# FRANCISCO MOJICA

Microbiólogo, investigador y profesor de la Universidad de Alicante

Lucía Sapiña

Francisco J. Martínez Mojica (Elche, 1963), Francis Mojica como le conoce todo el mundo, atiende con amabilidad y sin prisas, a pesar del trabajo y la gran cantidad de citas que acumula en su agenda: investigaciones académicas, conferencias, reuniones y, por supuesto, entrevistas para los medios de comunicación. De hecho, después de atender a MÈTODE ha quedado con una periodista de *The Wall Street Journal*, esta vez vía Skype.

La entrevista se desarrolla a finales de otoño en el campus de la Universidad de Alicante, donde Francisco Mojica es profesor y creó el Grupo de Microbiología Molecular. A principios de los noventa, mientras estudiaba cómo la arquea *Haloferax mediterranei* –un microorganismo que habita las salinas de Santa Pola (Alicante)– podía vivir en un ambiente con tanta concentración de sal, advirtió que en varias regiones del cromosoma había una información que se repetía. Más tarde, a principios de 2000, él y su equipo descubrieron que aquella información era un sistema de inmunidad de estos microorganismos que les permitía actuar en el caso de que un virus les atacase. El sistema CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats,* "repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas") reconoce el material genético del virus y lo corta para evitar que se propague. Este hallazgo se convirtió en determinante cuando se comprobó que el sistema se puede trasladar a cualquier otro tipo de células, también a las humanas, y hacer que corte en un lugar determinado para posteriormente, a través de la propia acción de reparación de la célula, que también se puede dirigir, recomponer la información. En 2015 la revista *Science* consideró CRISPR como el avance científico del año.

Francisco Mojica ha recibido numerosos premios por sus investigaciones, algunos tan destacados como el Albany Medical Center Prize en Medicina e Investigación Biomédica, compartido con Emmanuelle Charpentier, Jennifer Doudna, Luciano Marraffini y Feng Zhang. Ha sido galardonado también con el Premio Jaume I de investigación básica, el Premio Fundación BBVA, el Plus Alliance de Londres, el Premio Nacional de Genética y la medalla de honor de la Sociedad Española de Microbiología, entre otros. Ha sido investido doctor *honoris causa* por la Universidad Politécnica de Valencia y por la Universitat de València.

## «EL MAYOR RETO DE CRISPR ES QUE SE PUEDA UTILIZAR COMO AGENTE TERAPÉUTICO»

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

CRISPR

¿Por qué se habla de revolución con las herramientas CRISPR?

Porque son una revolución. Había otras tecnologías, que siguen existiendo, pero podemos decir que se han quedado aparcadas gracias a esta que es mejor en diversos sentidos. Entre ellos, su mayor eficacia, precisión, facilidad de uso y un precio mucho más económico, lo que permite obtener en semanas unos objetivos que antes se lograban en meses o años. Pero incluso más importante que eso es que se están haciendo modificaciones genéticas que antes eran impensables en organismos que no se dejaban manipular. Prácticamente se pueden utilizar en casi cualquier tipo celular y organismo. Y son revolucionarias, ya no solo dentro de la edición del campo del genoma. Gracias a la enorme variedad de sistemas CRISPR en los organismos que conocemos, que son muy pocos todavía, se están desarrollando otras técnicas, distintas a la edición del genoma, que están permitiendo, por ejemplo, grabar información dentro del ADN de bacterias. También se están desarrollando métodos de diagnóstico molecular para detectar, con una sensibilidad sin precedentes, la presencia de material genético de virus en muestras biológicas o de células cancerígenas.

Y todo esto podemos decir que se inicia en los años noventa, en las salinas de Santa Pola con su investigación en arqueas. ¿Por qué decide investigar estos microorganismos?

Fue decisión del director de tesis. Si te dan la oportunidad de empezar a trabajar, uno no se va a poner exigente, ¿verdad? [ríe]. Y lo que me dieron fue estudiar los microorganismos de las salinas, arqueas. Las arqueas son organismos procariotas distintos de las bacterias. Evolutivamente muy distintos, aunque bajo la luz del microscopio son prácticamente idénticos. En cualquier caso, los mecanismos por los cuales estos microorganismos son capaces de adaptarse a esa altísima salinidad y crecer son excepcionales y eso es lo que queríamos saber, sin ninguna pretensión aplicada.

Cuando ven esas repeticiones en el cromosoma de las arqueas, ¿por qué deciden que eso es importante, que vale la pena centrarse en su estudio?

Inicialmente pensamos que era un artefacto [un error o distorsión en la interpretación de los resultados] porque la secuenciación en aquella época estaba en sus inicios. El grupo en el que estaba empezaba a hacer algunas secuenciaciones y esta fue una de las primeras. Teníamos muchos problemas para conseguir resultados que fuesen legibles. Si quieres te lo enseño… [abre un armario de su despacho y muestra la secuencia]. Estas son las de *Haloferax mediterranei*. Es

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

un patrón de bandas idéntico a distancias regulares. Era algo muy raro. Vimos que cinco años atrás, en 1987, habían encontrado unas repeticiones con la misma estructura y más o menos el mismo tamaño, aunque distinta secuencia, en *Escherichia coli*. La duda era: ¿se trata de lo mismo o es una casualidad? Si realmente era lo mismo quería decir que el origen era muy ancestral porque *E. coli* está en el intestino y *H. mediterranei* en ambientes salobres. No pueden convivir y, por tanto, no se pueden intercambiar material genético. La conclusión fue que debían estar presentes si no en todos los procariotas, en un gran porcentaje de ellos. En millones de años de evolución, si estaban en muchos microorganismos es porque tenían que ser muy importantes. Además, no eran unas pocas repeticiones. Eran muchas, porque luego seguimos secuenciando y vimos que tenían muchas. Ver que se dedicaba un porcentaje alto del genoma a estas repeticiones de nuevo reforzaba esta idea de que merecía la pena ver para qué servían.

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

Y llegan a la conclusión de que estas repeticiones, en realidad, forman parte de un sistema de defensa de estos microorganismos.

Bueno, en eso tardamos diez años. Cuando vimos que se encontraban en estos dos organismos tan dispares empezamos a hacer estudios funcionales sin tener idea de qué podrían estar haciendo. Hicimos primero experimentos muy genéricos, muy básicos, que demostraron que, efectivamente, cuando manipulábamos estas regiones, las células se morían. Eso fue lo que nos mantuvo ocupados durante años, ya que había un efecto, probablemente una función muy relevante, vital, para las células. Y en 2003, diez años después, conseguimos ver que lo que hay entre regiones repetidas, que es lo que se denomina espaciadores, procedía de virus. Simplemente comprobamos que esas secuencias coincidían con secuencias genéticas de elementos móviles, que incluyen virus.

¿Y cómo hicieron esa comparación?

Uno coge secuencias de estos espaciadores, las mete en bases de datos públicas donde están todas las secuencias conocidas y mira a ver si coincide o no. Imagina dos aislados de la misma bacteria que tienen repeticiones en la misma región de su genoma y que las repeticiones son idénticas pero los espaciadores, distintos. Queríamos saber de dónde procedían para ver si nos podían dar alguna pista de cuál podía ser su función. Entonces vimos que uno de estos espaciadores de *E. coli*, que estábamos analizando, coincidía con la secuencia de un virus que infecta a *E. coli*. Pero también sabíamos que ese aislado en particular era resistente a infección por ese virus en concreto y que otros aislados de *E. coli* que no tenían ese espaciador eran sensibles a infección.

«CON CRISPR SE ESTÁN HACIENDO MODIFICACIONES GENÉTICAS QUE ANTES ERAN IMPENSABLES»

Pero usted estuvo años siguiendo la pista de algo que no sabía muy bien en qué iba a desembocar.

Sabíamos que había una aplicación directa, independientemente de la función que pudiera cumplir, porque ya en el año 1992 otro grupo de investigación empezó a utilizar esas regiones de *Mycobacterium tuberculosis* para identificar aislados. O sea, esa diversidad de espaciadores permitía utilizarlos como firmas o marcas, que te posibilitaban diferenciar un aislado responsable de un brote de tuberculosis de otro.

Y eso en sí ya era importante.

Eso en sí ya podía ser una aplicación. Buscar esa variabilidad entre cepas de *E. coli* fue lo que nos llevó a secuenciar esas regiones y ver que uno de los espaciadores coincidía con la de un virus. En las bases de datos disponibles en el 2003 ya había varias decenas de genomas de bacterias, había aumentado muchísimo el tamaño de las bases de datos de secuencias, por lo que decidimos hacer una búsqueda muy exhaustiva de espaciadores: identificar primero regiones CRISPR de todo lo que había en las bases de datos, sacar los espaciadores y buscar secuencias que se parecieran a esos espaciadores. Empezamos a ver que aquello que habíamos visto para *E. coli* se repetía en microrganismos muy dispares. Además, cuando los espaciadores se parecían o eran idénticos a alguna otra secuencia era siempre de un elemento genético que infectaba a ese grupo de microorganismos. Atando cabos llegamos a la conclusión de que era un sistema de inmunidad, que esos espaciadores eran recuerdos de infecciones ancestrales en la mayoría de los casos y que hacían que, de alguna forma, la bacteria o el procariota fuera inmune a estos elementos.

¿Cómo funcionan esas regiones CRISPR?

Las regiones repetición-espaciador son las regiones CRISPR. Esas agrupaciones CRISPR se transcriben, es decir, dan lugar a un ARN. Este se corta a nivel de cada repetición y da lugar a unas moléculas, que es lo que se llaman ARN guías. Cada una de estas molé-

culas pequeñas de ARN lleva la secuencia de un solo espaciador. Si un espaciador procede del ADN de un virus, de una región concreta, ese ARN va a ser complementario necesariamente a esa molécula del virus. Y por complementariedad de bases, se combinan y eso permite reconocer esa secuencia diana. Una vez que ocurre ese acoplamiento se activa una proteína Cas, que es una endonucleasa, que actúa como unas tijeras y corta dentro de la secuencia diana. En el momento en que corta el ADN, si no se repara, el virus no puede proseguir con su infección.

¿Ese es el sistema que utilizan las bacterias para protegerse de determinados virus?

Sí. Se suele hablar estrictamente de infecciones por virus porque es lo que se entiende mejor, pero si entra cualquier material genético dentro de la célula, puede hacer exactamente lo mismo.

¿Las aplicaciones de este sistema a otro tipo de células es lo que ha supuesto una revolución?

Sí, absolutamente. Cuando uno piensa en que existe un sistema de inmunidad adquirida con memoria desde el punto de vista biológico, es bestial. Ahora podemos generar bacterias resistentes a virus. Los virus en muchos casos llevan toxinas que hacen que una bacteria se convierta en patógena. Nosotros podemos tener bacterias protectoras en nuestro organismo con un sistema CRISPR para que, cuando le entre determinado virus, lo destruya evitando los factores de virulencia o de patogenicidad. Eso, desde el punto de vista clínico, es tremendo. La revolución ha sido porque parte de estos componentes del sistema inmunológico, es decir, las guías de ARN y las tijeras moleculares, la propia proteína Cas9, que es la que más se utiliza –aunque no es la única–, se pueden transferir a cualquier tipo celular de manera que lo que tienes es una maquinita, o unas tijeras, un bisturí que puedes programar muy fácilmente de manera que lo puedes llevar a cualquier lugar del genoma de un ser vivo, dentro de la célula, no en el tubo de ensayo. Esto permite, en principio, cortar en lugares precisos, en uno o en cien porque puedes meterle tantas guías y llevar tantas tijeras como quieras a distintos sitios. Cuando cortas, si no la reparas, la célula se muere. En bacterias esto tiene otra aplicación y es que puedes cortar en el ADN de bacterias que tengan una resistencia a antibióticos y las matas. Eso en procariotas. Las células eucariotas sí tienen los mecanismos de reparación muy eficaces de estas roturas. De hecho, cuando tú cortas el ADN de una célula viva se reclutan estos sistemas de reparación en el sitio en el que ha ocurrido esta rotura. Y al repararlo, es cuando se edita el genoma.

Y ahí es donde se le puede dar información de cómo tiene que reparar esa célula.

Eso es.

¿Esto es así de fácil, potente y dirigido, o puede haber errores?

Cuando la guía encuentra una secuencia que se parece, pero no es idéntica también puede cortar. Eso se llaman *off target*, cortes en secuencias distintas de aquella para la cual lo has programado. Eso puede ocurrir. De hecho, como buenos sistemas biológicos tienen esa tolerancia. Imagínate un espaciador procedente de un virus, eficaz contra esa secuencia de la cual procede; si luego aparece otro virus que tiene un cambio en un sitio, se haría resistente. Entonces hay una cierta flexibilidad para que se siga reconociendo esa secuencia, aunque tenga unas mutaciones. Cuando se utiliza una aplicación de esta tecnología ocurre exactamente lo mismo. ¿Qué es lo que se ha hecho ya? Modificar las tijeras e incluso la guía para que sean más exigentes y menos tolerantes a diferencias.

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

¿Cuáles son los retos de CRISPR?

Es un campo en continuo cambio y las potencialidades, como vemos, son muy grandes. Cada mes aparece una novedad. El reto es que se pueda utilizar como agente terapéutico, para curar el cáncer y otras enfermedades.

**«HACERSE ILUSIONES CON EL NOBEL ME PARECE INSENSATO»**

¿Estamos muy lejos de esas aplicaciones clínicas?

Hay ensayos clínicos ya en marcha con los que sabremos si en alguna de las aplicaciones terapéuticas para las que se están utilizando pueden funcionar o no. Pasa como con los fármacos. A lo mejor para un paciente funciona y para otros no. Y para una enfermedad muy concreta, para un tipo muy concreto de cáncer puede funcionar y para otro, no.

¿Puede el desarrollo de las aplicaciones médicas del sistema CRIPSR haberse visto obstaculizado por la disputa de patentes? ¿Eso ha podido tener alguna influencia?

Entiendo que sí. La patente no tiene ninguna limitación si uno quiere seguir utilizando esta técnica como

herramienta de laboratorio, con fines de investigación, para caracterizar cuáles son los genes responsables de una enfermedad, etc. Lo puedes hacer sin ningún problema. Otra cuestión es si lo que pretendes es desarrollar una terapia y en esto está clarísimo que una farmacéutica hasta que no tenga una seguridad de que va a estar cubierta por la patente o por la licencia adecuada, pues igual el tema la echa un poco para atrás.

¿Puede haber retrasado también esa disputa la concesión del Premio Nobel a CRISPR?

Es posible. Eso dicen las malas lenguas [ríe]. Probablemente no les gusta que se mezcle este tema y la verdad es que da un poco de rabia, que algo tan bonito se vea enturbiado por los intereses económicos.

Hablando de ese premio, ¿cómo vive la presión de estar cada año en las quinielas del Nobel?

Mal. Mal [insiste]. Uno no se puede obsesionar con eso en absoluto y sigo intentando, desde la primera vez que oí hablar de esa posibilidad, que no me afecte porque hacerse ilusiones con algo como el Nobel me parece muy insensato. Y la presión es fuerte. Al principio me molestaba en decirle a todo el mundo que me preguntaba: «Olvídate, esto es prácticamente imposible. Lo de las nominaciones al Nobel es confidencial. No se puede hablar de esto, no está bien y no lo ven bien los que deciden a quién otorgarlo». Y últimamente, ya me he cansado. Ya puedes decir lo que quieras que las ganas de que la ciencia en España reciba un Nobel son tan grandes que no se atiende a razones. No me quieren escuchar [ríe].

Hemos hablado del descubrimiento de las CRISPR, de sus aplicaciones médicas... parece que todo nos conduce hacia el sistema inmune. Así ocurre también con algunos tipos de cáncer, por ejemplo, para los que la inmunoterapia se ha convertido en la gran apuesta terapéutica. ¿La solución vendrá desde dentro, del sistema inmune?

Yo creo que es, no sé si llamarlo lo más sensato, pero sí lo más inmediato y lo más natural. Vamos a ver, tienes una enfermedad que nuestro sistema inmune, que es mucho mejor que el de las bacterias, debería ser capaz de controlar. Y no lo es porque, en el caso del cáncer, las células cancerígenas son capaces de evadir esa respuesta inmunológica. Pues vamos a hacer que nuestro sistema inmune sí sea capaz de eliminarlas a pesar de ese mecanismo de evasión. Teniendo en cuenta que nuestro sistema inmune depende de células, puedes retirarlas del organismo, modificarlas y volverlas a meter. Más limpio, imposible.

¿Es imperativo ya en este punto un debate social y de carácter global para ver hasta dónde se quiere llegar?

Absolutamente. Ya ha habido varias reuniones y bueno, hay que hacerlo y rápido porque esto va a seguir avanzando y el ritmo es tremendo.

**«PROPUSE NOMBRES E INMEDIATAMENTE ME CONTESTARON "CRISPR NOS PARECE FANTÁSTICO"»**

Además, parece que haya como una carrera entre países por avanzar, ¿no?

Claro. Y dices: seguro que va a haber algún país que va a hacer esto y nosotros nos vamos a quedar fuera. Todo esto evidentemente se tiene que hablar y se tiene que llegar a un acuerdo, que debería ser global. Eso sería lo ideal, pero evidentemente es muy complica-

do. Hace mucho tiempo que se puede modificar el material genético de un ser vivo. ¿Por qué no había una preocupación? Porque íbamos en bicicleta y ahora tenemos un automóvil que va a toda velocidad. Vamos a llegar mucho antes. ¿Quién tenía acceso a esa tecnología que había antes? Muy pocos. ¿Qué cosas se podían hacer? Muy pocas. Ahora puede tener acceso casi cualquier laboratorio de biología molecular y se puede hacer muy rápido. Todo eso es lo que hace que haya una cierta urgencia por el tema.

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

Usted se ve en la necesidad de comunicar sobre temas que no son sencillos y que generan muchas expectativas. ¿Cómo lo hace y cómo ha variado esa forma de comunicarse con el público a lo largo de estos últimos años?

Soy profesor veintitantos años y siempre se intenta que la gente te entienda, pero cuando hablas a estudiantes de biología sabes que te van a entender sí o sí con poco esfuerzo. Cuando intentas explicar lo mismo a la sociedad, incluso a científicos que no sean del campo de la biología, la cosa se complica mucho. Recuerdo la primera charla de divulgación que di, que fue en enero de 2016. Me pasé todas las Navidades preparándome esa charla con un susto en el cuerpo que no me lo quita nadie [ríe]. Ni me fui de vacaciones ni nada. Hice un gran esfuerzo y cuando terminé me dijeron que era lo más claro que habían oído en muchos años. Mereció la pena y además fue tremendamente gratificante.

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

¿Era una conferencia sobre CRISPR?

Sobre la historia de CRISPR y las aplicaciones en un auditorio de lo más variopinto. Yo pensaba que no era capaz de divulgar. No me había decidido por la divulgación porque pensaba: «Voy a hacer que la gente se frustre cuando oiga cosas que no entiende, mejor me quedo con lo mío, dando charlas a especialistas». Ahora, cuando me invitan a una charla de divulgación, si puedo, la acepto porque, con diferencia, es lo más bonito. Y porque hace falta también. Ahora el miedo es distinto, es a no transmitir pasión y a no explicarlo con ánimo.

¿Cuál es la pregunta que le hacen más frecuentemente?

Siempre las relacionadas con ética y con las aplicaciones. También si «usted cree que se podrá curar mi enfermedad o la de mi hijo y dentro de cuánto tiempo», cuestiones a las que uno no tiene respuesta.

Cuando hablamos de CRISPR, las metáforas que se utilizan tanto en la comunidad científica como en los me-

dios de comunicación: el «corta y pega», la edición, las tijeras moleculares... ¿Contribuyen a una mejor comprensión del proceso o se simplifica demasiado?

Yo te diría que hace tres años el corta y pega explicaba todo lo que hacía CRISPR. Ahora no. Ahora eso es una mínima parte. Sigue siendo quizá la que puede tener más repercusión, pero no la única. Ahora mismo lo de cortar es una de las posibilidades, pero cuando a esas tijeras les quitas la posibilidad de cortar, lo que tienes es un transportador. Es una proteína que no corta pero que la puedes llevar a cualquier sitio del genoma de cualquier ser vivo y es capaz de encontrar veinte nucleótidos, veinte letras, entre 3.000 millones de letras. Cuando le quitas esa capacidad de cortar a la proteína le puedes añadir, por ejemplo, una lucecita, una proteína fluorescente que te ilumina dentro de la célula dónde se encuentra un lugar concreto y cómo se mueve a lo largo del ciclo celular. Y puedes iluminar un sitio o siete sitios distintos y ver cómo interaccionan entre ellos. También puedes unirle proteínas a este transportador que activen la expresión génica o que la repriman sin modificar material genético.

Roberto Ruiz, Universidad de Alicante

«HACE TRES AÑOS LA METÁFORA DE "CORTA Y PEGA" EXPLICABA TODO LO QUE HACÍA CRISPR. AHORA, NO»

¿Vamos a necesitar nuevas metáforas para ampliar el significado de CRISPR?

Sí. Algo genérico como el transportador o como las sondas que mandan a los planetas.

Usted fue la persona que acuñó el término *CRISPR*.

¿Te lo imaginas? Yo es que no me lo creo. Acuñé inicialmente otro término que era *SRSR* (*short regularly spaced repeat*) y luego me convencieron para cambiarlo.

¿Por qué había esa necesidad de cambiar el nombre, de llegar a uno común para toda la comunidad científica?

Me mandaron un correo de un grupo de la Universidad de Utrecht, que trabajaba en identificación molecular utilizando estas regiones como marcadores genéticos para diferenciar entre cepas de *M. tuberculosis*. Ellos utilizaban desde el 1992 el término *DR* (de *direct repeats*). Durante esa década hubo otros grupos que secuenciaban genomas completos y había diversidad de nombres hasta que en el 2000 dijimos: «Forman parte de una misma familia, vamos a llamarlas SRSR». Cuando me contactaron de Utrecht me dijeron: «Vamos a ponernos de acuerdo y se soluciona el tema». Y todo motivado porque ellos acababan de encontrar unos genes al lado de las repeticiones a los que querían dar nombre también. Entonces les propuse *CRISPR* (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*), *RISR* (*regularly interspaced short repeats*) y alguna más. E inmediatamente me contestaron: «*CRISPR* nos parece fantástico, se pronuncia bien y es una entrada única en las bases de datos». En su artículo fue la primera vez donde se utilizó CRISPR. Tuvieron el detalle de comentar que habían discutido sobre el nombre conmigo. De hecho, no hace mucho, para publicar el correo en un libro, me puse en contacto con Ruud Jansen, que fue quien me escribió, y le pregunté: «¿Me dejas publicar esto?» Y me contestó: «pero ¿diste tú el nombre? Yo pensaba que se me había ocurrido a mí». Luego me enteré de que iba diciendo que se le había ocurrido a él. Pero es que además yo lo tenía muy claro, que iba a ser algo muy importante. En ese momento, que no sabía que era el sistema inmunológico, pero sí que era un sistema de repeticiones asociado a unas proteínas que estaban presentes en muchos microorganismos, dije: «Esto va a tener repercusión. Y este nombre va a quedar».

**Lucía Sapiña**. Periodista. Observatorio de las Dos Culturas, revista MÈTODE. Universitat de València.