

Un paso adelante en la edición de genes: CRISPR-Cas9 y EH



Las técnicas CRISPR-Cas9 en desarrollo se pueden usar para editar el gen de la EH en un cerebro vivo de ratón

Por Leora Fox el 23 de agosto de 2017

Editado por Dr Jeff Carroll; Traducido por Asunción Martínez

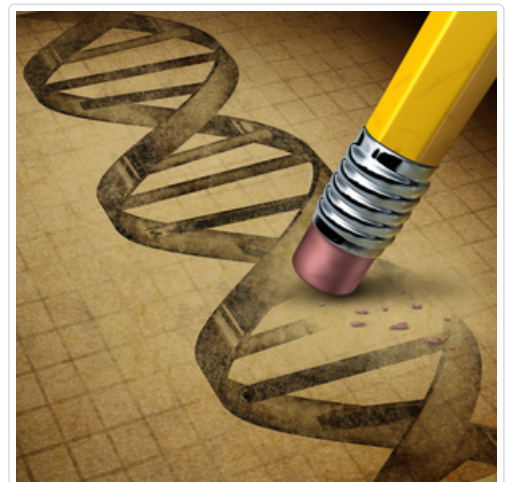
Publicado originalmente el 26 de julio de 2017

CRISPR-Cas9 es una técnica experimental de edición de genes utilizada para realizar cambios precisos en el ADN. Por primera vez, los científicos han utilizado este enfoque contra la mutación de la enfermedad de Huntington en las células cerebrales de un ratón. Otros investigadores están refinando los CRISPR-Cas9 para que sean más eficientes, específicos y seguros. Todavía está muy lejos su uso en pacientes con EH, pero su aplicación en ratones es un emocionante paso adelante.

Edición de genes con CRISPR-Cas9

El ADN es el código fundamental que dirige el crecimiento y la función de las células vivas. Nuestra capacidad de manipular este código, fuera de la ciencia ficción, ha comenzado a impulsar la investigación sobre las enfermedades hereditarias como la enfermedad de Huntington. El diseño y la aplicación de herramientas para cambiar el ADN se conoce como *edición de genes* y una herramienta que ha recibido atención últimamente se llama CRISPR-Cas9. Desde su introducción, los científicos han estado explorando la posibilidad de que CRISPR-Cas9 podría ser utilizado para editar la mutación genética que causa la EH.

Esta técnica experimental no está lista para aplicarse en humanos, pero se ha movido rápidamente de los tubos de ensayo a las células vivas y a organismos. Trabajos recientes de múltiples grupos de investigación han demostrado que CRISPR-Cas9 se puede utilizar para editar el gen de la EH en el cerebro de un ratón vivo. Aún más emocionante, los hallazgos más recientes de un laboratorio muestran un comportamiento mejorado del ratón con EH después de ser tratado con CRISPR-Cas9 en el cerebro. Esta tecnología de edición de genes sigue haciéndose más sofisticada, y varios equipos de investigación están adaptándola a los desafíos del tratamiento de la EH. Hablemos de cómo funciona CRISPR-Cas9, de su aplicación a la EH y por qué la seguridad es una preocupación en esta etapa.



Técnicas de edición de genes producen un cambio permanente en el código de ADN

El gen de la EH: editar la historia

La EH está causada por un añadido no deseado al código genético. Miles de millones de bloques biológicos de construcción, los nucleótidos C, G, A y T, se encuentran en el código de ADN completo. Estos nucleótidos son leídos e interpretados en trozos - secciones del gen conocidas como exones. Se puede asemejar un nucleótido a una letra, tres nucleótidos a una palabra, un exón a una frase, el gen a un párrafo y el genoma completo a un manual de instrucciones que describe todas las partes necesarias para que las células crezcan y funcionen.

Vamos a hacer zoom en un párrafo de la historia, el gen que causa la EH. En la gente destinada a desarrollar EH, la primera frase contiene un error: una serie de palabras CAG que se repiten una y otra vez y otra y otra y otra y así sucesivamente ... y muchas veces más de lo necesario. ¿Qué pasa si pudiéramos editar el error de repetición de CAG, y eliminar todas las repeticiones "CAG" que sobran de la oración anterior? Este es el foco principal de la edición de genes en la investigación de la EH, y CRISPR-Cas9 es uno de varios enfoques.

CRISPR-Cas9: hacer el corte

No hay ningún equivalente del software de procesamiento de textos para editar genes. Para arreglar los genes a una escala microscópica, célula por célula, el código defectuoso tiene que ser localizado y físicamente cortado - y eso es lo que hace CRISPR-Cas9. Este corte requiere dos componentes: (1) un **ARN de guía** y (2) una enzima de corte llamada **Cas9**. He aquí una simple analogía: imagina que quieres cortar un trozo de cinta, pero tu amigo tiene las tijeras. Usted podría sostener la cinta con las dos manos, tirando fuerte para mostrar a su amigo exactamente dónde hacer el corte. Eso es CRISPR-Cas9, en una escala microscópica: el ARN guía encuentra y presenta el punto justo en el ADN y el Cas9 actúa como las tijeras, cortando realmente el ADN.

En el laboratorio, los científicos pueden diseñar ARN guía específica que mostrará a Cas9 donde cortar dos veces, en ambos lados del tramo extra largo de C-A-G que se repite en el gen de la EH. Entonces los nuevos extremos pueden ser remendados juntos, eliminando permanentemente la parte dañina. Así es como los científicos usan CRISPR-Cas9 para editar secuencias genéticas.

Como con cualquier nueva tecnología emocionante, los investigadores han estado jugando con el sistema CRISPR-Cas9 para descubrir nuevas maneras de usar la herramienta. Desde el principio, los investigadores se dieron cuenta de que podían usar CRISPR-Cas9 para realizar cortes simples en un gen específico con bastante facilidad. El proceso de reparación que utilizan las células para corregir estos cortes es propenso a errores y comúnmente conduce a pequeños fragmentos de la información genética que se pierde.

Como una analogía, imagine que está escribiendo un texto a un amigo que decía: "por favor, dame la mantequilla". Sin darse cuenta no escribió un par de letras - por ejemplo "fa" - pero mantuvo la estructura del mensaje por lo que su amigo recibiría: "por vorda, mela ma

ntequillaxx”. Cuando los mensajes genéticos se mezclan con pequeñas supresiones como ésta, las células tienen mecanismos para reconocer los errores e ignorar su contenido. Esto da a los investigadores una forma de usar CRISPR-Cas9 para eliminar eficazmente un gen, en lugar de editar la secuencia de una manera más específica.

CRISPR-Cas9 en un cerebro de ratón con EH

Un par de grupos de investigación acaban de descubrir que es posible editar el gen de la EH en el cerebro de un ratón vivo. Más recientemente, un equipo liderado por Xiao-Jiang Li, que trabaja en la Universidad de Emory en los Estados Unidos, encontró que hacer pequeños cortes en el gen de la EH podría tener efectos beneficiosos en ratones con EH. Para estos experimentos, estaban usando CRISPR-Cas9 en el modo *borrar*, en lugar de *editar* el gen de la EH para cambiar el C-A-G largo por uno corto.

Para utilizar CRISPR-Cas9 en un ratón EH, el ARN guía y el Cas9 “tijeras” son transportados por virus especialmente diseñados que deben ser inyectados en el cerebro. El grupo de Li aplicó esta técnica al estriado, un área del cerebro que controla el estado de ánimo y el movimiento que se daña en la EH. Unas semanas más tarde, los componentes de CRISPR-cas9 se habían diseminado a muchas células, deshabilitando el gen de la EH que no funciona bien, y habían disminuido los signos de estrés en las neuronas.

Después de tres meses, había menos grupos dañinos de proteína huntingtina acumulada en las células cerebrales, y los ratones EH habían mejorado algo en las pruebas de movimiento. El aspecto más emocionante de este experimento fue la recuperación de ratones más viejos que ya habían desarrollado síntomas. Incluso los ratones de 9 meses de edad (alrededor de mediana edad) mejoraron después de recibir las inyecciones, lo que sugiere que su cerebro podría recuperarse parcialmente después de haber sufrido daño durante la mitad de su vida.

Ir con cuidado

La mayoría de las personas con EH sólo tienen una copia del gen mutado y la otra copia que es perfectamente saludable. Existe cierta preocupación sobre el uso de CRISPR-Cas9 como terapia, ya que aunque podría eliminar la porción dañada del gen de la EH, también podría eliminar permanentemente una parte de la copia saludable. El laboratorio de Li también realizó algunos experimentos para tratar indirectamente esta cuestión, trabajando con ratones que tenían *dos* copias defectuosas del gen de la EH, y usando CRISPR-Cas9 para eliminar ambos. No hubo daño inmediato en los ratones, aunque sólo fueron controlados durante unas semanas.

La seguridad de no interferir con la copia normal del gen EH es importante, teniendo en cuenta el ensayo clínico en curso de un ASO huntingtin-lowering ASO. El fármaco reduce los niveles tanto del gen mutado como de la copia saludable del gen de la EH. Algunas investigaciones en ratones han sugerido que esto es inofensivo durante la vida posterior,



El aspecto más emocionante de este experimento fue la mejoría de ratones más viejos que ya habían

pero es difícil estar seguro, porque la vida útil de un ratón es mucho más corta que la de un humano. Las empresas que realizan el estudio de ASO - Roche e Ionis - son conscientes de estos riesgos, y están supervisando cuidadosamente los sujetos en el estudio para detectar cualquier signo de problemas causados por la reducción del gen de la EH.

desarrollado síntomas.



Hay otras diferencias clave entre los fármacos ASO y el enfoque CRISPR-Cas9. El ensayo actual de ASO en seres humanos es un tratamiento de *reducción de huntingtina* o *silenciamiento génico*, que funciona para desactivar ambas copias del gen de la EH en trozos cortos. Si el tratamiento se detiene, el gen recuperará su función. Por el contrario, la *edición* del gen utilizando CRISPR-Cas9 crea un cambio permanente en el ADN, y por lo tanto debe ser abordado con aún más precaución. Hay pruebas de que el gen de la EH, dañado o no, tiene funciones importantes en la célula, y no queremos arriesgarnos a efectos secundarios permanentes. La buena noticia es que los científicos están abordando el desafío de evitar modificar la copia saludable del gen, conocido como enfoque alelo-específico.

Mejora de las técnicas de edición de genes

Dos grupos han mejorado recientemente la técnica CRISPR-Cas9, utilizándola sólo para cortar e inactivar la copia dañada del gen. Un equipo liderado por Jong-Min Lee en el Hospital General de Massachusetts realizó una delección específica de alelos utilizando ARNs guía diseñados inteligentemente. Los guías buscaron pequeñas discrepancias en las letras del ADN cerca de la mutación de la EH y dirigieron dos cortes Cas9. Su enfoque es nuevo porque las ediciones de genes podrían ser “personalizadas” dependiendo del ADN de un individuo.

Un segundo grupo, encabezado por Beverly Davidson en el Children’s Hospital de Filadelfia, utilizó un enfoque similar dirigido sólo al gen mutado, haciendo cortes más pequeños con Cas9. Esto detuvo la producción de múltiples proteínas huntingtina dañinas. Al igual que el grupo de Li, también podrían inactivar el gen de la EH en el cerebro de un ratón vivo. Queda por ver si la técnica CRISPR actualizada mejorará el comportamiento de un ratón con EH, pero ambas innovaciones son un paso hacia las terapias genéticas del futuro.

Retos a la edición de genes

Estamos entusiasmados con el uso de la edición de genes para entender mejor la EH. El uso de CRISPR en un ratón vivo y el desarrollo de enfoques alelo-específicos representan pasos importantes hacia adelante, pero hay varios obstáculos a superar antes de que CRISPR-Cas9 pueda convertirse en un tratamiento para la EH. Aquí están los principales desafíos a los que se enfrentan los investigadores, y nuestro estado actual de conocimiento:

1. **Precisión:** asegurarse de que el Cas9 sólo corta el gen para el que fue diseñado y no daña al azar otra parte. Los científicos parecen estar en el buen camino para garantizar que el CRISPR sea muy específico.
2. **Especificidad de alelo:** asegurar que sólo se elimina la copia mutada del gen de la EH y no

la sana. La investigación que hemos descrito aquí es un paso adelante emocionante.

3. **Entrega:** obtener la maquinaria para introducir CRISPR-Cas9 en muchas neuronas en el cerebro y eliminar el gen de la EH de cada una. Ahora sabemos que es posible en un ratón, pero sigue siendo un obstáculo importante para cualquier terapia utilizada para tratar el cerebro humano.
4. **Seguridad a corto plazo:** asegurarse de que la eliminación de parte del gen de la EH no causará problemas neurológicos inmediatos o incluso la muerte. Hasta ahora parece que esto es así
5. **Seguridad a largo plazo:** asegurarse de que la edición del gen de la EH es seguro durante un largo período de tiempo. Esta es una pregunta muy difícil de explorar en ratones. Podemos encontrar respuestas a través de experimentos con primates, o de técnicas menos permanentes en ensayos clínicos.

El ensayo de disminución de la huntingtina con ASO todavía está en las primeras etapas de seguridad, pero el enfoque ha demostrado ser prometedor hasta ahora. La edición de genes podría introducir cambios duraderos en lo que está escrito en el código del ADN, con profundas consecuencias. El uso seguro de CRISPR-Cas9 se vuelve exponencialmente más difícil a medida que se acerca a la clínica. Sin embargo, la próxima generación de esta tecnología muestra una promesa increíble, y muchas mentes están avanzando en formas innovadoras.

Jeff Carroll, editor de este trabajo, colabora con la investigación desde hace tiempo, no financiada, con Ionis Pharmaceuticals cuyo ensayo ASO se discute en este artículo. Ed Wild, co-editor en jefe de HDBuzz, es un investigador del estudio Ionis / Roche ASO, mencionado en el artículo. Ni el Dr. Wild ni los empleados de Ionis o Roche habían participado en la redacción o edición de este artículo. Más información sobre nuestra política de privacidad en las Preguntas frecuentes

Glosario

proteína huntingtina Proteína producida por el gen de la EH

ensayo clínico Experimentos muy bien planeados diseñados para responder determinadas preguntas sobre cómo afecta un fármaco a humanos

terapias tratamientos

genoma el nombre que se le da a todos los genes que tienen todas las instrucciones para formar una persona u otro organismo

CRISPR Un sistema para editar el ADN de forma precisa

Exones Una pequeña parte de nuestro ADN que se utiliza directamente para indicarle a la célula cómo hacer las proteínas

Alelo una de las dos copias de un gen

ARN compuesto químico similar al ADN, que forma las moléculas 'mensajeras' que utilizan las células, como copias de trabajo de los genes, cuando fabrican las proteínas.

© HDBuzz 2011-2018. El contenido de HDBuzz se puede compartir gratuitamente, bajo una Licencia Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported.

HDBuzz no proporciona consejo médico. Para más información visite hdbuzz.net

Generado el 03 de febrero de 2018 — Descargado desde <https://es.hdbuzz.net/244>