



**RED POR UNA AMERICA LATINA
LIBRE DE TRANSGENICOS**

BOLETÍN N° 708

LAS FALLAS DE CRISPR

Contenido:

EL MITO DE LA PRECISIÓN DE CRISPR

¿EL BOLÍGRAFO ROJO DE DIOS? CRISPR Y LOS TRES MITOS DE LA PRECISIÓN DE LA EDICIÓN GÉNICA

EDICIÓN GENÓMICA, MUTACIONES Y ARMAS DE DESTRUCCIÓN MASIVA

=====

EL MITO DE LA PRECISIÓN DE CRISPR

Observatorio OMG (España)

<http://www.observatorio-omg.org/blog/el-mito-de-la-precisi%C3%B3n-de-crispr>

Aunque en España y otros países los organismos transgénicos siguen estando "a la orden del día", en otros países se empieza a considerar la transgénesis como una tecnología obsoleta, que se está viendo superada por nuevas biotecnologías con mejores capacidades. La más novedosa y prometedora es la llamada CRISPR/Cas9. Como suele ser habitual, existen muchos más recursos y atención dedicados a las posibles aplicaciones de esta tecnología que a sus posibles efectos no intencionados, sobre los cuales aún se sabe realmente poco.

Sin embargo, como os contábamos la semana pasada, ya se están intentando comercializar productos modificados mediante CRISPR, y la USDA ha dicho que no los regulará (falta que otras agencias estadounidenses se pronuncien al respecto).

Uno de los argumentos que está cogiendo fuerza es el de la gran precisión de esta y otras nuevas técnicas biotecnológicas, en comparación con la transgénesis. Esto resulta especialmente paradójico si tenemos en cuenta que la precisión quirúrgica ha sido uno de los grandes (falsos) argumentos utilizados en favor de la transgénesis durante todos estos años. Pero además, parece que todas estas técnicas tampoco son tan precisas, al menos con lo que se sabe en este momento. Además, incluso aunque lo fueran, eso no garantizaría que pudiéramos utilizarlas de forma predecible y segura, dado que seguiríamos modificando un sistema que no comprendemos.



Jonathan Latham explica este y otros argumentos, e ilustra cómo una vez más la maquinaria de relaciones públicas no tiene del todo que ver con lo que realmente están diciendo los artículos científicos.

CRISPR y las otras nuevas técnicas biotecnológicas no sólo pueden aplicarse en agricultura y alimentación, sino que muchos de sus posibles usos se limitan al laboratorio u otros entornos que no requieren una liberación de OMG en la naturaleza. En estos casos las consecuencias de utilizar una técnica imprecisa y de efectos impredecibles no serían las mismas y, en estos entornos controlados, la experiencia con ellas nos iría permitiendo adquirir los conocimientos suficientes para no tomar decisiones importantes de forma precipitada, como hemos hecho tantas veces en el pasado.

=====

¿EL BOLÍGRAFO ROJO DE DIOS? CRISPR Y LOS TRES MITOS DE LA PRECISIÓN DE LA EDICIÓN GÉNICA

Jonathan Latham

Independent Science News. Lunes, 25 Abril, 2016

<http://www.independentsciencenews.org/science-media/gods-red-pencil-crispr-and-t...>

Por el bien de todos los lugares del mundo en los que la aceptación pública de la ingeniería genética aún no es completa, la maquinaria de relaciones públicas está funcionando ahora mismo a plena potencia. El tema son los nuevos métodos existentes para alterar el ADN de los organismos vivos. "La Edición Fácil del ADN Va a Rehacer el Mundo. Abrocháos los Cinturones", "Tenemos la Tecnología para Destruir a Todos los Mosquitos del Zika", o "CRISPR: la edición genética es sólo el principio". (CRISPR es una forma de abreviar CRISPR/cas9, que es a su vez una forma de abreviar "Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas/Proteína asociada a CRISPR 9"; Jinek et al., 2012. Es una combinación de un ARN guía y una proteína que puede cortar el ADN.)

La arrogancia resulta alarmante; pero el elemento más sutil de esta campaña de propaganda es la mayor y más peligrosa improbabilidad de todas: que CRISPR y otras técnicas relacionadas sean "edición genética" (Fichtner et al., 2014); es decir, que sean capaces de generar alteraciones precisas y específicas en el ADN.

Hasta los medios "serios" lo dicen. La revista Nature publicaba en julio de 2015 un artículo titulado "Cerdos super-musculosos creados mediante un pequeño retoque genético" Dos juicios de valor en un titular de siete palabras: "pequeño" y "retoque", ninguno de los cuales estaba respaldado por el contenido del artículo. En la misma línea, la semana pasada en la sección de opinión del NY Times aparecía "Retocando los genes para salvar las especies".

¿Por qué sé que esto es una guerra propagandística? Se lo he oído decir a ellos mismos. En febrero estuve en una reunión de la ONU sobre biotecnología, en Roma (Italia), donde un representante veterano de la Biotechnology Industry Organisation (BIO) explicaba a los delegados allí reunidos la "exquisita especificidad" y "precisión" de la edición genómica.

Mito 1: Las tecnologías de edición genómica actuales no son propensas a errores

La postura de BIO no coincide con los datos existentes. Si CRISPR ya fuera precisa y específica no habría, por ejemplo, publicaciones en revistas científicas de primer nivel con el título "Mejorando la especificidad de las nucleasas CRISPR-Cas mediante la utilización de ARNs guía truncados". Y estas no empezarán describiendo cómo las versiones habituales de CRISPR "pueden inducir mutaciones en lugares que difieren hasta en cinco nucleótidos del sitio diana previsto", es decir que CRISPR puede actuar en sitios desconocidos del genoma en donde no se quiere que actúe (Fu et al., 2014).



Así que es la propia CRISPR la que necesita algunos retoques antes de poder utilizarse para obtener productos comerciales seguros, lo cual expone el primer error del argumento en favor de su precisión. Hasta ahora no es técnicamente posible hacer un (y sólo uno) cambio aislado en el genoma usando CRISPR y estar seguro de que ha sido así (Fichtner et al., 2014). Como señala Fichtner "en mamíferos, Cas9 da lugar a un gran número de efectos no-diana". Y al menos hasta que aparezcan versiones modificadas, esto limitará la seguridad, y esperemos que la aplicación, de biotecnologías relacionadas con CRISPR. No hay, además, ninguna garantía de que sea biológicamente posible obtener versiones más precisas de CRISPR. Técnicamente, por tanto, la precisión es un mito: ningún tipo de edición génica puede hacer lo que se está afirmando que pueden hacer.

Mito 2: Precisión equivale a control

El segundo error clave de los promotores de CRISPR es dar por hecho que, incluso aunque tuviéramos una precisión completa, esto permitiría controlar las consecuencias en el organismo resultante.

Supongamos que yo, que no hablo chino, quisiera eliminar de forma precisa un carácter de un texto escrito en chino, o una línea, o una página. Tendría un cien por cien de precisión, pero ningún control sobre los cambios en el significado. La precisión, por tanto, sólo es útil en la medida en que va acompañada de comprensión, y ningún biólogo puede afirmar que en este momento entendamos el ADN - ¿si no por qué lo seguimos estudiando?

Un ejemplo clásico de cómo una secuencia de ADN puede seguir revelando funciones inesperadas décadas después de su descubrimiento es el promotor 35S del CaMV, una secuencia de ADN utilizada durante casi veinte años en las plantas transgénicas comercializadas. El ADN CaMV 35S se describe en todas las aplicaciones de uso comercial como un simple "promotor" de ADN (un "interruptor" de la expresión génica).

En 1999, sin embargo, se descubrió que el "promotor" CaMV 35S era además un "hotspot", un sitio donde la recombinación es más frecuente (Kohli et al., 1999). En 2011 se descubrió que producía grandes cantidades de pequeños ARNs, que probablemente funcionan como señuelos para neutralizar el sistema inmune de la planta (Blevins et al., 2011). Incluso un año más tarde las autoridades descubrieron que contenía un gen viral superpuesto, cuyas funciones aún se están determinando (Podevin y du Jardin, 2012). ¿Llegaremos en algún momento a saber lo suficiente sobre cualquier secuencia de ADN para describir los cambios que realicemos sobre ella como "ediciones"?

Mito 3: Las funciones del ADN son modulares y los cambios son predecibles

El tercer error de los defensores de CRISPR es dar a entender que se puede suponer que los cambios en la función génica son discretos y están contenidos.

El concepto de edición precisa del genoma que conduce a un resultado biológico definido depende fuertemente de nuestra concepción de que los genes dan lugar a productos simples. Este es el paradigma genético que aprendemos en el colegio, y también el que se presenta al público y que supone la base del pensamiento de los investigadores en genética molecular.

Sin embargo, es probable que no exista una ruta definida, discreta o simple de un gen a un rasgo. La mayoría de funciones génicas están reguladas mediante redes bioquímicas altamente complejas que dependen de un gran número de factores que las condicionan, como la presencia de otros genes y sus variantes, las condiciones del medio, la edad del organismo, el azar, etc. Los genetistas y biólogos moleculares, sin embargo, desde la época de Gregor Mendel, se han esforzado por encontrar o crear sistemas experimentales artificiales en los que las fuentes de variación ambientales o de otro tipo se ven minimizadas, para así no distraer del descubrimiento genético "realmente importante".



Pero al descartar aquellos organismos o rasgos que no cumplen con sus expectativas, los genetistas y biólogos moleculares se han construido un argumento circular en favor de relatos deterministas más "ingenuos" de la función génica. Su paradigma suele restar importancia a la enorme complejidad con la que se transmite la información (en ambas direcciones) entre los organismos y sus genomas. Ha creado un sesgo inmenso y prácticamente no estudiado en la comprensión del público por defecto de los genes y el ADN.

Esto no lo digo yo. Lo dice Richard Lewontin de la Universidad de Harvard, probablemente el genetista más famoso de nuestro tiempo.

Los beneficios del determinismo genético para los arquitectos de la industria biotecnológica son enormes. Dado que básicamente supone ver a los organismos como robots manejados por mini-dictadores (en lugar de, por ejemplo, como sistemas con propiedades emergentes) y a las funciones de los genes como algo específico y claramente definido en lugar de difuso e impredecible, simplifica enormemente sus argumentos de venta y plantea la evaluación de riesgos como algo innecesario.

El problema se hace más visible, sin embargo, cuando esta conceptualización simplista de la genética se aplica al mundo real, en situaciones que no han sido preparadas de antemano. En el caso de los cerdos "super-musculosos" que aparecieron en Nature, no sólo son más fuertes. También tienen más piel que los cubre y unos huesos más fuertes para poder soportar su estructura. También, aparentemente, tienen dificultades para dar a luz; y si en algún momento se les soltase en la naturaleza, seguramente tendrían que comer más. De esta forma, un retoque genético supuestamente simple puede tener efectos sobre un organismo a un nivel mucho más amplio durante su ciclo de vida.

Nature también reveló que treinta de los treinta y dos cerdos murieron prematuramente, y en el momento en el que se entrevistó a los autores del estudio se consideraba que sólo uno de los animales estaba sano. Vaya con la precisión.

La historia interminable

¿Por qué es importante esta discusión sobre la precisión? Porque en los últimos setenta años todas las tecnologías químicas y biológicas, desde la ingeniería genética hasta los pesticidas, se han construido sobre el mito de la precisión y la especificidad. Se han adoptado sobre la base de que funcionarían sin ningún efecto secundario o sin complicaciones inesperadas. Sin embargo las consecuencias catastróficas del DDT, la pintura con plomo, el agente naranja, la atrazina, el C8, el amianto, el clordano, los PCBs, etcétera, cuando se tiene en cuenta toda la información, han sido ejemplos que han ido desmontando este mito fundacional de la precisión y la especificidad.

En cualquier caso, con ayuda de los propagandistas de la industria, sus amigos de los medios de comunicación e incluso las Naciones Unidas se nos está vendiendo otra vez el evangelio de la precisión. Pero lo mires por donde lo mires, la precisión es un cuento y debería ser tratado como tal.

Todo lo relacionado con CRISPR y otras nuevas biotecnologías relacionadas de "edición génica" está siendo sujeto de una intensa actividad entre bambalinas. El Departamento de Agricultura estadounidense acaba de explicar que no regulará aquellos organismos cuyos genomas hayan sido editados, dado que ni siquiera los considera OMG. La UE estaba a punto de decir que sí eran OMG, pero EEUU ha hecho que se lo replanteen; el propio EEUU está en proceso de reformular por completo su regulación respecto a OMG. ¿Se basarán las futuras regulaciones de seguridad de los OMG en una versión de colegio de la genética y una interpretación de la edición génica diseñada en el departamento de relaciones públicas de una multinacional? Si nos basamos en cómo ha ido la historia, así será.

Referencias



Blevins, Todd, Rajendran Rajeswaran, Michael Aregger, Basanta K. Borah, Mikhail Schepetilnikov, Loïc Baerlocher, Laurent Farinelli, Frederick Meins Jr, Thomas Hohn and Mikhail M. Pooggin (2011) Massive production of small RNAs from a non-coding region of Cauliflower mosaic virus in plant defense and viral counter-defense. *Nucleic Acids Research* 39: 5003-5014.

Franziska Fichtner, Reynel Urrea Castellanos, and Bekir Ülker (2014) Precision genetic modifications: a new era in molecular biology and crop improvement. *Planta* 239: 921-939 (doi:10.1007/s00425-014-2029-Y).

Fu Y, Foden JA, Khayter C, Maeder ML, Reyon D, Joung JK, Sander JD (2013) High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nat Biotechnol* 31:822–826.

Fu Y, Jeffry D. Sander, Deepak Reyon, Vincent M. Cascio, and J. Keith Joung (2014) Improving CRISPR-Cas nuclease specificity using truncated guide RNAs. *Nat Biotechnol.* 32: 279–284.

Martin Jinek, Krzysztof Chylinski, Ines Fonfara, Michael Hauer, Jennifer A. Doudna, Emmanuelle Charpentier (2012) A Programmable Dual-RNA – Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity *Science* 337: 816-821.

Podevin N and du Jardin P (2012) Possible consequences of the overlap between the CaMV 35S promoter regions in plant transformation vectors used and the viral gene VI in transgenic plants. *GM Crops and Food* 3: 1-5.

=====

EDICIÓN GENÓMICA, MUTACIONES Y ARMAS DE DESTRUCCIÓN MASIVA

Silvia Ribeiro*

La Jornada

<http://www.jornada.unam.mx/2017/06/24/opinion/019a1eco>

Cientos de mutaciones inesperadas por el uso de CRISPR Cas9 en ratones fueron reportadas recientemente por un grupo de investigadores de varias universidades de Estados Unidos, en un artículo científico en la revista *Nature Methods*. Es una información muy grave en sí misma, más aún porque la industria biotecnológica pretende hacernos creer que son tecnologías "precisas" y controlables, al grado que incluso actores del sector agrobiotecnológico afirman que no sería necesario pasar por evaluaciones de bioseguridad.

Es útil recordar que James Clapper, ex director de la Agencia Nacional de Seguridad de Estados Unidos (NSA), declaró que la agencia considera a las nuevas tecnologías de edición genómica (nuevas formas de hacer transgénicos y otros productos de ingeniería genética) como potenciales armas de destrucción masiva. La declaración fue dada a la revista del Instituto Tecnológico de Massachussets (MIT) y refiere a las conclusiones de un informe realizado entre la CIA, la NSA y otros agente de seguridad de Estados Unidos en 2016. (*Technology Review*, 9/2/16, <http://tinyurl.com/h76cq6b>)

Aunque Clapper no nombró específicamente la tecnología CRISPR Cas9, queda claro que está muy alta en la lista de preocupaciones. La razón para ello es que las nuevas tecnologías de edición genómica, particularmente CRISPR Cas9, son baratas, fácilmente accesibles y tienen un amplio espectro de aplicaciones posibles. Por ejemplo, dijo Clapper, podría usarse para crear "insectos asesinos" contra humanos y animales, microorganismos que sean plagas fatales en las cosechas o virus que se inserten en el ADN humano. En particular, los sistemas de impulsores genéticos (gene drives), una construcción de CRISPR Cas9 diseñada para asegurar que una modificación genética permanezca en toda la progenie de una especie silvestre y se disemine agresivamente en el medio ambiente está en la agenda de la Convención sobre Armas Biológicas de Naciones Unidas. (<https://tinyurl.com/hp2gph5>). A estas



consideraciones hay que agregar que la tecnología tiene un vasto espectro de impactos inesperados e impredecibles, que se suman a los intencionales.

Son consideraciones que contrastan fuertemente con el intento de la industria biotecnológica de burlar incluso las insuficientes normas de bioseguridad, con la propaganda que vende que son tecnologías exactas, que solamente se trata de una mínima "edición" del genoma, que no necesariamente introduce nuevo material genético, sino que solamente silencia genes o elimina pequeñas partes de las secuencias. En realidad, en todos los casos se trata de ingeniería genética, de manipular genomas sobre los que hay enormes incertidumbres, se ignora una gran parte de las funciones de los genes y de las interacciones de éstos entre sí, con el organismo completo y el medioambiente.

No obstante, la industria ha conseguido introducir esta absurda discusión de que no pasen por aprobación de bioseguridad, en Europa, Estados Unidos, Argentina, Brasil, México y varios otros países. El argumento siempre es similar: se trata de "edición", son mucho más precisos que los transgénicos (¡por fin reconocen que los otros transgénicos no lo son!), son "pequeñas" modificaciones.

El artículo publicado en la revista Nature Methods da cuenta de un experimento que usó CRISPR Cas9 para corregir ceguera en ratones. Para evaluar efectos secundarios, realizaron una secuenciación de genoma completo de los ratones manipulados. Para su sorpresa, encuentran cientos de mutaciones no intencionales e inesperadas, no solamente en las regiones del genoma donde los algoritmos usados para el experimento contemplaban que podía haber mutaciones, sino en mucho lugares donde no estaba previsto. Mahajan, V. et al, Nature Methods, 30/5/2017 (<https://tinyurl.com/y9kbfjmv>)

Uno de los autores del artículo, Alexander Bassuk, de la Universidad de Iowa, explica que consideran estos resultados alarmantes, porque aún una sola mutación puede producir efectos graves e inesperados y aquí se trata de cientos de mutaciones.

Como este artículo afectó directamente a empresas que han invertido enormes sumas de dinero para la aplicación comercial de CRISPR Cas9, los científicos de dos de ellas, Editas Medicines e Intellia Therapeutics enviaron cartas criticando al artículo y demandando a Nature que se retracte de su publicación. Entre las críticas que hacen los científicos de las empresas que es que se usaron pocos animales y que deberían haber hecho secuenciación de genoma completo de los progenitores para descartar otras variaciones.

Un serio problema que las empresas fingen ignorar, es que más allá de este experimento –que no ha sido demostrado que sea erróneo– la mayoría de los experimentos con Crispr Cas9 producen efectos fuera de objetivo y mutaciones no intencionales, pese a que en general no se hace secuenciación de genoma completo para buscarlas. Ahora las empresas afirman que se debe hacer este tipo de secuenciación no sólo en los organismos manipulados, sino también en los progenitores para demostrar que son válidas. O sea, se necesitan no sólo las reglas de bioseguridad existentes, sino todo un nuevo aparato, normativas y estándares de bioseguridad y evaluación de riesgo mucho más complejos y que ni siquiera existen. Y que además, no pueden ser generalizados, porque las formas de ingeniería genética con CRISPR Cas9 en vegetales y su posterior multiplicación son muy diferentes que en animales u otros organismos.

Lo único sensato ante el océano de riesgos e incertidumbres a que nos quieren someter, es no permitir la liberación de ningún organismo (cultivos, insectos, animales) manipulado con ingeniería genética.

*Investigadora del Grupo ETC