



M^a ÁNGELES SERRANO GARCÍA

Los avances de la Bioquímica y la Biología molecular y el futuro que seremos

Lección inaugural del Curso Académico 2021-2022

Los avances de la Bioquímica
y la Biología molecular y el futuro
que seremos

Lección inaugural del Curso Académico 2021-2022,
pronunciada por D.^a M.^a Ángeles Serrano García,
catedrática de Bioquímica y Biología Molecular
de la Universidad de Salamanca,
en el solemne Acto Académico celebrado
el día 29 de septiembre de 2021
presidido por el Sr. Rector Magnífico D. Ricardo Rivero Ortega.

| M.^a ÁNGELES SERRANO GARCÍA |

Los avances de la Bioquímica
y la Biología molecular y el futuro
que seremos



VNiVERSIDAD
D SALAMANCA

SECRETARÍA GENERAL

2021

© 2021 de los textos:
M.ª Ángeles Serrano García

© 2021 de esta edición:
Universidad de Salamanca. Secretaría General

Cubierta:
«La creación de las aves» (Remedios Varo, 1971)

Edición no venal

Imprime: Gráficas Lope

Hecho en la UE - Made in EU

| ÍNDICE |

INTRODUCCIÓN

9

1. LA NECESIDAD DE INFRAESTRUCTURAS CIENTÍFICAS Y LA INTERDISCIPLINARIEDAD

13

2. LO MOLECULAR

25

2.1. *Breve recorrido por la disciplina*

25

2.2. *Donde está el peligro crece también lo que salva. Lo mutualista y lo depredador*

43

3. EL CASO CRISPR-CAS Y LA INTERDISCIPLINARIEDAD

51

4. CRISPR-CAS9: LAS MUJERES CIENTÍFICAS

67

5. ALGUNAS REFLEXIONES
SOBRE LOS PROBLEMAS ÉTICOS
DE LA INVESTIGACIÓN Y LA EXPERTICIA

73

6. A MODO DE CIERRE

81

REFERENCIAS

85

| INTRODUCCIÓN |

Excmo. Sr. Rector Magnífico

Excmos. e Ilmos. Señores

Miembros de la comunidad universitaria

Queridos amigos

Señoras y Señores

POSIBLEMENTE el descubrimiento científico que más vidas ha salvado es que hay que lavarse las manos. A partir de las observaciones de Semmelweiss y con aportaciones posteriores de Pasteur y Lister (1), nació la asepsia. De esta pequeña historia obtenemos dos importantes lecciones. Por un lado, que en ciencia hay avances que se generan por una observación casual, como fue la comparación de la mortalidad postparto en dos pabellones del mismo hospital, pero los resultados solo se alcanzan plenamente tras la sistematización de esas observaciones mediante la experimentación. Esa sistematización solamente puede producirse por personal preparado para repetir en un laboratorio los hechos que se investigan; es decir, se requiere personal y

se requieren medios. La reciente pandemia y los sorprendentemente rápidos resultados en el desarrollo de vacunas han puesto de manifiesto que una inyección de dinero y medios puede producir una aceleración de los logros, pero, como en la parábola bíblica, la semilla solo germina si cae en terreno fértil; así, los países en los que había una previa inversión significativa en infraestructuras científicas son los que han obtenido los primeros resultados. Creo que queda claro que necesitamos apoyar la demanda de que se invierta al menos el 2% del PIB en investigación.

Por otro lado, el descubrimiento de la asepsia nos hizo conscientes de que hay una cierta amenaza invisible producida por microorganismos, de modo que lo microscópico se vio, en buena medida, solamente como un peligro. Pero la Bioquímica, la Biología Molecular, la Genética y otras ramas del conocimiento que se ocupan de los procesos que suceden más allá de nuestra vista han ido recolocando las cosas en su sitio y recordándonos aquel bello verso de Hölderlin:

Donde está el peligro crece también lo que salva.

Hoy deseo hablarles de la manera en la que la comprensión de muchos de estos procesos químicos que se producen en la escala molecular nos permite un conocimiento más exacto de la vida, su evolución y también su protección.

| 1. LA NECESIDAD
DE INFRAESTRUCTURAS CIENTÍFICAS
Y LA INTERDISCIPLINARIEDAD |

DESDE MEDIADOS DEL SIGLO XX, momento en el que surge lo que se ha venido a denominar la *Gran ciencia* (2), se produce una transformación en la manera en la que se lleva a cabo la investigación científica. Los nuevos rasgos de la investigación van a tener que ver con aspectos institucionales, de organización interna de la investigación, cada vez más interdisciplinar. Se constata que, para hacer ciencia de calidad, tanto investigación de frontera, como también la investigación básica paulatina, se requiere de grandes recursos materiales y humanos. Además, aunque no toda la investigación deba conllevar un desarrollo tecnológico y económico posterior, lo que parece indiscutible es que invertir en ciencia mejora las condiciones sociales de aquellos entornos en los que se lleva a cabo, tema que desarrollaré en torno a dos afirmaciones.

Primera afirmación: la ciencia ya no avanza por observaciones casuales, sino por carísima investigación.

Hace ya varias décadas que la investigación científica no se consigue gracias al esfuerzo heroico de individuos aislados en sus pequeños laboratorios. La imagen de un Ramón y Cajal investigando solo y dibujando lo que se veía por su microscopio ya no es posible. Los laboratorios, las instalaciones, los equipos humanos y los equipamientos técnicos demandan cada vez más financiación, y no solo en momentos concretos, sino de manera sostenida en el tiempo. De hecho, las grandes instalaciones que aparecen en las noticias, como el CERN, ITER o ESA, solo son posibles gracias a la colaboración de diversas naciones, porque difícilmente una sola puede hacer frente a la cantidad ingente de recursos económicos, materiales y de personal altamente cualificado que precisan. Pero otro tanto cabe decir, aunque a escala más reducida, respecto de los proyectos de investigación que se llevan cabo en las Universidades o en los OPI de los países. Frente al 3,12 % del PIB que invierte Alemania, el 3,03 de Dinamarca, o el 2,76 de Finlandia, España no pasa del 1,25 (datos del 2019 Fuente INE, actualizados a julio de 2021), aunque hay que destacar que en 2021 el presupuesto del Ministerio de Ciencia

e Innovación ha aumentado en un 59,4 % con respecto al de 2020. Podría pensarse que la financiación debe destinarse a aquellos proyectos que requieran de atención urgente, como puede ser el cambio climático o las emergencias sanitarias. Ya que los recursos son limitados, podría argumentarse que solo se debe invertir en aquellas áreas que sabemos de antemano que servirán para solucionar ciertos problemas acuciantes. Sin embargo, sirve de poco esta financiación si no existe una continuidad temporal y si no se ha invertido previamente en esas áreas, porque la ciencia no se hace de la nada, no se genera un investigador experto en un tema en unos meses, ni se crean y dotan instituciones en semanas.

Hemos visto un ejemplo en el 2020 y 2021, años en los que la sociedad contemporánea por primera vez ha sido testigo inmediato de la enorme capacidad de la institución científica para reaccionar ante una crisis sanitaria internacional. Si conocemos la historia, sabemos que no es la primera vez (ni será la última) que la humanidad se ha enfrentado a una situación semejante. Tenemos referencias, aunque inciertas, de lo que supuso la llamada Gripe española

de 1918, que mató en dos años a más de 40 millones de personas en todo el mundo, por no decir de la Peste negra del siglo XIV, que se calcula que provocó la muerte de entre el 30 y el 60 por ciento de la población europea. Podría discutirse si la Covid-19 es tan virulenta como lo fueron esos dos ejemplos, pero posiblemente no lo sabremos nunca porque, gracias al enorme esfuerzo que se ha llevado a cabo desde el ámbito científico-tecnológico, se ha conseguido frenar su avance y su capacidad de afectarnos. No obstante, no olvidemos que estos logros no son extensibles aún a todo el mundo: basta echar un vistazo a lo que sucede en África para darnos cuenta de cómo las desigualdades se reflejan también en este momento.

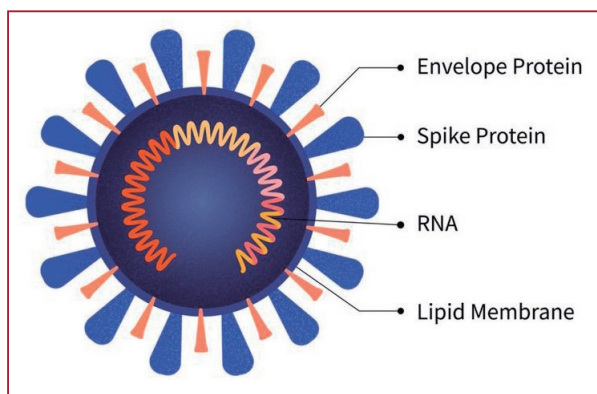
Sin embargo, la atención constante sobre cómo se iban produciendo los diferentes hitos en la investigación sobre la Covid-19 puede haber contribuido a dar una visión distorsionada de cómo se trabaja en ciencia. Por un lado, la producción en un corto lapso de diversas vacunas ha suscitado sospechas, precisamente por la rapidez con la que se ha llevado a cabo. ¿Por qué, se preguntan algunos, no hay ya vacunas para otras enfermedades, como el VIH o la malaria

a pesar del tiempo que se lleva trabajando en ellas? Otra sospecha se ha suscitado acerca de los periodos de puesta a prueba: ¿cómo es posible que los ensayos se hayan llevado a cabo con tanta celeridad cuando para otros fármacos es necesario mucho más tiempo? Para responder a estos interrogantes es preciso un mayor esfuerzo comunicativo en el que se muestre cómo funciona el método científico, pero también es necesario indicar a la ciudadanía que el resultado ha sido rápido porque la investigación ya se venía haciendo desde mucho antes, no para este virus en concreto, pero sí para casos similares. Precisamente, nuestra rápida capacidad de reacción ha sido posible porque la investigación científica, primero para determinar de qué tipo de virus se trataba y más adelante para desarrollar diferentes líneas estratégicas para producir vacunas, llevaba trabajando en estos ámbitos desde hacía años.

Pongámonos en contexto: en enero de 2020 se había conseguido descifrar el mapa genético del SARS-CoV-2, mientras que descifrar el genoma humano había llevado alrededor de 13 años. ¿Porque ha sido posible dar con la secuencia del virus tan rápidamente? En este

caso la rapidez se ha debido a dos factores: por un lado, el conocimiento que ya se tiene de otros virus similares, pero también, por otro lado, gracias a los desarrollos que han tenido lugar en secuenciación y computación en las últimas décadas. Un segundo elemento que ha favorecido la rapidez de la producción de las vacunas tiene que ver con la caracterización de las espículas virales que el SARS-CoV-2 emplea para poder irrumpir en las células que infecta (Figura 1). Esto se consiguió gracias al conocimiento acumulado sobre otros coronavirus, como el SARS CoV-1 y el MERS. En el caso de las vacunas, las investigaciones que se han llevado a cabo durante los últimos quince años por grupos de investigación de todo el mundo en torno al VIH también han ayudado a acelerar el proceso. Y no menos importantes han sido las instalaciones que han permitido fabricarlas, distribuir las e inocularlas en un tiempo inusitadamente breve. Todo eso ya estaba ahí: el conocimiento de hombres y mujeres, las instalaciones, los laboratorios, las empresas, los canales de distribución. Pero no estaba ahí en todas partes. Esta pandemia nos ha permitido darnos cuenta también de que quienes han

sido capaces de llegar antes a la solución han sido aquellos que ya disponían de infraestructuras y del personal necesario trabajando en temas similares.



| Figura 1. Ilustración del virus SARS-CoV-2
(N. Hanacek/NIST) |

Segunda afirmación: la investigación contemporánea no se entiende sin la interdisciplinariedad.

Esta forma de investigar no es simplemente un acontecimiento concreto en el tiempo, el que se daría cuando especialistas de distinta índole colaboran para resolver un problema

especifico. En realidad, podría decirse que es la manera en la que se hace la mayor parte de la investigación científica hoy en día. Las investigaciones precedentes nos han mostrado que los fenómenos son complejos, que en ellos se entrelazan diversas características que requieren de un abordaje desde diferentes frentes disciplinares, especialidades que no pueden actuar aisladamente, sino que precisan conjugarse y cooperar para comprender, explicar y tratar esos fenómenos. En la interdisciplinariedad se produce una combinación de métodos y de conocimientos de dos o más disciplinas en pos de un objetivo común, de forma que el cruce de materias académicas tradicionales da lugar a una nueva forma de tratar los problemas.

Resulta llamativo que la interdisciplinariedad surgiese casi al mismo tiempo que se estaban comenzado a definir los distintos y delimitados campos de la ciencia. Sin embargo, esta separación se acompañó de la constatación de que el conocimiento de una disciplina penetra también en otras, y de la idea de que comprender un aspecto de la realidad requiere un conjunto de campos del saber. Esto se ilustra con la conferencia sobre química que impartió

Humphry Davy ya en 1802 en la *Royal Institution*, en la que ensalzaba el valor del conocimiento químico en una multitud de ciencias, y asimismo a través de la vida humana y la experiencia. Pero también se observa el mismo principio metodológico en la ponencia que, medio siglo más tarde, desarrolló Michael Faraday en la misma institución, en la que mostraba que la comprensión de cómo se comportaba una simple vela requería del conocimiento de diferentes leyes de la naturaleza, desde la acción de la capilaridad hasta la gravitación.

La interdisciplinariedad también se manifiesta en la cada vez más necesaria incorporación en los equipos de investigación de tecnólogos que colaboren en la mejora de los instrumentos de observación y experimentación. De hecho, una parte esencial de la nueva manera de investigar requiere de una planificación deliberada de cómo llevar a cabo determinado tipo de experimentos. Esto se ha reflejado en el desarrollo de instrumentos y técnicas diversos, como, por ejemplo, ocurre con las tecnologías de imagen, que pueden aplicarse en más de un campo. Por otro lado, la interdisciplinariedad no se produce únicamente porque

los objetos de estudio sean complejos, sino también porque la investigación científica debe tener frutos también en el ámbito aplicado, en el desarrollo de soluciones para los problemas prácticos. Y para hallarlos es imposible no ayudarse de otros, cooperar para obtener un mejor resultado.

La bioquímica, de hecho, ha sido uno de los primeros ejemplos de interdisciplinariedad, al integrarse en ella conocimientos de la química, que puede tratar también de lo inorgánico, y combinarlos con conocimientos que provienen de la biología, para así comprender y explicar elementos esenciales de la vida, la composición química de los seres vivos y las reacciones peculiares que, desde el punto de vista químico, tienen los elementos mínimos de los seres vivos. Sin embargo, muchos de los que hoy forman parte de esta área de investigación no suelen pensar que son el resultado de un cruce interdisciplinar. Los más de 150 años de historia de la bioquímica avalan este olvido. Son muchas las generaciones de científicos entrenados en esa manera de analizar su objeto de estudio, empleando indistintamente lenguajes y técnicas de la biología y de la química, y formando

parte de departamentos que poseen ese nombre en las universidades. Por otro lado, sin la bioquímica y la biología molecular sería impensable el desarrollo de la biotecnología, un ámbito de investigación y desarrollo más reciente en el tiempo. Como vemos y afortunadamente, las interacciones se siguen produciendo.

| 2. LO MOLECULAR |

| 2.1. *Breve recorrido por la disciplina*

A CONTINUACIÓN, reflexionaré acerca de los avances en la Biología Molecular, que es la síntesis de muchas disciplinas biológicas, bioquímicas y médicas, y evocaré los hitos conseguidos, que han ido cambiando la percepción del mundo que conocemos y que nos han dado herramientas con las que «por primera vez podemos plantear el problema fundamental del ser humano y empezar a comprender nuestra evolución, nuestra historia, nuestra cultura y nuestra biología como un todo» (3). Desgranaré de manera rápida y no exhaustiva los principales hitos de la biología molecular y lo que ha supuesto esta ciencia en cuanto a su aporte al conocimiento y al despegue de las metodologías, los modelos de estudio y los equipamientos, con claro impacto en las ciencias de la salud, pero también en áreas vitales para nuestro estado del bienestar como son la agricultura, la ganadería o el medio ambiente, entre otras. Gracias a los avances de la

Bioquímica y la Biología Molecular conocemos cómo son los procesos biológicos en situación normal y patológica, lo que ha permitido desarrollar mejores y más precisos métodos de diagnóstico y terapias dirigidas a dianas moleculares específicas. La idea que persigo es pintar un retrato, se diría que puntillista, de algunos de los principales hitos que han llevado a nuestra disciplina al punto en el que nos encontramos, un espacio de grandes retos y grandes esperanzas. Recorreremos muy rápidamente una especie de hilo de Ariadna que resuma, en lo posible, el camino de nuestra disciplina. Al describir los avances en la Biología Molecular para llegar al punto de desarrollo actual quiero rendir un merecido homenaje a los científicos implicados en la ciencia básica de calidad, que nos han deslumbrado y motivado con sus descubrimientos.

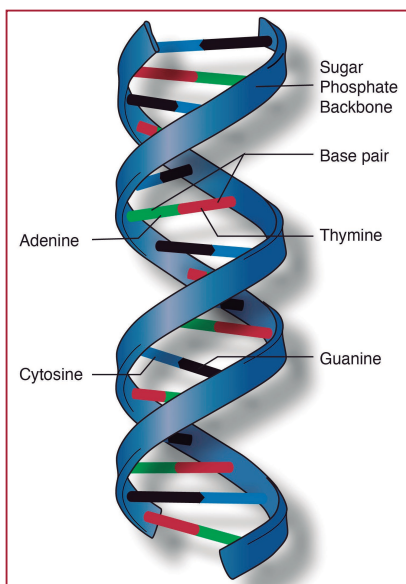
Comienzo llamando la atención sobre las teorías evolucionistas de Darwin y Wallace, que en 1858 postularon que todos los seres vivos tienen un origen común, lo que supuso que el ser humano dejara de constituir el centro de la creación para convertirse en «una especie más» de los millones de especies creadas por la evolución (4). Que todos los seres vivos tengan

un origen compartido lleva a preguntarnos cuál es ese punto en común que se transmite entre generaciones y se modifica generando la diversidad biológica. Esta pregunta, surgida a la luz de la teoría de Darwin y Wallace, empezó a ser satisfecha en 1866. Ese año los experimentos de Gregor Johann Mendel permitieron concluir que los rasgos de los individuos están determinados por factores particulares (ahora llamados genes) que llevan información hereditaria, lo que supuso abordar «por vez primera» las leyes de la herencia (5). Más tarde, Bateson (1905) llamó a la ciencia de la herencia *Genética* (6), voz que sirvió de base para que Johannsen creara el término *gen* (7). Con muchos más hallazgos, que no mencionaré en aras de la brevedad, llegamos a que, a comienzos del siglo XX, Garrod fuera capaz de anticipar el concepto de mutación genética y recogerlo en una monografía con un título absolutamente avanzado a su tiempo: «Errores Innatos del metabolismo» (8). En esta línea en 1941 Beadle y Tatum con unos elegantes experimentos propusieron la innovadora hipótesis de «un gen - una enzima» (9), contribución por la que recibieron el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1958.

Las bases de lo que llamamos la ingeniería genética comienzan con el descubrimiento hecho por Griffith en 1928 del «factor transformante bacteriano» (10), la identificación por Avery, MacLeod y McCarty de que dicho factor es ADN (11) y el desciframiento en 1946 de la conjugación bacteriana por Lederberg y Tatum (12). A los pocos años (de 1949 a 1952) el ilustre científico Erwin Chargaff fue capaz de postular las reglas que conocemos por su apellido, aplicables a lo que podríamos denominar «ladrillos» del ADN y que indican que la guanina se empareja con la citosina y la adenina con la timina (13), hallazgo que allanó aún más el camino para demostrar, de manera definitiva, que el material genético es el ADN.

Los estudios de Chargaff y la demostración de que el material genético de los bacteriófagos (virus que infectan las bacterias) es ADN, llevada a cabo por Hershey y Chase (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1969) (14), constituyeron la clave para lo que el destacado científico español Ginés Morata llama el «hito que marca la segunda revolución de la biología molecular» (15): los hallazgos de Watson y Crick acerca de la naturaleza y estructura

en doble hélice de la información genética, el ADN. Este logro les valió el premio Nobel en Fisiología o Medicina en 1962 junto a Maurice Wilkins, pero, muy injustamente, no junto a Rosalind Franklin, sin cuya famosa foto 51 de difracción de rayos X no se hubiera descifrado en ese momento la estructura en doble hélice del ADN (16) (Figura 2).

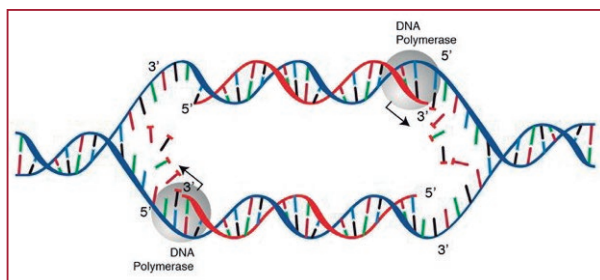


| Figura 2. Estructura del ADN (Tomado de: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Double-Helix>) |

Previamente, nuestro respetado y admirado compatriota Severo Ochoa y la investigadora Grunberg Manago recibieron en 1959 el premio Nobel de Fisiología o Medicina por su fundamental descubrimiento de la enzima polinucleótido fosforilasa, que cataliza la síntesis del ARN (17). Se trata del ácido ribonucleico, tan conocido por todos en estos días al ser el material genético del virus SARS-CoV-2 y por ser también el tipo de molécula con el que se han fabricado las vacunas de Pfizer Biontech y de Moderna, denominación esta última que es la contracción en inglés de *ARN Modificado*.

En 1958 Arthur Kornberg descubrió la enzima ADN polimerasa, por lo que recibió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1959, contribuyendo de manera significativa a los avances que estaban por venir en Biología Molecular (18). Unido a ello, otro hecho crucial y admirable en el avance de esta ciencia fue el descubrimiento hecho por Meselson y Stahl del modelo de replicación del ADN. Estos científicos demostraron, con unos experimentos irrefutables, que el mecanismo era el semi-conservativo o, lo que es lo mismo, que cada hebra de la doble hélice del ADN sirve como

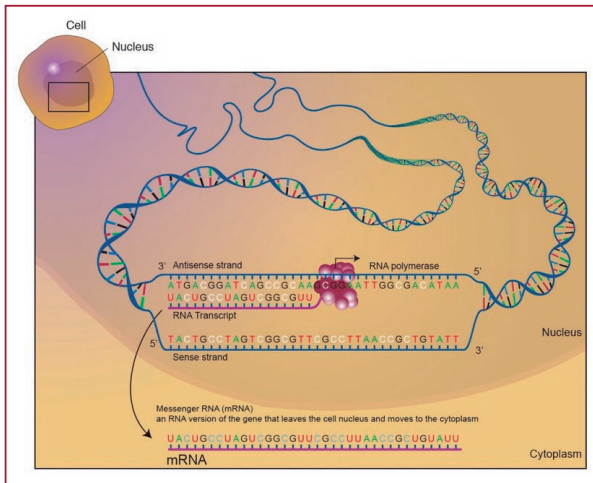
molde para la síntesis de una nueva (19). Esa síntesis es, precisamente, lo que realiza la ADN polimerasa (Figura 3).



| Figura 3. Replicación del ADN
(Tomado de <https://www.genome.gov/genetics-glossary/DNA-Replication>) |

A partir de los hallazgos de la ARN polimerasa dependiente de ADN, en 1961 Sydney Brenner, junto con Jacob y Meselson, marcó otro hito en el avance de la biología molecular al descubrir el ARN mensajero (20). El ARN mensajero es una molécula monocatenaria que corresponde a la secuencia genética de un gen y que es leída en los ribosomas en el proceso de síntesis proteica, es decir, una especie de traductor de las instrucciones que el gen contiene para la producción de la macromolécula

que le corresponde (Figura 4). En este punto del desarrollo científico era necesario conocer el código utilizado para traducir la secuencia de bases del ARN mensajero en proteínas: fue gracias a los extraordinarios trabajos de Nirenberg y Khorana (1965) como se descifró por completo el código genético. Este descubrimiento fue fundamental y les valió a estos investigadores el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1968 (21 y 22). El código genético es el conjunto de reglas que utilizan las células vivas para traducir en proteínas la información codificada en el material genético (secuencias de ADN o ARNm). La decodificación la realiza el ribosoma, que une los aminoácidos proteicos en un orden especificado por el ARN mensajero (ARNm), utilizando moléculas de ARN de transferencia (ARNt) para transportar los aminoácidos y leer el ARNm de tres en tres nucleótidos (lo que llamamos *tripletes*).

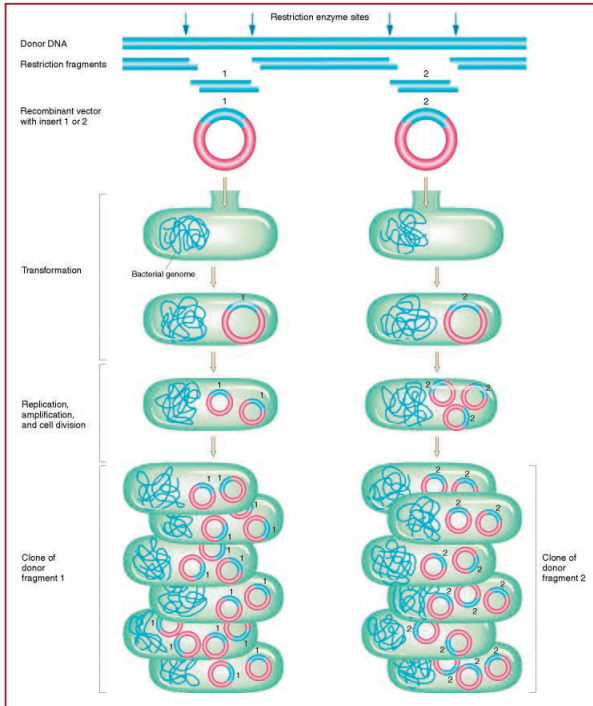


| Figura 4. ARN mensajero

(Tomado de: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/messenger-rna>) |

En 1971 Hamilton Smith descubrió, mediante unos experimentos brillantes, la primera enzima de restricción y consiguió el premio Nobel en Fisiología o Medicina en 1978 (junto con Werner Arber y Daniel Nathans). Se trata de enzimas que escinden el ADN en fragmentos en sitios específicos conocidos como sitios de restricción. Estas enzimas se encuentran en bacterias y arqueas y constituyen un mecanismo de defensa contra los virus invasores (23).

El descubrimiento de Smith y colegas abrió las puertas a la ingeniería genética, ya que, al poder cortar el ADN bacteriano en un sitio específico, se crea un espacio en el que se puede introducir ADN extraño con fines de edición genética (Figura 5). A este respecto, en 1972 se produjeron dos avances fundamentales en la nueva disciplina: en primer lugar, Paul Berg y su equipo construyeron la primera molécula de ADN recombinante *in vitro* (24), y, en segundo lugar, Cohen y Boyer generaron el primer vector de clonación (25). Estos científicos fueron, por ello, merecedores del Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1980 y 1986, respectivamente.



| Figura 5. El tratamiento con enzimas de restricción del ADN donante y del vector permite la inserción de fragmentos individuales en los vectores. Un vector único entra en un huésped bacteriano, donde la replicación y la división celular dan lugar a un gran número de copias del fragmento donante.

(Tomado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21881/>) |

El rápido avance de la ingeniería genética y de los métodos de clonación provocó que en 1974 se realizara un llamamiento a una moratoria mundial sobre determinados tipos de experimentos con ADN recombinante. Asimismo, entre el 24 y el 27 de febrero de 1975 se celebra la conferencia de Asilomar (California) para evaluar los riesgos de la ingeniería genética (26). En los años posteriores se realizaron numerosas aportaciones al desarrollo de vectores de clonación y así, en 1977, Gilbert y Sanger realizaron una contribución seminal al proponer métodos para la secuenciación del ADN, contribución por la que recibieron el premio Nobel de Química en 1980 (27 y 28). El segundo de estos investigadores fue quien afirmó que «a knowledge of sequences could contribute much to our understanding of living matter» (29).

A finales de la misma década y principios de la siguiente se producen progresos de trascendencia social y económica. Veamos dos ejemplos. En 1979 el grupo de Goeddel utilizó ADN recombinante para expresar el gen de la insulina humana a través de la bacteria *E. coli* (30). Esto permitió sustituir el uso de la insulina

porcina por insulina humana en una enfermedad que afecta a unos 350 millones de personas en el mundo. En 1980 el grupo de John W. Gordon consiguió transformar embriones de ratón a través de la microinyección de un plásmido recombinante, lo que ofreció la oportunidad de estudiar problemas de regulación genética y diferenciación celular en un sistema de mamíferos mediante la aplicación de la tecnología del ADN recombinante (31). El enorme potencial económico de todos estos adelantos y la carrera de patentes derivada se ponen de manifiesto con el hecho de que en 1980 el Tribunal Supremo de EE.UU. concedió a la General Electric Company la primera patente del mundo sobre un organismo modificado genéticamente para la biodegradación de vertidos de petróleo (32).

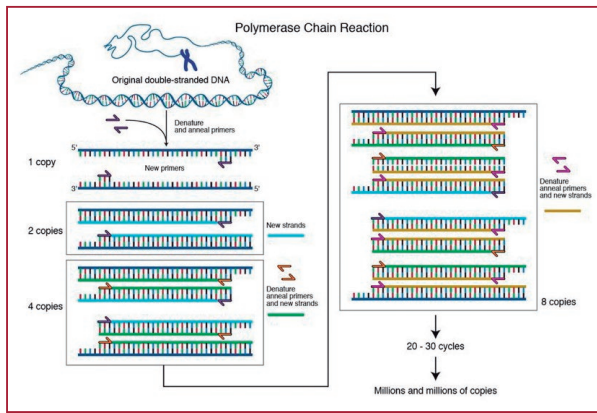
A partir de esos años los avances fueron abundantes y espectaculares. Baste mencionar los experimentos de mutagénesis dirigida en procariotas (33), la comercialización de la insulina humana (Humulina) producida por tecnología del ADN recombinante y su impacto en la calidad de vida de las personas diabéticas, la producción de la primera planta transgénica y la creación por parte de Montagu y Schnell

de la compañía Plant Genetic Systems (PGS), una empresa biotecnológica conocida por su trabajo en el desarrollo de plantas transgénicas resistentes a los insectos.

Y continuando con importantísimas aportaciones conceptuales y metodológicas en el desarrollo de la Biología Molecular y la biotecnología llegamos al descubrimiento de la «Reacción en Cadena de la Polimerasa» por Kary Mullis, que recibió el premio Nobel de Química en 1993 (34) (Figura 6). Toda la sociedad está familiarizada ahora con el término PCR; no solo eso, sino que muchos ciudadanos se han tenido que someter a esa prueba para diagnosticar una posible infección por SARS-COV-2. Lo que quizás no toda la sociedad alcance a percibir es que este descubrimiento ha revolucionado el diagnóstico en general de enfermedades al permitir identificar, de manera rápida y precisa, la presencia de agentes infecciosos. En esta pandemia se ha comprobado que la identificación rápida del virus SARS-COV-2 ha sido fundamental para desarrollar medidas de contención de los contagios, pero igualmente estamos ante un procedimiento esencial que puede aplicarse a otras enfermedades infecciosas y a

muchos otros ámbitos. Así, gracias a la PCR, los científicos han podido estudiar el ADN de restos humanos muy antiguos, lo que ha ayudado a trazar con mayor precisión la historia de la humanidad. Qué decir de lo que ha contribuido la PCR al avance de las ciencias forenses e investigaciones criminológicas, así como de las pruebas de paternidad y otras numerosísimas aplicaciones en todos los campos imaginables y, desde luego, en los avances hacia la medicina personalizada. Pero, además, ha sido clave en el proyecto de secuenciación del genoma humano, de vital y enorme transcendencia en los avances que mencionaré de manera sucinta a continuación. Permítanme antes citar dos casos emblemáticos que pueden ayudarnos a entender la envergadura de estos adelantos: el 14 de septiembre de 1990 se realizó el primer procedimiento de terapia génica aprobado en la niña Ashanthi De Silva, de cuatro años de edad. Esta niña había nacido con una rara enfermedad genética llamada inmunodeficiencia combinada grave (SCID), lo que implica carencia de un sistema inmunitario sano y vulnerabilidad ante cualquier germen o infección (35). Al mismo tiempo en Escocia, desde el Instituto

Roslin, se clonó la oveja Dolly mediante la técnica de transferencia nuclear, lo que produjo el primer mamífero clonado de la historia (36).



| Figura 6. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
 (Tomado de [https://www.genome.gov/genetics-glossary/
 Polymerase-Chain-Reaction](https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymerase-Chain-Reaction)) |

Ese mismo año James Watson anunció el lanzamiento del «Proyecto Genoma Humano» para cartografiar y secuenciar los genomas completos de una serie de organismos genéticamente importantes, incluido el ser humano (37). En 1999, en el marco del mencionado proyecto, se anunció la secuenciación total del cromosoma 22, el primer cromosoma humano

secuenciado por completo (38). Es importante destacar en esta cronología, ya en el año 2001, el desciframiento llevado a cabo por Kornberg y su grupo de las bases estructurales del paso de la información contenida en el ADN al ARN mensajero, lo que se conoce como proceso de transcripción (39 y 40). El año 2001 destacará además por el anuncio hecho por Venter y Watson, representando al Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma Humano y a la compañía Celera Genomics, con motivo de la publicación de dos borradores de secuencias y análisis del genoma humano (41 y 42). Finalmente, los científicos del mundo celebramos con alegría en 2004 la publicación en la revista *Nature* de la noticia de la culminación del proceso de secuenciación del genoma humano y de la existencia, en humanos, de entre 20.000 y 25.000 genes codificadores de proteínas (43). Se trataba de un hito histórico de primer orden, resultado del mayor proyecto de investigación biomédica de la historia, con una financiación de 3 mil millones de dólares y con la participación de un Consorcio Público Internacional, formado por EE.UU., Reino Unido, Japón, Francia, Alemania y China (Figura 7).

A pesar de su gran valor, el trabajo publicado en 2001 por Celera Genomics y el Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma Humano y las actualizaciones que siguieron solo cubrían la fracción eucromática del genoma, de forma que quedó inconcluso o a falta de corrección lo correspondiente al 8% restante del genoma (la heterocromatina y muchas otras regiones complejas). En fechas muy recientes, este mismo año, el consorcio Telomere-to-Telomere (T2T) ha informado sobre la conclusión de la primera secuencia verdaderamente completa de 3.055 mil millones de pares de bases (bp) de un genoma humano, lo que representa la secuencia de referencia del genoma humano desde su inicio (44). La trascendencia que puede tener este impresionante logro es tal, que permitirá que los científicos accedan a zonas desconocidas y por lo tanto inexploradas de nuestro genoma en las que podrían encontrarse potencialmente las claves para entender la génesis y el desarrollo de diversos trastornos actualmente inexplicados, así como la posibilidad futura de un desarrollo de tratamientos, terapias, intervenciones y fármacos específicos (44).



| Figura 7. Hitos en el Proyecto Genoma Humano |

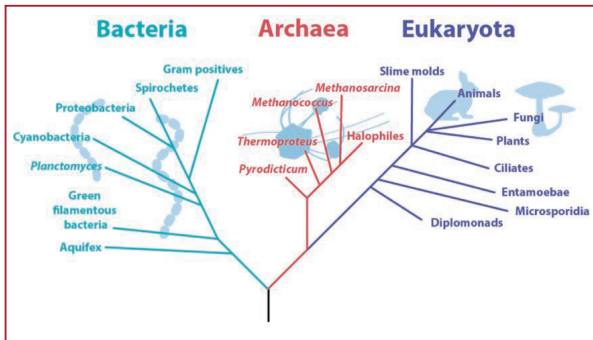
2.2. *Donde está el peligro crece también lo que salva. Lo mutualista y lo depredador*

Volviendo al principio de la lección quiero recordar el verso de Hölderlin:

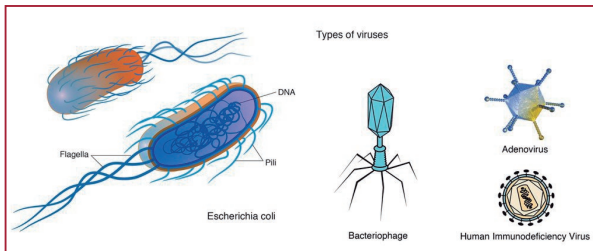
«Donde está el peligro crece también lo que salva»

A pesar de la persistente percepción pública negativa hacia los virus y bacterias, muy

especialmente en estos dos últimos años, las palabras del poeta alemán nos advierten más allá de las apariencias. Así, los científicos han empleado con éxito estos microorganismos para estudiar mecanismos moleculares esenciales y para descifrar procesos fundamentales de la biología. En la actualidad, los virus, microorganismos ubicuos que pueden infectar cualquiera de los tres linajes celulares existentes (Archaea, Bacteria y Eukarya) (Figura 8), han entrado en la era biotecnológica y se han desarrollado numerosas aplicaciones de los mismos. Las herramientas derivadas de los virus se utilizan para manipular la información genética, para detectar, diagnosticar, controlar y curar enfermedades infecciosas y para otros usos. A este respecto, retomo y abundo en la breve historia que acabo de relatar, donde se deja translucir el papel que han desempeñado los microorganismos (las bacterias y los virus) (Figura 9) en el avance de la Bioquímica y la Biología Molecular y la Biotecnología.



| Figura 8. Árbol filogenético basado en datos del ARN_r, mostrando la separación de bacterias, arqueas y eucariontes, (Tomado de: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_\(Bruslind\)/07%3A_Archaea](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Bruslind)/07%3A_Archaea)) |



| Figura 9. Bacterias y tipos de virus (*E. coli*-tomado de <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Bacteria>- tipos de virus -tomado de <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Virus>) |

Desde los años 40 del siglo xx los bioprocesos microbianos han permitido producir diversos productos químicos básicos, así como proteínas recombinantes y antibióticos. Las bacterias son otro tipo de microorganismos que prosperan en nuestro planeta en condiciones extremas desde hace miles de millones de años. Su gran capacidad de acomodación se basa en la habilidad que poseen para percibir señales y adaptarse, cambiando de manera rápida su comportamiento.

Desde tiempos remotos los humanos han utilizado las bacterias (aún sin saberlo) para poder satisfacer necesidades fundamentalmente alimenticias como se ilustra con la producción de yogur y queso, así como de otros tipos de alimentos fermentados. Asimismo, nuestra microbiota intestinal, compuesta por unos cien billones de bacterias, es vital en los procesos digestivos y para proveernos de algunas vitaminas. Con la evolución del conocimiento científico, en la actualidad se utilizan las bacterias de maneras variadas y con distintos propósitos, desde la preservación del medio ambiente a la producción de moléculas de importancia médica. Algunos tipos de bacterias son capaces de descomponer residuos, de limpiar vertidos

de petróleo, de producir biocombustibles, de fabricar proteínas de importancia médica y de un largo etc. Es importante tener presente que todo esto y mucho más es posible porque los científicos son capaces de modificar el ADN de las bacterias para darles nuevos usos.

Las bacterias y, en particular, *Escherichia coli* han sido fundamentales en la revolución del ADN. El ADN plasmídico de la bacteria *E. coli* ha sido una herramienta crucial para trabajar con fragmentos de ADN de todas las especies. Como parte de la revolución del ADN, se han desarrollado tecnologías para introducir un gen de una especie en otra. Las bacterias son especialmente adecuadas para aceptar ADN extraño de forma que la introducción de genes en las células bacterianas es actualmente una rutina. Este procedimiento es un primer paso para crear bacterias que puedan tener cometidos nuevos y útiles. Advertamos, no obstante, que las bacterias que contienen ADN introducido se clasifican como nuevos organismos modificados genéticamente y sus condiciones de uso están estrictamente controladas.

En los desarrollos biotecnológicos diferentes tipos de bacterias pueden traducir los genes

que se les introducen en proteínas. Además, el método científico tiene formas de garantizar que tales bacterias transformadas produzcan las proteínas que se desean en grandes cantidades, actuando como «fábricas» de producción de proteínas, hecho de gran trascendencia en la medicina y también en otros ámbitos (Figura 5). Por ejemplo, ya se ha mencionado que la insulina fue de las primeras proteínas producidas en bacterias para uso médico. También es importante citar la producción del factor VIII humano de coagulación. Estos avances han transformado el tratamiento de enfermedades como la diabetes y la hemofilia. Y lo han hecho, por una parte, abaratando el precio de estos medicamentos y, por otra parte, aumentando su seguridad, al eliminar el riesgo asociado al uso de proteínas de origen humano o animal.

Las nuevas herramientas proporcionadas por los microorganismos también han contribuido a la secuenciación del genoma humano en sus fases iniciales, así como al desarrollo de nuevas y mejores vacunas y las distintas formas de realizar pruebas para detectar agentes infecciosos. Puede servirnos como indicativo el caso de las investigaciones sobre las bacterias

que viven en las fuentes termales del Parque Nacional de Yellowstone. Su estudio por parte de Brock y Hudson en los años 60 (45) permitió el desarrollo, décadas más tarde, por parte de Kary Mullis, de la técnica conocida como Reacción en Cadena de la Polimerasa, la famosa PCR a la que ya me he referido y cuya repercusión en muchos ámbitos de nuestras vidas y entornos quiero reiterar (Figura 6).

Muchos de los ejemplos mencionados ratifican la idea de que en la naturaleza existe más lo mutualista que lo depredador. Naturalmente resulta más atractivo para la audiencia un documental de leonas cazando gacelas que uno que explique la importancia para nuestra vida de la microbiota intestinal, pero es mucho más relevante en nuestra historia evolutiva lo segundo que lo primero. Las interacciones mutualistas o mutualismos están omnipresentes en la naturaleza. El mutualismo se diferencia de otras interacciones en las que una especie se beneficia de la interacción con otra u otras especies. Las relaciones mutualistas desempeñan un papel fundamental en la ecología y en la biología evolutiva, así como en el incremento de la biodiversidad.

| 3. EL CASO CRISPR-CAS Y LA INTERDISCIPLINARIEDAD |

EN EL VÉRTICE de la interacción entre virus y bacterias entramos en lo que ha supuesto otra innegable revolución científica; el sistema CRISPR/Cas9. Si he hablado varias veces del verso de Hölderlin, en buena medida, es porque tenía en mente esto. En griego utilizaban la palabra *pharmakón* para denominar tanto a la medicina como al veneno. La tecnología CRISPR-Cas9 es un procedimiento que podría proporcionar una cura a innumerables enfermedades congénitas. De hecho, ya hay empresas constituidas trabajando sobre algunas de esas enfermedades, como son la enfermedad de Huntington o la Fibrosis Quística. No obstante, aún hay riesgos muy elevados por problemas no resueltos en la edición genética y, en el caso extremo, están los riesgos y problemas éticos relativos, por ejemplo, a la biodiversidad y la eugenesia encubierta.

CRISPR son las siglas en inglés de *Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas* (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) y Cas9 se refiere a la proteína bacteriana asociada para formar parte de un

sistema que protege a las bacterias de los virus que las infectan (bacteriófagos). Antes de pasar a ahondar en su descripción y a reseñar lo que ha supuesto el esclarecimiento de este sistema de defensa y sus implicaciones, vaya desde aquí un tributo a uno de los conceptos que ha ocupado los comienzos de esta intervención: la interdisciplinariedad. Gracias a la colaboración de bacteriólogos, bioquímicos y biólogos moleculares ha sido posible conocer y compartir este tipo de tecnologías y las mencionadas anteriormente.

Los sistemas CRISPR están de plena actualidad en la investigación activa en el campo de la biología y muchos otros. Aunque se ha escrito mucho sobre la paternidad de este descubrimiento (46), en verdad fue Y. Ishino quien reportó los primeros CRISPR hace más de 30 años trabajando con la bacteria *Escherichia coli* en un análisis del gen responsable de la conversión de la isozima de la fosfatasa alcalina (47).

En 1993, las secuencias CRISPR fueron observadas por primera vez en arqueas, concretamente en *Haloférx mediterranei* (48), por el investigador de la Universidad de Alicante Francis Martínez Mojica y, posteriormente, se detectaron en un número cada vez mayor de genomas de bacterias

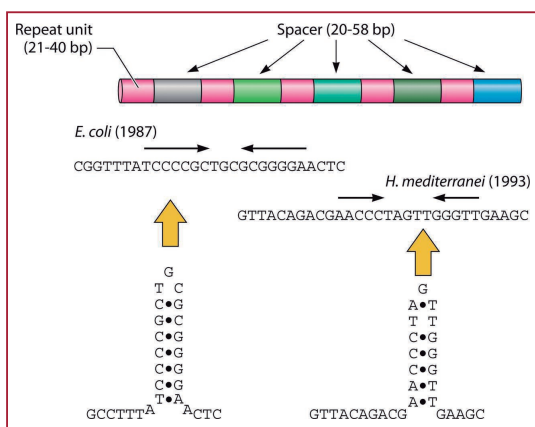
y arqueas. La conservación de estas secuencias en dos de los tres linajes celulares fue fundamental para apreciar su importancia (Figura 8) (46). Cuando Mojica y sus colaboradores identificaron secuencias repetidas similares en la arquea *Haloferax mediterranei* durante la investigación de los mecanismos de regulación que permiten a las arqueas adaptarse a entornos de alta salinidad, se produjo un avance que planteó por primera vez que estas secuencias repetidas podrían estar implicadas en la regulación de la expresión génica (49). No obstante, este descubrimiento de Francis Martínez Mojica no fue valorado en su correcta dimensión en su momento y se publicó de forma independiente por tres grupos de investigación en 2005 (49-51).

Simultáneamente se lograron identificar varios genes, que se habían propuesto como codificantes de proteínas de reparación del ADN específicas de las arqueas hipertermófilas (52) estrictamente asociadas a CRISPR y que se designaron como genes Cas (asociados a CRISPR) (53). Ya he descrito anteriormente lo que supusieron los avances en las técnicas de secuenciación y en los secuenciadores automáticos porque, gracias a ellos, los científicos que trabajaban en el

sistema CRISPR-Cas pudieron conocer las secuencias completas de los elementos CRISPR. Así, se identificaron las secuencias repetidas inusuales, denominadas con diferentes nombres por diferentes autores, que se encontraban intercaladas en secuencias no conservadas detectadas por primera vez en *E. coli* y *H. mediterranei* y, posteriormente, en un número cada vez mayor de genomas bacterianos y de arqueas (46).

Martínez Mojica y sus colaboradores fueron los primeros en darse cuenta de que todas estas secuencias de bacterias y arqueas estaban funcionalmente relacionadas (54). En cuanto a su denominación, se ha dicho que el vocablo CRISPR fue propuesto por Jansen en 2002 (53), pero este término fue realmente propuesto por el investigador español en una colaboración con Jansen, como describe de manera muy amena y bien documentada Lluís Montoliu en su libro «Editando genes: Pinta, corta y colorea» (46). Este término CRISPR se aceptó de manera general por parte de la comunidad científica que investigaba estas secuencias y de este modo se eliminaron las confusiones causadas por la diferente terminología usada para describir las secuencias repetidas relacionadas.

Los estudios de genómica comparativa revelaron las características comunes de las CRISPR (55), a saber: (i) están situadas en regiones intergénicas. (ii) contienen múltiples repeticiones directas cortas con muy poca variación de secuencia, (iii) las repeticiones están intercaladas en secuencias no conservadas, y (iv) una secuencia líder común de varios cientos de pares de bases se encuentra en un lado del grupo de repeticiones (Figura 10).

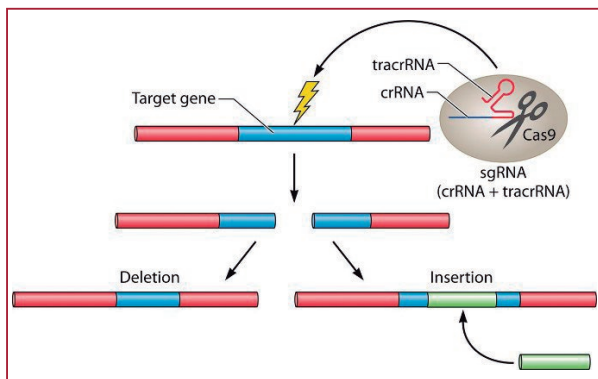


| Figura 10. Características estructurales de CRISPR. Las secuencias repetidas de longitud constante suelen tener simetría de díada para formar una estructura palindrómica (mostrada por las flechas). (Tomado de la referencia 55) |

Las secuencias CRISPR se encontraron en casi todos los genomas de arqueas y en aproximadamente la mitad de los genomas bacterianos, lo que las convierte en la familia de secuencias repetidas más ampliamente distribuida en los procariotas (a día de hoy no se han encontrado secuencias CRISPR en ningún genoma eucariota) (55). La chispa se encendió cuando Francis Martínez Mojica, en Alicante, y Christine Pourcel, en Orsay, observaron de forma independiente que las regiones espaciadoras entre las secuencias repetidas son homólogas a las secuencias de bacteriófagos, profagos y plásmidos (49 y 50). Ello los llevó a proponer, también de forma independiente, que las secuencias CRISPR funcionan en el marco de un sistema de defensa biológica similar al sistema de ARN de interferencia eucariótico para proteger a las células de la entrada de estos elementos genéticos móviles extraños. Asimismo, Martínez Mojica y Pourcel y sus colaboradores plantearon que las CRISPR pueden desencadenar la captura de trozos de ADN invasor extraño para constituir una memoria de agresiones genéticas pasadas (49 y 50). Por otro lado, Makarova y colaboradores

propusieron que las proteínas Cas son efectores de la inmunidad procariota (52).

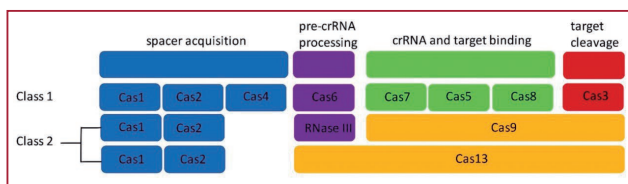
La curiosidad por una misteriosa secuencia repetitiva y las mentes investigadoras adecuadas dilucidaron la función del sistema CRISPR-Cas y fueron los pilares para que en el año 2012 se diera el paso clave para convertir este descubrimiento del sistema CRISPR-Cas en una herramienta molecular útil en el laboratorio (Figura 11). La sencilla arquitectura de los complejos efectores ha hecho que los sistemas CRISPR-Cas del grupo 2 sean una opción atractiva para desarrollar una nueva generación de tecnologías de edición del genoma.



| Figura 11. Edición del genoma mediante CRISPR-Cas9
 El principio de la edición del genoma es el corte del ADN de doble cadena en una posición específica del genoma. El tipo II es el más sencillo como nucleasa dirigida entre los sistemas CRISPR-Cas. El ARN CRISPR (ARNcr), que tiene una secuencia homóloga al sitio diana, y el ARN CRISPR trans-activador (ARNtr) son suficientes para llevar la nucleasa Cas9 al sitio diana. Una vez que el complejo Cas9-ARNsg escinde el gen diana, es fácil interrumpir la función del gen mediante una mutación de delección o inserción.
 (Tomado de la referencia 55) |

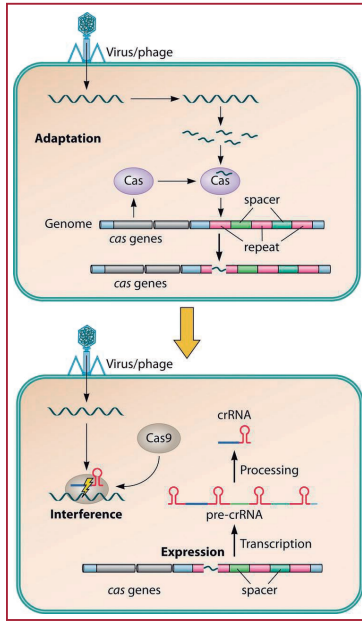
En la Fig. 12 se presenta la clasificación de los sistemas CRISPR-Cas que incluyen dos grupos, 1 y 2, taxonomía basada en las proteínas efectoras codificadas (56). Los sistemas CRISPR-Cas de clase 1 funcionan con complejos efectores de múltiples subunidades que constan de 4 a 7

proteínas Cas presentes en una estequiometría desigual. Este sistema está muy extendido en bacterias y arqueas. El $\sim 10\%$ restante pertenece al grupo 2, que utiliza una única proteína efectora multidominio y se encuentra casi exclusivamente en bacterias (57).



| Figura 12. Composición de los sistemas de repetición palindrómica corta agrupada regularmente interespaciada (CRISPR) de clase 1 y clase 2. (Tomado de la referencia 56) |

Llegados a este punto, se debe señalar que el sistema CRISPR-Cas, con su componente de memoria, es bastante similar al sistema inmunitario adaptativo de los vertebrados (Figura 13). La diferencia fundamental es que el sistema inmunitario animal no es heredable. Este hecho se demostró finalmente de forma experimental en 2007, utilizando la bacteria *Streptococcus thermophilus* (58).



| Figura 13. Proceso del sistema inmunitario adquirido por CRISPR-Cas.

Adaptación (arriba): El ADN invasor es reconocido por las proteínas Cas, fragmentado e incorporado a la región espaciadora de CRISPR, y almacenado en el genoma.

Expresión (abajo): El pre-ARNcr se genera mediante la transcripción de la región CRISPR y se procesa en unidades más pequeñas de ARN, denominadas ARNcr.

Interferencia (Abajo): Aprovechando la homología de la secuencia espaciadora presente en el ARNcr, se capta el ADN extraño, y un complejo con la proteína Cas con actividad nucleasa escinde el ADN.

(Tomado de la referencia 55) |

En 2012 los equipos de investigación dirigidos por las doctoras Emmanuelle Charpentier, en la Universidad de Umeå, y Jennifer Doudna, en la Universidad de California, publicaron un artículo en la revista *Science* (59) en el que se revelaba cómo convertir esa maquinaria natural en una herramienta de edición «programable», que servía para cortar cualquier cadena de ADN *in vitro*. Se podía programar el sistema para que se dirigiera a una posición específica de un ADN cualquiera (no solo vírico) y lo cortara. En lo que respecta a la autoría de todos estos hallazgos científicos, debo aclarar que muchos investigadores, desde el primer experimento de Ishino y contando con las valiosas aportaciones de Martínez Mojica, han contribuido a esclarecer el mecanismo y la relevancia del sistema CRISPR-Cas. Sin embargo, como suele ocurrir, es difícil premiar con el Nobel a un número elevado de científicos. Los españoles nos quedamos con el anhelo de que Francis Mojica hubiera estado incluido en el premio, pero fueron Charpentier y Doudna quienes, admitámoslo, de manera justa recibieron el pasado año el premio Nobel de Química por el desarrollo de un método para editar el genoma: CRISPR/Cas (46).

El proceso de editar un genoma con la tecnología CRISPR/Cas9 incluye dos etapas (Fig. 11). En la primera etapa el ARN guía se asocia con la enzima Cas9. Este ARN guía es específico de una secuencia concreta del ADN, de tal manera que, por las reglas de complementariedad de nucleótidos, se hibridará en esa secuencia (la que nos interesa editar o corregir). Entonces actúa Cas9, que es una enzima endonucleasa (es decir, una proteína que es capaz de romper un enlace en la cadena de los ácidos nucleicos), cortando el ADN. Básicamente puede decirse que el ARN guía actúa de lazarillo llevando a Cas9, el ejecutor, al sitio donde ha de realizar su función (46). En la segunda etapa se activan al menos dos mecanismos naturales de reparación del ADN cortado. El primero, llamado indel (inserción-delección), hace que, después del sitio de corte (la secuencia específica del ADN donde se unió el ARN guía), bien aparezca un hueco en la cadena, bien se inserte un fragmento diminuto más de cadena (Fig. 11). Esto conlleva la pérdida de la función original del segmento de ADN cortado (46). Un segundo mecanismo permite la incorporación de una secuencia concreta exactamente en el sitio

original de corte. Para esto, lógicamente, se ha de indicar a la célula la secuencia que se quiere integrar en el ADN (46).

Echando la vista atrás hasta el momento en que se establecieron las técnicas de ingeniería genética que utilizaban endonucleasas de restricción y enzimas modificadoras de ácidos nucleicos, resultaba una tarea compleja clonar un solo gen. La invención de la PCR con una ADN polimerasa termoestable impulsó profundamente la aplicación de las técnicas de ingeniería genética en todos los laboratorios biológicos del mundo. En el caso de la edición del genoma, la revolución CRISPR ha sido posible gracias a la identificación del sistema enzimático adecuado (Cas9), que simplifica la metodología y ayuda a explotar el potencial del sistema CRISPR-Cas (59). Esta perfecta maquinaria, que ya ha abierto la puerta a la edición del genoma, tiene de momento dos limitaciones técnicas que, sin duda y sin pasar mucho tiempo, serán corregidas. Se trata de que la especificidad del ARN guía puede no ser total, lo que puede dar lugar a que la enzima Cas9 realice el corte en un sitio que no es el deseado. Por otro lado, la enzima Cas9 puede seccionar sin

que esté presente el ARN guía, lo que está ya en vías de solución a través de la disponibilidad de enzimas más precisas (46). Adicionalmente, se puede dar el fenómeno del mosaicismo, que supone la coexistencia en un organismo de dos o más poblaciones de células con diferencias en su dotación genética (46).

En cualquier caso, la tecnología CRISPR-Cas permite un gran número de aplicaciones que van desde la regulación de la expresión génica al etiquetado de sitios específicos del genoma, la identificación y modificación de funciones de determinados genes, la corrección de genes defectuosos, la creación de modelos de animales que permitan estudiar enfermedades complejas y un largo etc. De hecho, las posibilidades van más allá de lo que nuestra fantasía alcanza. Estamos ante otra revolución científica y tecnológica, pues la tecnología CRISPR/Cas9 ha inaugurado una nueva etapa de la biología molecular y la ingeniería genética al permitir editar, corregir y alterar, el genoma de cualquier célula de una manera precisa, rápida, fácil y barata. En un futuro no lejano esta herramienta de terapia génica podrá utilizarse para tratar enfermedades incurables de origen

genético desconocido. Como ya he explicado, hay investigaciones ya en marcha que aplican esta tecnología en enfermedades como la Corea de Huntington, el Síndrome de Down o la anemia falciforme. Las aplicaciones posibles sobrepasan nuestra imaginación y plantean interrogantes y conflictos a la par que inciden en la aparición de guerras comerciales, que ya están aquí desde hace tiempo, derivadas de los grandes intereses económicos que tiene la tecnología CRISPR/Cas9 en muchos campos.

Ahondando en esta cuestión, un año después de la publicación del mencionado artículo de Charpentier y Doudna (59), en el que se aclaraba cómo convertir la maquinaria natural CRISPR-Cas en una herramienta de edición «programable» que servía para cortar cualquier cadena de ADN *in vitro*, los laboratorios de Church en Harvard y Zhang en el Broad Institute del MIT fueron los primeros en publicar artículos demostrando que CRISPR/Cas9 servía para células humanas. Doudna publicó lo propio de manera independiente apenas unas semanas más tarde, pero, ya en abril de 2014, Zhang y el Instituto Broad obtuvieron la primera de varias patentes generales que cubren el

uso de CRISPR en eucariotas, otorgándoles los derechos para usar el procedimiento prácticamente en cualquier criatura. Aunque Doudna también presentó una solicitud de patente, incluso antes, el Instituto Broad había pagado de una manera discreta y legal para que revisaran de forma expeditiva su solicitud, en menos de seis meses (46). Es fácil imaginar que los abogados de Doudna y Charpentier están litigando para usar un «procedimiento de interferencia», proceso legal estadounidense en el que un inventor puede hacerse con la patente de otro. En este juego de las patentes están implicadas tres *start-ups* para las que poseer el control de esas patentes supondría encontrar una mina de oro. Entre esas empresas están Editas Medicine e Intellia Therapeutics, ambas de Cambridge (Massachusetts, EE.UU.), y CRISPR Therapeutics, una *start-up* de Basilea (Suiza) cofundada por Charpentier. Sirva para la reflexión sobre el concepto de lealtad en algunas esferas que Zhang cofundó Editas Medicine con Doudna (46) en su momento.

| 4. CRISPR-CAS9: LAS MUJERES CIENTÍFICAS |

NO ME RESISTO en el momento que vivimos, cuando se acumulan numerosas iniciativas que buscan incentivar la participación de las mujeres en la ciencia y la tecnología, a dedicar unos minutos a esta cuestión, que para quienes participamos en tareas educativas es crucial.

La escasez de mujeres premiadas con el Nobel plantea la cuestión de la exclusión de las mujeres de las carreras científicas. Tenemos el esplendoroso caso de Marie Curie, primera persona que ganó dos premios Nobel y única persona en haber ganado el Nobel en dos especialidades científicas distintas. Pese a su innegable talento, superó el intento de excluirla del premio gracias a la negativa de su marido a aceptarlo sin ella. Las investigadoras han recorrido un largo camino en el último siglo, pero siguen estando infrarrepresentadas en los campos más importantes de la ciencia, la tecnología, la ingeniería y las matemáticas. Permitan, a este propósito, que rinda aquí homenaje a una de mis más admiradas científicas,

Gertrude Belle Elion, premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1988 y la única persona que ha recibido el galardón en una especialidad científica sin haber realizado el doctorado, título que no pudo obtener por un escandaloso caso de discriminación.

Preocupan los resultados de un estudio publicado en la revista científica *The Lancet* (60) que sugieren una correlación entre los estereotipos negativos en el ámbito familiar y social sobre las mujeres científicas con la falta de interés de las jóvenes por la ciencia. En las últimas décadas, los esfuerzos por mejorar la representación de las mujeres en los campos de la ciencia y la tecnología se han centrado en contrarrestar estos estereotipos con reformas educativas y programas individuales que aumenten el número de mujeres que se incorporan y permanecen en lo que se ha denominado *la vía de la ciencia y la tecnología*, es decir, el camino que va desde la escuela primaria y secundaria hasta la universidad y la formación de posgrado (61).

Las personas toman decisiones basadas en suposiciones, preferencias y estereotipos subconscientes, a veces incluso cuando son contrarias a sus creencias explícitas. Cuando las

mujeres alcanzan los niveles más altos del deporte, la política, la medicina y la ciencia, sirven de modelo para todos nosotros, especialmente para las niñas y otras mujeres (61). La exposición a modelos femeninos de éxito en los campos STEAM puede servir como motor e inspiración para transmitir que las mujeres pueden tener éxito en estas carreras sin dejar de tener una vida personal (61), noción especialmente relevante durante las primeras etapas educativas.

Los premios Nobel siguen siendo en gran medida un mundo de hombres, sobre todo en el ámbito de la ciencia, pero, con el nombramiento en la última edición de cuatro, tres de ellas en ciencias, las mujeres empiezan a tener una presencia más razonable, más si se tiene en cuenta que el prestigioso galardón sólo ha recaído en mujeres el 6% de las veces desde su creación en 1901. Tan extraño resulta encontrar mujeres premiadas que la concesión del premio Nobel de Química a dos científicas ha sido calificado por Pernilla Wittung Stafshede, de la Real Academia Sueca de las Ciencias, como «un momento histórico».

Efectivamente, Charpentier y Doudna, a las que me he referido a lo largo de mi exposición, constituyen el primer dúo formado por mujeres que recibe un premio Nobel de ciencias y de esa forma se convierten en la sexta y séptima mujeres galardonadas por sus investigaciones en el campo de la química desde que se concedieron los primeros premios en 1901. Al enterarse de que habían sido galardonadas por su trabajo sobre la edición de genes, Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier afirmaron que esperaban que esto inspirara a una nueva generación de mujeres en la ciencia. De hecho, Charpentier escribió en su cuenta de Twitter: «Mi deseo es que esto proporcione un mensaje positivo a las jóvenes que quieran seguir el camino de la ciencia, y que les muestre que las mujeres en la ciencia también pueden tener un impacto a través de la investigación que realizan». También Doudna manifestó a los periodistas que era «estupendo para las mujeres, especialmente las más jóvenes, ver esto y ver que el trabajo de las mujeres puede ser reconocido tanto como el de los hombres». Y añadió: «Creo que muchas mujeres tienen la sensación de que, hagan lo que hagan, su trabajo nunca

será reconocido como lo sería si fueran hombres [...] Y me gustaría que eso cambiara, por supuesto, y creo que esto es un paso en la dirección correcta». No obstante, hay voces que recuerdan que la obtención de un galardón no es suficiente porque ese premio «pone de manifiesto los continuos obstáculos a los que se enfrentan las mujeres jóvenes en la ciencia, subrayando la importancia de reconocer el mérito de las que llegan a la cima de sus campos» (62). No olvidemos que, como hemos visto, a estas investigadoras, en el culmen de su carrera, se les intenta privar de sus derechos sobre su propio descubrimiento.

| 5. ALGUNAS REFLEXIONES
SOBRE LOS PROBLEMAS ÉTICOS
DE LA INVESTIGACIÓN Y LA EXPERTICIA |

EL TEMA QUE TRATAMOS me conduce inevitablemente a plantear, también de forma somera, algunas reflexiones acerca de los inevitables problemas éticos que surgen de la investigación científica, especialmente en un campo tan sensible como el biogénético. De igual forma me detendré brevemente en un asunto de ardiente actualidad en los tiempos que vivimos: la experticia y la responsabilidad social de los expertos.

El filósofo alemán Hans Jonas publicaba en 1984 su influyente trabajo *The imperative of responsibility: In search of an ethics for the technological age*, en donde exponía una crítica hacia lo que él identifica como «el devenir tecnológico» (63). Nos devolvía al medio en el que habitamos recordándonos que los seres humanos somos parte del mundo orgánico, y nos conminaba a no olvidar la responsabilidad que tenemos respecto de las repercusiones de las decisiones que tomamos en relación con ese medio. La ciencia y la tecnología contemporáneas nos permiten

alterar el entorno ecológico en el que habitamos junto con el resto de los seres vivos. Pero Jonas va más allá de la responsabilidad inmediata y nos hace pensar en otra cuestión: los derechos de aquellas generaciones futuras, todavía no nacidas, cuya existencia es meramente hipotética, y que nos obligan a reconsiderar nuestra conducta actual y los derechos de otras especies con las que compartimos el mundo en que vivimos. Debemos desarrollar un nuevo imperativo sobre la responsabilidad, nos dice, uno en el que tengamos en cuenta que el mundo y sus criaturas deben ser tenidas en cuenta cuando tomamos ciertas decisiones.

Una de las críticas ante este imperativo tiene que ver con nuestro desconocimiento, como señala Hannah Arendt:

Los acontecimientos, por definición, son hechos que interrumpen el proceso rutinario y los procedimientos rutinarios; solo en un mundo en el que nada de importancia sucediera podrían llegar a ser ciertas las previsiones de los futurólogos. Las previsiones del futuro no son nada más que proyecciones de procesos y procedimientos automáticos presentes que sería probable que sucedieran si los hombres no actuaran y si no ocurriera nada inesperado; cada acción, para bien y para mal, y cada accidente

necesariamente destruyen toda la trama en cuyo marco se mueve la predicción y donde encuentra su prueba (64).

Precisamente, una de las características esenciales del desarrollo científico-tecnológico contemporáneo es la incertidumbre inherente a los resultados que la implementación de un sistema tecnológico puede tener. Las nuevas tecnologías como la biotecnología o la Inteligencia Artificial dan lugar a una nueva clase de riesgos, los riesgos multifacéticos, que sobrepasan nuestra capacidad de predicción convencional. Esto se debe a que los nuevos sistemas tecnológicos interactúan entre sí y con el medio social y natural como nunca hasta ahora. Conscientes de los riesgos implícitos en la investigación científica, los participantes en el congreso de Asilomar de 1975 quisieron poner límites a la investigación, porque no todo lo que se puede hacer se debe hacer. Y eso es algo que en ocasiones a los científicos y los tecnólogos nos cuesta aceptar. Pero ejemplos pasados, como el experimento Tuskegee sobre la sífilis o los realizados por científicos japoneses bajo el nombre Escuadrón 731 durante la Segunda Guerra Mundial, nos muestran que en ocasiones la ciencia puede desarrollarse contraviniendo

las más esenciales normas éticas. Por ello, y siendo conscientes de que la ciencia está hecha por personas de las más variadas características e ideologías, debemos establecer mecanismos que nos señalen los límites de lo que no se debe hacer, a pesar de que pueda hacerse. Por ejemplo, en 2015 el Dr. Junjiu Huang intentó editar la línea germinal humana y modificar el gen responsable de la β -talasemia en embriones humanos no viables; sin embargo, el resultado que obtuvo se alejaba de lo esperado: los embriones modificados presentaron mosaicismos genéticos, esto es, se encontraron dos o más poblaciones de células que difieren en su composición genética en un mismo embrión (65 y 66). En 2017 Shoukhrat Mitalipov, biólogo reproductivo afirmó haber superado los obstáculos con los que se había topado Huang, consiguiendo que el 67 por ciento de los embriones que modificaron no presentasen mosaicismos genéticos (67). Ahora bien, no podemos pasar por alto que se produjo también un 33 por ciento de probabilidades de fracaso. Si asumimos nuestra obligación con la vida humana futura, estamos obligados a reducir ese porcentaje de fracaso a cero. En este mismo

orden de acontecimientos, en noviembre de 2018, el científico chino He Jiankui reveló que había editado con la técnica CRISPR/Cas 9 un gen en dos embriones humanos para que los bebés no expresaran un receptor para el virus del VIH. El experimento provocó una controversia internacional y la comunidad científica mundial expresó a través de diferentes vías su más contundente rechazo (68).

Por otro lado, cuando intentamos orientar la investigación para evitar los posibles riesgos nos enfrentamos al dilema de Collingridge (1980) (69) si bien la investigación científico-tecnológica es susceptible de dirigirse en las etapas iniciales de su desarrollo, no es menos cierto que en esos momentos tempranos solemos carecer de información y conocimiento suficientes como para saber a qué pueden dar lugar. Sin embargo, estos temores no pueden provocar la inacción, como señala Arendt (64), ya que no actuar también tiene consecuencias. Estaríamos privando de las muy posibles consecuencias positivas de nuestros desarrollos a las generaciones futuras. De manera que, tanto si hacemos como si no hacemos seguimos siendo responsables.

Respecto a la importancia de la experticia nos preguntamos ¿qué es un experto? Es difícil llegar a una definición que describa completamente qué hace que una persona sea considerada experta en un ámbito. Por lo general, no parece que sea condición *sine que non* que esa persona tenga capacidades de partida extraordinarias, en el sentido de poseer una mayor inteligencia, o cualidades físicas fuera de lo común, aunque es posible que el largo entrenamiento que hace que alguien se convierta en experto acabe dando lugar a un incremento de las mismas. Se calcula que de promedio una persona ha de invertir al menos 10 años de su vida para convertirse en experto en algo. Los expertos destacan porque son capaces de dar con mejores soluciones, y lo hacen de una manera comparativamente más rápida que quienes no son expertos. Por lo general, también tienen la habilidad de detectar la «estructura profunda» de los problemas o de las situaciones, de una manera que un no experto no sería capaz. También tienen mayor capacidad para detectar los errores, y para elegir las mejores estrategias para resolver los problemas. Y, quizá, una de las características más sorprendentes es su «oportunismo», en el sentido de que

son capaces de emplear muy diversas fuentes de información para resolver problemas y lo hacen con un esfuerzo cognitivo menor que el resto de los mortales. Pero hay que tener presente que un experto lo es en un dominio limitado, es decir, ser experto en un tema no significa que se sobresalga en otros dominios. Esto es algo que se debe tener muy presente cuando se recurre a ciertos expertos para que informen al gran público sobre ámbitos en los que no están versados. Y también nos debe servir de aviso en relación con la responsabilidad que los expertos tienen con respecto a los ámbitos en los que desarrollan su labor. Lo hemos visto durante la pandemia de estos años: supuestos expertos opinando en los diversos medios de comunicación acerca de asuntos sobre los que no tienen mayor conocimiento. Estas intervenciones son peligrosas, porque pueden dar la sensación al público general de que existen controversias en la ciencia cuando en realidad los que están hablando lo hacen casi con el mismo conocimiento que cualquier otro ciudadano.

Enlazando esto con el aspecto interdisciplinar del que se trataba antes y cerrando el círculo, en la investigación cada vez son necesarios

más tipos de expertos, tanto aquellos que disponen de conocimientos teóricos, como de habilidades prácticas. Harry Collins y Robert Evans (2002) (70) distinguen entre *experticia contributiva*, aquella que es suficiente para contribuir a la ciencia del campo que está siendo analizado; *experticia interactiva*, aquella que permite interactuar con los participantes en una controversia; y *experticia referida*, la experiencia tomada de un campo y aplicada de manera indirecta a otro campo relacionado. La comunidad científica en general suele tener experticia referida, por lo que se le ha dado un lugar predominante en las discusiones relativas a la ciencia y la tecnología.

Quizá el aspecto mas novedoso de esta propuesta sea esa experticia interactiva, la capacidad que han de tener al menos algunos individuos de poder relacionarse no solamente con los miembros de las disciplinas, sino también con el resto de la ciudadanía. Porque no se puede olvidar que el principal objetivo siempre será aumentar el conocimiento, y hacerlo por el bien común, y para determinar lo que es este bien común debemos tener en cuenta también la opinión de las sociedades para las que trabajamos.

| 6. A MODO DE CIERRE |

A LO LARGO DE ESTA CHARLA he tratado de presentar el recorrido de la Bioquímica y Biología Molecular desde antes incluso de considerarse tal hasta las fronteras actuales de la disciplina. Amo esta disciplina a la que he dedicado lo mejor de mí. A través de ella he aprendido rasgos de nuestra naturaleza que están de ordinario ocultos al ojo humano. He aprendido que lo que uno hace puede parecer una pequeña aportación, pero, como habrán visto a lo largo de este recorrido, muchos pequeños pasos acaban por ser el gran salto del que habló Armstrong. Nuestra disciplina sirve para saber y, sobre todo, para sanar o aliviar a nuestros semejantes. Naturalmente, el peligro y lo que salva viajan juntos. No les he ocultado que, si la ciencia revela lo que somos, también lo hace en un sentido no microscópico. Les he hablado de la codicia en torno a ciertos descubrimientos, de la discriminación femenina en la investigación o de los dilemas éticos que cada avance puede comportar. Recuerdo que, cuando el Adriano de Yourcenar hacía su elogio de la cultura griega, señalaba: «...todo lo

que cada uno de nosotros puede intentar para perder a sus semejantes o para servirlos, ha sido hecho ya alguna vez por un griego». Podría decirse que esto es la cotidianeidad de la ciencia, hija, al fin y al cabo, de aquella cultura griega.

Las lecciones inaugurales deben servir, a mi parecer, para que una persona de la universidad transmita a los recién llegados su pasión por el saber. No sé si he logrado enseñarles algo hoy. Espero, por lo menos, que haya quedado claro que no concibo ocupación más digna para un ser inteligente que la adquisición del conocimiento, es decir, el aprendizaje y la investigación. La pandemia que hemos sufrido ha servido a menudo para que escuchemos injustas críticas sobre la ciencia y su permanente revisión de los resultados. Cuando a los científicos se nos censura que cambiamos de opinión, respondemos que sencillamente mejoramos nuestro entendimiento de los hechos.

Quiero terminar con una cita que explica esto y mi afirmación de que no hay ocupación más digna que el saber. Decía Lessing en un texto llamado «Acerca de la verdad» (72):

Si Dios tuviera encerrada en su mano derecha toda la verdad y en su izquierda el único impulso que mueve a ella y me dijera: «¡Elige!», yo caería, aún en el supuesto de que me equivocase siempre y eternamente, en su mano izquierda, y le diría: «¡Dámela, Padre! ¡La verdad pura es únicamente para ti!»

| REFERENCIAS |

1. Vermeil T, Peters A, Kilpatrick C, Pires D, Allegranzi B, Pittet D. (2019). Hand hygiene in hospitals: anatomy of a revolution. *J Hosp Infect.* 101(4):383-392.
2. de Solla Price, Derek J. (1963). *Little Science, Big Science.* New York: Columbia University Press. ISBN: 978-02-318-8575-1.
3. Brenner S. (2006). *Mi vida en la ciencia, Las aportaciones de un biólogo excepcional.* Colección: Sin Fronteras, 6. ISBN: 978-84-370-6406-2.
4. Darwin C. (1988). *El origen de las especies.* Austral-ediciones especiales. ISBN: 978-84-670-2915-4.
5. Mendel G. (1866). *Versuche über pflanzenhybriden.* Verhandlungen des naturforschenden vereines in Brünn, Bd. IV für das jahr 1865, Abhandlungen 3-47 (<http://www.esp.org/timeline/>).
6. Bateson W, Saunders ER, Punnet RC. (1905). *Experimental studies in the physiology of heredity.* Reports Evol Comm Royal Soc 2: 1-131.
7. Vernon HM. (1909). *Elemente der exakten Erblchkeitslehre.* Nature 81:424.
8. Garrod AE. (1909). *Inborn errors of metabolism.* Oxford University press, Oxford. ISBN: 978-11-1048-7947-4.
9. Beadle GW, Tatum EL. (1941). *Genetic control of biochemical reactions in Neurospora.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 27: 499-506.

10. Griffith F. (1928). The significance of pneumococcal types. *Journal of Hygiene* 27: 113-159.
11. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J Expl Med* 79: 137-158.
12. Lederberg J, Tatum EL. (1946). Gene recombination in *Escherichia coli*. *Nature* 158: 558-558.
13. Chargaff E. (1951). Structure and function of nucleic acids as cell constituents. *Fed Proc* 10: 654-659.
14. Hershey AD, Chase M. (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J Gen Physiol* 36: 39-56.
15. Morata G. (2008). El siglo del gen. *Biología molecular y genética. Fronteras del conocimiento*, Madrid, BBVA.
16. Watson JD, Crick FHC. (1953). A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171: 737-738.
17. Grunberg-Manago M, Ochoa S. (1955). Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides; polynucleotide phosphorylase. *J Am Chem Soc* 77: 3165-3166.
18. Bessman MJ, Lehman IR, Simms ES, Kornberg A. (1958). Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid II. General properties of the reaction. *J Biol Chem* 233: 171-177.
19. Meselson M, Stahl FW. (1958). The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 44: 671-682.

20. Brenner S, Jacob F, Meselson M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* 190: 576-581.
21. Rottman F, Nirenberg M. (1966). Synthesis. XI. RNA codons and protein template activity of modified RNA codons. *J Mol Biol* 21: 555-570.
22. Khorana HG. (1965). Polynucleotide synthesis and the genetic code. *Fed Proc.* 24(6):1473-1487.
23. Kelly TJ, Smith HO. (1970). A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae*. II. Base sequence of the recognition site. *J Mol Biol* 51: 393-409.
24. Jackson DA, Symons RH, Berg P. (1972). Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 2904-2909.
25. Cohen SN, Chang ACY, Boyer HW, Helling RB. (1973). Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 3240-3244.
26. Norman C. (1975). Berg Conference favours use of weak strains. *Nature* 254: 6-7.
27. Maxam AM, Gilbert W. (1977). A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 560-564.
28. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463-5467.

29. Sanger F. (1980). Frederick Sanger - Biographical. (URL http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-bio.html)
30. Goeddel DV, Kleid DG, Bolivar F, Heyneker HL, Yansura DG, Crea R, Hirose T, Kraszewski A, Itakura K, Riggs AD (1979). Expression in *Escherichia coli* of chemically synthesized genes for human insulin. Proc Natl Acad Sci USA 76: 106-110.
31. Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. (1980). Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. Proc Natl Acad Sci USA 77: 7380-7384.
32. Smith JE. (1996). Biotechnology, Cambridge University Press, Cambridge. ISBN: 978-05-118-0275-1.
33. Ruvkun GB, Ausubel FM. (1981). A general method for site-directed mutagenesis in prokaryotes. Nature 289: 85-88.
34. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 51/1:263-73.
35. Miller AD. (1992). Human gene therapy comes of age. Nature 357: 455-460.
36. Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature 380: 64-66.
37. Watson JD, Jordan E. (1989). The Human Genome Program at the National Institutes of Health. Genomics 5: 654-656.

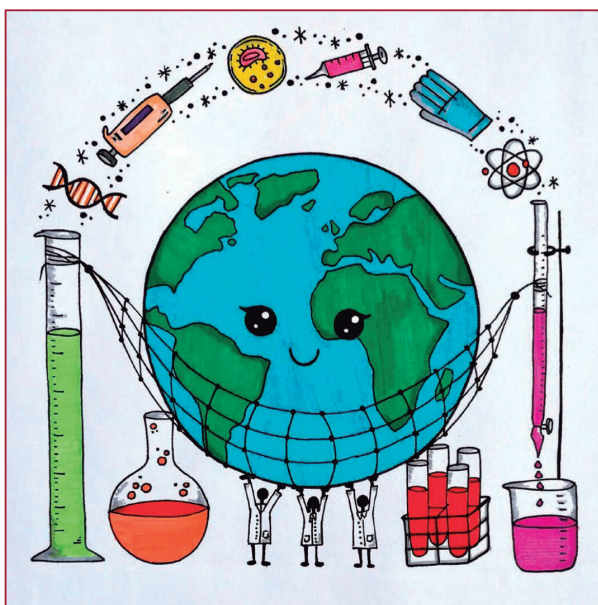
38. Dunham I, Shimizu N, Roe BA et al. (1999). The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 402: 489-495.
39. Cramer P, Bushnell DA, Kornberg RD. (2001). Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 angstrom resolution. *Science* 292: 1863-1876.
40. Gnatt AL, Cramer P, Fu J, Bushnell DA, Kornberg RD. (2001). Structural basis of transcription: An RNA polymerase II elongation complex at 3.3 Å resolution. *Science* 292: 1876-1882.
41. International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
42. Venter JC, Adams MD, Myers EW et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304-1351.
43. International Human Genome Sequencing Consortium (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431: 931-945.
44. Miga KH, Koren S, Rhie A et al. (2020). Telomere-to-telomere assembly of a complete human X chromosome. *Nature* 585, 79-84.
45. Brock TD, Hudson F. (1969). *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a nonsporulating extreme thermophile. *Journal of Bacteriology* 98 (1): 289-297.
46. Montoliu L. (2021). Editando genes: recorta, pega y colorea: Las maravillosas herramientas CRISPR (3ª edición). Next Door Pub, SL. ISBN: 978-84-121-5980-6.

47. Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, Amemura M, Nakata A. (1987). Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol* 169:5429-5433.
48. Mojica MJ, Juez G, Rodríguez-Valera F. (1993). Transcription at different salinities of *Haloferox mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. *Mol Microbiol* 9:613-621.
49. Mojica FJM, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. (2005). Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol* 60:174-182.
50. Pourcel C, Salvignol G, Vergnaud G. (2005). CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies. *Microbiology* 151:653-663.
51. Bolotin A, Quinquis B, Sorokin A, Ehrlich SD. (2005). Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology* 151:2551-2561.
52. Makarova KS, Aravind L, Grishin NV, Rogozin IB, Kooning EV. A. (2002). A DNA repair system specific for thermophilic Archaea and bacteria predicted by genomic context analysis. *Nucleic Acids Res* 30:482-496.
53. Jansen R, Embden JD, Gaastra W, Schouls LW. (2002). Identification of genes that are associated

- with DNA repeats in prokaryotes. *Mol Microbiol* 43:1565-1575.
54. Mojica FJ, Díez-Villaseñor C, Soria E, 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.
 55. Ishino Y, Krupovic M, Forterre P. (2018). History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology. *J Bacteriol.* 12;200(7):e00580-17.
 56. Parsons C, Brown P, Kathariou, S. (2021). Use of Bacteriophage Amended with CRISPR-Cas Systems to Combat Antimicrobial Resistance in the Bacterial Foodborne Pathogen *Listeria monocytogenes*. *Antibiotics* 10: 308.
 57. Burstein D, Harrington LB, Strutt SC, Probst AJ, Anantharaman K, Thomas BC, Doudna JA, Banfield JF. (2017). New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes. *Nature* 542:237-241.
 58. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315:1709-1712.
 59. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity *Science* 337(6096):816-21.
 60. Guo J, Marsh HW, Parker PD, Dicke T, Van Zanden B. (2019). Countries, parental occupation, and girls' interest in science. *The Lancet*, 393/10171: e6-e8.

61. González-Pérez S, Mateos de Cabo R, Sáinz M. (2020). Girls in STEM: Is It a Female Role-Model Thing? *Front. Psychol.* <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.02204>
62. Macnamara K. (2020). What does the historic 2020 Nobel win really mean for women in science? *Science alert* [8https://www.sciencealert.com/two-women-make-history-in-a-nobel-prize-for-development-of-crispr](https://www.sciencealert.com/two-women-make-history-in-a-nobel-prize-for-development-of-crispr).
63. Jonas H. (1984). *The imperative of responsibility: In search of an ethics for the technological age.* Chicago: University of Chicago Press. ISBN: 0-226-40596-6.
64. Arendt H. ([1970] 2005). *Macht und Gewalt*, Piper, Múnich. Edición en español: *Sobre la violencia*. Trad. de Guillermo Solana. Madrid, Alianza Editorial. ISBN 978-84-206-5980-0.
65. Liang P, Xu Y, Zhang X, Ding C, Huang R, Zhang Z, Lv J, Xie X, Chen Y, Li Y, Sun Y, Bai Y, Songyang Z, Ma W, Zhou C, Huang J. (2015). CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein & Cell*, 6(5), 363-372.
66. Cyranoski D, Reardon S. (2015). Embryo editing sparks epic debate. *Nature*. 30;520(7549):593-4.
67. Ma H, Marti-Gutierrez N, Park SW et al. (2017). Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature* 548, 413-419.
68. Belluck P. (28 de noviembre de 2018). «Chinese Scientist Who Says He Jiankui Edited Babies' Genes Defends His Work». *The New York Times*.

69. Collingridge D. (1980). *The Social Control of Technology*. London: Francis Pinter Ltd71. ISBN: 978-03-127-3168-7.
70. Collins HM, Evans R. (2002). The Third Wave of Science Studies: Studies of Expertise and Experience. *Social Studies of Science*. 32(2):235-296.
71. Lessing D. (2009). *El cuaderno dorado*. Editorial De bolsillo. ISBN: 978-84-834-6822-7.



| Figura 14. «Sin ciencia no hay futuro»
(Tomado de Biotex <https://www.biotextremadura.es/>) |



**Lección inaugural
del Curso Académico 2021-2022**

**SECRETARÍA GENERAL
2021**

VNIVERSIDAD D SALAMANCA