

## ¿Qué papel juegan las herramientas como CRISPR/Cas-9 en la biotecnología vegetal?

Una conversación con **Daniel Guzmán Z.**, Doctor en Ciencias en Bioprocesos e Investigador asociado al Centro de Investigación Científica de Yucatán.



*Por Víctor Manuel Osorio E.*

Daniel se está convirtiendo en un referente cuando hablamos de los egresados del programa de Biotecnología. Y puede que esto suene extraño o que tampoco indique mucho. Sin embargo hay hechos concretos tanto de su paso por la Institución como de su vida profesional que nos llenan de orgullo e inspiración. En esta entrevista que se ha vuelto conversación vemos unas cuantas cosas, entre tantas, que nos permiten entender por qué Daniel juega un papel relevante en la historia del programa de Biotecnología, como estudiante, egresado y amigo de la casa.

### ¿Por qué decidiste estudiar Biotecnología?

– Quería estudiar Ingeniería Genética o Bioquímica, pero en nuestras universidades no existían esas opciones. Podía haber hecho Ingeniería Química o Biología y luego un posgrado en Biotecnología, pero encontré el programa del Colegio Mayor el cual me gustó sobre todo por lo transversal de sus asignaturas.

### **¿Mientras estabas estudiando te imaginabas qué podrías hacer un Biotecnólogo?**

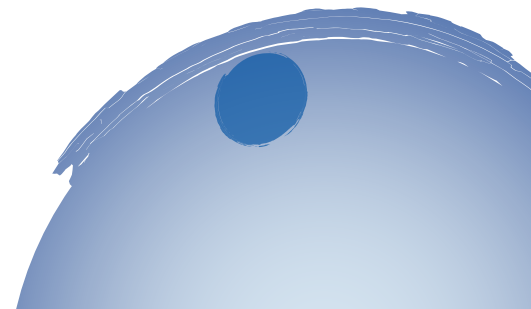
– Era una carrera nueva en nuestra sociedad, pero a nivel mundial ya estaba bastante consolidada y los campos en los que veía que podía ejercer un biotecnólogo eran muy diversos, como farmacéutica, producción industrial, manejo de residuos, manipulación de células y tejidos y, pues entre ellos, está también la ingeniería genética que es a lo que más me dedico.

### **¿Cómo fue tu paso por la institución y qué es lo que más recuerdas del Colegio Mayor?**

– Fue excelente. A pesar de que el programa era reciente y éramos pocos, se inculcaba un gran sentido de pertenencia, se generó con el tiempo una buena relación entre casi todos los estudiantes, incluso con los de otras facultades. Teníamos una plantilla de profesores jóvenes altamente motivados y que exigían mucho, y otros docentes que llevaban más tiempo en la institución y que nos aportaron mucho con su experiencia y profesionalismo. Recuerdo las clases de seis de la mañana, las electivas, el trato cálido con los profesores y el rigor académico.

### **¿De las áreas de la biotecnología, cuál te llamó más la atención durante el pregrado?**

– Siempre me gustó la biología molecular y las clases de biología celular, genética y bioinformática fueron un impulso claro para mi interés. Pero hubo otras áreas que también me sorprendieron como la de alimentos, la industrial con sus biorreactores y la animal, con el cultivo de células de mamíferos que para mí era difícil de creer que se hiciera en Colombia.



### **¿Qué fue lo que te impulsó a seguir estudiando después de que te graduaste?**

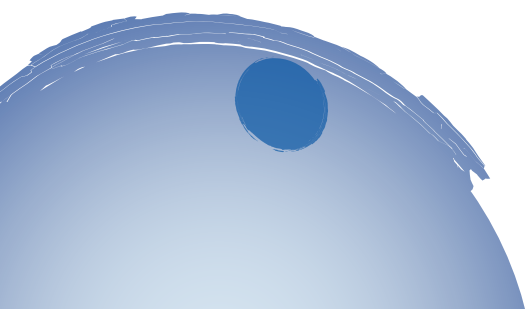
– En los últimos semestres del pregrado ya quería seguir una carrera en investigación y la experiencia en las prácticas profesionales fueron fundamentales tanto por el lugar donde las hice como por las personas que allí conocí; me motivaron para que continuara los estudios de posgrado y que los realizara en el exterior. Quizás tenemos la estima muy baja o creemos que no podemos dar la talla fuera de nuestro país, pero cuando sales te das cuenta que eso es muy diferente, que resaltas y que ven con muy buenos ojos a los estudiantes colombianos, por el buen conocimiento teórico y por la capacidad argumentativa y calidad humana que llevamos.

### **¿En qué se parece la formación académica en México y en Colombia?**

– En México hay universidades muy bien equipadas por lo que en la parte técnico-práctica hay una ventaja considerable. Además, hay una mayor diversidad de empresas que ofrecen la posibilidad de realizar una estancia académica. Otra de las estrategias interesantes que hay en México es el programa “Delfín” en el cual un estudiante de pregrado durante sus vacaciones de mitad de año puede hacer una estancia corta con un investigador de cualquier parte del país. Colombia compensa esta falta de práctica con un gran fomento del conocimiento básico, haciendo que la formación involucre el desarrollo de otras habilidades como la expresión oral y escrita, la argumentación y la presentación de propuestas y resultados.

### **¿Qué ha pasado profesionalmente desde que te graduaste hasta que llegaste donde estás hoy?**

– Solo la experiencia de salir del país ya te da una cátedra de independencia y responsabilidad. Lo más importante es que encuentras un lugar donde puedes compartir tus ideas, donde los “que tal y si” se convierten en diseños experimentales. La vida profesional es un espacio en el que se crean grandes amistades, se aprende a trabajar en equipo y a confiar en el otro.



### **Si tuvieras el poder de volver al pasado y cambiar tu pensum, ¿qué le harías?**

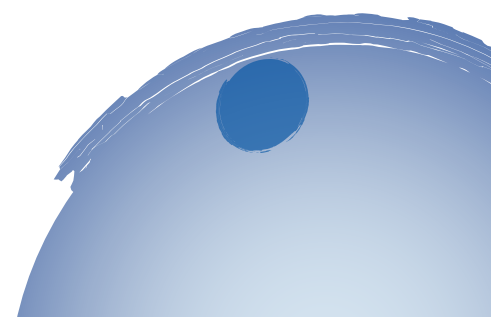
– El pensum no me parece tan importante como la calidad de los profesores y los estudiantes. Sé que hay asignaturas que se siguen dictando pero que se van actualizando constantemente. Le agregaría al pensum actual un componente sobre Ciencia de Datos, una rama que ya se reconoce a nivel mundial como una de las más importantes por lo que el profesional de biotecnología debería tener fundamentos en herramientas de programación por lo que se debería incorporar esta temática ya sea a nivel curricular o a través de cursos externos.

### **¿Qué crees que te diferencia de otros perfiles similares a la biotecnología?**

– El enfrentarnos a diario a la revisión de artículos, la presentación de exposiciones, las sesiones de preguntas y respuestas, el careo con nuestros compañeros, nos hizo perder el miedo a exponernos o a que nos preguntaran. Además, nos íbamos formando como estudiantes escépticos, con capacidad de discutir con argumentos y de estar informados.

### **¿Qué aspectos positivos podrías resaltar y qué crees que aún se pueda mejorar del programa de Biotecnología?**

– La planta física ha crecido enormemente en comparación con esos primeros años pues ahora tenemos un lugar propio para hacer nuestros experimentos. Este tipo de eventos es otro factor positivo del programa ya que los estudiantes pueden mostrar sus avances en sus proyectos y foguearse con las preguntas y comentarios. La institución también le ha apostado a la internacionalización de los estudiantes con estancias y convenios lo cual es un avance enorme. Y aunque está acreditada, la universidad aún puede mejorar y tiene con qué estar en el top 50 o 25 de universidades en Colombia si se hace más inversión en investigación, se aumenta la oferta de posgrados y se publican más artículos de calidad.

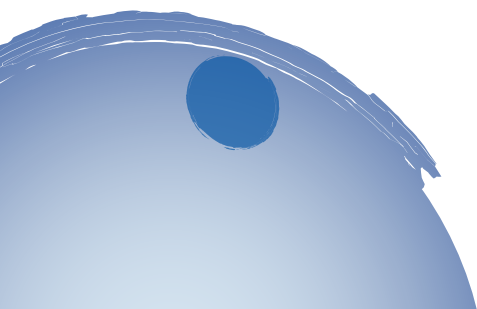


Se podría decir que tus primeros trabajos en investigación en el posgrado fueron con microalgas ¿qué fue lo que más te llamó la atención de trabajar con estos microorganismos y qué resultado te impactó de esas investigaciones?

– Las algas, y en especial con la que trabajo *Chlamydomonas reinhardtii*, son dos dominios en uno solo. El alga tiene un componente eucariota, el núcleo y el citoplasma, y otro que se comporta como procariota, el cloroplasto. Son muy versátiles y permiten estudiar diversos fenómenos básicos como la fotosíntesis, el movimiento flagelar y el metabolismo del carbono y del nitrógeno. Pero también tienen un gran potencial para producir proteínas recombinantes; algunos investigadores han hecho tratamiento para quemaduras usando las algas, otros las usan como alimento para animales incorporando enzimas que faciliten la absorción de metabolitos y otros incluso han pensado en producir con ellas hasta vacunas comestibles.

**Otras moléculas que han cautivado tu interés son los aptámeros. ¿Qué son y cuándo empieza tu interés por ellos?**

– Estas moléculas cambiaron mi forma de pensar sobre los ácidos nucleicos; siempre los había visto como biomoléculas lineales cuya función se limitaba al almacenamiento y traducción de información genética. Sin embargo, en una clase de ingeniería genética me pasaron una serie de artículos que describían cómo estas estructuras cortas de 70 a 120 nucleótidos podían interactuar con otras moléculas de origen biológico o sintético. Con un correcto diseño los aptámeros pueden funcionar como anticuerpos o ser efectores de señalamiento celular, entre otras, con lo que quedé fascinado por el potencial de estas estructuras.

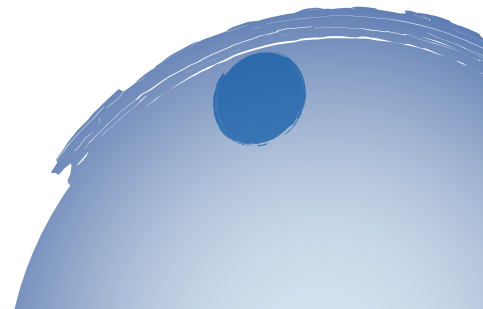


Uno de los sistemas que más has estudiado en México es la herramienta CRISPR/Cas. ¿Cómo la describirías de manera simple y cómo fue que llegaste a ella?

– Antes de CRISPR se debían diseñar y construir una serie de polipéptidos que reconocieran una secuencia blanco para acoplarse a una enzima de restricción que realizaba un corte inespecífico. Con CRISPR tenemos dos elementos, una nucleasa que efectúa el corte con un primer sistema de reconocimiento en secuencia denominado sitio adyacente al protoespaciador (PAM) y un segundo elemento de reconocimiento correspondiente a una guía de ARN que se acopla con la nucleasa y es complementaria a una de las cadenas de ADN; una vez formado el complejo nucleasa, guía y ADN, se realiza el corte específico. Empecé a estudiar el sistema CRISPR a comienzos del 2016 cuando un investigador que trabaja con musgos nos compartió unos vectores para probarlos en *Chlamydomonas*, allí formamos un equipo y comenzamos a trabajar sin ninguna presión de resultados; lo más curioso fue que 15-20 días después empezamos a ver cepas resistentes que empezamos a analizar por secuenciación y encontramos así diferentes tipos de mutaciones en la secuencia a la que se había dirigido.

**¿Cuáles serían los pasos, si se pudiera establecer de esa manera, requeridos para aplicar CRISPR en microorganismos o plantas?**

– Lo primero es madurar la idea. ¿Que se desea hacer?, mutar, silenciar, corregir, promover, inhibir o incluso visualizar. Después de tener los datos disponibles del genoma del organismo, se diseñan las guías de ARN evitando al máximo los sitios fuera de blanco (off-targets). Luego se procede a la entrega o transformación y posteriormente al análisis de las mutantes. Se recomienda realizar un análisis de la secuencia para confirmar los cambios realizados y observar los fenotipos, es decir, si hubo o no algún cambio fisiológico obtenidos después de aplicar la técnica. Esta sería, a grandes rasgos, como se plantearía inicialmente un ensayo tipo CRISPR.



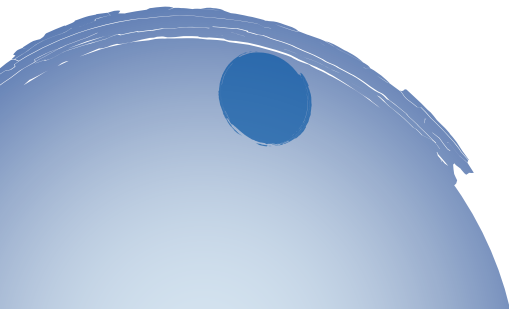


Una de las aplicaciones más promisorias de las estrategias CRISPR y que quizás se desarrolle con menos inconvenientes legales y éticos es en la biotecnología vegetal. ¿Qué avances o mejoras se podrían lograr en el cultivo de plantas aplicando estrategias CRISPR/Cas9?

– Las aplicaciones son muy diversas y pueden ir desde investigaciones en ciencia básica que buscan, por ejemplo, entender cómo funcionan ciertos genes o explicar algún mecanismo molecular o celular, hasta algo más aplicado como el mejoramiento genético y la incorporación de resistencia a factores bióticos y abióticos.

**¿Qué dificultades has encontrado en tus investigaciones en CRISPR/Cas9 aplicada a cultivos vegetales?**

– Contrario a lo que muchos piensan, el avance en CRISPR ha sido más explotado en el área de células de mamífero y por supuesto que es muy importante en las siguientes generaciones de terapia genética e inmunogénica. Las aplicaciones en el área vegetal han quedado un poco rezagadas, principalmente porque la cantidad de recursos tanto bioinformáticos como físicos es limitada para ciertas especies. Sumado a esto, el sistema de entrega o de transformación aún no es tan eficiente en comparación con el desarrollado para otros organismos y los mecanismos propios de silenciamiento de la planta, el número de copia de genes y la presencia de poliploidía, es decir, un número incrementado de juego de cromosomas en sus tejidos, hacen aún más difícil hacer seguimiento y mantener estas mutaciones.



Tres sistemas en los que ya has evaluado CRISPR/Cas9 son café, jatrofa y microalgas. ¿Qué expectativa se tiene en cuanto a esta herramienta, por ejemplo, para el cultivo de café, y podrían extrapolarse los resultados a otros sistemas?

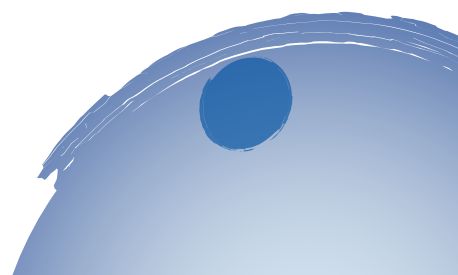
– El café es la segunda mercancía más comercializada después del petróleo. En Latinoamérica solo cultivamos dos especies, *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. Estas dos plantas deben ser mejoradas para los retos que se vienen con el cambio climático; con la manipulación genética podríamos tener variedades resistentes a heladas, a roya, a sequía o exceso de agua, con alto o bajo contenido de cafeína. Lastimosamente la idea de extrapolar resultados es un ideal pues cada planta u organismo tiene sus singularidades.

**¿Cómo se podrían afectar características fenotípicas, por ejemplo la diferenciación celular y la embriogénesis, usando CRISPR/Cas9?**

– En general la embriogénesis comprende tres pasos. Primero, la biosíntesis de auxinas que son los fitoreguladores encargados de promoverla; entonces, ¿qué pasaría si silenciamos los genes que codifican esas proteínas que participan en la síntesis de estas hormonas? Esas auxinas, en segundo lugar, necesitan unas proteínas para transportarse y, finalmente, cuando hay un exceso de hormonas, se activa un proceso de conjugación en el que un grupo de proteínas etiqueta con aminoácidos a las auxinas en exceso y algunas son recicladas y otras son degradadas.

**¿Ves potencial en el sistema CRISPR para el aumento en el rendimiento de los cultivos vegetales, sobre todo los destinados al consumo humano?**

– El sistema CRISPR de cierta forma corresponde a una evolución asistida e incluso si se tienen los recursos adecuados, no deja una huella de manipulación. Si se quiere, y a modo de comparación, nosotros ya llevamos alrededor de 30 años consumiendo productos genéticamente modificados.



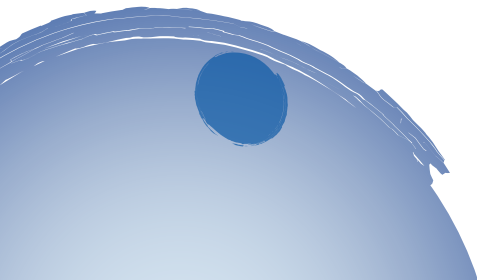


**¿Qué riesgos se corren al explorar CRISPR/Cas9 en cultivos destinados para el consumo humano?**

– Muchas personas tal vez por desinformación o por una imaginación exacerbada magnifican los temores hacia los organismos modificados genéticamente y lo más probable es que consumen casi a diario este tipo de productos. Debería mirarse con la misma lupa el desarrollo de otro tipo de productos genéticamente modificados como la insulina recombinante con la que se tratan los pacientes diabéticos, o los anticuerpos monoclonales en personas con cáncer, o la vacuna contra la hepatitis B y la misma vacuna para el coronavirus. El riesgo, más que desde lo biológico, es un factor político-económico.

**¿Crees que las regulaciones en CRISPR/Cas9 actuales están acorde con los desarrollos alcanzados?**

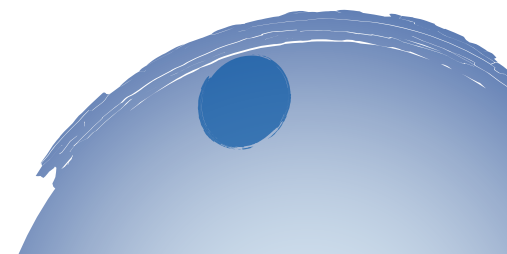
– En la actualidad hay tres puntos de vista. El primero es de la iniciativa europea ARRIGE (Asociación de Uso Responsable de la Investigación e Innovación en Edición Genética), el segundo es de la iniciativa de Edición del Genoma Humano de Estados Unidos y el Reino Unido, y el tercero es que no existe regulación. Por encima de las leyes y decretos debe estar el componente bioético en la investigación; hace algunos años un grupo de investigadores utilizó CRISPR para generar ratones con cáncer de páncreas y usarlos en el desarrollo de fármacos, ¿qué impide a alguien hacer lo mismo pero en humanos? Algunas organizaciones han impuesto restricciones a los experimentos en humanos, pero la tecnología ya lleva más de 10 años entre nosotros por lo que el componente bioético del profesional es lo que indicará si el uso que se le da es benéfico o malintencionado.



Una conclusión general que podría surgir de todo lo que conversamos con Daniel, es que la formación básica es fundamental para entender y proponer las técnicas o estrategias de ingeniería genética que se desarrollan actualmente. Desde las biología celular y molecular, la bioquímica, la bioinformática, hasta aquellas relacionadas con el sistema biológico en que se va a aplicar, son básicas cuando se trata de emprender un ensayo CRISPR con un objetivo demarcado.

Podríamos hablar con Daniel durante horas sobre desarrollos biotecnológicos usando ADN/ARN cortos (aptámeros) como biosensores, sobre el estudio de elementos de regulación de la expresión genética, sobre la producción de proteínas recombinantes y su evolución a través de mutagénesis dirigida. Y en sus palabras, basta soñar, imaginar hasta dónde podría llegar una técnica, sin temor a derribar los paradigmas científicos que te vas haciendo mientras vas adelantando tu formación.

(Si quieres ver el conversatorio completo, ingresa al enlace <https://youtu.be/8SEPx-EPc7k> entre 3:25:00 y 4:13:10)



*Daniel es Biotecnólogo, egresado de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Se trasladó a México donde realizó estudios de posgrado en Maestría y Doctorado en Bioprocesos. Tuvo la oportunidad de trabajar con técnicas de ingeniería genética, biología sintética, transformación genética, producción y purificación de proteínas recombinantes, ensayos de inmunogenicidad en modelos murinos, y técnicas de edición genómica con CRISPR. Posteriormente, se trasladó al Centro de Investigación Científica de Yucatán en la ciudad de Mérida (México), donde realizó una estancia postdoctoral en el laboratorio del Dr. Victor Manuel Loyola Vargas. En este período desarrolló estrategias de mutagénesis para el estudio de los genes involucrados en la regulación de la embriogénesis somática en plantas superiores. Luego de esta estancia, se vinculó a la Unidad de Biotecnología del mismo centro para trabajar como investigador asociado en el laboratorio de Cultivos Tropicales y Microalgas. Es imposible enmarcar la vida profesional de Daniel en un único hilo conductor; con la ingeniería genética y la biología molecular de base ha incursionado en diferentes aplicaciones, yendo y volviendo constantemente a los sistemas biológicos en que ha trabajado. Y es que de eso se trata ser profesional en biotecnología, de no tener miedo a los nuevos caminos que la ciencia nos va mostrando. Sin duda, Daniel ha sido pionero en muchos espacios para el programa de Biotecnología, un referente para aquellos que van en el camino, y una persona con grandes ideas, pero aún más grande es su corazón.*

Conversación con Víctor Manuel Osorio, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud y con Elsy Karenth Figueroa y Karen Belisa Vera, estudiantes de Biotecnología