

Revista Latinoamericana de Difusión Científica
Volumen 7 – Número 13
Depósito Legal ZU2019000058 - ISSN 2711-0494

Revista Latinoamericana de Difusión Científica



Volumen 7 - Número 13
Julio – Diciembre 2025
Maracaibo – Venezuela

Sistema CRISPR-Cas9, en *Drosophila melanogaster*

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15832073>

Daniela Irán Vargas Sánchez *
René Hernández Vargas **
Enrique A. Reynaud Garza ***
Irma Elena Dueñas-García ****
María Eugenia Heres-Pulido *****

RESUMEN

El descubrimiento del sistema CRISPR-Cas9 hace 13 años provocó un avance tecnológico muy importante para la edición más precisa de los genomas, lo cual se relaciona, entre otras cosas, con la generación de nuevas biomoléculas, la edición de organismos procariotas y eucariotas, y el avance sustancial en el conocimiento de los procesos relacionados con el flujo de la información genética. Realizar esta tecnología en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, que comparte genes con humanos, abre infinitas posibilidades para el estudio de los mecanismos hereditarios de los procesos biológicos normales, y de los alterados por causas internas o externas. Se describen las características particulares de este modelo biológico que es un eucarionte invertebrado, las generalidades del sistema CRISPR-Cas9, sus funciones y componentes, la producción de *knockouts*, *knockins*, así como las perspectivas y limitaciones de esta herramienta.

PALABRAS CLAVE: CRISPR-Cas9, *Drosophila melanogaster*, Genética animal, Biología molecular.

* Laboratorio de Genética Toxicológica, Biología, FES Iztacala UNAM, Av. Los Barrios N°1, Los Reyes Iztacala, 54090, Estado de México. ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-4750-3541>. E-mail: dannyvargas426@gmail.com

**Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos. ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8863-8699>. E-mail: rene.hernandez@ibt.unam.mx

*** Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7972-2230>. E-mail: enrique.reynaud@ibt.unam.mx

****Laboratorio de Genética Toxicológica, Biología, FES Iztacala UNAM, Av. Los Barrios N°1, Los Reyes Iztacala, 54090, Estado de México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3504-9798>. E-mail: iduenasg@gmail.com

***** Laboratorio de Genética Toxicológica, Biología, FES Iztacala UNAM, Av. Los Barrios N°1, Los Reyes Iztacala, 54090, Estado de México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8731-877X>. E-mail: eugeniahheres@iztacala.unam.mx

Recibido: 23/04/2025

Aceptado: 17/06/2025

CRISPR-Cas9 system, in *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

The discovery of the CRISPR-Cas9 system 13 years ago led to a technological breakthrough for more precise genome editing. This is related to the generation of new biomolecules, the editing of prokaryotic and eukaryotic organisms, and substantial progress in our understanding of the processes related to the flow of genetic information. Using this technology in the fruit fly *Drosophila melanogaster*, which shares genes with humans, opens infinite possibilities for studying the hereditary mechanisms of normal biological processes and those altered by internal or external causes. The characteristics of this biological model, an invertebrate eukaryote, the generalities of the CRISPR-Cas9 system, its functions and components, the production of knockouts and knock ins as well as the perspectives and limitations of this tool are described.

KEYWORDS: CRISPR-Cas9, *Drosophila melanogaster*, Animal genetics, Molecular biology

Introducción

Desde hace tiempo el humano se ha interesado en los procesos relacionados con la heredabilidad de caracteres y en explicar cómo sucede esto en las células y organismos, pero a partir del descubrimiento de la función y estructura del ADN (Watson y Crick, 1953; Franklin y Gosling, 1953), los investigadores se centraron en su estudio molecular; con la finalidad de saber, entre otras cosas, cuál es su papel en las enfermedades humanas. Por lo anterior, se han desarrollado herramientas moleculares para conocer la genética de múltiples especies, y aplicar esos conocimientos a la resolución de problemas biológicos y de edición de los genomas. La herramienta molecular más reciente es el Sistema CRISPR/Cas que teóricamente puede realizarse en cualquier organismo, pero requiere de investigación en su vertiente original y en las modificaciones recientes propuestas por diferentes investigadores. Para llevar a cabo la investigación genética con el Sistema CRISPR/Cas es necesario el empleo de un buen organismo modelo, con el cual se puedan conocer y entender los procesos biológicos, especialmente los que en humanos producen enfermedades de origen genético. Uno de esos modelos es el invertebrado *Drosophila melanogaster*, conocida comúnmente como la mosca de la fruta, con la que somos

Daniela Irán Vargas Sánchez et al // Sistema CRISPR-Cas9, en *Drosophila melanogaster*, 24-34 genéticamente similares, pues esta especie conserva varias vías moleculares fundamentales que están presentes en el humano, como las que participan en el metabolismo, crecimiento, envejecimiento y neurodegeneración, entre otras (Yamaguchi y Yoshida, 2018).

1. *Drosophila melanogaster*

La mosca de la fruta se alimenta de las levaduras y azúcares de frutas fermentadas, y es un insecto díptero, que presenta crecimiento y metamorfosis en el lapso de 10 días, a una temperatura de 25°C (Kohler, 1993). Ha sido utilizada como un modelo poderoso en la genética, y lo fue más aún, cuando se publicó su genoma, con un tamaño de 180 MB y 13,600 genes (Adams *et al.*, 2000). Con los mamíferos tiene 40% de similitud en las secuencias de aminoácidos y nucleótidos y 80-90% en los dominios proteicos conservados (Pandey y Nichols, 2011). Además, Rubin *et al.* (2000) demostraron que 77% de sus genes son ortólogos de genes humanos involucrados en enfermedades humanas, y las vías moleculares fundamentales, involucradas en el desarrollo, formación y función de órganos coinciden con las de los mamíferos (Rubin *et al.*, 2000). El tamaño de su genoma permite el uso de herramientas moleculares para la manipulación genética en un tipo celular específico y de manera controlada (Ugur, *et al.*, 2016). La edición de su genoma se puede hacer por cortes en la doble hélice de ADN, con enzimas nucleasas denominadas dedos de zinc (ZFN) y con nucleasas efectoras, similares a los activadores de transcripción (TALEN, por sus siglas en inglés), sin embargo, esto tiene desventajas, como deficiencias en la especificidad de los cortes, el alto costo, el tiempo para su construcción y la obtención de resultados consistentes (Gaj, *et al.*, 2013).

2. ¿Qué es el Sistema CRISPR/Cas?

El sistema CRISPR/Cas, que en castellano quiere decir “Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas e Interespaciadas Regularmente”, es definido como un sistema inmunitario adaptativo presente en procariotas (bacterias y arqueas), cuya función es prevenir la infección viral y se encarga de escindir, eliminar y almacenar el material genético invasor lo que previene una futura infección. Fue descubierto en la bacteria *Escherichia coli*, en 1987, en la Universidad de Japón (Ishino *et al.* 1987), pero tomó casi 20 años descifrar

Daniela Irán Vargas Sánchez et al // Sistema CRISPR-Cas9, en *Drosophila melanogaster*, 24-34

cuál era su función y su presencia en dichos organismos (Mojica *et al.*, 2005). Su funcionamiento es el siguiente (Figura 1): la primera parte escinde el material genético viral, por medio de una enzima nucleasa llamada Cas que genera fragmentos llamados protoespaciadores; la enzima Cas9 reconoce y corta específicamente en un sitio nombrado PAM (Motivo Adyacente al Protoespaciador), y los fragmentos se integran al cromosoma de la procariota, entre las secuencias repetidas, a las que ahora se les llama espaciadores y no se mantiene el sitio PAM. La inmunidad procariota, es la respuesta a la infección de un mismo tipo de virus, que genera un ARN doble (dsRNA), formado por el espaciador, un tracrRNA, y una enzima nucleasa Cas9 que reconoce a la secuencia PAM; este complejo es dirigido hacia la secuencia complementaria del espaciador en el DNA invasor, se hacen los cortes en el DNA y se evita la infección (Gasiunas *et al.*, 2012). Al ser un sistema de defensa activo para las procariotas, da como resultado gran cantidad de sistemas CRISPR/Cas que actualmente se dividen en dos Clases (1 y 2), de las cuales los de la Clase 2 son los que se utilizan para la investigación, por su estructura simple. La más estudiada es la enzima Cas9 proveniente de la bacteria *Streptococcus pyogenes* (SpCas9) que reconoce río abajo de la secuencia blanco el sitio PAM 5'NGG-3' (Makarova *et al.*, 2020), donde N es cualquier nucleótido.

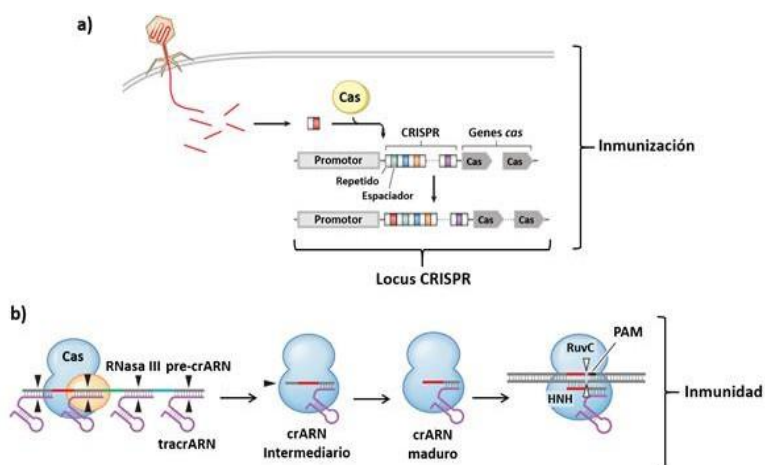


Fig. 1. Fases de inmunización y de inmunidad del sistema inmunitario adaptativo procariota (Modificado de Chávez-Jacobo, 2018).

3. ¿Cómo funciona y cuáles son los componentes de la tecnología de CRISPR/Cas?

En el 2012, este sistema se “reprogramó” para utilizarse como una herramienta de edición genética que implica el diseño de una ribonucleoproteína (RNP) que lleva a Cas9 y a un oligonucleótido de ARN guía único (sgRNA) integrado por (1) la secuencia complementaria (crRNA), que se unirá a la secuencia blanco (espaciador), (2) la secuencia corta que forma un bucle (tracrRNA). La elección de una secuencia PAM que sirva de unión con Cas9 (Jinek *et al.*, 2012), dirige al sgRNA al sitio objetivo donde Cas9 realiza el corte en ambas cadenas del ADN (Figura 2). Una de las investigaciones pioneras probó la efectividad del diseño cuando diseñaron sgRNA para generar escisiones precisas en células humanas y de ratón, causando deleciones exitosas en los genes seleccionados (Cong *et al.*, 2013). CRISPR/Cas9 puede aplicarse en cualquier genoma, lo que permite una edición específica, eficiente y económica. En *D. melanogaster* se realiza la edición mediante la inyección en los embriones de una mezcla de sgRNA + Cas9 o del RNP diseñado, en moscas que expresen transgénicamente Cas9 e inyectadas con un vector que lleve el sgRNA o con moscas transgénicas para el sgRNA que se cruzan con moscas transgénicas para Cas9 (Zirin *et al.*, 2021; Port y Bullock, 2016a; Bassett y Liu, 2014). Todas estas técnicas pueden utilizarse a preferencia del investigador y de acuerdo con sus propósitos.

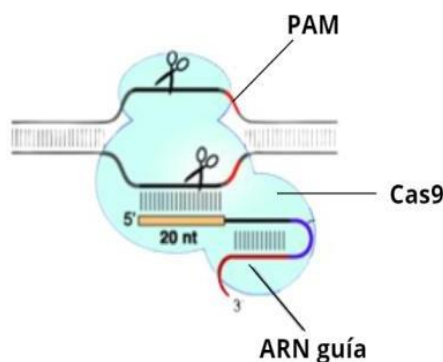


Fig. 2. Esquema de los componentes del Sistema CRISPR/Cas9 programable para generar una escisión en la doble cadena de DNA en un sitio objetivo específico reconocido por la secuencia PAM (rojo). Conformado por la Cas9 (azul) y un ARN guía que contiene una secuencia complementaria (crRNA, en naranja) y una secuencia corta que se pliega formando un bucle (tracrRNA, en negro, morado y rojo). (Modificado de Jinek *et al.*, 2012).

4. KO, fuera de combate la mosquita de la fruta

Uno de los primeros propósitos de CRISPR/Cas fue el generar de manera eficiente la pérdida de función de genes específicos en el genoma o *knock-outs*, aprovechando el mecanismo de reparación NHEJ (Unión de Extremos No Homólogos); al haber una rotura en el DNA, este mecanismo une los extremos dañados, pero genera deleciones y como consecuencia modifica el marco de lectura en la posterior traducción del mRNA para la síntesis de una proteína. Juntando la tecnología de CRISPR/Cas9 con NHEJ (Figura 3), las mutaciones se generan con alta eficiencia y los cambios en el genoma se pueden transmitir en la línea germinal (Bassett *et al.*, 2013). Los *knock-outs* son una técnica útil para obtener modelos animales de enfermedades genéticas humanas como, por ejemplo, en el tejido nervioso, para entender los mecanismos y procesos de éste (Fritsch y Sprecher, 2020). También pueden generar deleciones en otras zonas del genoma, como los sitios de unión de factores de transcripción o en promotores, impidiendo el proceso de la transcripción (Neville *et al.*, 2021) de cualquier gen u otros efectos.

5. ¿HDR o NHEJ? Esa es la cuestión

Para estudiar la expresión de los genes o localizar y purificar proteínas endógenas, se usa el etiquetado o inserción (*knock-in*) de genes. Combinando el CRISPR/Cas9 y la reparación mediada por HDR (Reparación Directa Homóloga) (Figura 3), se pueden insertar secuencias de DNA exógenas utilizando una “plantilla o secuencia donante” que recombina con el DNA aceptor. Esta plantilla contiene la secuencia a integrar al genoma y posee extremos de homología izquierda y derecha que están adyacentes al sitio de la escisión, producido por la HDR. El número de bases en los extremos homólogos puede variar, así como el de la plantilla de doble cadena (dsDNA) o de una cadena (ssDNA). Cuando los brazos de homología son cortos y de ssDNA son sintetizados de manera fácil y sencilla, su tamaño es limitado y las modificaciones son pequeñas, en cambio en las de doble cadena, con brazos de homología largos y en plásmidos circulares, se evita la degradación y se realizan ediciones de secuencias más grandes, con la desventaja del tiempo que se requiere para la construcción, y de su costo (Kanca *et al.*, 2019). Ambas estrategias son eficientes y específicas en la edición del genoma de *D. melanogaster*, por lo que cualquier secuencia deseada puede ser insertada. Las desventajas de utilizar la vía de HDR, es que

solo está activa en las fases S y G2 del ciclo celular, solo es aplicable en ciertos tipos celulares y no es la vía preferente de reparación del DNA como lo es NHEJ (Arnoult *et al.*, 2017). Se han desarrollado proyectos con métodos para suprimir la actividad de NHEJ y que se favorezca HDR (Yang *et al.*, 2020), estos procedimientos han sido probados en otros modelos animales y pueden ser una alternativa en *D. melanogaster*. El realizar *knock-ins* mediante HDR aún sigue teniendo otras limitantes, como el hecho de que no es universal y las construcciones de sus plantillas donadoras demoran. Otra técnica para efectuar *knock-ins* en *D. melanogaster*, mediada por NHEJ, que ocurre en cualquier fase del ciclo celular, se llama CRISPaint (*CRISPR-Assisted Insertion Tagging*) y se requiere de tres componentes, un plásmido donador que contenga la secuencia a insertar, un plásmido de sgRNA selector del marco que va dirigido al plásmido donador para volverlo lineal y un plásmido que contenga sgRNA dirigido al locus del gen de interés; esta es una alternativa universal, pues las construcciones pueden ser utilizadas en cualquier genoma y sitio del mismo (Bosch *et al.*, 2020).

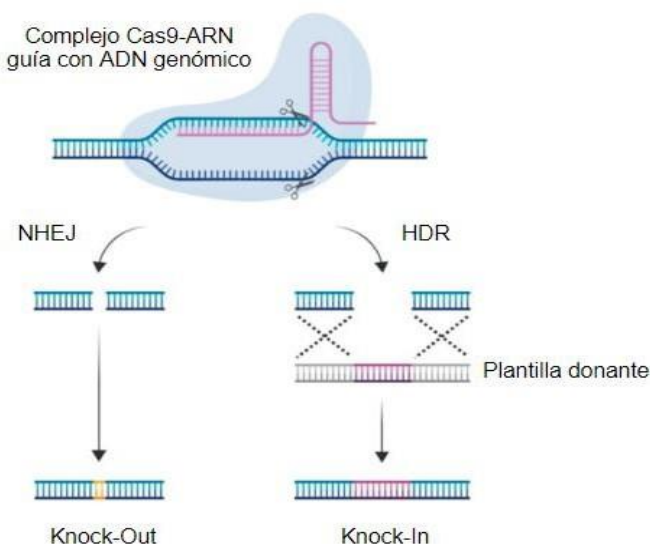


Fig. 3. Mecanismos de reparación NHEJ y HDR, inducidos por los DSB generados por el sistema CRISPR/Cas9. Los *knock-out* se generan por el mecanismo de reparación del DNA, NHEJ; los *knock-in* se obtienen cuando interviene el sistema de reparación HDR. (Modificado de van Kampen y van Rooji, 2019).

6. Perspectivas futuras y limitaciones

Desde la aparición de CRISPR/Cas como una herramienta de edición genética, se han desarrollado diferentes trabajos para continuar el estudio de la función de los genes a través de su manipulación en *D. melanogaster*, sin embargo, se han tenido limitaciones en este camino, algunas se han superado y se sigue avanzando. Una de las técnicas más utilizadas para regular la expresión de los genes, en tejidos y tiempos específicos, en *D. melanogaster* es el método de Gal4-UAS y en combinación con CRISPR/Cas9 es posible expresar la nucleasa en condiciones previstas. Esto es conveniente porque sobre expresar Cas9 conllevaba a efectos nocivos en la célula, por lo que intentar reducir la toxicidad fue una prioridad, así que al seleccionar la expresión de Cas9, usando factores de transcripción (TFs) para genes blanco, se aumentó el repertorio de posibilidades (Koreman *et al.*, 2021). Una limitación que presenta CRISPR/Cas9, es que tiene cierto sesgo de error, ya que puede tener actividad fuera del objetivo y hay cierta restricción de éste, ya que al tener el requisito de un sitio PAM para llevar a cabo el corte, se reducen los sitios posibles de edición. Actualmente, se han producido variaciones de Cas9, con el propósito de evitar interacciones no específicas entre Cas9 y el sitio blanco en el DNA (Kleinstiver *et al.*, 2016). Una segunda opción, ha sido buscar dentro de los sistemas CRISPR, otra nucleasa, ahora proveniente de *Staphylococcus aureus* cuya secuencia PAM es 5'-TTN-3', una alternativa útil para dirigirse a regiones ricas en A/T y que carecen de PAM 5'-NGG-3' (Port y Bullock, 2016b).

Conclusión

El sistema CRISPR/Cas tiene posibilidades infinitas para editar el genoma de *D. melanogaster* y el poder modificar directamente secuencias genómicas o introducir DNA exógeno de manera precisa, llevará no solo más allá de determinar la función y localización de genes y proteínas, sino también a otros nuevos enfoques experimentales. Quizá en *Drosophila melanogaster*, el sistema CRISPR/Cas se limite a su participación en proyectos de terapia, sin embargo, como es un valioso modelo en la biología molecular, permite poner a prueba todos aquellos procedimientos que, en otros modelos, aún no es posible lograr. Aquí solo hemos nombrado algunos de sus logros y aplicaciones, pero hay una inmensa variedad de posibilidades que todavía faltan por discernir y descubrir, y *D. melanogaster* será un modelo fiel en estas investigaciones.

Referencias

- Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. *et al.* (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185–2195. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2185>.
- Arnoult, N., Correia, A., Ma, J., Merlo, A., Garcia-Gomez, S., Maric, M., *et al.* (2017). Regulation of DNA repair pathway choice in S and G2 phases by the NHEJ inhibitor CYREN. *Nature*, 549(7673), 548–552. <https://doi.org/10.1038/nature24023>.
- Bassett, A., and Liu, J. L. (2014). CRISPR/Cas9 mediated genome engineering in *Drosophila*. *Methods (San Diego, Calif.)*, 69(2), 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.02.019>.
- Bassett, A. R., Tibbit, C., Ponting, C. P., and Liu, J. L. (2013). Highly efficient targeted mutagenesis of *Drosophila* with the CRISPR/Cas9 system. *Cell reports*, 4(1), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.020>.
- Bosch, J. A., Knight, S., Kanca, O., Zirin, J., Yang-Zhou, D., Hu, Y., *et al.* (2020). Use of the CRISPR-Cas9 system in *Drosophila* cultured cells to introduce fluorescent tags into endogenous genes. *Current Protocols in Molecular Biology*, 130(1), e112. <https://doi.org/10.1002/cpmb.112>.
- Chávez-Jacobo, Víctor M. (2018). El sistema de edición genética CRISPR/Cas y su uso como antimicrobiano específico. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico- Biológicas*, 21(2), e201825. Epub 03 de septiembre de 2020. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.2.5>
- Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., *et al.* (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 339(6121), 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>.
- Franklin, R. E., and Gosling, R. G. (1953). Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*, 171(4356), 740–741. <https://doi.org/10.1038/171740a0>.
- Fritsch, C., and Sprecher, S. G. (2020). CRISPR/Cas9 genome editing to study nervous system development in *Drosophila*. *Methods in Molecular Biology*, 2047:161-189. doi: 10.1007/978-1-4939-9732-9_10. PMID: 31552655.
- Gasiunas, G., Barrangou, R., Horvath, P., and Siksnys, V. (2012). Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(39), E2579–E2586. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208507109>.
- Gaj, T., Gersbach, C. A., and Barbas, C. F., 3rd (2013). ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in Biotechnology*, 31(7), 397–405. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>.
- Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., and 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(12), 5429–5433. <https://doi.org/10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987>.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., and Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.

Kanca, O., Zirin, J., Garcia-Marques, J., Knight, S. M., Yang-Zhou, D., Amador, G., et al. Perrimon, N., and Bellen, H. J. (2019). An efficient CRISPR-based strategy to insert small and large fragments of DNA using short homology arms. *eLife*, 8, e51539. <https://doi.org/10.7554/eLife.51539>.

Kleinstiver, B. P., Pattanayak, V., Prew, M. S., Tsai, S. Q., Nguyen, N. T., Zheng, Z., and Joung, J. K. (2016). High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. *Nature*, 529(7587), 490–495. <https://doi.org/10.1038/nature16526>.

Kohler, R. E. (1993). *Drosophila*: A life in the laboratory. *Journal of the History of Biology*, 26(2), 281–310. <https://doi.org/10.1007/BF01061971>.

Koreman, G. T., Xu, Y., Hu, Q., Zhang, Z., Allen, S. E., Wolfner, M. F., et al. (2021). Upgraded CRISPR/Cas9 tools for tissue-specific mutagenesis in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(14), e2014255118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2014255118>.

Makarova, K. S., Wolf, Y. I., Iranzo, J., Shmakov, S. A., Alkhnbashi, O. S., Brouns, S., et al. (2020). Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. *Nature Reviews. Microbiology*, 18(2), 67–83. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0299-X>.

Mojica, F. J., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., and Soria, E. (2005). Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*, 60(2), 174–182. <https://doi.org/10.1007/s00239-004-0046-3>.

Neville, M. C., Eastwood, A., Allen, A. M., de Haan, A., Nojima, T., and Goodwin, S. F. (2021). Generation and characterization of *fruitless* P1 promoter mutant in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Neurogenetics*, 35(3), 285–294. <https://doi.org/10.1080/01677063.2021.1931179>.

Pandey, U.B. and Nichols C.D. (2011) Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 63,411-436. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21415126/>

Port, F., and Bullock, S. L. (2016a). Creating heritable mutations in *Drosophila* with CRISPR-Cas9. *Methods in Molecular Biology*, 1478, 145–160. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6371-3_7.

Port, F., and Bullock, S. L. (2016b). Augmenting CRISPR applications in *Drosophila* with tRNA-flanked sgRNAs. *Nature Methods*, 13(10), 852–854. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3972>.

Rubin, G. M., Yandell, M. D., Wortman, J. R., Gabor Miklos, G. L., Nelson, C. R., Hariharan, I. K., et al. (2000). Comparative genomics of the eukaryotes. *Science*, 287(5461), 2204–2215. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2204>.

Ugur, B., Chen, K., and Bellen, H. J. (2016). *Drosophila* tools and assays for the study of human

diseases. *Disease Models and Mechanisms*, 9(3), 235–244. <https://doi.org/10.1242/dmm.023762>.

van Kampen, S. J., and van Rooij, E. (2019). CRISPR craze to transform cardiac biology. *Trends in Molecular Medicine*, 25(9), 791–802. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.06.008>.

Watson, J. D., and Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737–738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>.

Yang, H., Ren, S., Yu, S., Pan, H., Li, T., Ge, S., et al. (2020). Methods favoring homology-directed repair choice in response to CRISPR/Cas9 induced-double strand breaks. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6461. <https://doi.org/10.3390/ijms21186461>.

Yamaguchi, M., and Yoshida, H. (2018). *Drosophila* as a model organism. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1076, 1–10. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0_1

Zirin J, Bosch J, Viswanatha R, Mohr SE, and Perrimon N. (2021). State-of-the-art CRISPR for *in vivo* and cell-based studies in *Drosophila*. *Trends in Genetic*, 38(5):437-453. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34933779/>

Conflicto de interés

Los autores de este manuscrito declaran no tener ningún conflicto de interés.

Copyright

La Revista Latinoamericana de Difusión Científica declara que reconoce los derechos de los autores de los trabajos originales que en ella se publican; dichos trabajos son propiedad intelectual de sus autores. Los autores preservan sus derechos de autoría y comparten sin propósitos comerciales, según la licencia adoptada por la revista.

Licencia CreativeCommons

Esta obra está bajo una Licencia CreativeCommons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

