

Rubén Martínez Cuesta

Steven David Velasco Muñoz

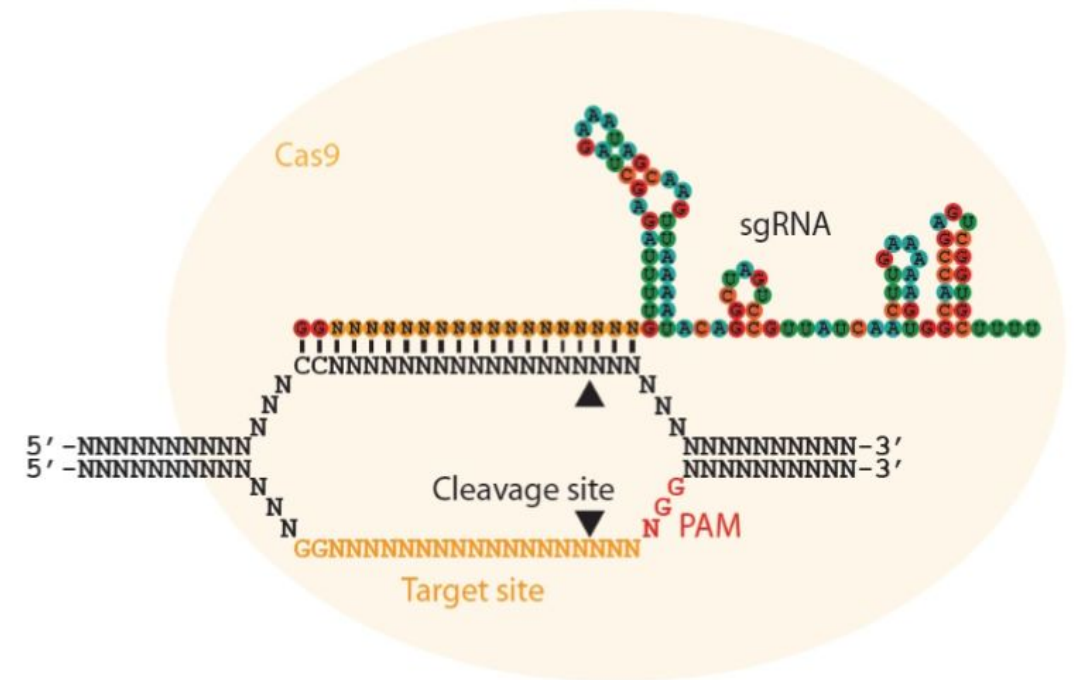
CRISPR EN TERAPIA GÉNICA

ÍNDICE

1. Introducción, ¿Qué es CRISPR?
2. Desventajas de CRISPR
3. Terapia frente a DMD
4. Terapia Génica frente a Progeria
5. Perspectiva ética

¿QUE ES CRISPR?

- Herramienta bacteriana a modo de sistema inmunológico frente a fagos.
- Contenida en su cromosoma y que emplea una proteasa (Cas) para escindir el material genético de virus bacterianos.
- Precisa un sgRNA que actúa como guía.
- Secuencias diana de 20 ntdos o secuencias PAM.



DESVENTAJAS DE CRISPR

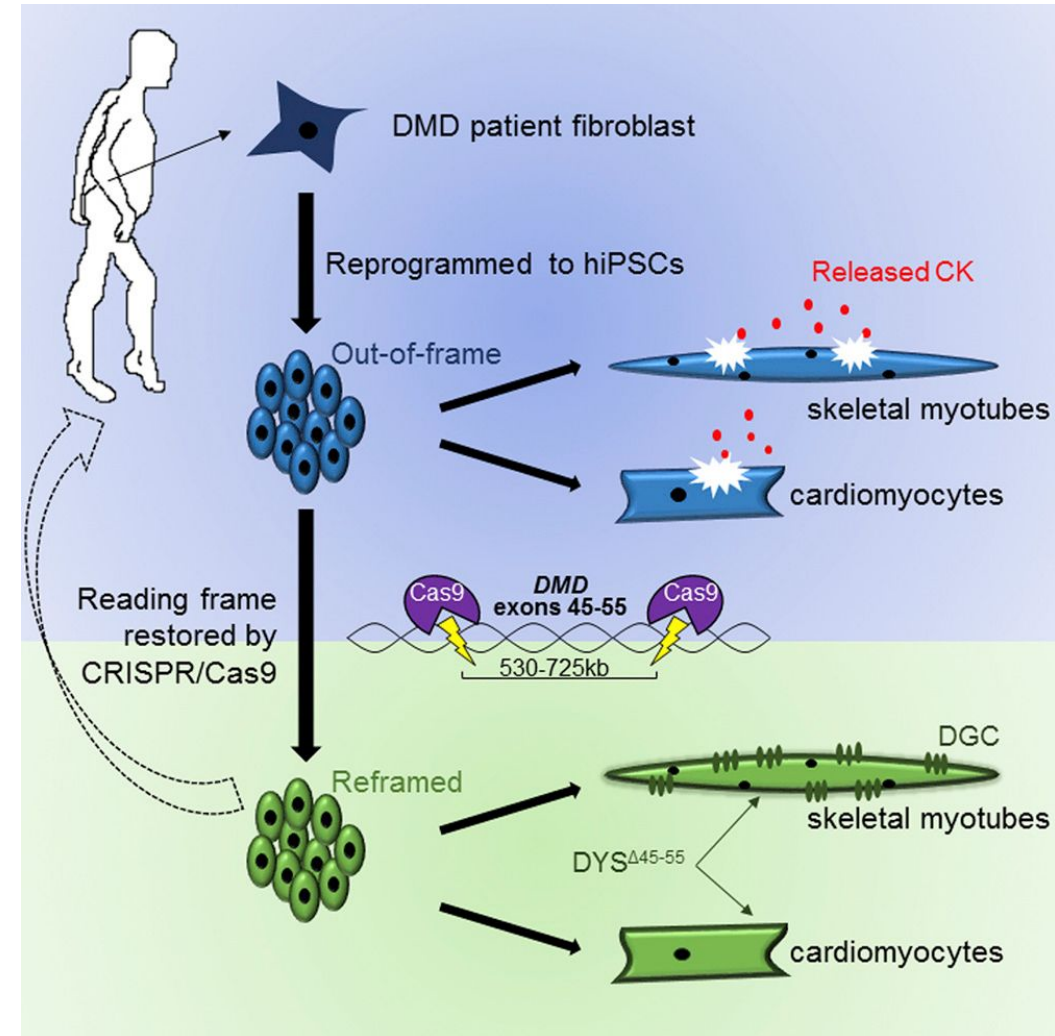
- Escisión de secuencias Off-Target → Cas9 modificada y nuevas Cas como:
 - CasX → Pequeño tamaño.
 - Cas12b → Procedente de bacteria termófila (*Alicyclobacillus acidiphilus*)

Las bacterias que las poseen no están presentes en humanos → No hay inmunidad.

- Puede facilitar la aparición de tumores según Novartis y el Instituto Karolinska. Necesidad de desactivar p53 → Divisiones incontroladas.

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

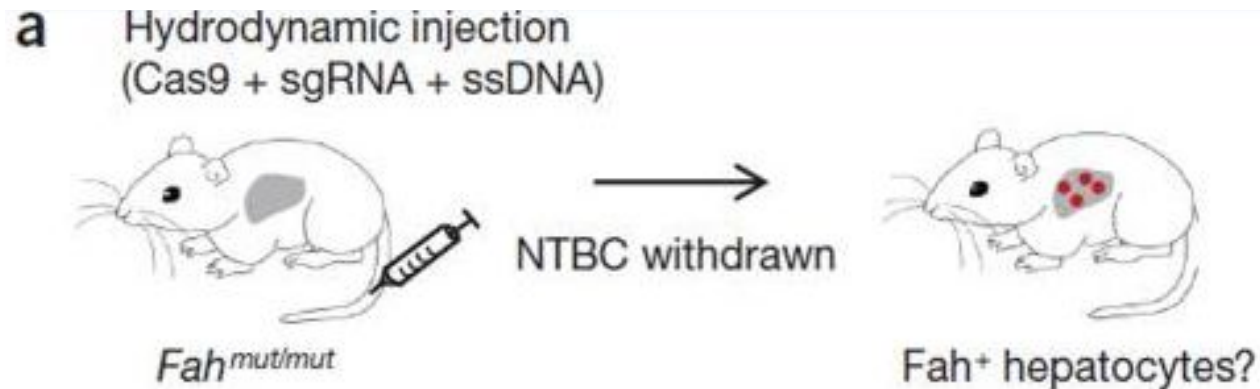
- Distrofia Muscular de Duchenne. Mutación en el gen *Dmd*
- Terapia Génica in vivo por eliminación de exones (por DSBs y NHEJ) para recuperar la transcripción correcta del gen de la **Distrofina**.
- Utilización de Fibroblastos para obtener hiPSCs



POTENCIAL PARA MODIFICACIÓN *IN VIVO*

- Intramuscular, Intraperitoneal o Intravenoso.
- Empleo de vectores víricos como AAV8 or AAV9.
- Tirosinemia en ratones en 2014 (como 1er experimento)

(Xue et al., 2016)

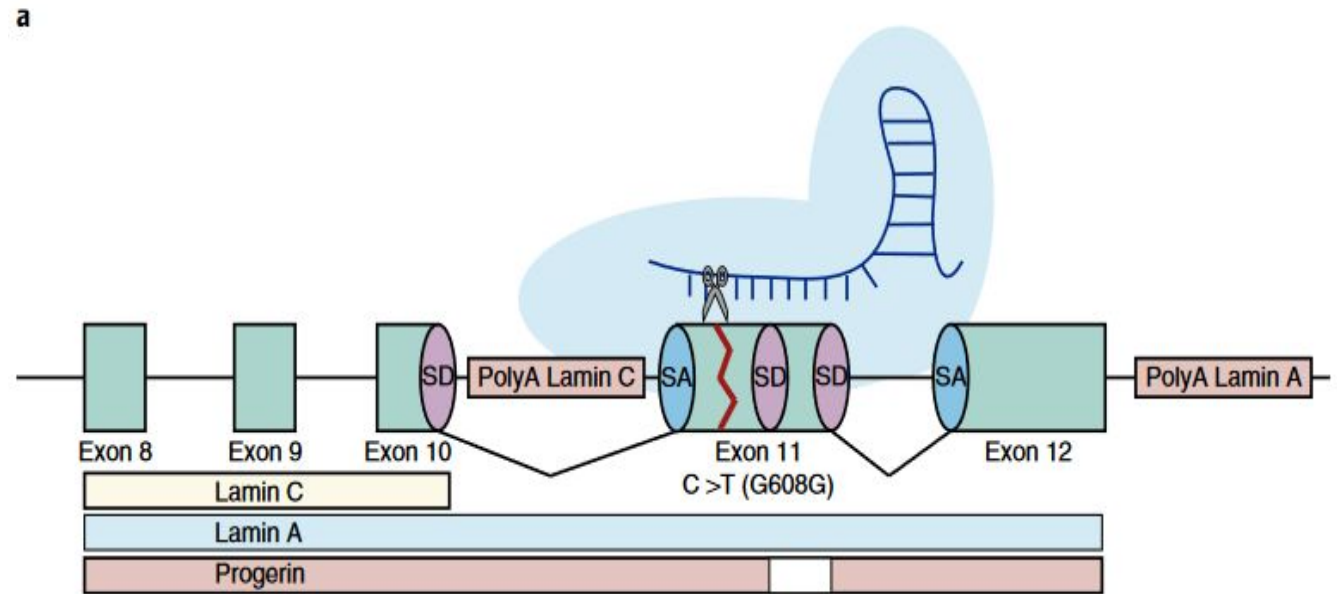


5'...CCTCATGAACGACTGGAGC**G**gtaatgcctggtgg...3' ssDNA
5'...CCTCATGAACGACTGGAGC**A**gtaatgcctggtgg...3' genomic

(Xue et al., 2014)

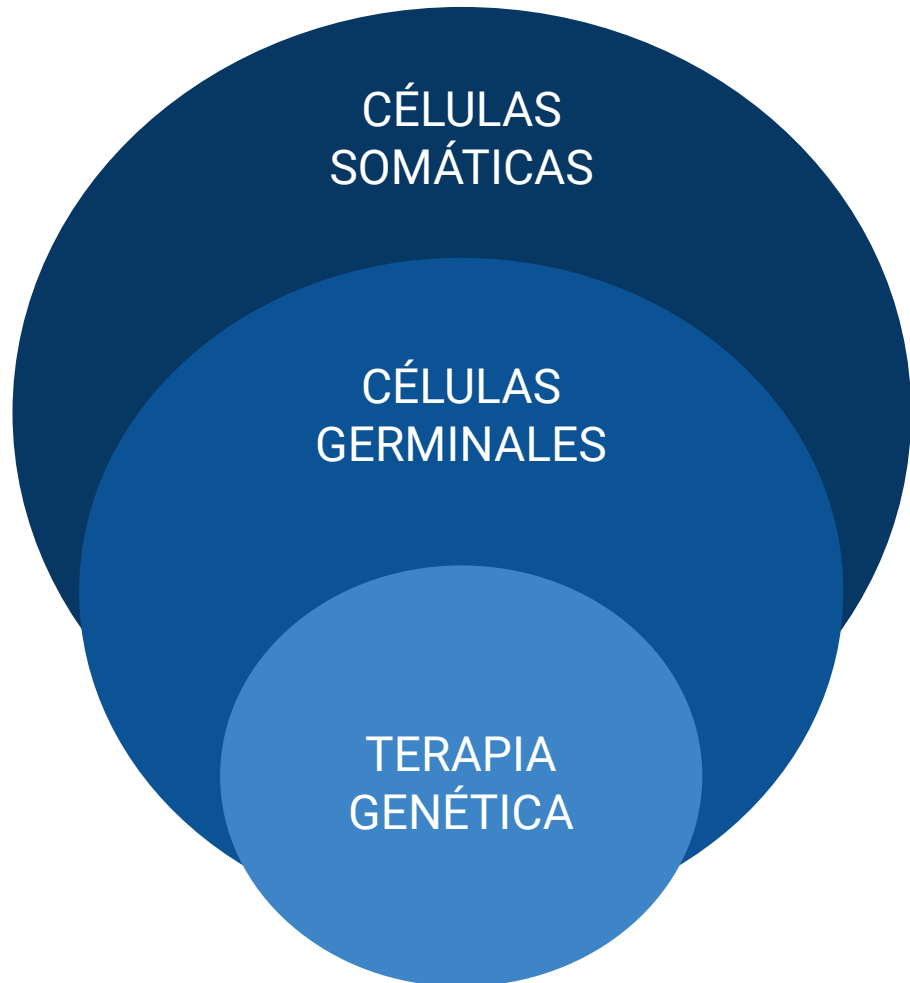
TERAPIA GÉNICA CONTRA LA PROGERIA O SÍNDROME DE HUTCHINSON-GILFORD

- Estudio de López-Otín.
- Edición del gen LMNA
- Mutación en la enfermedad que provoca la síntesis de una proteína tóxica → Envejecimiento prematuro
- Éxito en el 15% de células del hígado



(Santiago-Fernández et al.,
2019)

CÉLULAS MODIFICABLES



La edición genética de células somáticas tiene el objetivo de reparar o eliminar una mutación que podría causar una enfermedad.

La diferencia está en que, en la utilización en células germinales, la alteración de la secuencia genómica de ese organismo podría alcanzar a su descendencia de un modo que es aún impredecible.

Una mirada a la Bioética

A dark blue diagonal graphic element that starts from the bottom left corner and extends towards the top right corner, creating a triangular shape in the lower half of the slide.

LEGISLACIÓN Y PROBLEMAS ÉTICOS

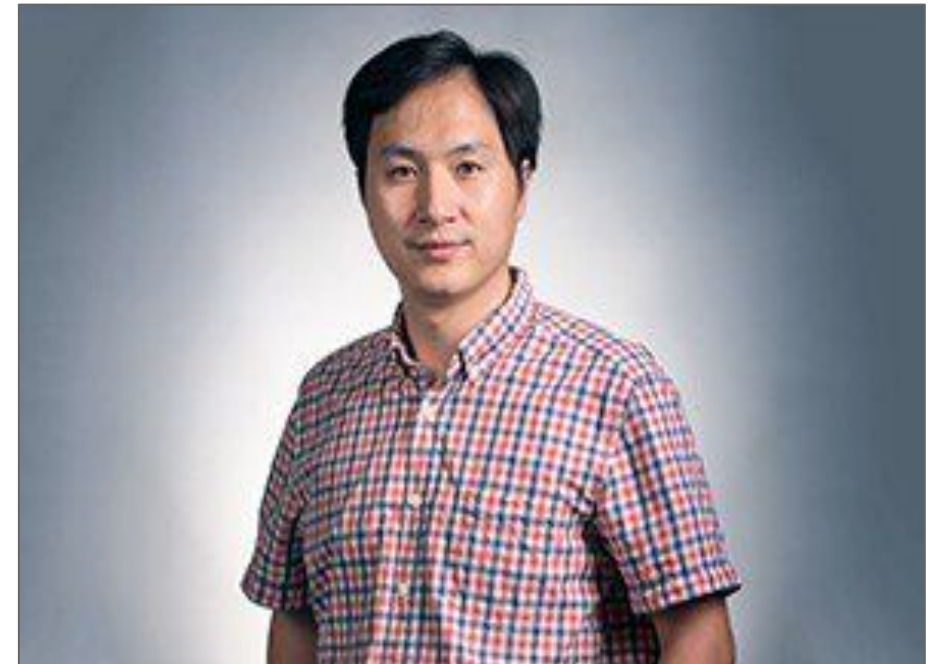
- **Trabas legislativas en la Unión Europea.**

*“The more pressing question for policy makers at this moment is whether germline genome editing technology research should be suspended, under which conditions it could proceed, and in this respect varying views have been articulated. The EGE is of the view that this question warrants careful consideration, given the profound potential consequences of this research for humanity. It has been suggested that research with a clinical application, as distinct from basic research, should be subject to a **moratorium**. We would be cautious in terms of whether such a clear-cut distinction can be made between basic and translational research. Likewise, the blurring of the lines between clinical applications in pursuit of therapeutic or enhancement goals (albeit the ethical issues pertaining to each may be different), must be considered.”*

EUROPEAN GROUP ON ETHICS IN SCIENCE AND NEW TECHNOLOGIES

ENSAYO EN HUMANOS

- **El caso de las gemelas chinas: He Jiankui modificó el gen CCR5 con el objetivo de crear descendencia libre de sida en dos embriones.**
- **Múltiples fallos a la hora de seguir el protocolo**
- **Aludio a un informe de 22 expertos de la Academia de Ciencias de EEUU publicada en 2017**



reacción global

España

las técnicas de edición genómica como CRISPR/Cas9 suponen un gran avance,

Su uso con fines de mejoramiento, como ha ocurrido en el caso de las dos niñas nacidas en China, es absolutamente inadmisibile, al constituir un mero programa eugenésico, al existir actualmente otras alternativas para prevención de la transmisión del VIH.

China

Esto es un gran golpe para la imagen y el desarrollo de las ciencias de la vida chinas. Es extremadamente injusto hacia tantos científicos honestos y sinceros que trabajan para respetar las prácticas éticas en las ciencias".

“Le dije que la tecnología no es lo suficientemente eficiente ni precisa para su aplicación en embriones en el mundo real” Zhang

EEUU

Eric Topol sentencia: "Eso no es buena medicina".

**“más allá de sus buenas intenciones (ya sean reales o fingidas), esta tecnología tiene gran carga ética porque las generaciones futuras heredarán los cambios en los embriones y podrían afectar a la totalidad del conjunto genético”
David Baltimore**

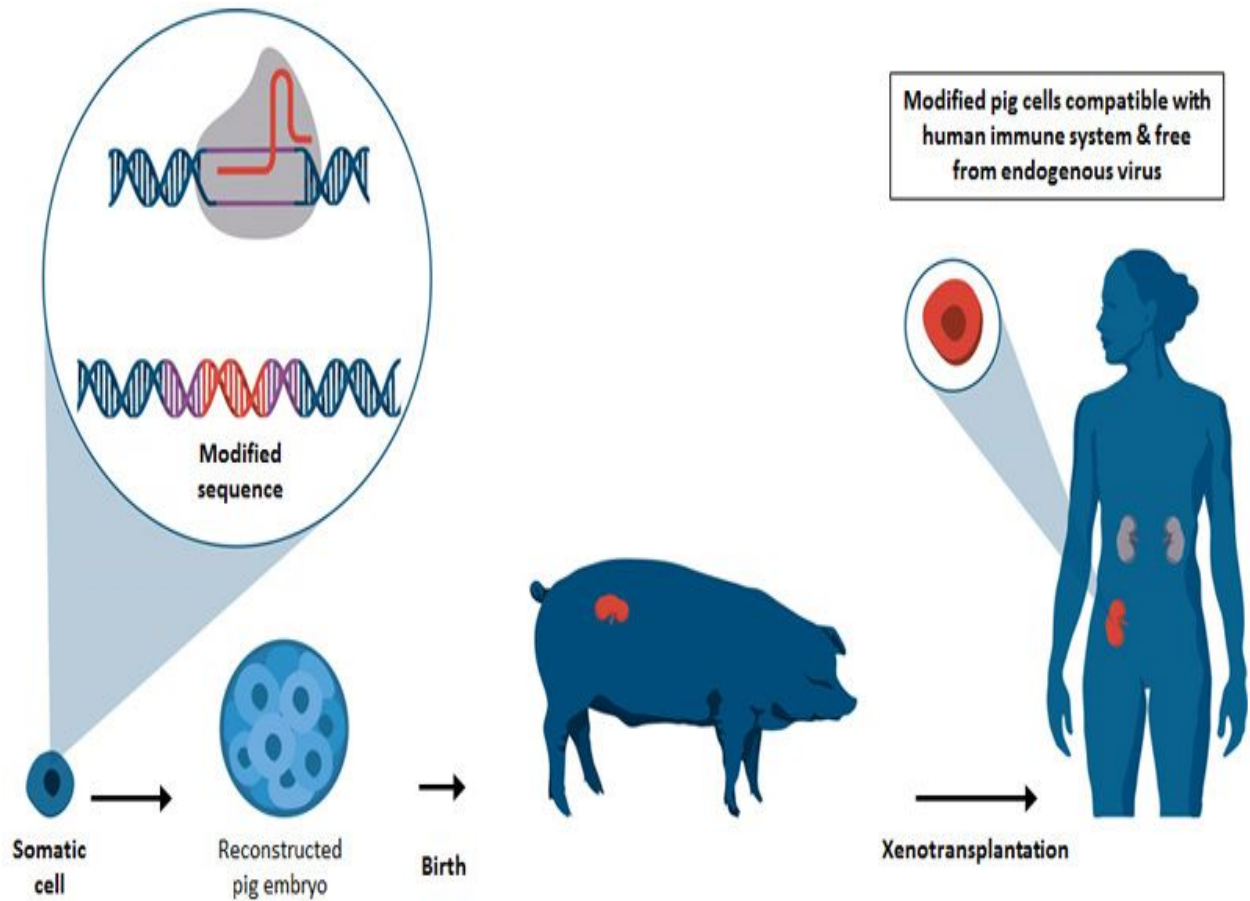
VENTAJAS

factores beneficiosos de la edición genética

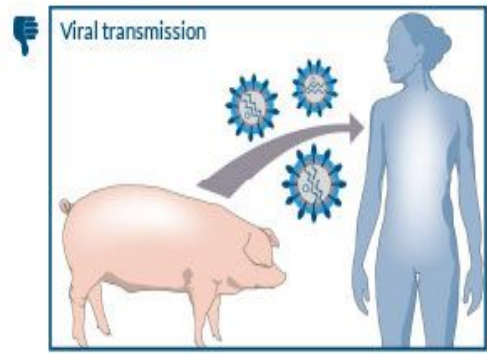
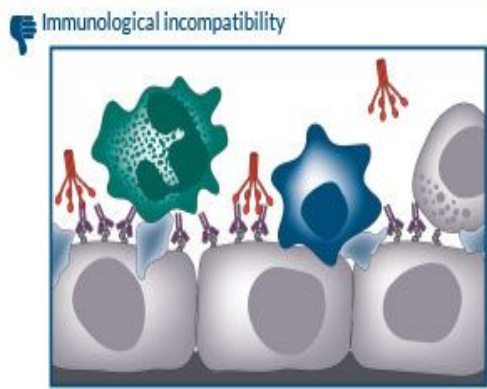


- Principal arma para combatir enfermedades
- beneficios ajenos al uso en humanos

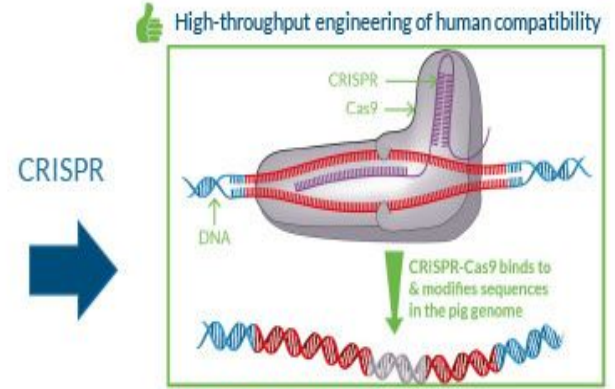
XENOTRASPLANTE



Xenotransplantation challenges



eGenesis' solutions

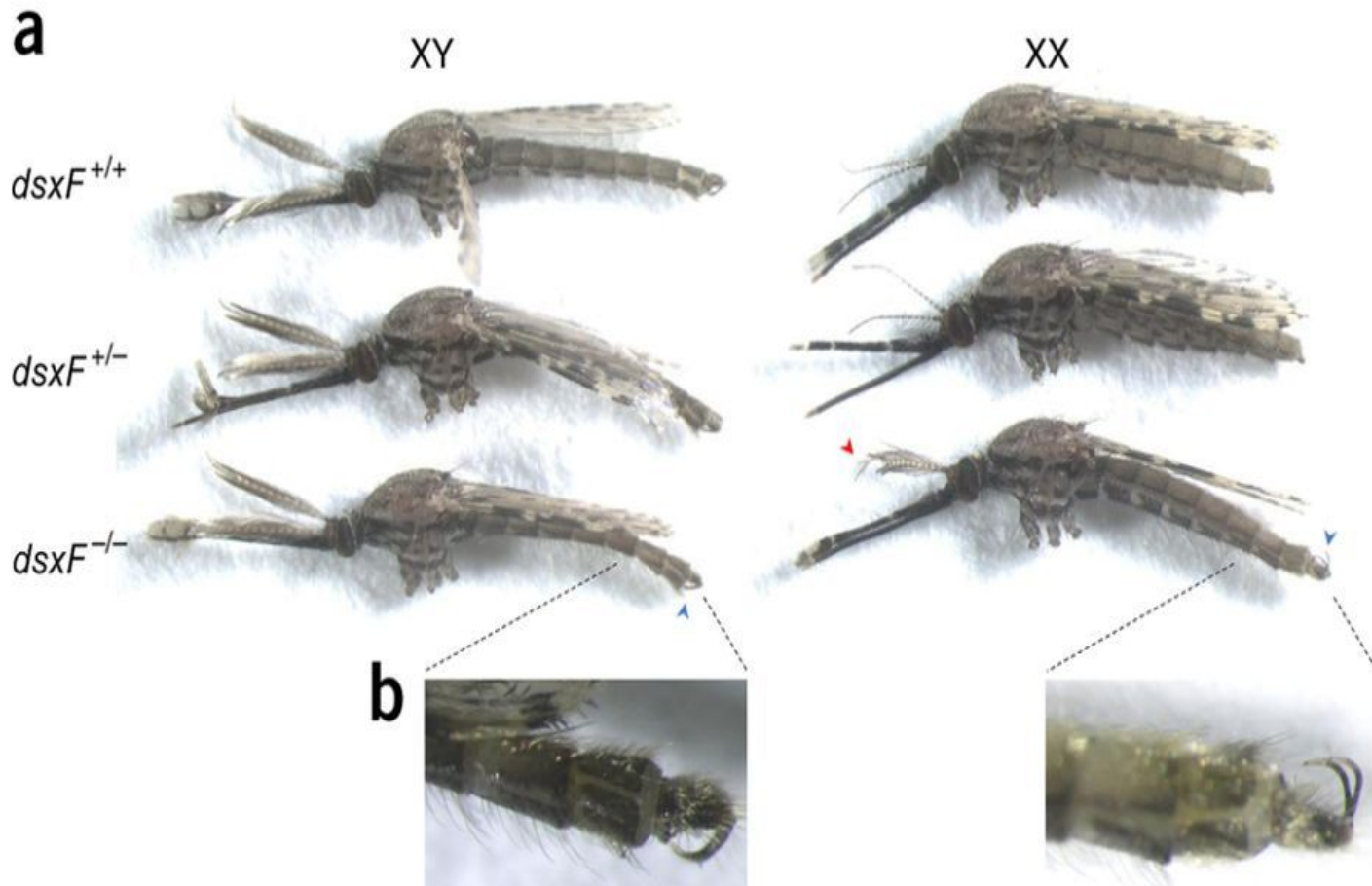


Mali*, Yang* et al., 2013, *Science*;
Cong, et al., 2013, *Science*; Jinek, et al., 2013, *eLife*



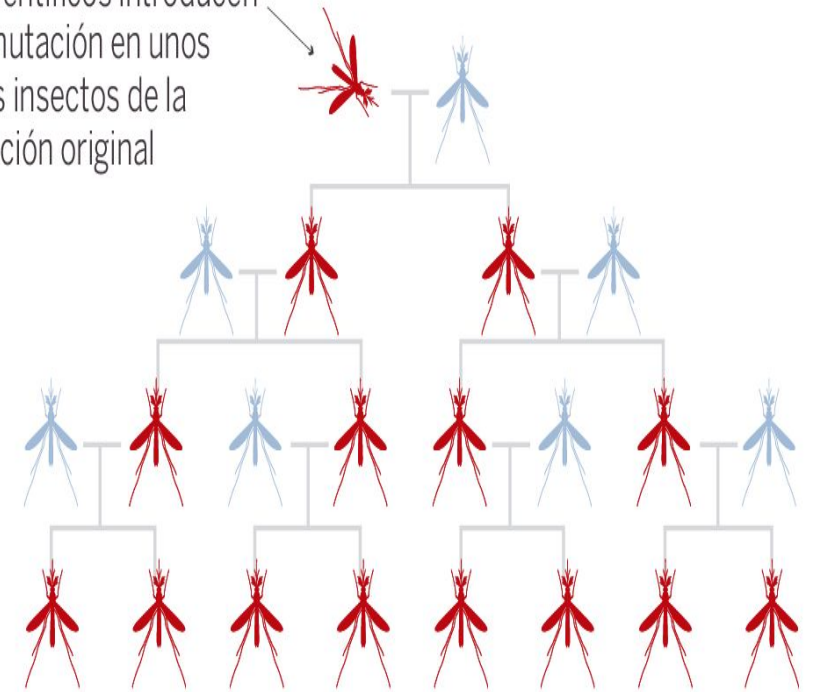
Yang et al., 2015, *Science*

GENÉTICA DIRIGIDA Y CRISPR



IMPULSO GENÉTICO

Los científicos introducen una mutación en unos pocos insectos de la población original



La mutación se extiende a más individuos en cada generación, hasta afectar a todos los mosquitos

DESVENTAJAS

problemas a los que se enfrenta la ética

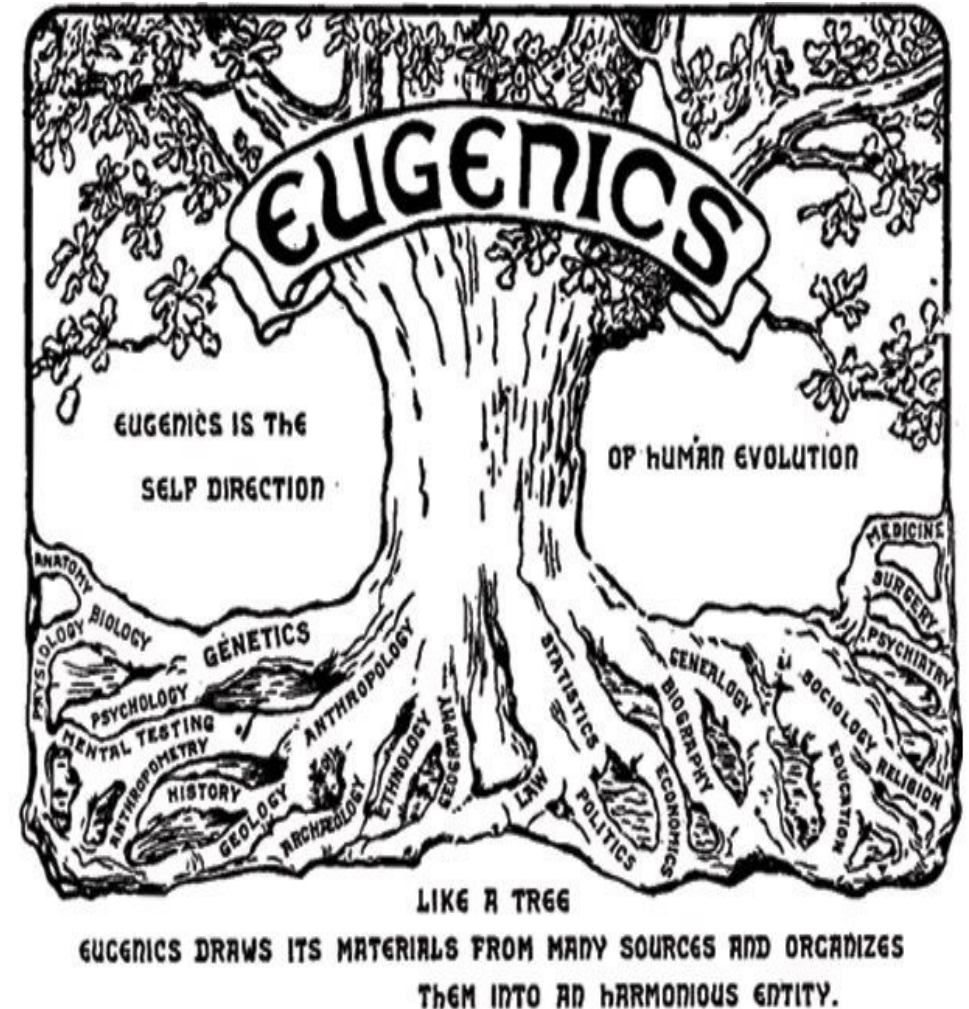
```
graph LR; A[problemas a los que se enfrenta la ética] --> B[uso en prácticas eugenésicas]; A --> C[riesgo de efectos imprevistos en las generaciones futuras];
```

uso en prácticas eugenésicas

riesgo de efectos imprevistos
en las generaciones futuras

MÉTODOS EUGENÉSICOS

- significa “buen nacimiento”.
- intenta aplicar las leyes biológicas de la herencia para perfeccionar la especie humana.
- La eugenesia supone una intervención en los rasgos hereditarios para ayudar al nacimiento de personas más sanas y con mayor inteligencia.



BIBLIOGRAFÍA

- Tabebordbar, M., Zhu, K., Cheng, J. K., Chew, W. L., Widrick, J. J., Yan, W. X., ... & Cong, L. (2016). In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. *Science*, 351(6271), 407-411.
- Santiago-Fernández, O., Osorio, F. G., Quesada, V., Rodríguez, F., Basso, S., Maeso, D., ... & Freije, J. M. (2019). Development of a CRISPR/Cas9-based therapy for Hutchinson–Gilford progeria syndrome. *Nature medicine*, 1.
- Xue, W., Chen, S., Yin, H., Tammela, T., Papagiannakopoulos, T., Joshi, N. S., ... & Zhang, F. (2014). CRISPR-mediated direct mutation of cancer genes in the mouse liver. *Nature*, 514(7522), 380.