



Temas actuales: el sistema CRISPR/Cas9

Bioinformática

22-2-19

Elvira Mayordomo



Hoy

- ¿Qué es CRIPR/Cas9?
- Retos bioinformáticos
- Gene drive
- Hasta dónde ha llegado
- Temas éticos



En la naturaleza

- Un mecanismo interesante de defensa de las bacterias contra los virus
- Usando RNA guía y proteína Cas9
- el RNA guía se une a su DNA complementario en el virus y Cas 9 lo corta
- La célula repara el DNA introduciendo mutaciones o incluso un nuevo fragmento



Vídeo de CRISPR/Cas9

- CRISPR/Cas9 (MIT)
- <https://www.youtube.com/watch?v=2pp17E4E-O8>



¿Jugando a ser Dios?

- Desde 2013 existe un sistema llamado CRISPR/Cas9 que da mucho miedo ...
- Permite
 - Editar genes
 - Regular genes
- Usa
 - Proteína Cas9
 - RNA guía



CRISPR/Cas9

- Se pueden cambiar varios genes a la vez
 - Muy útil para enfermedades complejas multifactoriales
- También se puede usar en células madre
 - Se transforman en cualquier otra célula
- y en huevos fertilizados ...
 - Produciendo animales transgénicos que porten los genes alterados



Editar genes

- Agrega, interrumpe o cambia las secuencias de genes específicos
- Para ello se administra la proteína Cas9 y los RNA guía apropiados a una célula
 - el genoma de esta puede cortarse en los lugares deseados (secuencias complementarias a las de los RNA guía utilizados)



Reparación

- reparación del corte realizado por la maquinaria celular de reparación del DNA
 - Reparación aleatoria
 - Utilizando una plantilla de DNA alternativa
- Esto permite la eliminación de genes o la introducción de mutaciones



Retos bioinformáticos

- Sistemas de diseño de RNA guía (sgRNA) para
 - Edición de genes
 - Regulación de genes
- Deben ser eficientes y específicos ...

Son como mucho 20 bp



Retos bioinformáticos

- Sistemas de diseño de RNA guía (sgRNA)

...

- El problema es que el RNA guía coincida con demasiados objetivos, el original y alguno no deseado (off-target)

Este es el gran problema de CRISPR, los off-target (menos que en métodos anteriores)

Los efectos no deseados pueden ser graves



Herramientas bioinformáticas

- [https://en.wikipedia.org/wiki/CRISPR/Cas Tools](https://en.wikipedia.org/wiki/CRISPR/Cas_Tools)
- <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools.html>
- [http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/breakingcas/?gset=7x1 GENOMES Ensembl 91](http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/breakingcas/?gset=7x1_GENOMES_Ensembl_91)



Gene drives

- “Gene drive” es estimular la **herencia sesgada** de determinados genes para **alterar poblaciones enteras**
- Se ha propuesto como técnica para **cambiar las poblaciones silvestres de organismos nocivos**, como los mosquitos (controlar las especies invasoras o para eliminar la resistencia a herbicidas o pesticidas, etc).
- añadir, interrumpir o modificar genes, incluyendo algunos que reducir la capacidad reproductiva y pueden causar un desplome de la población



Gene drives

- La idea es añadir mosquitos que además del gen beneficioso (recesivo) lleven el mecanismo para modificar el gen perjudicial (dominante)
- Estos mosquitos artificiales llevan el DNA deseable y el RNA guía
- **Probado con éxito** en 2015 (levaduras, mosquitos y moscas)



Vídeo de Gene drive

- Gene drive (Wyss Institute, Harvard):

<https://www.youtube.com/watch?v=Cy69C6vnFCQ>



Más: Regular genes

- Modificación reciente del sistema CRISPR/Cas9
- Permite actuar sobre la transcripción de los genes
- Modifica sólo su nivel de funcionamiento, pero no la información genética



Más: usando CRISPR para análisis

- No es importante la reparación sino la cuantificación de cada mutación
- Se han reevaluado relaciones entre genes y enfermedades



Más: ya conseguido

- Inactivación de genes tanto en laboratorio como en vivo
- Identificación de levaduras patógenas
- Modificación de levaduras para producir diésel
- Modificación genética de cosechas
- Modificación genética de mosquitos para que no transmitan malaria y otros



Más: ya conseguido

- Crear animales transgénicos para el estudio de enfermedades
- Estudio de la resistencia a antibióticos
- Borrar cromosomas enteros (aplicación en aneuploidías)



Más: la realidad supera la ficción ...

- En China se permite el uso en humanos vivos (estudios con cáncer)
- En la UE (UK) sólo en preembriones que deben ser descartados
- ... por ¿suerte? de momento los off-targets y la reparación son un problema



Más: la realidad supera la
ficción ...

- ¿es permisible la eugenesia?



Escrito recientemente ...

- Gene drives may be capable of addressing ecological problems by **altering entire populations of wild organisms**, but their use has remained largely theoretical due to technical constraints. Here we consider the potential for RNA-guided gene drives based on the CRISPR nuclease Cas9 to serve as a **general method for spreading altered traits through wild populations over many generations**. We detail likely capabilities, discuss limitations, and provide **novel precautionary strategies to control the spread** of gene drives and reverse genomic changes. The ability to edit populations of sexual species would offer **substantial benefits** to humanity and the environment. For example, RNA-guided gene drives could potentially prevent the spread of disease, support agriculture by reversing pesticide and herbicide resistance in insects and weeds, and control damaging invasive species. However, **the possibility of unwanted ecological effects and near-certainty of spread across political borders demand careful assessment of each potential application**. We call for thoughtful, inclusive, and well-informed **public discussions** to explore the **responsible use** of this currently theoretical technology.



Referencias

- Mali, P; Esvelt, K. M.; Church, G. M., "Cas9 as a versatile tool for engineering biology". *Nature Methods* **10** (10): 957–63 (2013)
- H. Ledford, "CRISPR, the disruptor". *Nature* **522** (7554): 20–24 (2015)
- A. Crauciuc, F. Tripon, A. Gheorghiu, G. Nemes, A. Boglis, C. Banescu, "Development, Applications, Benefits, Challenges and Limitations of the New Genome Engineering Technique. An Update Study". *Acta Medica Marisiensis* 63(1):4-9 (2017)