

Técnicas CRISPR/Cas9 para la generación de nuevos modelos de animales y como terapia génica en humanos

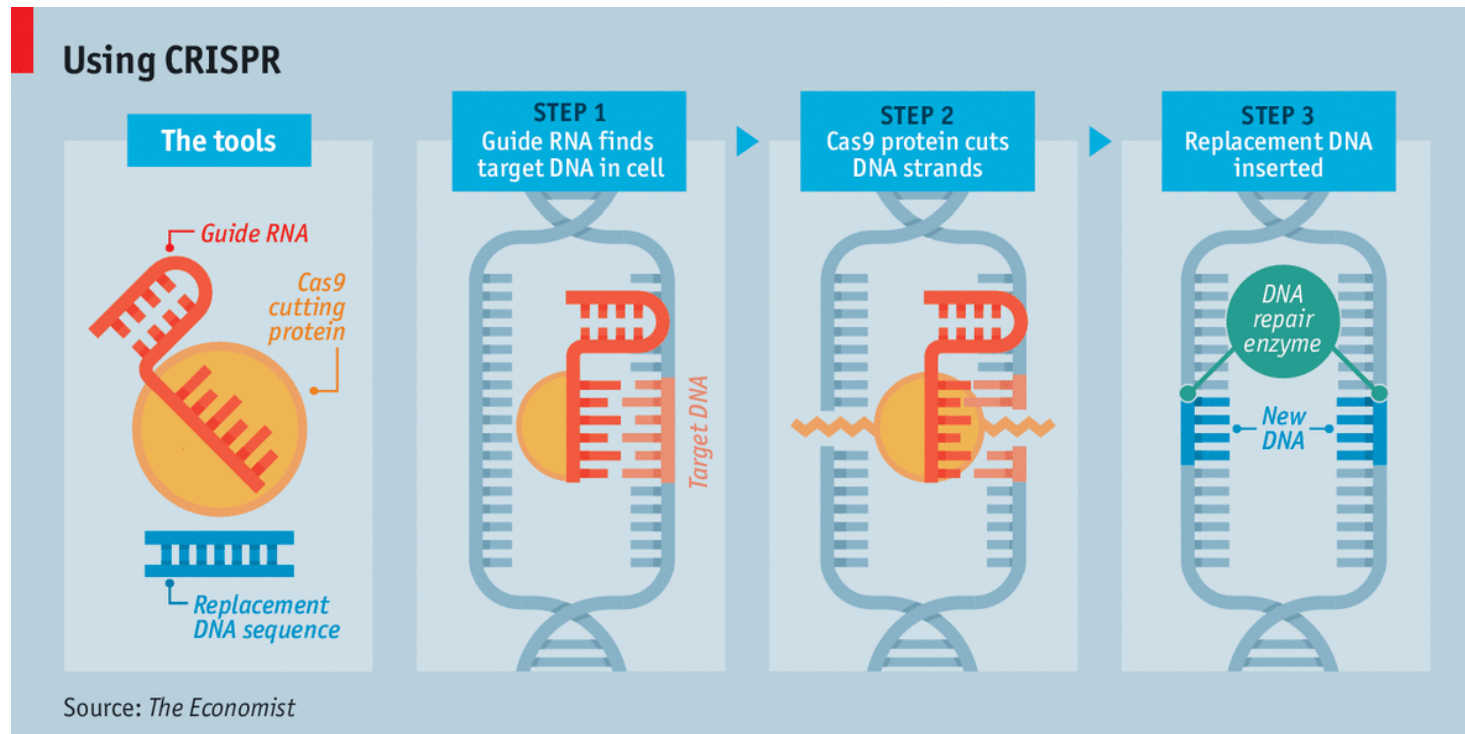
Prof. Josep Santaló

CEEAH Universitat Autònoma de Barcelona

Observatori de Bioètica i Dret Universitat de Barcelona



CRISPR/Cas9



Economist.com

CRISPR/Cas9

Qué la hace distinta?

- Especificidad:
 - elevada eficacia
 - baja incidencia de efectos secundarios
- Eficiencia:
 - facilidad en la producción
 - elevado porcentaje de secuencias modificadas genéticamente en un lugar concreto



CRISPR/Cas9

Qué la hace distinta?

- Accesibilidad:
 - técnica relativamente simple de aplicar
 - no requiere gran infraestructura
 - precio modesto
- Versatilidad:
 - conocimiento profundo $\Rightarrow$ variantes que permiten ejercer un mayor control de la técnica

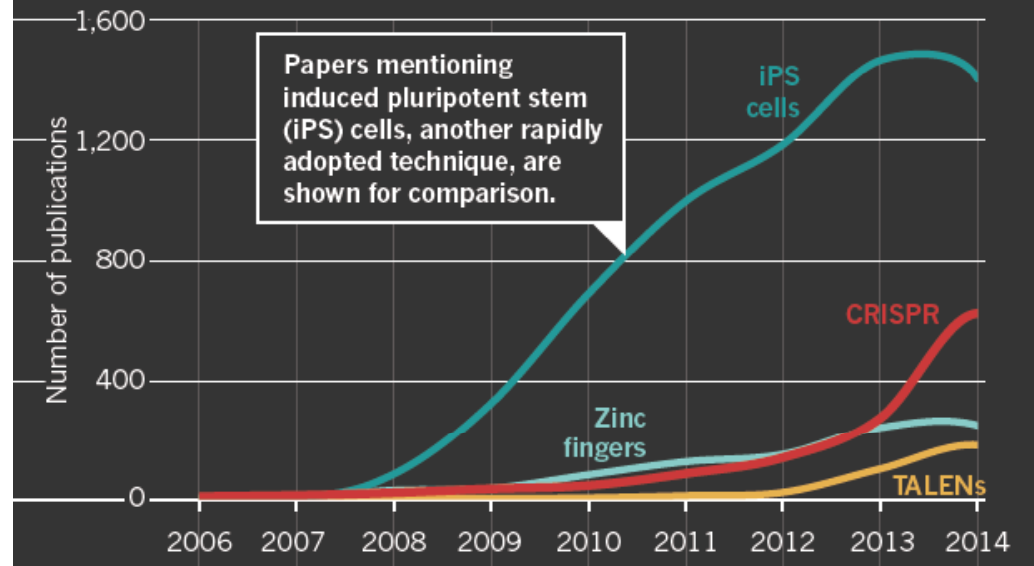


THE RISE OF CRISPR

DNA sequences called CRISPRs (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) are part of a bacterial defence system. After researchers showed in 2012 that CRISPRs could be used to edit genomes, use of the tools quickly spread, as reflected by sharp rises in publications, patent applications and funding.

PUBLICATIONS

The number of papers about CRISPR has outstripped the numbers mentioning the gene-editing technologies known as TALENs and zinc fingers.



Nature 2015

Modificación genética

- Análisis utilitarista-benestarista
 - Riesgos/beneficios: dificultad



- Principio de precaución/cautela



Modificación genética

- Análisis deontológico
 - *Playing God* / Es innatural
 - Respecto a la dignidad / integridad de los seres vivos

Modificación genética

- Análisis deontológico: las modificaciones genéticas atentan contra la dignidad de los organismos modificados (humanos, animales, plantas, microorganismos) por cuanto se viola la **integridad genética** del individuo.

Respeto a la integridad genética

- La integridad también puede ser extendida a nivel de especie $\Rightarrow$ rechazo a la manipulación genética.
- Sin embargo, a menudo la domesticación no se considera contraria, porque se deja al azar.



Modificación genética

- Análisis deontológico
 - *Playing God* / Es innatural
 - Respecto a la dignidad / integridad de los seres vivos
 - Instrumentalización de los seres vivos

Modificación genética

- Justicia distributiva
 - Quién tiene acceso a la tecnología?

Usos de CRISPR/Cas9

- Modificación genética en animales
- Modificación genética en humanos
 - Terapia génica
 - *Biological enhancement*

Modificación genètica en animales

- Transgenia: principio de precaución
 - Efectos sobre la salud
 - Efectos medioambientales

Mosquitos transgénicos contra la malaria

• Diseñan insectos que no contagian el parásito causante de la enfermedad a los humanos



Mosquito Anopheles, vector de transmisión de la malaria (Archivo)



Temas relacionados : Malaria ADN California India Reino Unido Japón Australia

REDACCIÓN 24/11/2015 12:41 | Actualizado a 24/11/2015 14:29

Un **mosquito modificado genéticamente** podría ayudar en la **erradicación de la malaria**, una enfermedad que **cada año causa al menos 600.000 muertes**, el 90% de las cuales son de menores de cinco años. El insecto ha sido **diseñado** por un equipo norteamericano de científicos con dos alteraciones genéticas que hacen que sea incapaz de transmitir el parásito *Plasmodium falciparum*, causante de la malaria, a los humanos.

Para ello, han utilizado una tecnología de edición genética nueva muy potente, aunque también controvertida, que permite introducir genes antimalaria en el propio ADN de los mosquitos con el objetivo de que estos, al aparearse con insectos salvajes, transmitan la resistencia a la enfermedad a su descendencia. Y de esta forma se extienda la incapacidad de contagiar a las poblaciones salvajes de estos insectos.

1 año
de garantía
adicional

Das WeltAuto.
Vehículos de Ocasión de calidad. Garantizados.

Descúbrelos

*Consulta condiciones en www.dasweltauto.es
Oferta para unidades financiadas con FICHA DE FINANCIACIÓN. SERVICIO hasta el 30/11/15. Consumo medio combinado de 3,4 a 6,8 l/100 km. Emisiones de CO2 de 89 a 158 g/km.

Lo + Visto

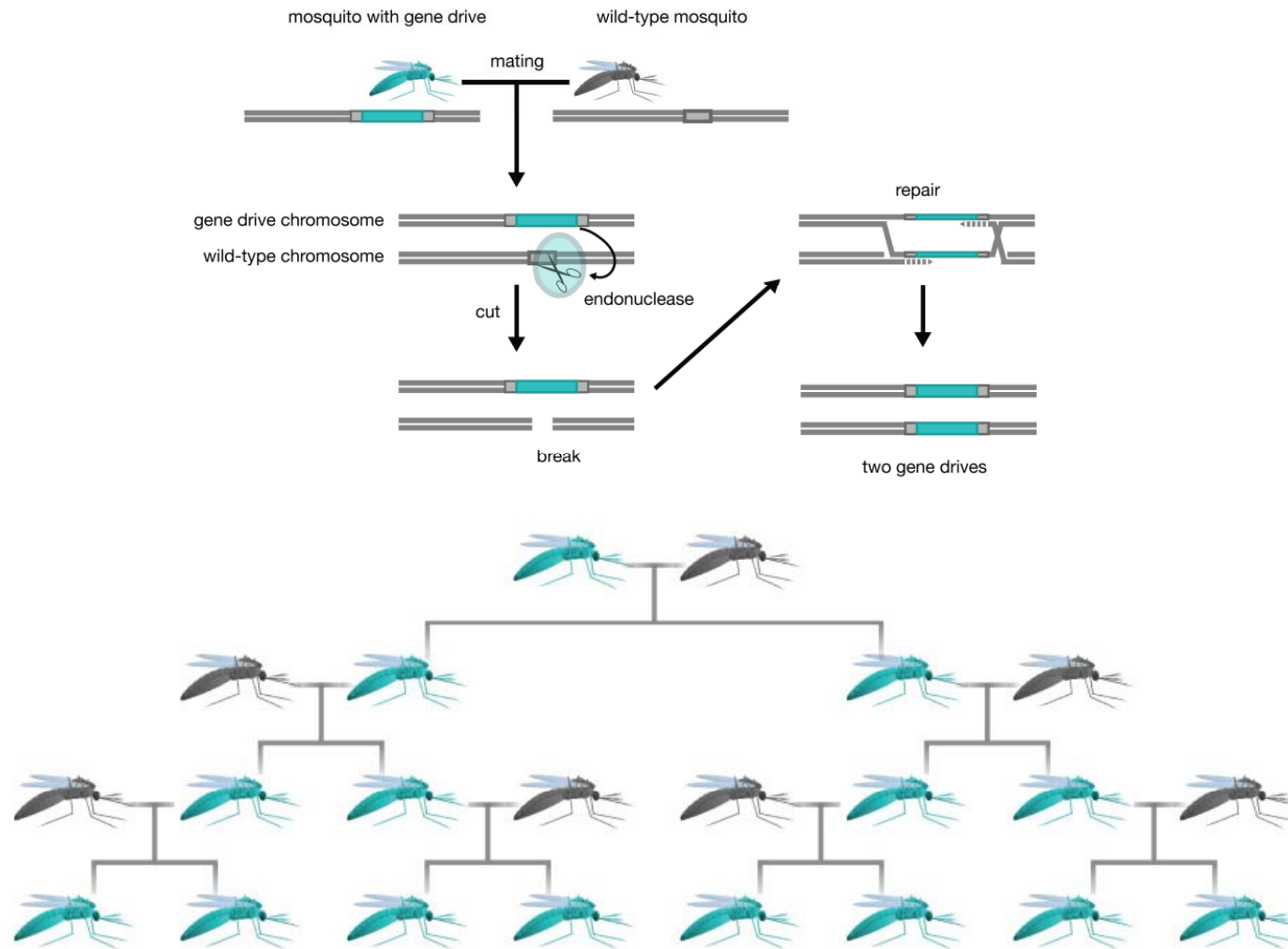


Una modelo pasea desnuda por Hong Kong y casi nadie se da cuenta



Suso regresa al plató de Telecinco y saca de sus casillas a Jordi González

Gene driving



nature International weekly journal of science

Home | News & Comment | Research | Careers & Jobs | Current Issue | Archive | Audio & Video | For Authors

Archive > Volume 524 > Issue 7563 > News > Article

NATURE | NEWS



Caution urged over editing DNA in wildlife (intentionally or not)

Rapid alteration of gene pools could fight disease – and harm ecosystems.

Heidi Ledford

04 August 2015



PDF



Rights & Permissions



SECTIONS

HOME

SEARCH

The New York Times

OP-ED CONTRIBUTOR
The Stealth Attack on Abortion Access

EDITORIAL
Waiting for the Republican Shakeout

CHARLES M. E.
G.O.P. Debate

The Opinion Pages | OP-ED CONTRIBUTOR

The Risks of Assisting Evolution

By ELIZABETH ALTER NOV. 10, 2015



Email



Share



Tweet



Save



More

THERE are [four locked doors](#) guarding a specialized lab at the Harvard School of Public Health. The doors are meant to prevent insects inside the lab from venturing out — which is essential, because researchers behind those doors are re-engineering mosquitoes by cutting and pasting bits of DNA with tools unimaginable a decade ago.

If researchers can figure out the right combination of genes, they'll manufacture a mosquito resistant to malaria, which could save hundreds of thousands of lives every year. But geneticists, bioethicists and others who understand the implications of this new technology are apprehensive. To an astonishing degree, these new tools, which include a technique called Crispr-Cas9, allow us to bend evolution to our will. But will we harness these new technologies to help our

BROOKLYN
NOW PLAYING

Modificación genética en humanos

- Terapia génica
 - Adulta
 - Modificación no transmitida a la descendencia

Genetics

Baby girl is first in the world to be treated with 'designer immune cells'

Genetically engineered cells successfully used to treat aggressive form of childhood leukaemia, but landmark treatment had only been tested on mice

Ian Sample Science editor

@iansample

Thursday 5 November 2015 18.00 GMT



Shares 10,596
Comments 218



Layla Richards, whose aggressive form of leukaemia was treated with genetically engineered immune cells. Photograph: Great Ormond Street Hospital/PA

A baby girl with aggressive leukaemia has become the first in the world to be treated with designer immune cells that were genetically engineered to wipe out

Advertisement



Modificación genètica en humanos

- Terapia génica
 - Adulta
 - Modificación no transmitida a la descendencia
 - Gamética / Embrionaria
 - Modificación transmitida a la descendencia → cambio radical del individuo

RESEARCH ARTICLE

CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes

Puping Liang, Yanwen Xu, Xiya Zhang, Chenhui Ding, Rui Huang, Zhen Zhang, Jie Lv, Xiaowei Xie, Yuxi Chen, Yujing Li, Ying Sun, Yaofu Bai, Zhou Songyang, Wenbin Ma, Canquan Zhou[✉], Junjiu Huang[✉]

Guangdong Province Key Laboratory of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital, and Key Laboratory of Gene Engineering of the Ministry of Education, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

✉ Correspondence: hjunjiu@mail.sysu.edu.cn (J. Huang), zhoucanquan@hotmail.com (C. Zhou)

Received March 30, 2015 Accepted April 1, 2015

ABSTRACT

Genome editing tools such as the clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)-associated system (Cas) have been widely used to modify genes in model systems including animal zygotes and human cells, and hold tremendous promise for both basic research and clinical applications. To date, a serious knowledge gap remains in our understanding of DNA repair mechanisms in human early embryos, and in the efficiency and potential off-target effects of using technologies such as CRISPR/Cas9 in human pre-implantation embryos. In this report, we used tripronuclear (2PN) zygotes to further investigate CRISPR/Cas9 me-

pressing need to further improve the fidelity and specificity of the CRISPR/Cas9 platform, a prerequisite for any clinical applications of CRISPR/Cas9-mediated editing.

KEYWORDS CRISPR/Cas9, β -thalassemia, human tripronuclear zygotes, gene editing, homologous recombination, whole-exome sequencing

INTRODUCTION

The CRISPR/Cas9 RNA-endonuclease complex, consisting of the Cas9 protein and the guide RNA (gRNA) (~99 nt

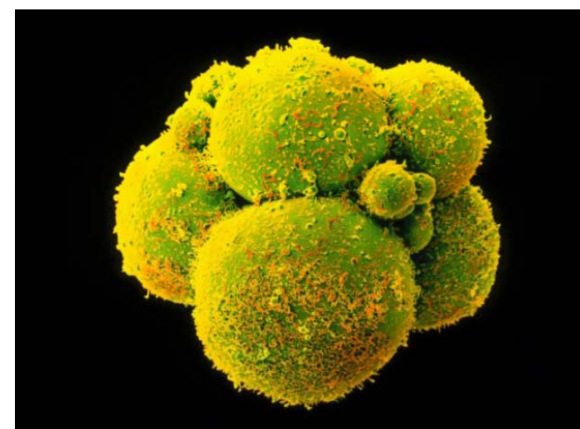
[✉] NATURE | NEWS

Chinese scientists genetically modify human embryos

Rumours of germline modification prove true — and look set to reignite an ethical debate.

David Cyranoski & Sara Reardon

22 April 2015



Dr. Yorgos Nikas/SPL

Human embryos are at the centre of a debate over the ethics of gene editing.

DILEMA ÉTICO

China consigue embriones humanos inmunes al VIH

El procedimiento se ha realizado mediante modificación genética con embriones con "taras y no aptos para tratamientos de fertilidad". Fueron destruidos a los tres días



China ha logrado embriones inmunes al VIH (ZEPHYR - Getty)



Temas relacionados: VIH China Cantón

EFE, Pekín 13/04/2016 10:22 | Actualizado a 13/04/2016 11:33

Un equipo de científicos de la **Universidad Médica de Cantón** (sur de China) anunció que ha conseguido **embriones humanos resistentes al VIH**, virus causante del **sida**, por medio de la modificación genética, un procedimiento todavía controvertido entre la comunidad médica mundial, informó este miércoles el diario *Global Times*.



Lo + Visto



Una snowboarder escapa de un oso y no lo sabe hasta ver el videoselfie



Alba Casillas abandona el trono



YOU MIGHT LIKE



15 Celebrities Who've Played The Field And Scored An Athlete
The Sports Lane



Unrecognizable! Cute Child Star to Ugly Adult
AllThingsCeleb.com



20 Amusing Facts About Chocolate
BestPictureBlog



How To Plan A Round The World Trip - The Easy Way
Fortune Skyteam - Spain2

Could HIV be cured? Chinese fertility doctors experiment making genetically-modified embryos the virus can't infect

- Team led by Dr Yong Fan, a researcher at Guangzhou Medical University
- Tried to make human embryos resistant to HIV by editing a gene called CCR5
- UK scientists given green light for genetic testing of embryos in February

By HARVEY DAY FOR MAILONLINE

PUBLISHED: 15:02 GMT, 9 April 2016 | UPDATED: 08:57 GMT, 11 April 2016



54 shares

74 View comments

Chinese scientists have been editing human embryos in an attempt to make them resistant to **HIV infection**.

There has only ever been one previously published claim of human embryonic genetic editing.

The study involved the collection of more than 200 embryos whose DNA was altered via the installation of a gene that protects them against HIV infection.



Modificación genètica en humanos

- Alcance de la modificación genética: ¿dónde termina la patología, dónde empieza el polimorfismo, dónde la simple característica individual?
- ¿Qué rasgos debemos cambiar y en qué sentido?



LA VANGUARDIA

VIVO
GENTE SMART

PORTADA | CIUDAD | SALUD | NUTRICIÓN | PSICOLOGÍA | EJERCICIO | SEXO | RETOS |

VivoSalud

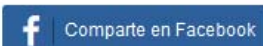
SALUD

Si eres hombre, bajo y blanco tienes más probabilidades de quedarte calvo

Además, un nuevo estudio revela la conexión entre la calvicie y enfermedades tales como el cáncer de próstata los trastornos neurodegenerativos



Danny DeVito mide 1,47 metros



ANA MAYOR PÉREZ

17/03/2017 00:04 | Actualizado a 17/03/2017 07:46



La necesidad de la modificación genética humana

Journal of Medicine and Philosophy
doi:10.1093/jmp/jhv025

In Genes We Trust: Germline Engineering, Eugenics, and the Future of the Human Genome

RUSSELL POWELL*

Boston University, Boston, Massachusetts, USA

cle, I argue that germline intervention will be necessary merely to sustain the levels of genetic health that we presently enjoy for future generations—a goal that should appeal to bioliberals and bioconservatives alike. This is due to the population-genetic consequences of relaxed selection pressures in human populations caused by the increasing efficacy and availability of conventional medicine. This heterodox conclusion, which I present as a prob-

Biological enhancement

- Definición: cualquier cambio en la biología o la psicología de una persona que incrementan las posibilidades de llevar a cabo una vida mejor.
- Dentro de esta definición se puede incluir:
 - El tratamiento médico de una enfermedad
 - Mejorar una capacidad preexistente más allá del rango natural de la propia especie (p.e. pasar de un IQ de 100 → 140)
 - Crear nuevas capacidades más allá de lo que es natural en la propia especie (p.e. conferir la capacidad de ecolocalización como el murciélago)

Biological enhancement

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY VOL. 282, NO. 45, PP. 32844–32855, NOVEMBER 9, 2007
© 2007 BY THE AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, INC. PRINTED IN THE U.S.A.



Overexpression of the Cytosolic Form of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (GTP) in Skeletal Muscle Repatterns Energy Metabolism in the Mouse^{*,§,†}

Received for publication, July 25, 2007, and in revised form, August 21, 2007. Published, JBC Papers in Press, August 23, 2007, DOI 10.1074/jbc.M706127200

Parvin Hakimi[‡], Jianqi Yang[‡], Gemma Casadesus[§], Duna Massillon[§], Fatima Tolentino-Silva^{§,¶}, Colleen K. Nye[‡], Marco E. Cabrera^{§,¶}, David R. Hagen[‡], Christopher B. Utter[‡], Yacoub Baghdy[‡], David H. Johnson^{||}, David L. Wilson^{||}, John P. Kirwan^{‡,†}, Satish C. Kalhan^{‡,†}, and Richard W. Hanson^{‡,†}

From the Departments of [‡]Biochemistry, [§]Nutrition, [¶]Pediatrics, ^{||}Neuroscience, and ^{||}Biomedical Engineering, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, Ohio 44106-4935 and the ^{††}Department of Gastroenterology/Hepatology and Pathobiology, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio 44195

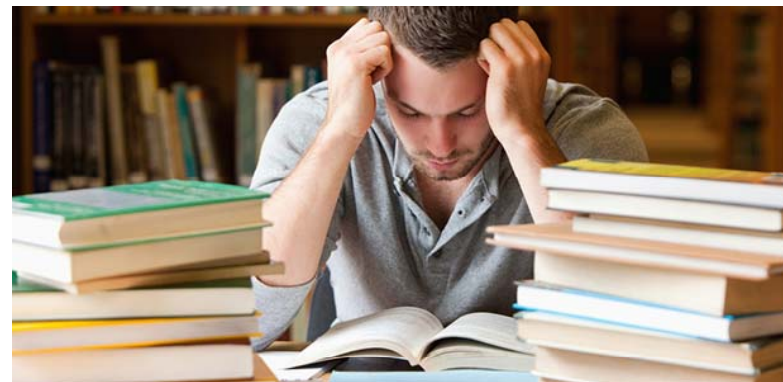
Transgenic mice, containing a chimeric gene in which the cDNA for phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) (PEPCK-C) (EC 4.1.1.32) was linked to the α -skeletal actin gene promoter, express PEPCK-C in skeletal muscle (1–3 units/g). Breeding two founder lines together produced mice with an activity of PEPCK-C of 9 units/g of muscle (PEPCK-C^{mus} mice). These mice were seven times more active in their cages than controls. On a mouse treadmill, PEPCK-C^{mus} mice ran up to 6 km at a speed of 20 m/min, whereas controls stopped at 0.2 km. PEPCK-C^{mus} mice had an enhanced exercise capacity, with a $\text{VO}_{2\text{max}}$ of 156 ± 8.0 ml/kg/min, a maximal respiratory exchange ratio of 0.91 ± 0.03 , and a blood lactate concentration of 3.7 ± 1.0 mM after running for 32 min at a 25° grade; the values for control animals were 112 ± 21 ml/kg/min, 0.99 ± 0.08 , and 8.1 ± 5.0 mM respectively. The PEPCK-C^{mus} mice ate 60% more than controls but had half the body weight and 10% the body fat as determined by magnetic resonance imaging. In addition, the number of mitochondria and the content of triglyceride in the skeletal muscle of PEPCK-C^{mus} mice were greatly increased as compared with controls. PEPCK-C^{mus} mice had an extended life span relative to control animals; mice up to an age of 2.5 years ran twice as fast as 6–12-month-old control animals. We conclude that overexpression of PEPCK-C repatterns energy metabolism and leads to greater longevity.

brown adipose tissue (see Ref. 1 for a review). However, this enzyme is also present in a broad variety of mammalian tissues (2), including the small intestine, colon, mammary gland, adrenal gland, lung, and muscle; its metabolic role in these tissues remains obscure. To study the physiological function of PEPCK-C, the gene has been overexpressed or ablated in specific tissues of the mouse. When PEPCK-C was overexpressed in white adipose tissue, the mice had increased rates of glyceroneogenesis in their adipose tissue and became obese (3). In contrast, ablating the expression of PEPCK-C in adipose tissue resulted in mice with lipodystrophy (4). However, a systematic study involving other mammalian tissues where the enzyme has been detected has not been undertaken.

We have overexpressed the gene for PEPCK-C in the skeletal muscle of transgenic mice to test the metabolic and physiological consequences. Skeletal muscle was selected as a target organ because there is no clear indication of the metabolic outcome of having a high activity of PEPCK-C in this tissue. Skeletal muscle does not synthesize and release glucose, although there have been reports over the years that the tissue can make glycogen *de novo* since both PEPCK-C and fructose-1,6-bisphosphatase activities have been found in skeletal muscle (5, 6). We have evidence from research ongoing in our laboratory³

Biological enhancement

- Tradicionalmente se aborda mediante una mejora ambiental → entrenamiento físico, refinamiento educativo y cultural



- Argumentos en contra: Bioconservadurismo
(Hans Jonas 1903-1993)
 - Imperativo de responsabilidad: “Actúa de forma que los efectos de tu acto sean compatibles con la permanencia de una vida humana genuina”
 - *Biological enhancement* → arrogante y peligroso por cuanto "... no estamos equipados para hacerle frente: No disponemos de la sabiduría, ni del valor del conocimiento, ni de la autodisciplina. "



- Argumentos a favor:

Tecnoprogresivismo

- Principio de beneficencia $\Rightarrow$ No escogerlo es erróneo
- Deber de socorro $\Rightarrow$ Éticamente equivalente al tratamiento de las enfermedades

Julian Savulescu
(1963 -)



- Argumentos en contra:
 - Jürgen Habermas : "... las intervenciones que persiguen la mejora ... violan el status fundamental de las personas como sujetos autónomos ... en tanto que ligan la persona modificada a quien ha decidido la mejora, mediante intenciones irreversibles de terceros, impidiendo una percepción espontánea de ser autor de su propia vida. "



Jürgen Habermas
(1929-)

- Argumentos a favor:

La argumentación de Habermas es exponente de un determinismo genético injustificado → confunde diseñar el genoma con diseñar la propia persona

Allen Buchanan
(1948 -)



- Argumentos en contra:
 - Jürgen Habermas : Las generaciones futuras se pueden encontrar modificadas, sin haber tomado parte en la decisión de hacerlo $\Rightarrow$ autonomía



Jürgen Habermas
(1929-)

- Argumentos en contra:

El diseño de los hijos modifica 3 conceptos básicos

(Michael Sandel, 2009):

- Humildad: Al no poder escoger nuestros hijos nos enseña a mantenernos abiertos a aquello que se recibe
- Responsabilidad: El diseño implica una elección y ésta debe ser adecuada, lo que nos convierte en responsables de ella

Michel Sandel
(1953 -)





- Argumentos en contra:

El diseño de los hijos modifica 3 conceptos básicos:

(Michael Sandel, 2009):

- Humildad: Al no poder escoger nuestros hijos nos enseña a mantenernos abiertos a aquello que se recibe
- Responsabilidad: El diseño implica una elección y ésta debe ser adecuada, lo que nos convierte en responsables de ella
- Solidaridad: Si nuestra dotación genética es un don tenemos la obligación de compartir los beneficios con los que no tienen ese mismo don, pero que no son responsables de sus limitaciones

Michel Sandel
(1953 -)



- Argumentos a favor:

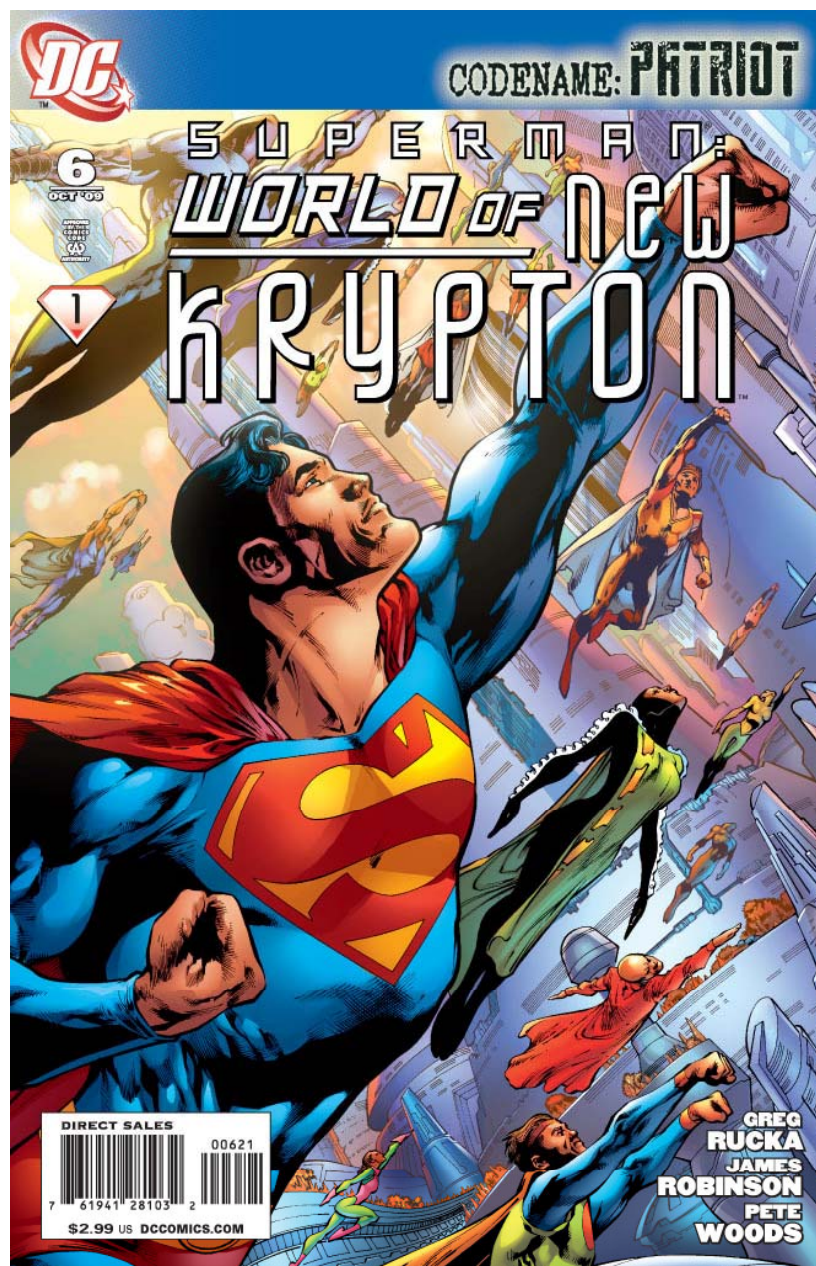
Contra la argumentación de Sandel:

- *Biological enhancement* no persigue la perfección, simplemente la mejora.
- La aceptación de lo que nos es dado, no es incompatible en buscar una mejora $\Rightarrow$ contrario a la "resignación".
- Si se acepta la mejora de lo que no funciona (medicina), porque el resto debe estar fuera de los límites de la mejora?



Biological enhancement

- Argumentos en contra
 - *Playing God* o contranatural
 - Valor de la diversidad
 - Inequidad: discriminación genética de los no mejorados
 - Insostenible: Costes sociales inasumibles → la mejora es autoeliminadora: la mejora persigue un bien posicional (proviene de la comparación)



- Los argumentos contrarios parecen asumir axiomáticamente :
 - que lo que donde nos ha llevado la evolución es lo mejor para la humanidad (→ falacia naturalista), sin tener en consideración lo que la humanidad se puede perder sin la mejora.
 - que deben implicar una injusticia distributiva (sólo accesibles a unos cuantos) → habría que velar para que no pasara (más fácil si es reconocida como un bien social)



Posicionamiento y estado actual

- **Asilomar 2** (*International Bioethics Committee UNESCO; German Academies. 2015*)
- **Favorable** (*International Summit on Human Gene Editing. National Academies of Sciences, Engineering and Medicine. 2015. European Group on Ethics in Science and New Technologies. 2016*)
 - Seguridad tecnológica
 - Percepción social

Posicionamiento y estado actual

- Hinxton Group (2015)
- Welcome Trust (2015)
- *Academy of Medical Sciences* UK (2015)
- Nuffield Council (2016)
- *European Academies' Science Advisory Council* (2017)



Posicionamiento y estado actual



Autorizar investigación básica y preclínica

Terapia génica: proporcionalidad

Mejoramiento del individuo y, por extensión, el de la propia especie humana

Edición genómica

- Innombrables propuestas y retos éticos apasionantes



y los que están por venir!!!!

Muchas gracias