



Edición del genoma humano

...

David Solanas y Jorge Terreu

Vamos a hablar de...

- **Introducción**
 - ¿Qué es y cómo funciona la edición de ADN?
- **Métodos actuales**
 - Talen y ZFN.
 - Más popular: CRISPR-Cas9
 - Desarrollo, posibles problemas y soluciones.
- **Herramientas bioinformáticas**
 - BE-Designer
 - Configuración y resultados
 - BE-Analyzer
 - Configuración y resultados
- **Bioética**



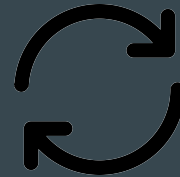
INTRODUCCIÓN





En qué consiste la edición de ADN

Manipulación de una secuencia en el genoma donde el ADN de una célula es modificado. Se pueden hacer tres tipos de modificaciones.





¿Qué ocurre a nivel biológico?

Se utilizan nucleasas (enzimas) para provocar la rotura de la doble cadena del ADN. Estas roturas pueden ser reparadas de dos maneras.

Unión de extremos no homólogos

Reparación dirigida por homología

Métodos actuales



TALEN

ZFN

CRISPR-Cas

Métodos actuales



En ambos métodos la nucleasa que corta contiene la información de donde debe realizar el corte



Transcription Activator-Like Effector-based Nuclease



Zinc Finger Nuclease

Métodos actuales



Clustered Regularly
Interspaced Short
Palindromic

Tiene 2 partes: proteína que corta (Cas9) y ARN que guía el corte.

Para guiar este corte, el ARN es complementario a la secuencia que se quiera cortar.

Es el método más popular actualmente debido a su tiempo y coste.

CRISPR-Cas9





Desarrollo del método



El microbiólogo español Francisco Juan Martínez Mojica junto con su grupo llega a la conclusión de que las secuencias podrían relacionarse con la inmunidad de las bacterias ante el ataque por cierto virus.

Curiosidad: su tesis doctoral dió nombre a CRISPR

2005

A horizontal timeline graphic at the bottom of the slide. It consists of a white line with six white circular markers. The first marker on the left is enclosed in a larger white circle and contains the year '2005'. The other five markers are smaller and empty.

Desarrollo del método



Científicos encabezados por Charpentier y Doudna desarrollan moléculas capaces de editar el ADN.

Nació CRISPR-Cas9.



2012

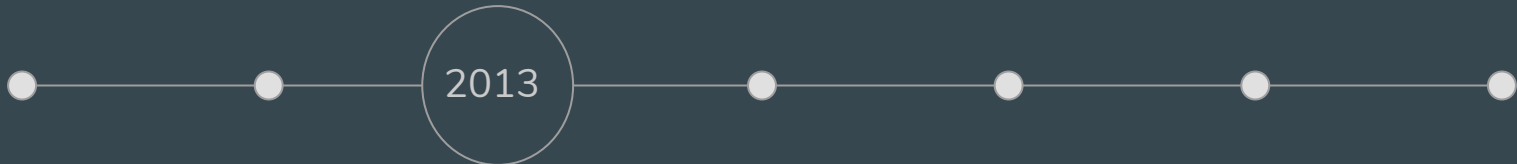


Desarrollo del método



Nacen los primeros monos con genes editados por CRISPR-Cas9.

En China.





Desarrollo del método

De nuevo en China, se comienza a utilizar el método con embriones humanos con el fin de corregir una mutación que desencadena en una enfermedad.





Desarrollo del método



Surge la política en cuanto a la eticidad de editar embriones humanos.

EE.UU lo legisla como ilegal.

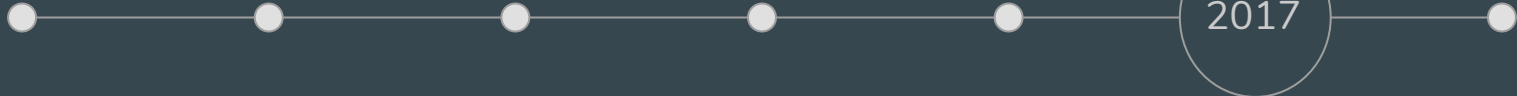
2015



Desarrollo del método



La academia nacional de las ciencias de EEUU permite crear bebés con genes editados pero solo bajo circunstancias extraordinarias.





Desarrollo del método

He Jiankui (investigador chino) hace resurgir la polémica de nuevo al informar sobre el nacimiento de dos gemelas con genomas modificados con CRISPR debido a la enfermedad VIH.





Posibles problemas

Recientes investigaciones (2018-2019) han encontrado resultados no previstos tras la aplicación de este método. Estos resultados son principalmente mutaciones fuera del rango que se pretendía modificar.

Ya en mayo de 2017, un grupo de científicos alertó sobre los riesgos, pero tuvo que retractarse al no poder replicar los resultados.



Posibles soluciones

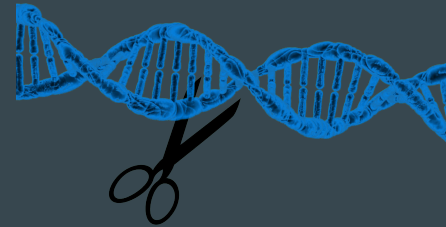


Predictor Forecast



Base de datos para predecir en base a experiencias previas las posibles mutaciones

Prime editing



Tecnología en fase experimental muy reciente (final de 2019) que utiliza una variante de Cas9 para cortar sólo una hélice del ADN

HERRAMIENTAS - BE-Designer





Configuración - Tipo secuencia PAM

Se permiten seleccionar distintas secuencias PAM a reconocer.

Variantes de la proteína Cas9.

PAM Type

CRISPR-Cas orthologues for base editing

- SpCas9 from *Streptococcus pyogenes*: 5'-NGG-3'
- SpCas9-VQR from *Streptococcus pyogenes*: 5'-NGAN-3'
- SpCas9-EQR from *Streptococcus pyogenes*: 5'-NGAG-3'
- SpCas9-VRER from *Streptococcus pyogenes*: 5'-NGCG-3'
- SaCas9 from *Staphylococcus aureus*: 5'-NNGRRT-3'
- SaCas9-KKH from *Staphylococcus aureus*: 5'-NNRRT-3'
- StCas9 from *Streptococcus thermophilus*: 5'-NNAGAAW-3' (W = A or T)
- CjCas9 from *Campylobacter jejuni*: 5'-NNNVRYAC-3' (V = G or C or A, R = A or G, Y = C or T)
- xCas9 3.7 (TLIKDIV SpCas9) from *Streptococcus pyogenes*: 5'-NGT-3'
- AsCpf1 from *Acidaminococcus* or LbCpf1 from *Lachnospiraceae*: 5'-TTTV-3' (V = G or C or A)
- AsCpf1 from *Acidaminococcus* or LbCpf1 from *Lachnospiraceae*: 5'-TTTN-3'
- Spy-macCas9 from *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus macacae*: 5'-NAAN-3'
- Nme2Cas9 from *Neisseria meningitidis*: 5'-NNNNCC-3'



Configuración - Selección genoma/secuencia a editar

Se pueden elegir genomas completos (vertebrados, plantas, insectos, etc.) o una secuencia concreta en formato FASTA.

Target Genome

Organism Type

Vertebrates

Genomes

- Homo sapiens (GRCh38/hg38) - Human
- Homo sapiens (hg19) - Human
- Mus musculus (mm10) - Mouse
- Bos taurus (bosTau7) - Cow
- Canis familiaris (canFam3) - Dog
- Rattus norvegicus (rn5) - Rat
- Sus scrofa (susScr11) - Pig
- Danio rerio (danRer7) - Zebrafish
- Macaca mulatta(rheMac3) - Monkey
- Xenopus tropicalis (JGI 4.2/xenTro3) - Western clawed frog
- Xenopus tropicalis (JGI 7.1) - Western clawed frog
- Xenopus laevis (JGI 7.1) - African clawed frog
- Cricetulus griseus (v1.0) - Chinese Hamster
- Xenopus tropicalis (JGI 8.0) - Western clawed frog
- Xenopus tropicalis (JGI 9.0) - Western clawed frog

Target Sequence

Insert any sequence(s) where you want to search for CRISPR base editing targets (raw sequence or FASTA format, maximum 1000 chars):

crRNA length
(length of target without PAM)

```
>homo sapiens FANCM, exon 2
GGTCTACACAAGCTTCCACCAGGAAGGAAATA
TGGTGCAGTAAGAGAGTGCTTTTCTTACACC
TCAGGTCATGGTAAATGACCTTTCTAGAGGAG
CTTGTCCCCTGCTGAAATAAAGTGTTAGTT
ATTGATGAAGCTCATAAAGCTCTCGGAAACTA
TGCTTATTGCCAG
```

20

Or, upload a FASTA-formatted file containing target sequence(s) (maximum 1 KiB):

Ningún archivo seleccionado



Configuración - Ventana de edición

Se selecciona que tipo de edición se va a realizar (C a T/ A a G) y el tamaño de la ventana de edición.

Se especifica un rango con dos números, haciendo que la ventana de edición sea ese rango respecto de la secuencia PAM reconocida.

Base editing type:

Base editing window
 to

Reference

1. Komor AC et al., Nature 533, 420–424 (2016).
2. Kim YB et al., Nature Biotechnology 35, 371–376 (2017).
3. Nishida K et al., Science 353, aaf8729 (2016).
4. Nicole MG et al., Nature 551, 464–471 (2017).

5' -20 -15 -10 -5 -1 PAM 3'

3' 5'

Base editing window

Cytidine deaminase
or
Adenine deaminase

C - to - T
A - to - G

dCas9

PAM

5' 3'

3' 5'

sgRNA

Resultados



Los resultados obtenidos pueden filtrarse por contenido GC o por número de Mismatches, además de descargar el resultado filtrado o completo.

BE-Designer ofrece una tabla donde recopila la información de cada posible región a editar, así como posibles regiones que difieren en 1 ó 2 nucleótidos.

Job ID	Title	Submit Date	Status
15544	Untitled	April 24, 2020, 7:13 p.m.	Done!

GC contents ▼
Mismatches ▼
Filter
Download filtered result
Download whole result

Codon 0
Codon 1
Codon 2

homo sapiens FANCM, exon 2

```

GGTCTACACAAGCTCCACCAGGAAGGAAATATGGTGCAGTAAGAGAGTGCTTTTTCTTACACCTCAGGTCATGGTAAATGACCTTTCTAGAGGAG
G L H K L P P G R K Y G A V R E C F F L H L R S W Ter M T F L E E

CTTGTCCTCCGCTGCTGAAATAAAGTGTTAGTTATGATGAAGCTCATAAAGCTCTCGGAAACTATGCTTATTGCCAG
L V P L L K Ter S V Ter L L M K L I K L S E T M L I A
          
```

CRISPR Target (5' to 3')[?]	Editing Window Sequence[?]	Aminoacid Sequence[?]	Position[?]	Direction[?]	GC Contents (% w/o PAM)[?]	Mismatches[?]		
						0	1	2
GGTCTACACAAGCTCCACCAGG	CTACA	TTATAC L Y	1	+	55.0	1(1)	0	0
TACACAAGCTCCACCAGGAAG	ACAAG	CATAAG H K	5	+	50.0	1(1)	0	0

Resultados - Detalle



L L
 GGTCTACACAAGCTTCCACCAGGAAGGAAATATGGTGCAGTAAGAGAGTGTCTTTTCTTACACCTCAGGTCATGGTAAATGACCTTCTAGAGGAGCTTGCCCGCTGCTGAAAT
 G L H K L P P G R K Y G A V R E C F F L H L R S W Ter M T F L E E L V P L L K

 AAAGTGTTAGTTATTGATGAAGCTCATAAAGCTCTCGGAAACTATGCTTATTGCCAG
 X S V Ter L L M K L I K L S E T M L I A

CRISPR Target (5' to 3')[?]	Editing Window Sequence[?]	Aminoacid Sequence[?]	Position[?]	Direction[?]	GC Contents (%, w/o PAM)[?]	Mismatches[?]		
						0	1	2
GGTCTACACAAGCTTCCACCAGG	CTACA	TTATAC L Y	1	+	55.0	1(1)	0	0
TACACAAGCTTCCACCAGGAAGG	ACAAG	CATAAG H K	5	+	50.0	1(1)	0	0
CTTCCACCAGGAAGGAAATATGG	CCACC	TTATT L L	13	+	45.0	1(1)	0	2(2)

Target	Editing Window Sequence	Chromosome	Position	Direction	Mismatches	Info
crRNA: CTTCCACCAGGAAGGAAATANGG DNA: CTTCCACCAGGAAGGAAATATGG	CCACC	chr14	45137080	+	0	Info at Ensembl

Target	Editing Window Sequence	Chromosome	Position	Direction	Mismatches	Info
crRNA: CTTCCACCAGGAAGGAAATANGG DNA: CTTCCACCAGaAAGGgAATAAGG	CCACC	chr2	192756464	-	2	Info at Ensembl
crRNA: CTTCCACCAGGAAGGAAATANGG DNA: CcTCCAgCAGGAAGGAAATATGG	CCAGC	chr10	129467715	-	2	Info at Ensembl

Resultados - Ensembl Genome Browser



Human (GRCh38.p13) ▾

Location: 14:45,137,033-45,137,133

Location-based displays

- Whole genome
- Chromosome summary
- Region overview
- Region in detail
- Comparative Genomics
 - Synteny
 - Alignments (image)
 - Alignments (text)
 - Region Comparison
- Genetic Variation
 - Variant table
 - Resequencing
 - Linkage Data
- Markers
- Other genome browsers
 - UCSC
 - NCBI
 - Ensembl GRCh37

Configure this page

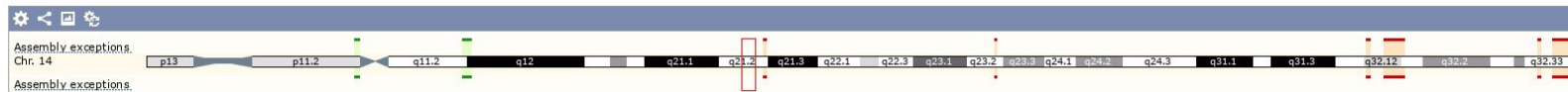
Custom tracks

Export data

Share this page

Bookmark this page

Chromosome 14: 45,137,033-45,137,133



Region in detail

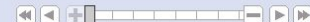


Location: 14:45137033-45137133

Go

Gene:

Go



HERRAMIENTAS - BE-Analyzer





Configuración - Datos de entrada

BE-Analyzer recibe como datos de entrada la secuenciación obtenida al aplicar NGS en formato Fastq.

Se pueden especificar datos de control (son las mismas regiones de ADN secuenciadas pero sin ser tratadas con CRISPR) para detectar 'background mutations'.

```
@SEQ_ID
GATTTGGGGTTCAAAGCAGTATCGATCAAATAGTAAATCCATTTGTTCAACTCACAGTTT
+
!''*(((((***+))%%%+))(%%%)).1***-+*'')**55CCF>>>>>CCCCCCC65
```

Sequencing Data

File Type:

Paired-end reads

Read 1 (fastq or gzipped fastq):

Seleccionar archivo

Ningún archivo seleccionado

Read 2 (fastq or gzipped fastq):

Seleccionar archivo

Ningún archivo seleccionado

Ningún archivo seleccionado

Control Data (optional)

File Type:

Paired-end reads

Read 1 (fastq or gzipped fastq):

Seleccionar archivo

Ningún archivo seleccionado

Read 2 (fastq or gzipped fastq):

Seleccionar archivo

Ningún archivo seleccionado



Configuración - Información básica

Ha de especificarse distintas cosas como:

- Secuencia completa de referencia (sin modificar).
- Secuencia PAM utilizada.
- Tipo de edición (BE/ABE).
- Tamaño de la ventana de edición.
- Secuencia ARN guía que ha de ser reconocida (tras reconocer la secuencia PAM).

Basic Information

Full reference sequence (5' to 3'):

PAM Type:

SpCas9 from Streptococcus pyogenes: 5'-NGG-3'

Base editing type:

BE (C to T) [Ref 1]

Base editing window

13 to 17

Target DNA sequence (5' to 3', without PAM sequence):

Note that reference sequences can be adjusted according to the direction of crRNA. If your crRNA targets the opposite strand of reference sequences, they will be displayed as reverse complementary form.

Reference

1. Komor AC et al., Nature 533, 420-424 (2016).
2. Kim YB et al., Nature Biotechnology 35, 371-376 (2017).
3. Nishida K et al., Science 353, aaf8729 (2016).
4. Nicole MG et al., Nature 551, 464-471 (2017).



Configuración - Parámetros de análisis

Por último se especifican los últimos parámetros que se tendrán en cuenta para el análisis.

Los dos más importantes son:

- Additional flanking window for the analysis of CRISPR base editing
- Minimum frequency

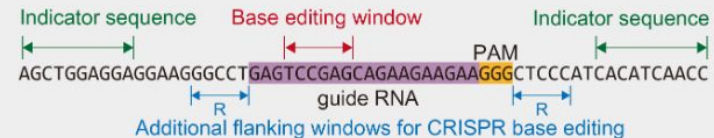
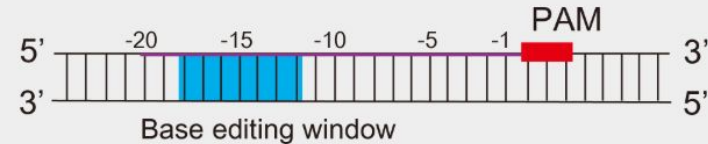
Analysis Parameters

Additional flanking window for the analysis of CRISPR base editing (R)

Minimum frequency (n) [\[?\]](#)

Comparison range (L)

**BE-Analyzer is not compatible with Internet Explorer.
Please use a different browser, e.g. Chrome or Microsoft Edge.**





Funcionamiento

- Definición de las secuencias indicadoras (15 nucleótidos).
- Calcular la frecuencia concurrente de cada secuencia, filtrar y ordenar de forma descendente.
- Alinear secuencias filtradas con la secuencia de referencia (EMBOSS needle).
- Clasificar en distintos tipos dependiendo de la presencia de gaps:
 - Inserción, delección, sustitución o WT (Wild type = idéntica a la de referencia).

Sobre las sustituciones, si se encuentra una conversión de base en la ventana objetivo, se analizan más a fondo para calcular la máxima eficiencia de edición de base y para mostrar los patrones de edición de base.

WT sequence

(blue: indicator sequences at each ends of comparison range, green: crRNA sequence, red: additional flanking windows for CRISPR base editing)

```
GGGCCTCCTGAGTTTCTCATCTGTGCCCCCTCCCTCCCTGGCCCAGGTGAAGGTGTGGTTCAGAACCGGAGGACAAAGTACAAACGGCAGAAAGCTGGA
GGAGGAAGGGCCTGAGTCCGAGCAGAAGAAGAAGGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACGAAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGA
TGTCACCTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCCACGAGGGCAGAGTGCTGCTTGCTGCTG
```

Resultados



Una vez realizado el análisis, se presenta toda la información analizada en distintas tablas.

En primer lugar aparece un resumen de los datos proporcionados por el usuario.

Input Summary

File1	File2
Sample_Be_Analyzer_R1.fastq.gz	Sample_Be_Analyzer_R2.fastq.gz
Control File1	Control File2
Control_Sample_Be_Analyzer_R1.fastq.gz	Control_Sample_Be_Analyzer_R2.fastq.gz
WT sequence (blue: indicator sequences at each ends of comparison range, green: crRNA sequence, red: additional flanking windows for CRISPR base editing)	
GGGCCTCTGAGTTCTCATCTGTGCCCTCCCTCCCTGGCCAGGTGAAGGTGTGGTCCAGAACC GGAGGACAAAGTACAAACGGCAGAAGCTGGA GGAGGAAGGGCCTGAGTCCGAGCAGAAGAAGAA GGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACGAAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGA TGTCACTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCCACGAGGGCAGAGTGCTGCTTGCTGCTG	
crRNA sequence GAGTCCGAGCAGAAGAAGAA	
Target window (R) [?]	Minimum frequency (n) [?]
10	1



Resultados - Result Summary

Esta tabla muestra los conteos realizados durante el análisis de los datos de entrada.

Si se habían especificado datos de control, también muestra la información correspondiente a ellos.

Result Summary

Total Sequences	With both indicator sequences	More than minimum frequency	Wild Type	Insertions	Deletions	Sequences that have at least one base substitutions	Sequences that have C to D conversions in target windows	C to T Substitution Rate (%)
11831	11442	9055	2937	0	36	6082	5092	53.43
Control (Optional)								
Total Sequences	With both indicator sequences	More than minimum frequency	Wild Type	Insertions	Deletions	Sequences that have at least one base substitutions	Sequences that have C to D conversions in target windows	C to T Substitution Rate (%)
12325	11905	9901	7366	0	0	2535	43	0.00



Resultados - Substitution Summary

Para cada nucleótido de la secuencia, se informa del ratio de mutación en detalle (a cada posible base), estos datos están codificados con color para una visualización más clara y sencilla para el usuario.

Substitution Table

Codon 0 Codon 1 Codon 2 Reverse complementary

	Gly				Arg		Ala		Stop			Val			Arg		
	G	G	A	A	G	G	G	C	C	T	G	A	G	T	C	C	G
A	0.0	0.1	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.7	0.5	0.1
T	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	99.8	0.0	0.0	0.0	99.5	43.9	43.7	0.0
G	99.9	99.9	0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.2	0.0	0.1	100.0	0.0	100.0	0.5	4.3	1.6	99.9
C	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	99.8	99.9	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	51.1	54.3	0.0

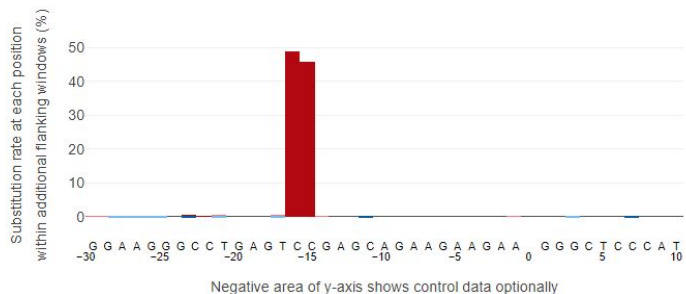


Resultados - Analysis Results

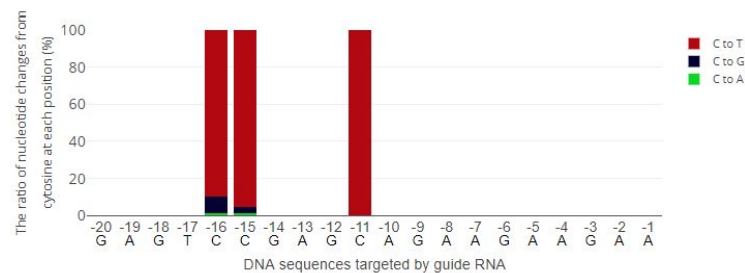
Analysis Results

Log scale

Total Substitution



C to D substitution in target windows

Substitution patterns of outcome
After substitutions

	A	T	G	C
Before substitutions				
A	0.0	13.3	33.3	53.3
T	0.0	0.0	77.3	22.7
G	69.0	16.7	0.0	14.3
C	1.3	92.3	6.4	0.0

(Optional) Substitution patterns of control data
After substitutions

	A	T	G	C
Before substitutions				
A	0.0	5.7	37.1	57.1
T	2.4	0.0	85.7	11.9
G	47.1	33.3	0.0	19.6
C	18.6	20.9	60.5	0.0



Resultados - Sequence information

Por último, se presentan la información de las secuencias analizadas, comparadas con la de referencia.

Estos resultados se pueden filtrar por secuencia, por tipo, etc. Y pueden ser descargadas directamente.

Sequence Information

Filtering by Sequence[?] Count:

ID	Sequence	Length	Count	Type
1	GGGCCTCCTGAGTTTCTCATCTGTGCCCTCCCTCCCTGGCCAGGTGAAGGTGTGGTTCAGAACC GGAGGACAAAGTACAAA GGGCCTCCTGAGTTTCTCATCTGTGCCCTCCCTCCCTGGCCAGGTGAAGGTGTGGTTCAGAACC GGAGGACAAAGTACAAA CGGCAGAAGCTGGAGGAGGAAGGGCCTGAGTCCGAGCAGAAGAAGGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACG CGGCAGAAGCTGGAGGAGGAAGGGCCTGAGTCCGAGCAGAAGAAGGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACG AAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGATGTCACCTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCACGAGGGCAGAGTGCTGCTT AAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGATGTCACCTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCACGAGGGCAGAGTGCTGCTT GCTGCTG GCTGCTG	259	2928	WT
2	GGGCCTCCTGAGTTTCTCATCTGTGCCCTCCCTCCCTGGCCAGGTGAAGGTGTGGTTCAGAACC GGAGGACAAAGTACAAA GGGCCTCCTGAGTTTCTCATCTGTGCCCTCCCTCCCTGGCCAGGTGAAGGTGTGGTTCAGAACC GGAGGACAAAGTACAAA CGGCAGAAGCTGGAGGAGGAAGGGCCTGAGTCCGAGCAGAAGAAGGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACG CGGCAGAAGCTGGAGGAGGAAGGGCCTGAGTTTGAGCAGAAGAAGGGCTCCCATCACATCAACCGGTGGCGCATTGCCACG AAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGATGTCACCTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCACGAGGGCAGAGTGCTGCTT AAGCAGGCCAATGGGGAGGACATCGATGTCACCTCCAATGACTAGGGTGGGCAACCACAAACCACGAGGGCAGAGTGCTGCTT GCTGCTG GCTGCTG	259	2214	Sub

BIOÉTICA





¿En qué casos es ético beneficiarse de la edición genética?



DERECHOS

OPORTUNIDAD

RESPONSABILIDAD

JUSTICIA

IGUALDAD

FUTURO

PROGRESO

FELICIDAD

HUMANIDAD

SEGURIDAD

DINERO

PRIVILEGIO

Nuestra opinión



NO 



SI 



Bibliografía



- Edición de genoma: https://es.wikipedia.org/wiki/Edici%C3%B3n_de_genoma
- Edición genómica: ciencia y ética: <https://www.bioeticaweb.com/edicion-genomica-ciencia-y-etica/>
- CRISPR:
https://www.cnb.csic.es/images/Julia2015/Communication/Media/CRISPR_cronica_de_una_revolucion_genetica_ENLACE41_jun2017-4.pdf
- Historia del primer hombre que usó CRISPR en embriones humanos (y lo que pasó después):
<https://www.technologyreview.es/s/10806/historia-del-primer-hombre-que-uso-crispr-en-embriones-humanos-y-lo-que-paso-despues>
- **BREAKING: CRISPR Could Be Causing Extensive Mutations And Genetic Damage After All:**
<https://www.sciencealert.com/crispr-editing-causes-frequent-extensive-mutations-genetic-damage-target-deletion-site>
- Desarrollada una herramienta para predecir las mutaciones exactas que puede producir el sistema CRISPR de edición del genoma: https://genotipia.com/genetica_medica_news/crispr-prediccion-mutaciones/

Bibliografía



- Largest study of CRISPR-Cas9 mutations creates prediction tool for gene editing:
<https://www.sanger.ac.uk/news/view/largest-study-crispr-cas9-mutations-creates-prediction-tool-gene-editing>
- Una nueva técnica modifica el ADN humano con precisión récord:
https://elpais.com/elpais/2019/10/20/ciencia/1571597827_436234.html
- Cuando la edición genética toca las puertas de la ética:
<https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2017/08/04/5983692e46163f2d618b4590.html>
- Tomorrow's children: what would genome editing really mean for future generations?:
<https://go.gale.com/ps/anonymous?id=GALE%7CA444595363&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=00280836&p=AONE&sw=w>
- Web-based design and analysis tools for CRISPR base editing:
<https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12859-018-2585-4>
- Guide RNA: https://en.wikipedia.org/wiki/Guide_RNA

Bibliografía



- Uridine: <https://en.wikipedia.org/wiki/Uridine>
- Messenger RNA: https://en.wikipedia.org/wiki/Messenger_RNA
- The Complete Guide to Understanding CRISPR sgRNA:
<https://www.synthego.com/guide/how-to-use-crispr/sgrna>
- FASTQ format: https://en.wikipedia.org/wiki/FASTQ_format



Muchas gracias

David Solanas y Jorge Terreu