



## CRISPR/Cas, el sistema premiado con el Premio Nobel de Química 2020. ¿Cómo funcionan las *Tijeras Moleculares*?

*CRISPR / Cas, the system awarded the 2020 Nobel Prize in Chemistry. How do Molecular Scissors work?*

Margarita Isabel Palacios-Arreola<sup>1</sup> y Raúl Huerta-Lavorie<sup>2</sup>

Recepción 18-06-2021

Recepción 06-07-2021

### Resumen

Se presenta una hoja didáctica para apoyar a los profesores en la difusión del conocimiento de la tecnología alrededor del sistema CRISPR/Cas, conocido coloquialmente como *Tijeras moleculares* y su relevancia en la edición del genoma a estudiantes nivel medio, medio superior o universitario. Esto se realiza en un contexto que permite introducir y revisar conceptos, modelos y metodologías bioquímicas, así como de biología molecular, relacionados con la ingeniería genética. Asimismo, la historia del descubrimiento del sistema, el desarrollo de la tecnología para sus aplicaciones y el Premio Nobel al que fueron acreedoras dos de las investigadoras involucradas constituyen un contexto perfecto para fomentar la reflexión acerca del carácter colaborativo de la ciencia y la frontera entre la llamada ciencia básica y ciencia aplicada.

### Palabras clave

Tijeras moleculares, CRISPR, Cas, Ingeniería genética.

### Abstract

The following document contains a didactic sequence designed as a tool for teachers to share the knowledge of the technology around the CRISPR/Cas system, often called *Molecular Scissors* and its relevance in genome edition, with students of Middle School to Undergraduate levels. The design of this sequence considers the review or introduction to biochemical and molecular biology models, concepts, and methodologies related to genetic engineering. Moreover, the research timeline that led to the discovery of the system, the development of the technology for its applications and the Nobel Prize granted to two of the involved scientists sets a perfect context to encourage reflection about the collaborative character of science and the boundary between the so called basic and applied science.

### Keywords

Molecular scissors, CRISPR, Cas, Genetic engineering.

<sup>1</sup> Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Northridge School Mexico.

Esta hoja didáctica tiene como objetivo que los estudiantes conozcan y comprendan los elementos básicos de la tecnología merecedora del Premio Nobel de Química de 2020: CRISPR/Cas. Esta tecnología ha sido coloquialmente descrita como *Tijeras Moleculares*, pues permite hacer cortes dirigidos a regiones específicas del genoma e introducir una variedad de cambios en el sitio de corte.

Se sugiere realizar las actividades de esta hoja didáctica con estudiantes de nivel medio, medio superior o universitario que ya se encuentren familiarizados con los conceptos de gen, genoma y ADN.

El diseño de esta hoja didáctica consta de tres etapas, *Enganche*, *Exploración* y *Explicación*. Durante la primera etapa, se presentan recursos digitales que fomentan el interés de los estudiantes en el tema y se les invita a que compartan sus conocimientos previos sobre el tema. En la etapa de *Exploración*, se sugiere una lectura acompañada de uno de los artículos de esta edición de la revista, en el que se aborda el tema y se promueve la reflexión y discusión acerca del carácter colectivo de la ciencia y el vínculo entre la ciencia básica y la ciencia aplicada. Finalmente, en la etapa de *Explicación* se presenta una versión simplificada de las bases del funcionamiento de la tecnología CRISPR/Cas, que se propone sea acompañada de una actividad sencilla de refuerzo.

En el aula	Para el profesor
<b>Enganche</b>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mira con atención el video que te presentará tu profesor.</li> <li>2. Realiza la siguiente actividad en tu cuaderno acerca del funcionamiento del sistema <i>CRISPR/Cas</i> o las <i>Tijeras moleculares</i>.               <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Describe brevemente lo que sabes acerca de su funcionamiento o realiza un dibujo explicativo.</li> <li>b. Si la desconoces, ¿Cómo crees que funcionen estas <i>Tijeras moleculares</i>?</li> </ol> </li> </ol>	<p>Muestre a los alumnos uno de los siguientes videos. En ellos se habla del uso y el potencial de la tecnología CRISPR/Cas.</p> <p>a) <a href="https://www.youtube.com/watch?v=ZoE-G7YPvZQ">https://www.youtube.com/watch?v=ZoE-G7YPvZQ</a>.</p>  <p>b) <a href="https://www.ted.com/talks/jennifer_doudna_how_crispr_lets_us_edit_our_dna?language=es">https://www.ted.com/talks/jennifer_doudna_how_crispr_lets_us_edit_our_dna?language=es</a>. (hasta el minuto 10).</p> 

En caso de que alguna de las ligas no se encuentre disponible, puede buscarlos o encontrar alguno similar introduciendo los términos “CRISPR, TED” en algún buscador electrónico.

Pregunte a los estudiantes si alguno de ellos había escuchado hablar de esta tecnología y explore sus conocimientos previos pidiéndoles que realicen una breve descripción (en prosa y/o dibujo).

Para aquéllos que refieran no conocer la tecnología, mencione que es coloquialmente conocida como *Tijeras moleculares*, que utilizan para *cortar genes* y pídale que realicen un dibujo ilustrando cómo se imaginan que puede funcionar.

### Exploración

Tu profesor te proporcionará un artículo que habla acerca del descubrimiento del sistema CRISPR/Cas: *El sistema CRISPR/Cas, crónica de un premio Nobel anunciado*, por Mario Zurita.

1. Lee con atención el artículo hasta concluir la primera sección denominada *Breve historia de la generación del sistema CRISPR/Cas para editar genomas*.
2. Reflexiona y discute con tus compañeros:
  - a. Identifica cuántos investigadores (o grupos de investigación) estuvieron involucrados en el descubrimiento del sistema CRISPR/Cas y su aportación.
  - b. Si ustedes fueran el comité del Premio Nobel, ¿a quién le habrían otorgado el premio? Justifica tu elección.
  - c. ¿Qué habría pasado si el trabajo de estos investigadores no se hubiera hecho público a través de revistas científicas?
  - d. Describan qué entienden por *ciencia básica*.
  - e. Describan qué entienden por *ciencia aplicada*.
  - f. En la cronología que relata el artículo, ¿podrían trazar una línea que divida los descubrimientos de *ciencia básica* de aquellos de *ciencia aplicada*? ¿Fue fácil llegar a un acuerdo?

Proporcione a los estudiantes una copia del artículo *El sistema CRISPR/Cas, crónica de un premio Nobel anunciado*, por Mario Zurita, de esta edición de la revista (páginas \_\_ a \_\_). De un tiempo para la lectura del artículo, hasta concluir la primera sección denominada *Breve historia de la generación del sistema CRISPR/Cas para editar genomas*.

Esta primera sección del artículo es una cronología de los descubrimientos científicos que llevaron al conocimiento, entendimiento y uso del sistema CRISPR/Cas.

Reúna a los estudiantes en equipos de 3 a 5 miembros u organice una sesión plenaria, dependiendo del tamaño y las características del grupo.

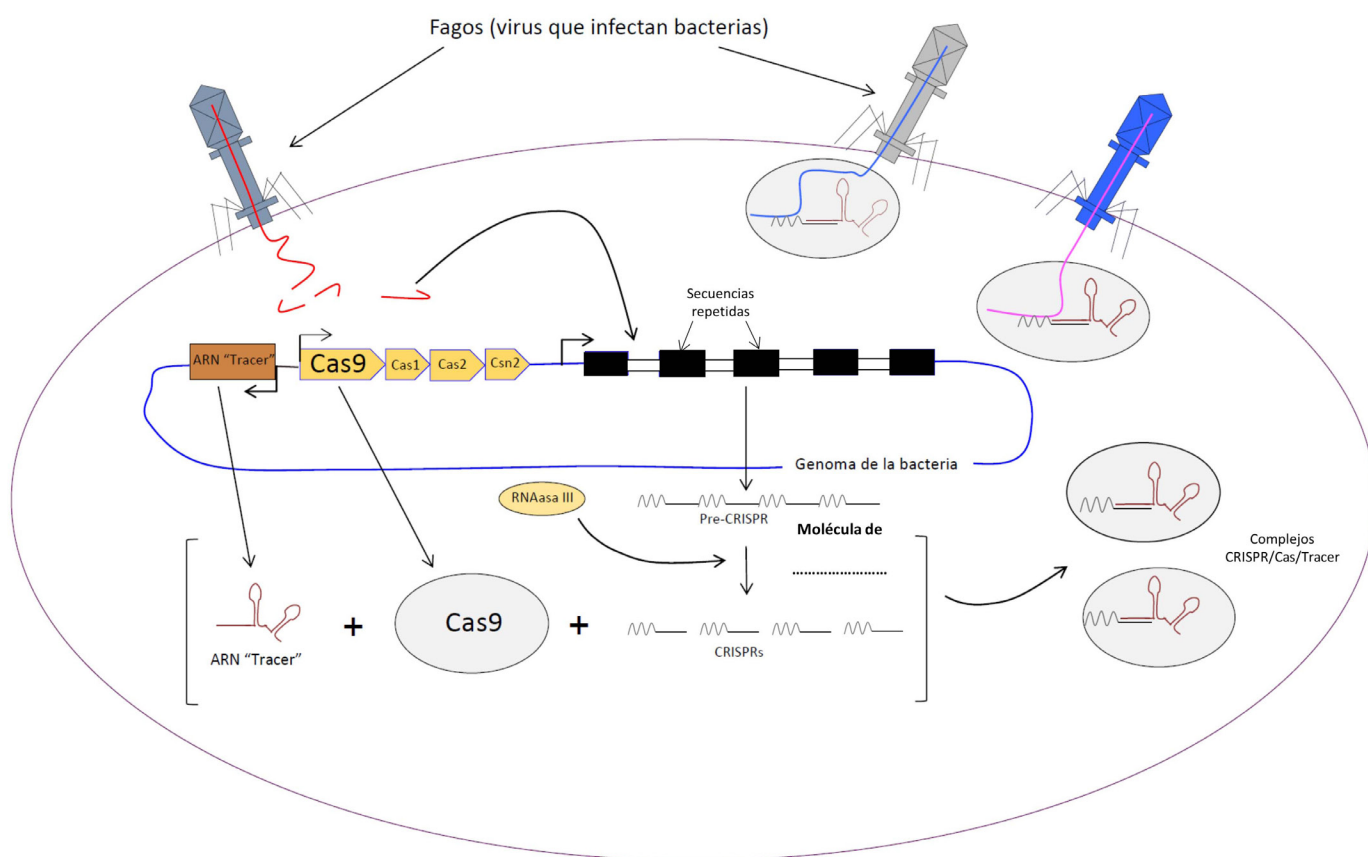
Acabada la lectura de la primera sección, invítelos a discutir entre ellos acerca de dos importantes aspectos de la ciencia: el carácter colaborativo y la distinción entre *ciencia básica* y *ciencia aplicada*. Puede ayudarse de las preguntas sugeridas.

En el artículo se puede apreciar que la identificación y caracterización de los genes y proteínas involucrados en este sistema bacteriano fue producto del trabajo de múltiples grupos de investigación alrededor del mundo más no el fruto exclusivo de las dos galardonadas con el Premio Nobel. El propio autor menciona que, debido a esto, es difícil la atribución del descubrimiento a un solo investigador.

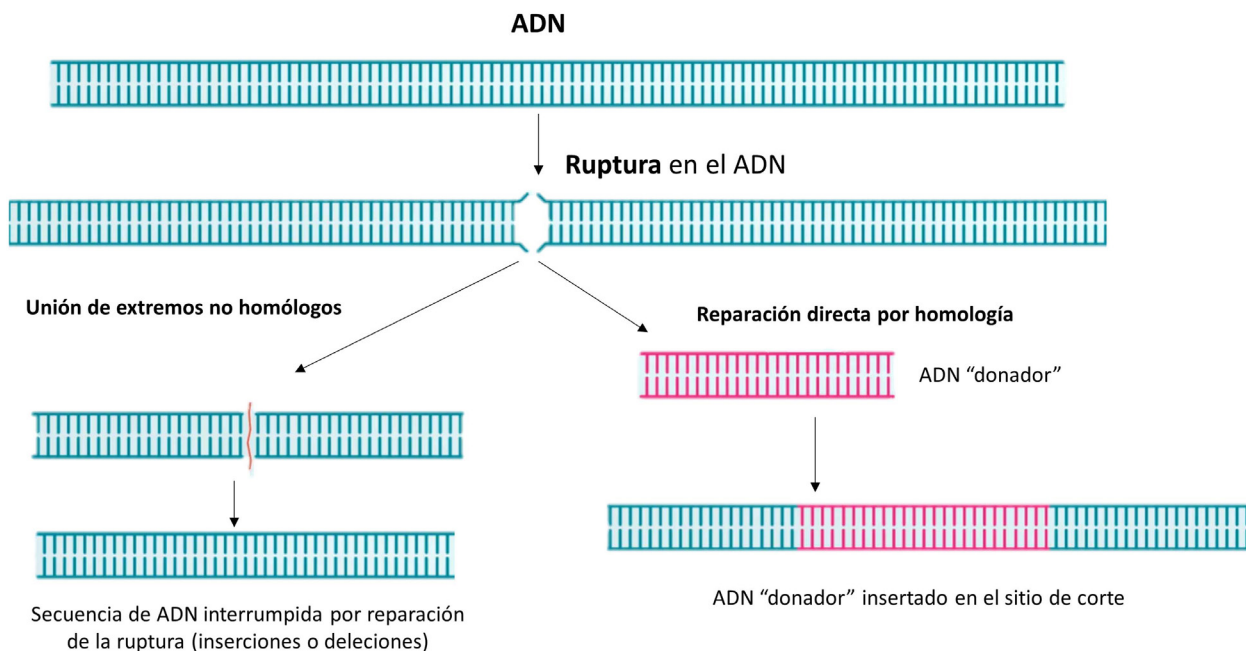
Por otra parte, en diversas etapas del proceso se realizaron modificaciones o adaptaciones al sistema que permitieron explorar y explotar su funcionalidad, hasta el punto en el que la mayoría de las aplicaciones actuales poco tienen que ver con la función original del sistema CRISPR/Cas como elemento de respuesta inmunológica de las bacterias frente a los virus. Es difícil definir hasta qué punto se trataba de *ciencia básica* y en qué momento se trató de *ciencia aplicada*.

Explicación	
<p>Si bien hay mecanismos complejos detrás del funcionamiento del sistema CRISPR/Cas, tu profesor te dará una explicación sencilla para facilitar su comprensión.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Utilizando la ilustración como guía, sigue la explicación de tu profesor e identifica los siguientes puntos               <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Colorea con distintos colores las secuencias espaciadoras</li> <li>b. identifica el tipo de ácido nucleico que es el pre-CRISPR?</li> <li>c. Colorea con los colores correspondientes las regiones diversas del pre-CRISPR y los CRISPRs resultantes.</li> <li>d. Señala con flechas las regiones de los complejos CRISPR/Cas9/Tracer que identifican al ADN blanco</li> <li>e. En la figura que muestra la interacción de los complejos CRISPR/Cas9/Tracer con el ADN de los fagos, indica con una línea punteada el sitio donde Cas9 haría el corte del ADN.</li> </ol> </li> <li>1. De acuerdo con el funcionamiento del sistema CRISPR/Cas,               <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Indica los mecanismos de reparación de daño al ADN nos permitiría desactivar genes.</li> <li>b. Nombra el mecanismo de reparación de daño al ADN que nos permitiría introducir genes nuevos.</li> </ol> </li> </ol>	<p>Los mecanismos moleculares detrás del sistema CRISPR/Cas pueden resultar complejos, sin embargo, el funcionamiento básico puede resumirse de manera sencilla.</p> <p>Utilizando las <b>FIGURAS 1 y 2</b> de esta hoja didáctica, explique el funcionamiento básico del sistema CRISPR/Cas. Proponemos la siguiente explicación:</p> <p>El sistema CRISPR/Cas forma parte del sistema inmunológico adaptativo de las bacterias. Éstas reúnen fragmentos de ADN de los virus (fagos) que las infectan y los ordenan en una especie de <i>librería</i>. Esta <i>librería</i> es una secuencia genética en la que se encuentran múltiples secuencias de 32 pares de bases que se repiten una y otra vez y que tienen entre ellas unas secuencias espaciadoras. Sus descubridores las llamaron “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats” o CRISPR, por su abreviación. Las secuencias espaciadoras que se encuentran entre las secuencias CRISPR corresponden con fragmentos de ADN de fagos (virus) que suelen infectar a las bacterias (<b>FIGURA 1</b>).</p> <p>Esta <i>librería</i> o región del genoma bacteriano formada por secuencias CRISPR y secuencias espaciadoras se transcribe, dando lugar a una cadena de ARN llamada Pre-CRISPR que posteriormente es cortada para generar múltiples fragmentos CRISPR que contienen una región común procedente de las secuencias repetidas y una región variable, procedente de una secuencia espaciadora (<b>FIGURA 1</b>).</p> <p>Muy cerca de donde se encuentra esta <i>librería</i>, se encuentran otros genes que codifican para proteínas que funcionan para operar esta librería. Estos genes se denominaron “CRISPR associated (Cas) genes”. Entre estos genes se encuentra Cas9, que codifica para una endonucleasa, es decir, una enzima que corta ADN (<b>FIGURA 1</b>).</p> <p>Adyacente a los genes Cas, se encuentra otro gen que codifica para un ARN capaz de formar estructuras de doble hebra, llamado ARN “Tracer”. Este ARN se une a los fragmentos CRISPR (también de ARN) y a la proteína Cas9. Estos tres elementos forman un complejo que circula por la bacteria esperando encontrar alguna secuencia <i>blanco</i> de ADN que corresponda con la región variable del fragmento CRISPR, es decir, ADN que provenga de un fago registrado en la <i>librería</i>. Si ocurre este reconocimiento de una secuencia <i>blanco</i>, Cas9 entra en acción, cortando el ADN en el sitio donde hubo reconocimiento. Como los virus no tienen mecanismos de reparación de ADN, este corte suele inactivarlos, evitando una infección en la bacteria (<b>FIGURA 1</b>).</p>

A diferencia de los virus, las células eucariontes tienen mecanismos de reparación de daño al ADN. En uno de ellos, llamado *unión de extremos no homólogos*, simplemente se unen los dos extremos del corte, aunque en el proceso puede haber pérdida o ganancia de algunas pares de bases (deleciones o inserciones, respectivamente). Estos pequeños errores pueden ser suficientes para interrumpir el gen en donde ocurrió el corte y reparación. El otro mecanismo llamado *reparación directa por homología*, busca una copia de la secuencia dañada (generalmente en el cromosoma homólogo) para replicar la secuencia *rellenando* el error. Si junto con el sistema CRISPR/Cas se introduce una secuencia de ADN “donador” que tenga similitud con los extremos cortados, el corte será *rellenado* con el ADN donador. Este mecanismo de reparación sirve para añadir secuencias o genes enteros en el sitio donde se dirija el corte (**FIGURA 2**).



**FIGURA 1.** Modificado de Zurita, M. (2021).



**FIGURA 2.** Mecanismos de reparación de ADN en células eucariotas.

## Referencias

- Doudna, J. [TEDGlobal>London]. (2015, 20 octubre). *Ahora ya podemos editar nuestro ADN, pero hagámoslo con prudencia* [Vídeo]. TED Talks. [https://www.ted.com/talks/jennifer\\_doudna\\_how\\_crispr\\_lets\\_us\\_edit\\_our\\_dna?language=es](https://www.ted.com/talks/jennifer_doudna_how_crispr_lets_us_edit_our_dna?language=es).
- El País. (2017, 2 agosto). *CRISPR: así se editan los genes* | Materia [Vídeo]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=ZoE-G7YPvZQ>.
- Zurita, M. (2021, julio-septiembre). El sistema CRISPR/Cas, crónica de un premio Nobel anunciado. *Educación Química*, 32(3). <http://dx.doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.3.79714>.