



REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y CIRUGÍA DE LA REGIÓN DE MURCIA

SESIÓN EXTRAORDINARIA Y SOLEMNE DE RECEPCIÓN
COMO ACADÉMICO DE HONOR

DISCURSO DE INGRESO

DIÁLOGOS BACTERIA-VIRUS.
DISCUSIONES LETALES, ACUERDOS VITALES

POR

Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Juan Martínez Mojica



DISCURSO DE CONTESTACIÓN

POR

Excma. Sra. Dra. D^a. María del Rocío Álvarez López



9 de noviembre de 2017

MURCIA



DISCURSOS

LEÍDOS EN LA SESIÓN EXTRAORDINARIA Y SOLEMNE
DE RECEPCIÓN COMO ACADÉMICO DE HONOR,
CELEBRADA POR LA

REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y CIRUGÍA
DE LA REGIÓN DE MURCIA

Discurso de ingreso

de

Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Juan Martínez Mojica

**‘Diálogos bacteria-virus.
Discusiones letales,
acuerdos vitales’**

Discurso de recepción

por la

Excma. Sra. Dra. D^a. Rocío Álvarez López

Académica de Número de la Real Academia de Medicina y Cirugía
de la Región de Murcia

Murcia, 9 de noviembre de 2017

Edita:



*Real Academia de Medicina y Cirugía
de la Región de Murcia*

Realización y producción:

Juana Alegría (juanialegrigarcia@gmail.com)

Depósito Legal:

MU-1.282-2017

Índice:

- Discurso de ingreso: Diálogos bacteria-virus. Discusiones letales, acuerdos vitales 7
- Discurso de contestación 29

Discurso de ingreso

**‘Diálogos bacteria-virus.
Discusiones letales,
acuerdos vitales’**

por el

Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Juan
Martínez Mojica

*Exmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina
y Cirugía de Murcia, D. Manuel Clavel-Sainz Nolla,
Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades,
Excelentísimos e Ilustrísimos Académicos,
Señoras y Señores.*

Preámbulo

Mi presencia hoy aquí, en la Real Academia de Medicina y Cirugía de la Región de Murcia, en esta sesión extraordinaria de toma de posesión como Académico de Honor, siendo yo el protagonista, les puedo asegurar que no entraba dentro de mis planes. No por falta de anhelo, sino porque no es saludable aspirar a lo que, bajo la propia perspectiva, está fuera del alcance. La medicina siempre pensé que lo estaba, sobre todo porque el irremediable desvanecimiento que experimentaba al contemplar el fluir de la sangre, propia o ajena, fuera de sus conductos habituales, podría ser incompatible con la práctica médica. Ahora sé que este desliz de la mente no debería haber sido un impedimento. Mi médico habitual me convenció de ello, al confesarme en una ocasión, cuando consiguió reanimarme tras una simple extracción de sangre, que él también llegó a sufrir algún vahído en semejantes circunstancias. Finalmente estudié Biología, lo que desde niño me había encandilado. Para ello me vine a vivir a Murcia, a la Calle Pico de la Panocha. El primer año lo cursé en el Campus de la Merced. Desde entonces, probablemente por los gratos recuerdos y por la imborrable

huella que deja la primera vez que se abandonaba la protección del hogar, el claustro de la actual Facultad de Derecho, sus aledaños, y en especial la Taberna Los Lebrillos, han formado parte de mis sueños más recurrentes. Después nos trasladamos al Campus de Espinardo. Allí llegamos a recibir algunas clases en aulas de la Facultad de Medicina, donde una buena parte de mis compañeros anhelaban poder matricularse algún día; esta era su primera opción cuando accedieron a la Universidad, que no pudieron cumplir por falta de expediente, un mal común entre los estudiantes de Biología de entonces. Pero este no era mi caso. Biólogo por convicción, finalicé la carrera, me incorporé a un departamento de la Facultad de Medicina de la Universidad de Alicante para hacer el doctorado, donde di mis primeras clases, de Genética Humana y de Microbiología Clínica, a estudiantes de Medicina. Esta fue mi relación más estrecha con la “Ciencia de Galeno”, hasta que, por avatares de la investigación, el estudio de la biología molecular de unos microorganismos inoocuos para el hombre, cuyo hábitat se restringe a ambientes salobres, me ha llevado a una situación sobrevenida maravillosa y, entroncada de lleno con la salud.

Recibo este nombramiento con el orgullo de quien forma parte de un colectivo que está convencido de la importancia de la labor investigadora para el avance de la ciencia en general, y de la medicina en particular. Lo acepto de buen grado con la satisfacción de comprobar que quienes me lo conceden participan de esta creencia. Les agradezco enormemente que me hayan honrado con este reconocimiento a mi humilde contribución al bienestar de las generaciones futuras.

Dña. María del Rocío Álvarez López, Rocío, gracias por tu iniciativa al proponerme, por tu gentileza y elegancia al gestionar mi aturdimiento inicial cuando tuviste la deferencia de acudir a mi despacho para comunicarme tus intenciones y, sobre todo, por transmitirme un aprecio que va más allá de mis opinables méritos científicos.

Por esa consideración que han tenido todos ustedes hacia mi persona, espero no desmerecer este solemne acto con mi asumida torpeza verbal, que confío sea compensada por el contenido de lo que les voy a relatar a continuación.

Introducción

Son numerosos los antecedentes a lo largo de la historia de la humanidad que ponen de manifiesto aquello de “la necesidad agudiza el ingenio”. Y está fuera de toda discusión que las necesidades más imperiosas surgen cuando se pone en riesgo la vida. Cuanto mayor es el número de vidas en peligro, mayor es la intensidad con la que la sociedad busca una solución y, en consecuencia, mayor la de que se encuentre. Tristemente, una buena prueba de ello es cómo los conflictos bélicos han estimulado la investigación en tecnología y ciencia, repercutiendo de manera espectacular en el avance de la medicina. Algunos de los mayores progresos en clínica surgieron durante las dos grandes guerras. Son dignos de mención el desarrollo de las primeras máquinas portátiles de rayos X (los *‘petites Curie’*, como se les bautizó), las toallas sanitarias de celulosa, el DDT, los primeros aerosoles antimosquitos, los primeros programas de vacunación generalizada o la producción masiva de antibióticos tras rescatar del olvido las observaciones de Alexander Fleming realizadas años atrás.

Aunque las bacterias están desprovistas de ingenio, la presión selectiva que ejercen sobre ellas sus depredadores, lo virus, suple esta carencia. Pero los virus no se quedan en zaga. La incesante guerra bacteria-virus ha motivado la elaboración por ambas partes de “ingeniosas” armas moleculares de ataque, defensa y contrataque, depuradas por el tiempo, la experiencia, la evolución. Esa misma fuerza impulsora, la selección natural, garantiza que, a pesar del fragor de la batalla, no se llegue a la aniquilación total del enemigo; porque el enemigo dispone de una información que podría resultar útil en situaciones comprometidas. Este diálogo afecta a la vida del planeta en su conjunto; los seres humanos podemos llegar a sucumbir como consecuencia de sus confabulaciones, pero también podemos vivir más y mejor readaptando a nuestras necesidades tan refinado armamento.

Dediquémosles unos minutos a estos inquietantes microorganismos, a cómo interaccionan entre ellos y a cómo hemos sabido aprovechar sus conflictos, en el ámbito de la medicina.

Descubrimiento de las bacterias

Antonie Philips van Leeuwenhoek (1632-1723)¹, no se dedicaba a la ciencia, pero poseía la curiosidad y capacidad de observación inherentes al científico. Tampoco tenía estudios universitarios, pero contaba con una pericia y tenacidad fuera de lo común. También debió disponer de mucho tiempo libre, el que le permitía su actividad como comerciante de telas en Deft, su ciudad natal. Este mercader holandés, coetáneo de Newton, Rembrandt, Spinoza y Molière, descubrió la vida microscópica con la ayuda de microscopios rudimentarios de su manufactura, compuestos por una sola lente. Tallando y puliendo cristales con sus propias manos, los convirtió en lentes biconvexas que llegaban a alcanzar más de 200 aumentos, muy lejos de los 1000 que utilizamos habitualmente los microbiólogos para poder ver con un mínimo de detalle las minúsculas bacterias. Sin embargo, eran más que suficientes para determinar la calidad de las telas, al permitirle observar las fibras de los tejidos, que era su pretensión inicial. Así llegó a fabricar más de 500 de estos microscopios simples, de no más de 10 cm de largo, que le llevaron a visualizar, por primera vez en la historia de la humanidad, lo que él mismo llamó “animálculos”. Entre estos animales microscópicos se encontraban, además de protozoos, células sanguíneas o espermatozoides, lo que más de un siglo después pasarían a denominarse bacterias, palabra derivada del griego cuyo significado, “bastón”, ninguna a las de forma esférica, en espiral o “de coma” descritas por el humilde comerciante. Resulta inevitable tratar de imaginar la enorme emoción que debió experimentar Leeuwenhoek cuando contempló por primera vez estas diminutas partículas, desplazándose y retorciéndose, en muestras obtenidas de una charca. No sería menos acentuado el estupor que sintieron aquellas damas de la alta sociedad que, ávidas de notoriedad, quisieron ser testigo de la primicia y comprobaron con sus propios ojos que en su cavidad bucal también había millones de estos seres. Sin embargo, fueron muchos los contemporáneos que dudaron de tan sorprendente hallazgo, y tuvieron que pasar varias décadas hasta que los científicos empezaron

a ser conscientes de la importancia de los microorganismos, cuya ubiquidad ya se sugería por los trabajos del, merecidamente considerado, padre de la Microbiología.

La Microbiología no fue reconocida como ciencia², enmarcada dentro de las ciencias biológicas, hasta principios del siglo XX, principalmente a raíz de los trabajos de ilustres investigadores de la época, cuyos nombres forman parte de la terminología microbiológica cotidiana: *Pasteurella*, pasteurización, postulados de Koch, bacilo de Koch, *Listeria*, *Beijerinckia*,... Louis Pasteur (1822-1895), Robert Koch (1843-1910) y Joseph Lister (1827-1912), fueron los verdaderos promotores de la microbiología médica, al relacionar a las bacterias con la enfermedad. La constatación de que los microorganismos eran agentes causales de enfermedades supuso un enorme avance para la medicina, permitiendo la prevención de infecciones mediante la vacunación o la esterilización de los materiales utilizados en las intervenciones quirúrgicas. A Pasteur se atribuye el primer testimonio de que los microorganismos también participan en aspectos beneficiosos para el hombre, tales como la fermentación de alimentos, y que, por el contrario, algunos son responsables de su putrefacción. Por su parte, Martinus Beijerinck (1851-1931) estableció los principios básicos de la virología, tras descubrir los virus en sus estudios sobre el mosaico del tabaco.

Descubrimiento de los fagos y primeras aportaciones a la medicina

Pero los virus no solo atacaban a las plantas, también a los animales, y tal y como revelaron hace 100 años de manera independiente Frederick William Twort (1877-1950) y Félix d'Hérelle (1873-1949)³, incluso las bacterias eran infectadas por unos virus, denominados comúnmente “comedores de bacterias” (bacteriófagos) o simplemente fagos. La capacidad de matar bacterias por parte de los fagos fue explorada inicialmente por d'Hérelle, y por muchos otros durante la

primera mitad del siglo XX, para su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas, marcando los inicios de la denominada terapia fágica. Con el descubrimiento y aplicación generalizada de los agentes químicos antibacterianos, eficaces y más previsibles que los virus, esta prometedora aproximación terapéutica fue rápidamente desestimada, a excepción de algunos países del este de Europa donde persistieron investigando en esta línea⁴. En la actualidad, la incidencia creciente de bacterias patógenas resistentes a antibióticos ha reavivado el interés por la utilización de virus completos o de sus componentes, para el tratamiento de infecciones bacterianas⁵.

Por otro lado, la sencillez estructural de los fagos permitió abordar, durante la segunda mitad del siglo pasado, estudios pioneros sobre la naturaleza del material genético y los mecanismos moleculares que rigen la vida⁶. Los trabajos utilizando fagos como modelo resultaron fundamentales para la germinación de la Biología Molecular, facilitando en gran medida el conocimiento de los sistemas biológicos y contribuyendo de manera determinante al progreso de la Biología y la Medicina. Son numerosos los científicos que han sido reconocidos con el Premio Nobel en Fisiología o Medicina gracias a sus investigaciones en fagos: Jacob, Monod y Lwoff, en 1965, por sus descubrimientos relacionados con la regulación génica; Delbrück, Hershey y Luria, en 1969, por descubrir el mecanismo de replicación y la estructura genética de los virus; o Arber, Nathans y Smith, en 1978, por el descubrimiento de los enzimas de restricción y sus aplicaciones.

Las consecuencias de la infección por fagos

Los fagos representan las entidades biológicas más abundantes del planeta. La incidencia de infección bacteriana por fagos se ha estimado en 10^{25} por segundo, con unas consecuencias sobre la bacteria atacada que varían según el tipo concreto de virus⁷. Generalmente, tras reconocer un componente específico en la superficie de la bacteria, el virus introduce su material genético en el citoplasma, donde puede

seguir dos vías: (1) replicarse dando lugar a nuevas partículas víricas completas que suelen liberarse tras la ruptura de la envoltura celular por lisis, provocando irremediablemente la muerte de la bacteria tan solo unos minutos tras el primer contacto, o (2) permanecer en forma de profago, integrado en el genoma del hospedador, en un estado de infección crónica denominado lisogenia. La relación de lisogenia es inestable, de manera que, por ejemplo, bajo condiciones de estrés en las que el hospedador deja de ser un buen anfitrión, el profago activa su multiplicación y se libera.

La información genética contenida en un profago afecta a las capacidades de la bacteria, incluyendo su patogenicidad, resultando en muchos casos beneficiosos para el portador⁸. Este beneficio justifica el elevado porcentaje del cromosoma de bacterias, en particular de bacterias patógenas, que está constituido por ADN vírico. De hecho, los profagos son considerados como la contribución más ostensible a la patogénesis bacteriana. La producción de toxinas, como la botulínica, colérica, diftérica o tetánica, y de otros factores de virulencia, tales como sistemas de secreción para la transferencia de proteínas a células eucariotas, está con frecuencia determinada por este ADN vírico parásito, que bien alberga directamente la información que los codifica o regula su síntesis desde genes bacterianos residentes.

Al transmitirse entre poblaciones de bacterias relacionadas entre sí, los fagos no solo pueden convertir cepas inocuas en patógenas, por incorporación de su propio genoma en el de la bacteria receptora, sino que con frecuencia también actúan como vehículos que intercambian genes propiamente bacterianos, como aquellos que confieren resistencia a antibióticos⁹. Se estima que cada segundo tienen lugar más de 10^{16} transacciones de genes mediadas por fagos¹⁰.

Por otra parte, los fagos matan aproximadamente el 50% de las bacterias del planeta cada 2 días, resultando determinantes en el control de la abundancia y composición de la microbiota de los ambientes naturales¹¹, cuerpo humano incluido. Nuestro intestino contiene hasta 10^{13} bacterias por gramo, que tienen una gran repercusión sobre nuestra salud y bienestar. La microbiota humana está relacionada con en-

fermedades cardiacas, la función inmunológica, la obesidad, la formación y reabsorción de los huesos, nuestra salud mental o el desarrollo de la esclerosis múltiple. El control ejercido por los fagos resulta pues determinante en todos estos procesos¹².

La carrera armamentística bacteria-fago

La batalla entre fagos y bacterias es la lucha presa-depredador más feroz de las que tienen lugar en la tierra. Debido a su rápida evolución y elevado número, llegando a superar hasta en 10 veces el de bacterias, los fagos ejercen una enorme presión sobre estas. En consecuencia, las bacterias utilizan diversos mecanismos de defensa, mientras que los fagos han desarrollado estrategias de contrataque específicas.

Camuflaje

Con frecuencia, las bacterias enmascaran aquellos componentes de su envoltura que son reconocidos por el virus, el primer paso ineludible para la infección¹³. A tal efecto, les recubren con sustancias poliméricas sintetizadas por la propia bacteria, formando una coraza que no siempre resulta infranqueable, ya que algunos fagos han aprendido a degradarla, accediendo al receptor tras abrirse paso a través de la cubierta protectora. La síntesis y exhibición de estos receptores víricos suele limitarse a ventanas temporales restringidas, de manera que, durante la mayor parte del ciclo celular, el hospedador potencial no llama la atención del depredador. Pero la causa más común de resistencia probablemente sea la aparición de mutaciones en la secuencia de los receptores que, sin comprometer a la función que cumplen para la célula, previenen la unión del virus.

Suicidio

Uno de los mecanismos de resistencia bacterianos más elaborados es la Infección Abortiva¹⁴, que abarca varios dispositivos para inter-

ferir la multiplicación del virus, una vez que su material genético ha penetrado en el interior de la célula. Estos incluyen el bloqueo de la replicación de su genoma, de la síntesis de proteínas o el suicidio programado de la bacteria. En efecto, la bacteria suele perecer antes de que se generen las primeras partículas víricas. La consecuencia de este suicidio es una disminución en la probabilidad de que el virus se transmita a otras bacterias, protegiendo de esta manera a la población de una manera más eficaz.

La muerte intencionada puede resultar sorprendente desde nuestra perspectiva de ser humano. Nosotros estamos dotados de un instinto de supervivencia que nos impulsa a sortear amenazas, y desde luego, nuestros sistemas de defensa no buscan beneficiar al prójimo. Existe sin embargo un paralelismo en nuestro caso a nivel celular: la apoptosis, o muerte celular programada, que persigue eliminar células propias que representan un peligro para la integridad del organismo, como puedan ser las infectadas por virus, o destruir células en exceso, por ejemplo, para la formación de la sinapsis neuronal. De manera semejante, la muerte celular es un recurso empleado con frecuencia por las bacterias para facilitar nutrientes a sus congéneres, o para evitar que se transmitan genomas defectuosos a la descendencia. Al fin y al cabo, una comunidad microbiana funciona como un organismo pluricelular, pero con muchas menos restricciones. Aun manteniendo una intensa comunicación y coordinación entre sus miembros, al no estar necesariamente ligados para el resto de su existencia, los individuos dañados o perjudiciales pueden ser fácilmente reemplazados y nuevos miembros con capacidades interesantes se pueden incorporar para mejorar “la raza”. El resultado es la continua y rápida evolución de un organismo que no se deteriora, que no envejece, en otras palabras, que es inmortal.

Restricción-Modificación

El mecanismo especializado en defensa más extendido entre las bacterias es el de los sistemas de restricción-modificación¹⁵. El ma-

terial genético propio es modificado mediante la unión de un grupo químico a secuencias concretas, protegiéndolo así de la actividad de restricción que, en ausencia de la alteración química pertinente, reconoce y corta esa misma secuencia. Cualquier molécula de ADN exógeno conteniendo regiones con dicha secuencia no modificada, será rápidamente degradado. Sin embargo, algunos fagos son capaces de inactivar la enzima responsable de la degradación, mientras que otros pasan desapercibidos para este mecanismo al modificar de la misma manera las secuencias diana, excluyéndolas o alterándolas. Como contrapartida, determinadas cepas bacterianas emplean enzimas que impiden la alteración, o que cortan estas secuencias aun estando camufladas.

Inmunidad adquirida

CRISPR-Cas constituye el sistema de inmunidad bacteriana más recientemente descubierto, el único con capacidad adaptativa¹⁶. La existencia en los microorganismos de un mecanismo de auto-vacunación sigue asombrando a la comunidad científica después de más de una década tras su constatación. Los “animálculos” más pequeños de entre los divisados por Leeuwenhoek, son seres dotados con la capacidad de recordar, de guardar imágenes del pasado. Esta memoria no se encuentra localizada en un análogo a nuestro cerebro, son recuerdos grabados en su ADN.

Cuando se detectó a finales de los 80 una región del genoma de la bacteria *Escherichia coli* donde se repetía varias veces un mismo fragmento¹⁷, nada hacía sospechar que se tratara de un archivo para clasificar, en orden cronológico, información procedente de invasores víricos, en forma de espaciadores intercalados entre las repeticiones. Aunque la secuencia de los espaciadores era muy variable, el tamaño era constante, denotando una exquisita labor de ingeniería molecular nunca vista. Lejos de tratarse de una peculiaridad exclusiva de este microorganismo entérico, la incipiente genómica de la década los 90 nos permitió comprobar que esta obra de arquitectura estaba presente en muchos otros: habitantes

de salinas solares, de fuentes termales, de océanos o de alimentos fermentados¹⁸. Las repeticiones eran una característica ancestral, cuya idiosincrasia les hacía merecedoras de un nombre propio; el elegido fue CRISPR, por las siglas en inglés de repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas y regularmente espaciadas. Pero más allá de los aspectos ornamentales, la pregunta no podía ser otra: ¿para qué servían?

La respuesta emergió al comprobar que los espaciadores se correspondían con ADN de virus que infectaban habitualmente a bacterias emparentadas con la portadora de dicho espaciador, pero esta era inmune¹⁹. Bacterias susceptibles de ser infectadas por un determinado fago, que, aunque eran portadoras de una región CRISPR, carecían de espaciadores derivados de secuencias del virus, adquirían nuevos espaciadores durante el proceso de infección, haciéndose resistentes. Inmunidad adaptativa sí; los vertebrados también tenemos un análogo, pero la bacteriana no tiene parangón, por su simplicidad y por su carácter heredable. Nosotros no transmitimos a nuestra descendencia la inmunidad que hemos adquirido tras haber estado expuestos a un patógeno. Las bacterias sí lo hacen, transmitiendo su legado durante millones de años, compartiendo su experiencia vital generación tras generación. La adquisición de nuevos espaciadores se exagera durante la infección por aquellos virus contra los cuales la bacteria ya había sido vacunada, reforzando la memoria.

Existe un arsenal de proteínas *Cas*, que desempeñan diversas funciones relacionadas con la actividad CRISPR^{20,21}. La identidad de dichas proteínas puede variar de unos sistemas CRISPR-*Cas* a otros, hasta el punto de que las únicas universalmente conservadas son aquellas que participan en la integración de espaciadores dentro de una región CRISPR. Otras proteínas *Cas* están implicadas en el recorte de moléculas de ARN copia de las agrupaciones CRISPR. Como resultado de este procesamiento, se forjan multitud de fragmentos, cada uno de los cuales es portador de la secuencia de un solo espaciador. Estas pequeñas moléculas de ARN son nada

menos que las guías de la inmunidad, los “anticuerpos” de los sistemas CRISPR, encargadas de reconocer como objetivo a destruir aquellas secuencias de ADN que coinciden con la del espaciador, es decir, aquellas a partir de las cuales se obtuvo la imagen de ADN que quedó plasmada en la agrupación CRISPR. En el evento de que un virus previamente registrado de esta manera penetre en la bacteria, proteínas *Cas* inferirán cortes en la diana, dirigidas por el ARN lazarillo correspondiente¹⁶.

Aunque el campo de investigación CRISPR está todavía en sus inicios, ya se conocen varios modos por los cuales los virus evitan esta inmunidad, siendo previsible que existan muchos más. El más extendido se aprovecha de la principal debilidad del sistema CRISPR-*Cas*; al estar basado en el reconocimiento de una secuencia pareja a la de un espaciador, la acumulación de cambios (mutaciones) en la diana, pueden llegar a hacerla irreconocible. En este contexto, los virus son propensos a barajar, incluso eliminar pequeños bloques de letras de su texto genético²². La respuesta por parte de los CRISPR-*Cas* saca ventaja de su mayor fortaleza, la capacidad de adaptación, renovando la documentación previamente registrada.

Una estrategia vírica de evasión CRISPR mucho más específica que la basada en cambios aleatorios de su secuencia, es la que lleva a cabo un pequeño porcentaje de los fagos conocidos, al disponer de proteínas que interfieren con la maquinaria CRISPR a distintos niveles, generalmente bloqueando o inactivando proteínas *Cas*²³. Queda por determinar si las bacterias han concebido alguna contrapartida a estos anti-*Cas*.

La presencia de agrupaciones CRISPR en fagos, y en contadas ocasiones de sistemas CRISPR-*Cas* completos²⁴, sugiere que podrían ser utilizados en contra de sus homólogos bacterianos. Esta posibilidad está todavía por esclarecer, pero la comprobación de que al menos la actividad de algunos de ellos evita la co-infección por otros virus, o bloquea mecanismos antivíricos alternativos de la bacteria, pone una vez más de manifiesto el enorme valor de las CRISPR como escudo protector.

Tener o no tener CRISPR

A priori, cabría esperar que todos los seres vivos contaran con al menos uno de estos espléndidos sistemas de protección CRISPR-*Cas*, cuyo origen se remonta a más de 3.000 millones de años, antes de que surgieran las células eucariotas. Las CRISPR estuvieron presentes en los ancestros de los actuales microorganismos, y se transmiten con frecuencia hasta entre las especies más alejadas evolutivamente. Sin embargo, tan solo la mitad de las bacterias conocidas poseen algún sistema CRISPR-*Cas*²¹, y las que los tienen, los mantienen sometidos a un estricto control²⁵. La reticencia más extrema a hacer uso de esta inmunidad está representada por aquellas bacterias que disponen de sistemas específicos para prevenir su establecimiento²⁶. La posible explicación al silenciamiento y, en su caso, al desprecio para con tanpreciado presente, sigue siendo motivo de especulación. En cualquier caso, resulta evidente que debe estar relacionado con al menos dos aspectos: (1) el balance entre beneficios y perjuicios de mantener un ejército molecular cuyo coste es considerable y que se puede levantar en rebeldía, y (2) el diálogo constante que mantienen los fagos con sus hospedadores, que puede resultar en muerte o, todo lo contrario, en una mayor probabilidad de supervivencia.

En referencia al primer aspecto, el gasto energético que supone producir las hasta 30 proteínas *Cas* que pueden llegar a formar parte de los sistemas CRISPR-*Cas* no es despreciable, como tampoco lo es el coste asociado a la síntesis de los ARN guía, que deben alcanzar una concentración suficiente como para localizar posibles dianas de forma eficaz. Mantener en funcionamiento un sistema CRISPR-*Cas* puede resultar más caro que la simple demanda de recursos celulares. Tal y como ocurre con nuestro sistema inmunológico, el bacteriano es propenso a desencadenar reacciones autoinmunes: la adquisición de espaciadores cuyas secuencias coincidan con las del genoma, conduce a su degradación y, por consiguiente, a la inactivación de la bacteria.

Por otra parte, al limitar la permanencia de material genético procedente del exterior, los CRISPR-*Cas* coartan la transferencia lateral

de genes, una de las principales fuerzas de la evolución bacteriana. Como he mencionado anteriormente, los virus son un vehículo habitual de esta fuente de información enriquecedora, procedente de otras bacterias, y algunos genes víricos contribuyen a la virulencia bacteriana. Ambas consideraciones justifican que la presencia y la actividad CRISPR sea menor en cepas patógenas que en comensales²⁷.

Otra opción que se baraja es la posibilidad de que la actividad CRISPR sea incompatible con la de sistemas celulares imprescindibles. En algunos casos se ha conseguido constatar un conflicto de convivencia con los sistemas de reparación de daños del ADN, equivalentes a los producidos por las proteínas *Cas* (D. Bikard, Instituto Pasteur, Paris, comunicación personal). Este descubrimiento reciente daría explicación a la ausencia de sistemas CRISPR-*Cas* en organismos eucariotas, donde, a diferencia de las bacterias, la labor de estos mecanismos de reparación es indispensable para la supervivencia de la especie.

Herramientas microbianas: la tecnología CRISPR

El estudio de los fagos y de los mecanismos de defensa de las bacterias ha proporcionado herramientas de laboratorio fabulosas, como las que impulsaron el desarrollo de la ingeniería genética en los años 70. Los enzimas de restricción permitían cortar secuencias de ADN en lugares predeterminados por la propia proteína. Distintos enzimas reconocían secuencias diferentes, con lo que se disponía de una batería de “tijeras moleculares” programadas para actuar sobre regiones dispares de moléculas de ADN en solución, *in vitro*, generando fragmentos discretos para su posterior manipulación. Estos fragmentos se podían volver a combinar entre ellos, ligándolos de forma eficaz mediante enzimas procedentes de fagos. De esta manera, se conseguía recombinar genes de distinta procedencia, destinados a ser reintroducidos en una célula bacteriana, generalmente *E. coli*. Para ello se

utilizaban diversos vectores, como por ejemplo los derivados de fagos, que permitían transferir con gran eficiencia moléculas con tamaños superiores a los que podían albergar las lanzaderas alternativas.

Este fue el comienzo de una revolución biológica que ha ido *in crescendo* paulatinamente, hasta dar un salto vertiginoso hace tan solo 5 años²⁸, cuando el sistema de inmunidad adquirida de las bacterias fue reconvertido en la tecnología CRISPR, el conjunto de herramientas de biología molecular más versátil, poderoso, eficaz, preciso y de bajo coste jamás imaginado.

Cas9, una de las muchas proteínas asociadas a CRISPR, se basta para reconocer y cortar cualquier secuencia de ADN, en lugares cuya identidad es establecida por una pequeña molécula de ARN guía, que se puede diseñar y sintetizar en el laboratorio a partir del lazarillo genérico de los sistemas CRISPR nativos. Cuando estos dos componentes son vehiculados por un fago a una población mixta, aquellas bacterias que presenten en su genoma una secuencia equivalente a la contenida en el ARN guía, sufrirán una lesión letal en su ADN²⁹. Los colorantes químicos antimicrobianos, o “balas mágicas” como las denominó Paul Ehrlich en los albores del siglo XX, y los antibióticos más tarde caracterizados por Alexander Fleming, que si bien matan bacterias lo hacen de manera indiscriminada, tienen un sustituto en el siglo XXI, capaz de seleccionar cuál morirá (la patógena), y cuales subsistirán (todas las demás).

Sin embargo, las aplicaciones de CRISPR en el ámbito de la medicina van mucho más allá de la terapia de enfermedades infecciosas³⁰. En el caso de células eucariotas, como las de nuestro organismo, los daños provocados por *Cas9* son reparados mediante un proceso natural, que es aprovechado por el manipulador para introducir cambios intencionados en la secuencia diana, editando de esta manera su genoma³¹. La facilidad con que se puede llevar a cabo esta edición, ha supuesto una democratización de la manipulación genética, cuyos frutos estamos recogiendo a diario, gracias a los miles de laboratorios de investigación en todo el mundo que son usuarios de la técnica. *Cas9*, otras proteínas

Cas análogas, y las muchas que han derivado de ellas por modificación de sus propiedades químicas, están permitiendo afrontar la investigación de enfermedades genéticas de manera prodigiosa, tanto en células aisladas, somáticas o germinales, como en animales de experimentación. A modo de ejemplo, en un trabajo publicado recientemente, se han reconocido más de un centenar de genes como determinantes de la resistencia de células tumorales a nuestro sistema inmunológico. Son numerosos los defectos genéticos humanos reproducidos en animales de laboratorio empleando la tecnología CRISPR, para su estudio y posible tratamiento mediante fármacos, o incluso utilizando CRISPR como agente terapéutico. Así es; con la administración directa de CRISPR-*Cas9* a animales adultos, se está consiguiendo atenuar enfermedades responsables de ceguera, hemofilia o degeneración del cerebro, erradicar infecciones crónicas por virus o prevenir el contagio de patógenos. La manipulación genética de células de la línea germinal ha dado lugar a animales, y a embriones humanos, resistentes a infección o libres de enfermedades hereditarias presentes en sus progenitores. Ahora mismo hay previstos más de 20 ensayos clínicos en humanos empleado la edición genética CRISPR-*Cas9* para prevenir y tratar infecciones por virus, luchar contra varios tipos de cáncer o curar la distrofia muscular de Duchenne.

Epílogo

Señoras y señores, todo parece indicar que la generalización de la **S**terapia génica en clínica ya no es una entelequia, ni la cura del cáncer mediante inmunoterapia, ni la medicina de precisión tan proclamada en los últimos años. Y ello gracias a las bacterias, a sus virus, y la guerra en que se hallan inmersos desde hace miles de millones de años, cada día, cada segundo. Estos microorganismos controlan a la perfección sus herramientas, nosotros todavía debemos aprender a controlarlas, solo necesitamos tiempo, puede que unos pocos años, o

quizá mientras tanto descubramos otras alternativas aún más poderosas, por supuesto, procedentes de los microorganismos.

Me permito recordar las acertadísimas palabras de Louis Pasteur, pronunciadas hace más de un siglo, cuando tan solo unos pocos iluminados vislumbraban el poder de los “animálculos”, “*Messieurs, c’est les microbes qui auront le dernier mot*”. Probablemente, Pasteur se refería a su asombrosa capacidad de supervivencia. Hoy podemos ampliar su significado, teniendo en cuenta además su potencial como fuente de recursos para paliar nuestra mayor debilidad, la enfermedad.

Muchas gracias

Referencias

1. **Rooseboom, M.** (1950). *Leeuwenhoek, the man: a son of his nation and his time*. Bulletin of the British Society for the History of Science. 1:79-85.
2. **Brock, T.** (1961). *Milestones in Microbiology*. Journal of Medical Education. 36:847.
3. **d’Hérelles, F.** (1917). *Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques*. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l’Académie des Sciences. 165:373-375.
4. **Henry, M., Debarbieux, L.** (2012). *Tools from viruses: bacteriophage successes and beyond*. Virology. 434:151-161.
5. **Cisek, A.A., Dąbrowska, I., Gregorczyk, K.P., Wyżewski, Z.** (2017). *Phage therapy in bacterial infections treatment: one hundred years after the discovery of bacteriophages*. Current Microbiology. 74:277-283.
6. **Salmond, G.P., Fineran, P.C.** (2015). *A century of the phage: past, present and future*. Nature Reviews Microbiology. 13:777-86.
7. **Chibani-Chennoufi, S., Bruttin, A., Dillmann, M.L., Brüs-**

- sow, H. J.** (2004). *Phage-host interaction: an ecological perspective*. Journal of Bacteriology. 186: 3677-86.
8. **Penadés, J.R., Chen, J., Quiles-Puchalt, N., Carpena, N., Novick, R.P.** (2015). *Bacteriophage-mediated spread of bacterial virulence genes*. Current Opinions Microbiology. 23:171-178.
 9. **Enault, F., Briet, A., Bouteille, L., Roux, S., Sullivan, M.B., Petit, M.A.** (2017). *Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses*. ISME Journal. 11:237-247.
 10. **Brüssow, H., Canchaya, C., Hardt, W.D.** (2004). *Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion*. Microbiology & Molecular Biology Reviews. 68:560-602.
 11. **Rodríguez-Valera, F. Martín-Cuadrado, A.B., Rodríguez-Brito, B., Pasić, L., Thingstad, T.F., Rohwer, F., Mira, A.** (2009). *Explaining microbial population genomics through phage predation*. Nature Reviews Microbiology. 7:828-836.
 12. **Mirzaei, M.K., Maurice, C.F.** (2017). *Ménage à trois in the human gut: interactions between host, bacteria and phages*. Nature Reviews Microbiology. 15:397-408.
 13. **Dy, R.L., Richter, C., Salmond, G.P., Fineran, P.C.** (2014). *Remarkable mechanisms in microbes to resist phage infections*. Annual Reviews of Virology. 1:307-31.
 14. **Molineux, I.J.** (1991). *Host-parasite interactions: recent developments in the genetics of abortive phage infections*. New Biology. 3:230-236.
 15. **Wilson, G.** (1991). *Restriction and Modification systems*. Annual Review of Genetics. 25:585-627.
 16. **Mojica, F.J.M., Garrett, R.A.** (2013). *Discovery and seminal developments in the CRISPR field, en CRISPR-Cas Systems: RNA-mediated adaptive immunity in Bacteria and Archaea*. Barrangou, R. and van der Oost, J. (Eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Cap 1. pp 1-31.

17. **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.* Journal of Bacteriology. 169:5429-5433.
18. **Mojica, F.J.M., 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.* Molecular Microbiology. 36:244-246.
19. **Mojica, F.J.M., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., Soria, E.** (2005). *Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements.* Journal of Molecular Evolution. 60:174-182.
20. **Jansen, R., van Embden, J.D., Gaastra, W., Schouls, L.M.** (2002). *Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes.* Molecular Microbiology. 43:1565-75.
21. **Makarova, K.S., Wolf, Y.I., Alkhnbashi, O., Costa, F., Shah, S., Saunders, S.J., Barrangou, R., Brouns, S.J.J., Charpentier, E., Haft, D.H., Horvath, P., Moineau, S., Mojica, F.J.M., Terns, R.M., Terns, M.A., White, M.F., Yakunin, A.F., Garrett, R.A., van der Oost, J., Backofen, R., Koonin E.V.** (2015). *An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems.* Nature Reviews Microbiology. 13:722-736.
22. **Andersson, A.F., Banfield, J.F.** (2008). *Virus population dynamics and acquired virus resistance in natural microbial communities.* Science. 320:1047-1050.
23. **Bondy-Denomy, J., Garcia, B., Strum, S., Du, M., Rollins, M.F., Hidalgo-Reyes, Y., Davidson, A.R.** (2015). *Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins.* Nature. 526:136-139.
24. **Seed, K.D., Lazinski, D W., Calderwood, S.B., Camilli, A.** (2013). *A bacteriophage encodes its own CRISPR/Cas adaptive response to evade host innate immunity.* Nature. 494:489-91.

25. **Patterson, A.G., Yevstigneyeva, M.S., Fineran, P.C.** (2017). *Regulation of CRISPR-Cas adaptive immune systems*. Current Opinion in Microbiology. 37:1-7.
26. **Almendros, C., Guzmán, N.M., García-Martínez, J., Mojica, F.J.M.** (2016). *Anti-Cas spacers in orphan CRISPR4 arrays prevent uptake of active CRISPR-Cas I-F systems*. Nature Microbiology. 1:16081.
27. **García-Gutiérrez, E., Almendros, C., Mojica, F.J.M., Guzmán, N.M., García-Martínez, J.** (2015). *CRISPR content correlates with the pathogenic potential of Escherichia coli*. PLoS ONE. 10:e0131935.
28. **Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. a., Charpentier, E.** (2012). *A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity*. Science. 337:816-821.
29. **de la Fuente-Núñez, C., Torres, M.D.T., Mojica, F.J.M., Lu., T.K.** (2017). *Next-generation precision antimicrobials: towards personalized treatment of infectious diseases*. Current Opinion in Microbiology. 37:95-102.
30. **Mojica, F.J.M., Montoliu, L.** (2016). *On the origin of CRISPR-Cas technology: from prokaryotes to mammals*. Trends in Microbiology. 24:811-820.
31. **Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., Zhang, F.** (2013). *Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems*. Science. 339: 819-23.

Discurso de contestación

por la

Excma. Sra. Dra. D^a. María del Rocío
Álvarez López

Académica de Número de la Real Academia de Medicina y Cirugía
de la Región de Murcia

*Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina
y Cirugía de Murcia,
Ilustrísimos Señores Académicos,
Excmas e Ilustrísimas autoridades,
Amigos y Compañeros,
Señoras y Señores.*

Ser partícipe del acto solemne de recepción de un Académico de Honor comporta un alto grado de responsabilidad, pero también una enorme satisfacción, hoy para mi culminada al haber sido designada dicente encargada de contestar a un discurso, tan rico en ideas propias y de tan alto valor científico como el que nos acaba de ofrecer el Profesor Francisco Juan Martínez Mojica. Responsabilidad y compromiso que he asumido gustosamente, pues hasta ahora pocas encomiendas me han resultado tan gratificantes como la que me dispongo a cumplir.

Por ello, quiero expresamente agradecer al Sr. Presidente y a esta Real Academia de Medicina y Cirugía de Murcia, la concesión de tan noble y singular merced y al Profesor Mojica, la amable aceptación de su nombramiento. Al tiempo, deseo compartir públicamente este honor con el profesor José Miguel Sempere, por haberme presentado, acercado y persuadido de los méritos del Profesor Mojica, cuando todavía muy poca gente conocía su magnífico trabajo.

En contadas ocasiones en la vida, se puede conocer en primera persona a un grande de la ciencia y menos de ser testigo directo, como lo

fuimos tu y yo José Miguel, en aquel breve encuentro propiciado por ti, del noble proceder de un hombre al que le aturden los elogios. Encuentro doblemente gratificante, en lo científico porque la presencia de un sistema de defensa bacteriano, extiende a todos los seres vivos el cometido de la ciencia que ambos hemos cultivado y, en lo personal porque alguien tan cercano a Murcia, por la vecindad de sus orígenes y por haber iniciado sus estudios en nuestra Universidad, haya sido el primero en poner en evidencia ese sistema bacteriano.

Pero en realidad ¿quién es el Profesor Martínez Mojica?. Nada menos que un científico español que por su floreciente prestigio, no ha ya menester de mi voz para proclamar sus méritos. Con todo, no quiero sustraerme a destacar que su celo y astucia le ha llevado a ser el primero en reparar en que, las bacterias disponen de un sistema para cortar fragmentos del ADN que los virus que las infectan incorporan a su genoma y en proponer que, pueden recordarlos y utilizarlos en futuros encuentros para defenderse frente a la reinfección. Hecho que había pasado desapercibido a otros investigadores.

Aun así, para mí casi un desconocido hasta que mi militancia en la Inmunología, me dio la oportunidad de escucharle con ocasión del 39 Congreso Nacional celebrado en Alicante en mayo de 2016. No pasó mucho tiempo para que esta Real Academia, fuera la primera en proponerle como Académico de Honor y para que poco después, a principios de 2017, todos los medios (científicos y sociales) fueran haciendo extensiva difusión de su descubrimiento.

Tras este preámbulo, es hora de recalar en la biografía personal, científica y humana de figura tan señera y de subrayar brevemente los aspectos más destacados de su discurso.

Familia e infancia

Francisco Juan Martínez Mojica viene al mundo en nuestra vecina ciudad de Elche un 5 de octubre de 1963, en el seno de una familia

sencilla formada por don Francisco Martínez Miñana y doña Josefa Mojica Jaén, siendo él el menor y único varón de cuatro hijos, con una diferencia de 14 años con su hermana mayor.

Desde sus primeros años siente admiración por sus padres que, solo con estudios elementales (dejaron el colegio alrededor de los 10 años para ponerse a trabajar), consiguieron ser propietarios de una pequeña empresa familiar de fabricación de calzado situada en la planta baja de su casa, donde trabajaban sus padres y hermanas. Allí transcurre su niñez jugando entre el olor a pegamento y escuchando la radio a todo volumen para superar el ruido de las máquinas. También allí recibe todo el cariño de su familia, según él, quizás excesivo, pues nunca le agradaron los halagos.

Este vínculo familiar se ha mantenido en el tiempo, hoy los cuatro hermanos se siguen queriendo mucho y sus hermanas se sienten muy orgullosas del hermano menor. Lamenta profundamente que su padre falleciera tempranamente hace más de 20 años y que su madre, todavía viva, padezca Alzheimer y considera desgarrador que ninguno de los dos haya podido disfrutar de su éxito, pues cree se sentirían inmensamente felices. Una pequeña recompensa a toda una vida dedicada a sus hijos.

Amante de los animales, su única aportación a las tareas familiares era el cuidado de una pequeña granja para consumo familiar situada en la terraza de la casa. Sin embargo, nunca le permitieron tener mascotas, por lo que se conformaba capturando pájaros, insectos, pequeños vertebrados y gusanos de seda. Ir de pesca con su padre era para él lo máximo. Ya se adivinaba aquí su vocación biológica.

Formación académica

Cursa estudios primarios y bachillerato en la enseñanza pública con notas cimeras, aunque mantiene haberlas conseguido más que por su capacidad intelectual, por las muchas horas que dedicaba al estudio.

Guiado por su talante igualitario, en el verano de transito al Instituto quiso dejar los estudios para trabajar en la fábrica como lo hacían sus hermanas. No entendía que su condición de varón le primara para continuar estudios e ir a la universidad, pero sus padres tenían otros planes para él, que se vieron reforzados por una carta de su tutor explicándoles que “su hijo valía para estudiar”. Aquel verano lo pasó pegando plantillas y forrando tacones, labor que no le resultó muy excitante y le hizo entrar en razón para matricularse en bachillerato. A partir de esa decisión, se siente obligado a cumplir y saciar las expectativas que sus padres habían puesto en él. No les podía fallar. De todos modos, siempre en vacaciones, lejos de permanecer ocioso, seguía ayudando en la fábrica.

En el instituto mantuvo buenas relaciones con los compañeros, en especial con cuatro amigos que todavía conserva y que acaparaban las mejores calificaciones. Todavía se cuestiona si por casualidad, afinidad, motivación o competitividad y dice ser el que menos destacaba con diferencia, salvo puntualmente en matemáticas. Esta percepción, la serie “El hombre y la tierra” de Félix Rodríguez de la Fuente y un viaje a los Pirineos en el que se enamoró de la naturaleza, influyeron definitivamente en su elección de la Biología como carrera más acorde a sus posibilidades, pero también la más atractiva.

En esta época, conoce al amor de su vida Ángeles Román Sánchez quien años más tarde se convertiría en su esposa y con quién sigue felizmente casado. El la considera soporte fundamental en su trabajo y en su vida.

Licenciatura y doctorado

Elige la Universidad de Murcia para sus estudios del primer ciclo de Biología, mientras para el segundo se traslada a Valencia en busca de una mayor oferta de asignaturas del área que más le había atraído, la Microbiología.

Termina con nota suficiente para conseguir una beca predoctoral

que, no solicita porque sostiene no haber sido un alumno especialmente destacado y porque se incorpora al servicio militar, donde prefiere pasar sin pena ni gloria y se las ingenia para evitar que le nombren cabo. De nuevo aflora ese anhelo de pasar desapercibido, en cierto modo, indicativo de que desde bien pronto alguien debió advertirle de las recomendaciones de Rabelais, sobre la conveniencia para el hombre de bien, de alejarse de la imprudencia para no caer en la mediocridad.

Finalizado el servicio a la Patria, decide iniciarse en investigación para lo que busca una oportunidad en la Universidad de Alicante. Acude primero a Inmunología, opción que debe descartar porque no podían financiar su doctorado y tampoco su padre, con una baja pensión, podía seguir manteniéndole. Después se dirige a Microbiología, donde encuentra apoyo financiero, gracias a un contrato con la Diputación de Alicante para analizar la calidad de las aguas de las playas de todo el litoral alicantino (desde Pilar de la Horadada hasta Denia).

Así, aprovechando huecos entre esos análisis, puede iniciar su tesis. Aquí tropieza ya con una nueva dificultad, pues se le encarga estudiar la biología molecular del género *Haloferax* spp., que habita las salinas solares y sus mecanismos de adaptación a tan elevadas salinidades, tema que nada tenía que ver con su actividad rutinaria.

Carrera docente e investigadora

La situación mejora al año siguiente, cuando obtiene una beca de Formación de Personal Investigador que le permite dedicación plena a la investigación. Además, recibe una beca EMBO para desplazarse 3 meses al laboratorio del Profesor Patrick Forterre en la Universidad París-Sur, con el fin de aprender técnicas de análisis de la estructura del ADN. Con ello, casi al final de la fase experimental de su tesis, se encuentra con las regiones CRISPR integradas en el ADN de los microorganismos que estudiaba. Por la originalidad de ese resultado leída la tesis recibe el **Premio Extraordinario de Doctorado**.

Inmediatamente después, realiza una corta estancia con el Profesor John S. Parkinson de la Universidad de Utah, donde trabaja en movilidad bacteriana en *Escherichia coli*, pero denegada la beca de larga duración vuelve a Alicante en 1994 con un contrato de investigador puede abordar las primeras investigaciones sobre el papel de las secuencias CRISPR. Al final de ese año el nombramiento de Profesor Interino y una beca postdoctoral de larga duración le permiten incorporarse al grupo del profesor Christopher F. Higgins en la Universidad de Oxford. Allí permanece 2 años (enero de 1995 hasta finales de 1996).

De retorno a Alicante consolida su plaza de Profesor Titular, pero el destino sigue hostigándole y las dificultades no cesan, pues su toma de posesión coincide con la creación de la Universidad Miguel Hernández y la escisión del Campus de San Juan que albergaba el laboratorio al que se había reincorporado. Obligado a trasladarse, comparte su labor entre ambas Universidades y permanece durante años sin un laboratorio propio y sin financiación, pero no desiste y con los escasos recursos a su alcance, se pone a trabajar en un rincón del laboratorio de prácticas docentes. En la Universidad de Alicante también asume cargos de gestión en el Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, como Subdirector (2001 a mayo 2005), Director (junio 2005 a abril 2010) y de Secretario a partir de mayo de 2014. Así, lentamente y venciendo limitaciones consigue mejorar recursos para crear un modesto equipo de investigación con 3 colaboradores, de cuyo trabajo surge, la primera proposición de que las secuencias CRISPR son parte de un sistema de inmunidad adquirida en procariotas (bacterias y arqueas).

Quiero destacar aquí que, a pesar de los cambios de ubicación, la intensa actividad docente y la muy escasa financiación recibida, el Prof. Martínez Mojica, ha logrado una producción científica de la más alta calidad, plasmada en 30 artículos en revistas indexadas, 75 contribuciones a Congresos, 26 de ellas como conferenciante invitado sólo en los últimos 3 años. Hasta ahora ha participado en 20 proyectos de investigación, los dos últimos de carácter internacional, en dos contratos de investigación, ha dirigido 5 tesis doctorales y conseguido una patente

de ámbito internacional. Además, ha impartido 27 seminarios y 15 cursos especializados y de divulgación.

Es miembro de agencias evaluadoras de diversos países: Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva de España, Ministerio de Ciencia de la República de Croacia, Netherlands Organization for Scientific Research (Council for Earth and Life Sciences), The Wellcome Trust en Gran Bretaña, National Research Agency en Francia. Desde 2016, Asesor Científico de la empresa Iden Biotechnology S.L., Cordovilla-Navarra, vocal Científico del Alto Consejo Consultivo en I+D+i de la Presidencia de la Generalitat Valenciana y desde 2017, de la Agència Valenciana d'Avaluació i Prospectiva (AVAP).

También es evaluador de manuscritos en 26 revistas del más alto prestigio. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Applied and Environmental Microbiology, Archaea, BMC Evolutionary Biology, Environmental Microbiology, FEMS Microbiology, Letters, Genome Biology, Genomics, Journal of Bacteriology, Journal of Biological Chemistry, Journal of Molecular Evolution, Microbiology UK, Molecular Microbiology, Nature, Nature Microbiology, Nature Structural & Molecular Biology, Nucleic Acids Research, PLOS Computational Biology, PLoS ONE, Proceedings of the National Academy of Sciences-USA, Research in Microbiology, ARN Biology, Science, Systematic and Applied Microbiology y Trends in Biochemical Sciences.

Recorrido y repercusión de su labor científica

Sin embargo, lo que nos trae aquí esta tarde, no es sólo la mera cortesía de enumerar los méritos de un hombre que, como el Prof. Mojica no tiene más ambición que seguir desentrañando el enigma funcional de su trascendental hallazgo biológico, sino también el ánimo de resaltar el camino recorrido hasta lograrlo y los aspectos de su discurso que nos hablan de la calidad de una investigación durante años silenciada.

Lo cierto es que desde que el joven Mojica con ocasión de su tesis,

describe los primeros experimentos demostrativos de que en microorganismos halófilos existen unas secuencias repetidas que se transcribían, se implica en la búsqueda de una explicación para las mismas, pues, aunque elementos similares se habían descrito en otras bacterias (*Escherichia coli* y *Mycobacterium tuberculosis*), el estudio de su relevancia funcional no había sido previamente abordado. Dos años más tarde (1995) pudo demostrar que fragmentos del ADN portador de estas repeticiones eran incompatibles dentro de la misma célula. Una primera evidencia de funcionalidad y de un efecto de interferencia de CRISPR que, no fue posible dilucidar plenamente en aquel momento, ni tampoco con los muchos experimentos realizados en los años siguientes.

Hizo falta su contumaz empeño para no abandonar e involucrarse en un análisis exhaustivo de genomas disponibles en bases de datos, gracias al cual demostró que repeticiones semejantes a las que había observado previamente, aparecían también en diversas otras bacterias y arqueas. Prueba manifiesta de que eran una característica común en procariotas y que, le llevó a inferir que debían ser secuencias funcionalmente importantes para las células portadoras. Así, pudo confirmar la existencia de una nueva familia de secuencias repetidas que inicialmente denominó *Short Regularly Spaced Repeats* (SRSR) y más tarde renombró personalmente como *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, conocidas por su acrónimo CRISPR.

La constatación de esa amplia distribución a lo largo de la inmensa diversidad microbiana, proporcionó un soporte adicional su hipótesis previa, de que CRISPR debía cumplir un papel muy relevante. Empujado por esta convicción, continuó investigando hasta reunir datos para desvelar en 2003, que CRISPR y las proteínas *Cas* asociadas, constituyen un sistema de inmunidad adquirida, basado en el ARN. Entre las muchas nuevas secuencias encontradas en ese amplio estudio, figuraban las obtenidas en *Escherichia coli*, de cuyo reanálisis dedujo que algunas regiones situadas entre las repeticiones CRISPR (conocidas como espaciadores), coincidían con secuencias de virus infectantes de

esta bacteria que, eran incapaces de infectar a la cepa portadora del espaciador correspondiente.

Esta deducción le animó a investigar también dichos espaciadores en otros muchos organismos procariotas. Este estudio le permite verificar que la conexión de incompatibilidad (inmunidad) entre CRISPR y elementos genéticos transmisibles incluía no solo virus, sino también plásmidos y que era extensible a gran diversidad de bacterias y arqueas. Por otro lado, este último análisis de espaciadores le permitió deducir y proponer que CRISPR, además de estar implicado en inmunidad, como recientemente se ha comprobado forma parte de un sistema de regulación más versátil. Nuevo y revelador encuentro que con el título “*DNA repeats as constituents of a prokaryotic immune system*” sometió sin éxito a publicación, pues fue sistemáticamente rechazado por revistas científicas de alto índice de impacto. Después de muchos avatares, el manuscrito se publicó en 2005 con un título algo menos pretencioso “*Intervening Sequences of Regularly Spaced Prokaryotic Repeats Derive from Foreign Genetic Elements*”.

Este artículo, impulsó definitivamente la expansión del campo CRISPR y muchos grupos empezaron a explorar estos, hasta entonces, prácticamente desatendidos sistemas, tomando en consideración aspectos relacionados con su evolución, bioquímica, genética y potencial aplicación biotecnológica. Por supuesto el equipo del Profesor Mojica, desde la Universidad de Alicante ha continuado contribuyendo a la mejor caracterización de CRISPR-*Cas* nativos, fundamentalmente a través de:

- La identificación de determinantes moleculares de su actividad
- El análisis pormenorizado de la diversidad, clasificación y evolución de los sistemas CRISPR-*Cas*
- La identificación de parejas virus-hospedador basada en la identidad de espaciadores CRISPR
- El desarrollo de un método original para explorar la actividad CRISPR
- El establecimiento de una conexión entre CRISPR y la patogenicidad bacteriana.

En los últimos años, con el objetivo de comprender cómo adquieren las bacterias la nueva información genética en forma de espaciadores, ha centrado su atención, sobre la todavía enigmática fase de inmunización CRISPR. Fruto de ello, ha sido su más reciente demostración de que ciertas bacterias poseen un sistema anti-CRISPR (en cierto modo equiparable a los anticuerpos), publicada en *Nature Microbiology* en el año 2016.

Por fortuna, las aportaciones del Prof. Mojica, aunque tarde en mi opinión por el tiempo que le han hecho perder, han sido recogidas y comentadas por las revistas más prestigiosas. *Nature Microbiology*, lo incluye dentro de los 80 descubrimientos más importantes de la Microbiología, el más reciente y único localizado en España. *Science*, lo consideró el gran avance científico de 2015 y *Cell* en 2016, publicó una revisión titulada “*Los Héroeos del CRISPR*” destacando la contribución pionera del Profesor Mojica y su inédita propuesta de que CRISPR puede funcionar como un “sistema de inmunidad adquirida en procariontas”. Esta revisión igualmente, aludía al gran impacto que CRISPR está teniendo en otras aplicaciones, particularmente como la herramienta más eficaz, específica y asequible entre las disponibles para el manejo del DNA y la edición genómica. Herramienta hoy popularizada como sistema “corta-pega”, que ha simplificado enormemente la investigación básica y empieza a incidir con fuerza en la aplicada.

En investigación básica, se ha utilizado con ventaja en el análisis genético funcional incluso de múltiples genes a la vez *in vitro* e *in vivo*, aplicable a cualquier ser vivo desde bacterias hasta humanos, incluso los anteriormente intratables en este sentido. En mamíferos, se empleado en una gran variedad de tipos celulares para caracterizar procesos genéticos tan complejos como los implicados en el desarrollo embrionario, la carcinogénesis, el envejecimiento y trastornos neurodegenerativos. También para eliminar ADN vírico de células infectadas y corregir trastornos de origen genético, algo que está allanado el camino hacia la terapia génica. Recientemente se ha usado en cordados como

el pez cebra, para caracterizar el primer modelo *knock-out* de epilepsia dependiente de piridoxina. Todavía más se empieza a aplicar con éxito en plantas.

En investigación biomédica aplicada, su utilidad está trascendiendo rápidamente con ventajas en clínica y en socioeconomía de los sistemas de salud. Baste decir que, los elementos genéticos transmisibles (virus y plásmidos) objeto de la interferencia CRISPR-*Cas*, están implicados en el control, evolución y patogenicidad de poblaciones bacterianas. Además, dado que los virus son causa de varias enfermedades producidas por bacterias, la manipulación genética de este sistema programable de inmunidad en la cepa portadora nativa, tiene numerosas aplicaciones biotecnológicas, ya sea para hacer frente a infecciones víricas que destruyen los fermentos y plásmidos que vehiculan la transmisión de la resistencia a antibióticos o, para generar agentes antimicrobianos específicos contra cepas patógenas que no afecten a la *microbiota* beneficiosa.

Ciertamente, una tecnología con tan amplia serie de aplicaciones potenciales que ha dado lugar a la denominada “revolución CRISPR”, que acumula ya miles de artículos publicados. Prueba tangible de su extensa repercusión y que, augura un potencial extraordinario para afrontar retos importantes en salud humana en un futuro próximo.

Tal es así que la biografía profesional de este hombre modesto, vecino de muchos de los que hoy le hemos escuchado, se ha visto ennoblecida por el amplio número de galardones recibidos en los últimos dos años. Un récord de distinciones que, al menos en lo que yo conozco, muy pocos han conseguido en España en tan corto periodo de tiempo y que cito por orden cronológico:

- Medalla de Honor Científica Doctor Balmis. Ateneo Científico, Literario y Artístico de Alicante, 2016.
- Premio Fundación Doctor Balmis. Rotary Club de Alicante, 2016.
- Premio “Los Mejores de Alicante”. Diario La Verdad de Alicante, 2016.

- Miembro de la “Selección Española de Ciencia”. CSIC-Revista Quo, 2016.
- Distinción de la Generalitat Valenciana al Mérito Científico, 2016.
- Premio “Rey Jaime I” de Investigación Básica, 2016.
- Premio “Alberto Sols” a la mejor labor investigadora en Ciencias de la Salud. Ayuntamiento de Sax, 2016
- Académico de Honor electo por de la Real Academia de Medicina y Cirugía de la región de Murcia, 2017.
- Premio “Llama Rotaria” en Ciencias. Rotary Club de Valencia, 2016
- Premio “Importantes”. Diario Información, 2016.
- Premio Especial de Investigación, Consejo Social de la Universidad de Alicante, 2017.
- Premio Fundación BBVA Fronteras del Conocimiento en la categoría de Biomedicina, IX Edición, 2017.
- Premio Fundación Lilly de Investigación Biomédica Preclínica, 2017.
- Premio “Mejor Investigador en Ciencia”, VI Edición Premios A Tu Salud, Diario La Razón, 2017.
- Medalla de Honor de la Sociedad Española de Microbiología, 2017.
- PLuS Alliance Prize for Global Innovation. Arizona State University, King’s College London y University of New South Wales (UNSW) Sydney, 2017.
- Albany Medical Center Prize in Medicine and Biomedical Research. Nueva York, 2017.
- Académico de Honor de la Real Academia de Medicina y Ciencias Afines de la Comunidad Valenciana, 2017.
- Doctor *honoris causa* por la Universidad Politécnica de Valencia, 2017.
- Premio Nacional de Genética, otorgado por la Sociedad Española de Genética, 2017
- Nominación como hijo predilecto de la Ciudad de Elche, 2017 (Acto pendiente de celebrar).

Como pueden ver un muy digno historial, logrado a pesar de las muchas vicisitudes que ha debido sortear y que en, parte contraviene las palabras que Pío Baroja puso en boca del protagonista de *Las inquietudes de Shanti Andía*:

“Te juzgarán por cuánto has hecho, no por cómo lo has hecho”.

Excepcionalmente al Prof. Mojica, en los últimos tiempos, no se le ha juzgado por el peso en gramos del papel de sus publicaciones, sino por el de la calidad de las mismas y de sus certeras hipótesis. Sin embargo, lo cierto es que hasta hace poco, como bien ha comentado recientemente Xavier Belles, la capacidad investigadora se venía midiendo más por el cuanto que por el cómo. Por eso, no es de extrañar que el trabajo aislado de quién en los próximos minutos va a ser investido como Académico de Honor y al que no dudo en adjetivar como investigador nato y auténtico prototipo del hombre de ciencia, fuera prácticamente ignorado hasta que del mismo se hicieran eco en la esfera internacional y se beneficiaran los usuarios de la Biología Molecular que, hoy emplean o reivindican la tecnología CRISPR.

Precisamente una trayectoria que da cuenta de la escasa atención que históricamente ha recibido la vocación investigadora de muchos jóvenes, cuyos proyectos conteniendo ideas geniales hubieran podido fructificar de no haber sido por la nula o menesterosa dotación financiera que recibían. Investigadores principiantes que vieron así mermada su ilusión y decidieron abandonar. A propósito de esta triste realidad, me gustaría dejar en el aire una reflexión de Kant que no debería ignorarse a la hora de enjuiciar el ingenio de científicos noveles:

“todo conocimiento comienza con la experiencia, pero no todo conocimiento procede de la experiencia”.

De hecho, apriorísticamente todo conocimiento precisa de elementos que no dependen sólo de la experiencia, pues las ideas geniales, la habilidad para la observación y el esfuerzo son un valor añadido.

Incuestionablemente, el profesor Mojica, por mor de su perseverancia y autoexigencia, una especie de resiliencia científica, ha resistido el embate de la dura vida del científico hasta conseguir uno de los mayores hitos recientes de la Microbiología, de la Inmunología y casi con certeza de la Biología, según muchos el más importante llevado a cabo por la ciencia española en muchos años. En efecto, durante más de dos décadas, **ha sido** el único o uno de los muy pocos investigadores, aparentemente interesados en la función de los diversos sistemas CRISPR- y *Cas*, lo que le cualifica como el promotor de la investigación CRISPR en el mundo.

Personalmente, creo que después de Ramón y Cajal, ha sido quizás el único científico español que desde la soledad de su pequeño laboratorio provinciano y sin el soporte que supone pertenecer a un gran equipo, ha hecho una aportación tan revolucionaria y que, está posicionando la ciencia española de hoy al más alto nivel.

Calidad Humana

Antes de concluir, déjenme ofrecer una breve pincelada del lado más humano del Profesor Mojica. Un afanoso profesional, cuyo profundo sentido de la ética se deja entrever desde el primer contacto y en el que, medida que se le conoce, es posible admirar a ese hombre prudente tan elogiado por Cervantes y Lope de Vega pues, ya desde bien niño trata de revindicar su anonimato, posicionándose siempre sin hacer ruido en un lugar discreto. Actitud que nada tiene que ver con el talante de aquellos advenedizos que, más que la búsqueda de conocimiento, tienen como meta el reconocimiento social y económico a cualquier precio.

Muy al contrario, su perfil se ajusta al de un verdadero científico, que sin afán de notoriedad, ha sido artífice de uno de los mayores avances biológico-médicos de los últimos tiempos. Un descubrimiento que solo él supo debidamente interpretar y que, le ha convertido en el cien-

tífico español más prestigioso del momento. Algo que como bien me consta él considera azaroso.

Mi dedicación a una reducida parcela de la ciencia y el imprevisible azar me ha dado la oportunidad de conocer grandes protagonistas de la historia de la Inmunología, pero lo que ya no esperaba, en el atardecer de mi vida laboral, era poder compartir esta tarde con un científico con quien coincido el modo sentir la ciencia y la vida.

Finalmente, solo diré que por la calidad de su trabajo, tiene ganado el respeto de la Comunidad Científica Internacional. También el mío y mi aprecio por su inefable calidad humana, pues como dice un viejo aforismo *“los hombres más grandes son también los más sencillos”* y Francis Mojica posee un alma sencilla. Esa es su mayor grandeza y el valor máspreciado que atesora junto a su inteligencia. Valor que ha sabido conservar aún en el fragor de tanto reconocimiento recibido y que no dudo, preservará ante los que se avecinan, sobre todo si algún día le llega el Nobel que tantos reclaman para él.

Señoras y señores, alegrémonos porque esto no ha hecho más que empezar, pues el Profesor Martínez Mojica todavía joven y en plenitud intelectual, tiene por delante muchos años para seguir regalando a la humanidad los frutos de un trabajo realizado con seriedad y estricto sentido ético. Por todo, con la venia del Sr. Presidente, le doy la bienvenida, solicitándole que no olvide estrechar cada vez más su compromiso con esta noble Institución de más de dos siglos de prestigiosa andadura, que hoy le acoge convencida de que con su incorporación se verá aún más ennoblecida.

He dicho.

