas de bacterias y estudiar los mecanismos y

genes relacionados con su resistencia a los antibióticos y a virus. Un ejemplo de esto último es la modificación de la bacteria *S. thermophilus*, que se utiliza para elaborar quesos y yogur, para protegerla de los virus que pudieran dañarla, y así asegurar su producción o incluso aumentarla⁴⁶. No obstante, es más importante el primero de los casos: conocer los mecanismos de resistencia de las bacterias a los antibióticos. La resistencia a los antimicrobianos representa un gran reto de nuestro tiempo debido a que el uso indiscriminado de estos agentes permite la aparición de bacterias multirresistentes por lo que las opciones para un tratamiento efectivo han disminuido y en algunos casos se han agotado⁴⁷. Actualmente hay escasez en el desarrollo de nuevos antimicrobianos, porque desde hace varias décadas no ha salido al mercado una nueva familia de agentes antimicrobianos⁴⁸. Predicciones recientes estiman que, para el año 2050 el número de muertes producidas por bacterias multirresistentes a los antimicrobianos alcanzarán los 10 millones anuales, cifra que superaría a las muertes producidas por cáncer que rondarían los 8.2 millones anuales⁴⁹.

Por lo anterior se buscan nuevas estrategias para combatir a las infecciones bacterianas y una adaptación en el uso del sistema CRISPR/Cas9 podría ofrecer una nueva opción eficiente en el tratamiento de infecciones bacterianas. A diferencia de los antimicrobianos convencionales cuya actividad se considera de amplio espectro (tóxicos para una gran cantidad de bacterias), el sistema CRISPR/Cas9 se puede programar de manera específica para que únicamente actúe sobre un tipo de población bacteriana, quedando intactas otras poblaciones, como, por ejemplo, las que conforman la microbiota intestinal humana⁵⁰⁻⁵¹. Una opción con buenos resultados, es el uso de fagémidos, a los que se les incorporan genes que codifican la nucleasa Cas y el sgRNA modificado para atacar a los genes de interés⁵². Un ejemplo del uso exitoso de esta estrategia es el uso del fago filamentoso M13, con el que, de manera selectiva se eliminó a una cepa de *E. coli* resistente a antimicrobianos. Además, se observó que el tratamiento con los fagémidos incrementó la supervivencia de la polilla de la cera, *Galleria mellonella*, que es un modelo para estudiar a *E. coli* EHEC 0157:H7 capaz de producir infecciones intestinales⁵².

ture Biotechnology, 2015, 33, 1162–1164.

44. Jiang, W.; Yang, B.; Weeks, D.P. Efficient CRISPR/Cas9-Mediated Gene Editing in *Arabidopsis thaliana* and Inheritance of Modified Genes in the T2 and T3 Generations. *PLoS ONE* 9, 2014, 9, (6): 1-10.
45. Hyun, Y.; Kim, J.; Cho, S.W.; Choi, Y.; Kim, J.S.; Coupland, G. Site-directed 1058mutagenesis in *Arabidopsis thaliana* using dividing tissue-targeted RGEN of 1059the CRISPR/Cas system to generate heritable null alleles. *Planta* 2015, 241, 271–284
46. Lagunes, R.F.A. Sistema CRISPR/Cas. *Ciencia*, 2019, 70, 1-5.
47. Spizek, J.; Havlicek, V. Tackling antibiotic resistance. In: Sanchez, S., Demian, A. L. (Eds.), *Antibiotics: Current innovations and future trends*. Caister Academic Press, Norfolk, UK. 2015, pp. 83-93.
48. Aminov, R. History of antimicrobial drug discovery – Major classes and health impact. *Biochemistry Pharmacology*, 2017, 133, 4-19.
49. O'Neill, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report

and recommendations. Review on antimicrobial resistance. 2016, The Wellcome Trust and UK Government.

50. Bikard, D.; Euler, C.W.; Nussenzweig, P.M.; Goldberg W.G.; Dupertet, X.; Fischetti, V.A.; Marraffini, L.A. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nature Biotechnology*, 2014, 32, 1146–1150.
51. Gomaa, A. A.; Klumpe, H. E.; Luo, M. L.; Selle, K.; Barrangou, R.; Beisel, C. L. Programmable removal of bacterial strains by use of genome-targeting CRISPR-Cas systems. *mBio*, 2014, 5, (1): 1-9.
52. Citorik, R. J.; Mimee, M.; Lu, T. K. Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases. *Nature Biotechnology*, 2014, 32 (11): 1141-1145.

Otro modelo exitoso es el uso del fago Φ NM1, donde los fagémidos se emplearon para tratar una infección cutánea producida por *Staphylococcus aureus* en ratones⁵³. Después del tratamiento, algunas bacterias lograron sobrevivir, sin embargo, no contenían los genes de resistencia a antimicrobianos contra los que estaba dirigida la nucleasa Cas, por lo que el uso del sistema CRISPR/Cas9 permitió la eliminación de las bacterias que poseían el determinante de resistencia contra el que estaba dirigido⁵³.

El uso de esta biotecnología para el tratamiento de infecciones bacterianas es muy eficaz y tiene el potencial para el diseño de tratamientos personalizados, pudiendo utilizarse únicamente en las bacterias responsables de la infección o adaptarse para atacar genes de interés que codifican factores de resistencia a antimicrobianos, como las β -lactamasas de espectro extendido (enzimas producidas por bacterias y responsables de la resistencia a la acción de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos), o factores de virulencia, como los determinantes en la formación de biocapas²².

GENE DRIVE

Por último, una novedosa aplicación de CRISPR/Cas9 es el llamado *gene drive*, un proceso de edición de genes sexuales que busca alterar la reproducción de una especie. Básicamente consiste en hacer que las nucleasas Cas9 y una guía de ARN se dirijan contra un gen específico que reside en el cromosoma sexual. Este gen se copia en el cromosoma del segundo progenitor de tal manera que, una vez editados los cromosomas, ya no se sigue la herencia mendeliana. En la nueva situación, el nuevo gen es heredado por descendencia del individuo en el 100% de los casos (en lugar del 50% habitual), por lo que se propaga mucho más rápidamente en una población, sin necesidad de que confiera un rasgo ventajoso a los individuos^{54–55}.

Esta técnica se utiliza para acabar con los mosquitos portadores de enfermedades como el virus de la fiebre amarilla (enfermedad viral transmitida por mosquitos del género *Aedes*) o el Zika (causada por un flavivirus de ARN), o extender la resistencia al parásito de la malaria en la población del mosquito portador, eliminar plantas invasoras o erradicar su resistencia a herbicidas⁵⁶.

53. Yosef, I.; Manor, M.; Kiro, R.; Qimron, U. *Temperate and lytic bacteriophages programmed to sensitize and kill antibiotic-resistant bacteria*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2015**, *112* (23): 7267–7272.
54. Noguez-Moreno, R.; Fernández-Salas, I.; Cime-Castillo, J.; Merino-Pérez, E.; Renaud, C.; Cabrera-Romo, S.; Lanz-Mendoza, H. *New strategies of vector control: Genetically modified mosquitoes*. *Folia Entomológica Mexicana*, **2017**, *3*, (3): 114–138.
55. Godfray, H.C.J.; North, A.; Burt, A. *How driving endonuclease genes can be used to combat pests and disease vectors*. *BMC Biology*.

Recientemente, se consiguió la erradicación de una población entera del mosquito transmisor de la malaria (*Anopheles gambiae*) en cautividad mediante esta estrategia²⁰. Tras introducir una mutación recesiva que provoca esterilidad femenina en unos pocos individuos, se consiguió eliminar por completo la población en 10 generaciones. A pesar de lo prometedor de estos resultados, todavía son necesarios numerosos estudios para garantizar la eficacia y seguridad de la técnica en el ambiente natural. Aunque con resultados menos exitosos, también recientemente se consiguió utilizar *gene drive* en mamíferos, en concreto en ratones, que fueron estudiados con el objetivo de favorecer la descendencia de las especies que mejor permiten la simulación de enfermedades humanas⁵⁷.

CUESTIONES ÉTICAS

Un aspecto de suma importancia a tener en cuenta en la aplicación clínica de esta tecnología son las implicaciones éticas generadas del uso de la misma. El hecho de poseer una herramienta que genera cambios específicos en el ADN abre la posibilidad de utilizar CRISPR/Cas9 para “diseñar humanos” con propiedades mejoradas como, por ejemplo, poseer menos susceptibilidad a enfermedades o quizá con características específicas (color de pelo, altura, etc.) Por ello, J. Doudna, co-inventora del CRISPR/Cas9, en una conferencia en 2015⁵⁸ pidió cautela a la comunidad científica ante cualquier aplicación clínica de CRISPR/Cas9 en embriones humanos, solicitando hacer una pausa que permita considerar todas las implicaciones éticas al respecto.

CONCLUSIONES

Actualmente, tal como se ha mostrado en este artículo, la tecnología de edición genómica basada en CRISPR/Cas9 ha encontrado aplicación en varios escenarios científicos. Las ganadoras del Premio Nobel 2020 aislaron los componentes mínimos necesarios para poner en funcionamiento esta tecnología y demostraron *in vitro* que con esos componentes se puede hacer edición sencilla del ADN. Esta tecnología de edición génica es lo suficientemente “sencilla” y accesible como para que se pueda implementar en muchos laboratorios. Así se pueden expandir las diferentes investigaciones y se amplían las potenciales aplicaciones a nuevos procesos de interés científico, sanitario, agrario o

2017, *105*, (1): 81.

56. Galizi, R.; Hammond, A.K.; Kyrou, A. *CRISPR-Cas9 sex-ratio distortion system for genetic control*. *Scientific Reports*, **2016**, *6*, 311–339.
57. Grunwald, H., et al. *Super-Mendelian inheritance mediated by CRISPR/Cas9 in the female mouse germline*. *Nature*, **2019**, *566*, 105–109.
58. Doudna, J. “How CRISPR lets us edit our DNA”. TEDGlobal, Septiembre 2005.

industrial, sin necesidad de tener demasiados recursos. Esta herramienta genética no sólo ha revolucionado la ciencia básica, sino que también da lugar a cultivos innovadores y conducirá a nuevos tratamientos médicos innovadores. La herramienta CRISPR/Cas9 abre la puerta a numerosas aplicaciones de edición genética hasta ahora impracticables. No obstante, algunas de ellas suscitan cuestiones éticas cuya discusión es urgente para garantizar un desarrollo justo, seguro y acorde con el respeto a la dignidad humana. En este sentido, una de las principales preocupaciones es la posibilidad de utilizar CRISPR/Cas9 para alterar el genoma humano en la línea germinal. Si bien esta posibilidad ya existía con técnicas anteriores, la simplicidad, efectividad y bajo costo de CRISPR/Cas9 hace que su llegada a la clínica parezca una posibilidad cada vez más factible. La identificación de CRISPR/Cas9 subraya la forma en que muchas invenciones avanzan en la biología molecular a partir de la investigación básica de los mecanismos naturales de la replicación del DNA, la reparación, y la defensa contra los virus. Una vez que fue comprendido el mecanismo subyacente a su funcionamiento, se visualizaron sus posibles aplicaciones avanzadas en biología molecular, genética, biotecnología, microbiología molecular y biomedicinas. La tecnología CRISPR/Cas9 es un ejemplo excelente de cómo funciona la ciencia hoy en día: de manera interdependiente, colectiva, multidisciplinaria y multinacional.

Recibido: 30 de enero 2021

Aceptado en forma final: 18 de junio de 2021

GLOSARIO

crRNA: ARN que especifica la secuencia de ADN diana donde va a cortar la nucleasa Cas.

tracrRNA: ARN crispr trans-activador, es un ARN pequeño codificado en trans.

sgRNA: ARN guía único personalizado. Es un híbrido de crRNA y tracrRNA

Knock-out: proceso de modificación genética para desactivar uno o más genes de forma específica. El objetivo suele ser estudiar el impacto de la pérdida de un gen y aprender acerca de su función.

Fagémidos: Plásmidos empaquetados dentro de una cápside vírica.

Locus: Lugar específico del cromosoma donde se localiza un gen u otra secuencia de ADN.

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Herrera-Cabrera, B.E.; Salgado-Garciglia, R.; López-Valdez, L.G.; Reyes, C.; Montiel-Montoya, J.; Zaragoza-Martínez, F.; Guillermo Lucho-Constantino, G. y Barrales-Cureño, H. J. Edición genómica con CRISPR/Cas9: Premio Nobel de Química 2020. *Revista de Química*, **2021**, *35(1)*, 22-30 <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/23324>