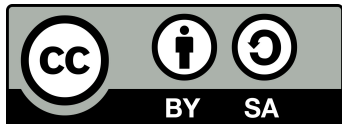
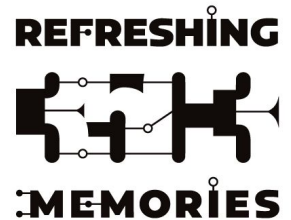


Genom-Editierung mit CRISPR/Cas

“Eine neue Hoffnung” oder “Angriff der Klonkrieger”?



Anna Müllner, Katrin Leinweber, André Lampe



Genom-Editierung mit CRISPR/Cas

Episode IV

A NEW HOPE

?

Episode II

ATTACK OF THE CLONES

?

Megatrend Gen-Schere: Bis zu 290% mit CRISPR Therapeutics und Co – so geht es weiter

Genetische Pflanze?

in Organismen einschleusen, die auch natürlich an, ob so veränderte Pflanzen unter das

Spektrum.de

Kommentar
17.02.2017
Lesedauer ca. 2
Minuten
[Drucken](#)
[Teilen](#)

CRISPR/CAS9

Der Kampf um die Genschere fängt erst an

Das US-Patentamt urteilte im viel beachteten Patentstreit um CRISPR/Cas9. Doch der Ärger fängt jetzt erst richtig an: Die Zukunft des Gene Editing wird wohl vor Gericht entschieden.

von Lars Fischer



CRISPR Grundlagen

Die Wissenschaft

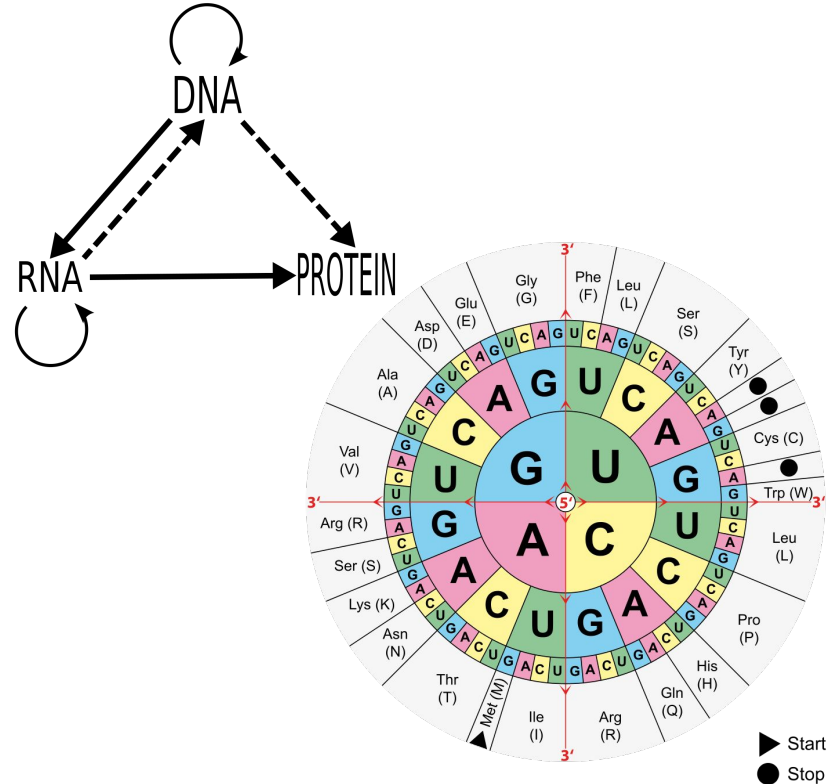


- ➔ Ein Labor-Werkzeugkasten aus dem bakteriellen Immunsystem

Grundlage: DNA & ihre Veränderung

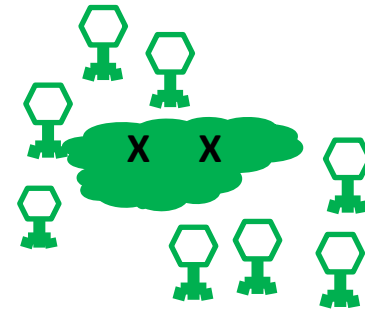
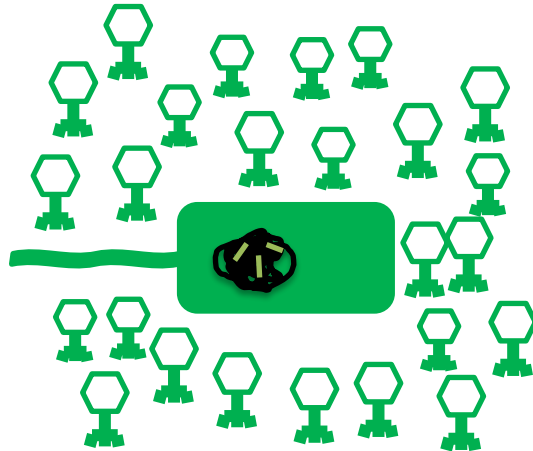
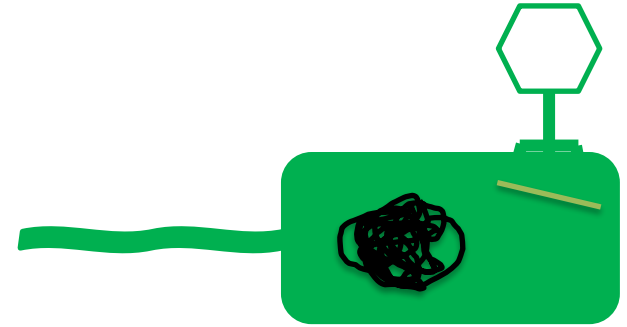
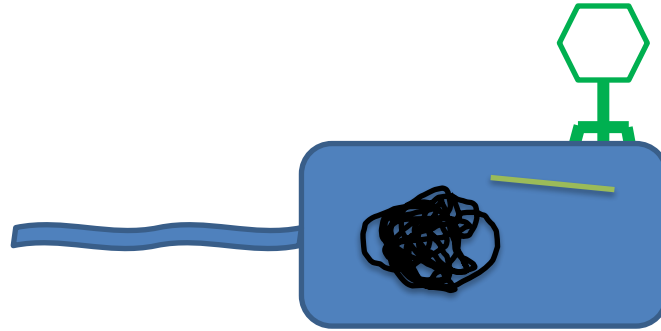
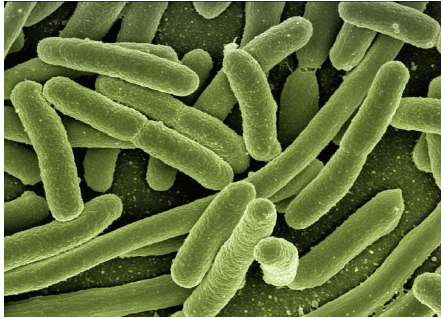
DNA

- DNA -> RNA
 - DNA und RNA haben ein Leseraster
 - 3 Basen = 1 Aminosäure
 - Viele Aminosäuren = 1 Protein
 - 4 Basen - 20 Aminosäuren

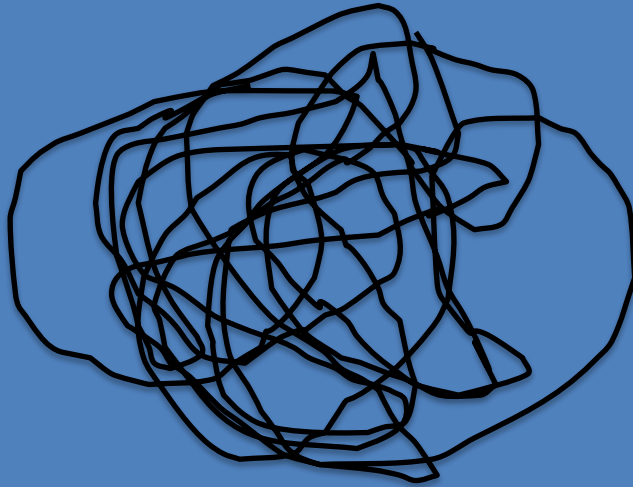


Jennifer Doudna, Emmanuelle Charpentier und Feng Zhang

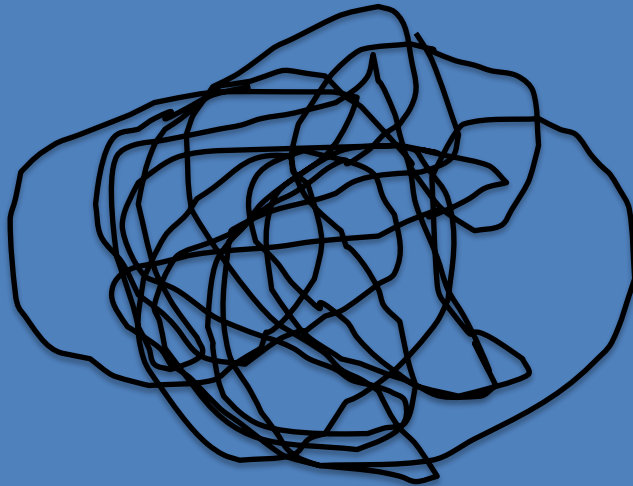
Bakterielles "Immunsystem"



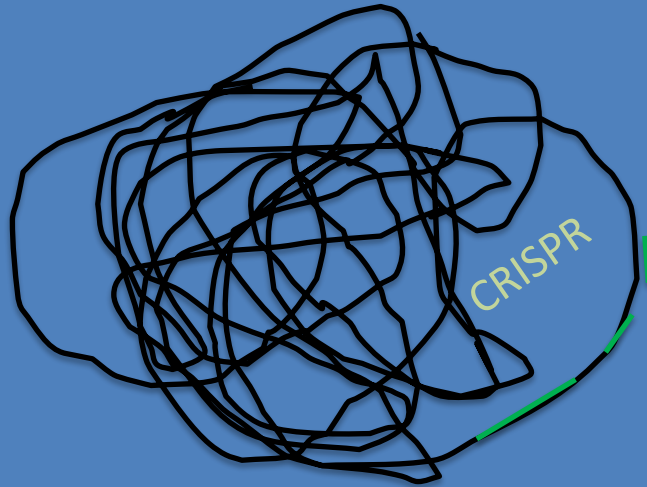
Was ist CRISPR?



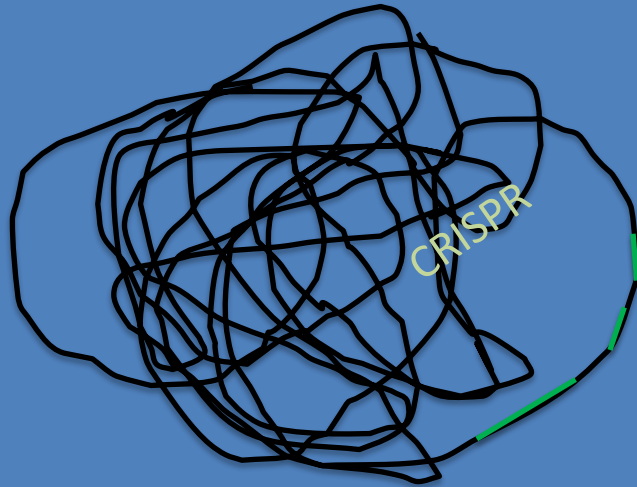
Information zerstückeln



Abspeichern = CRISPR

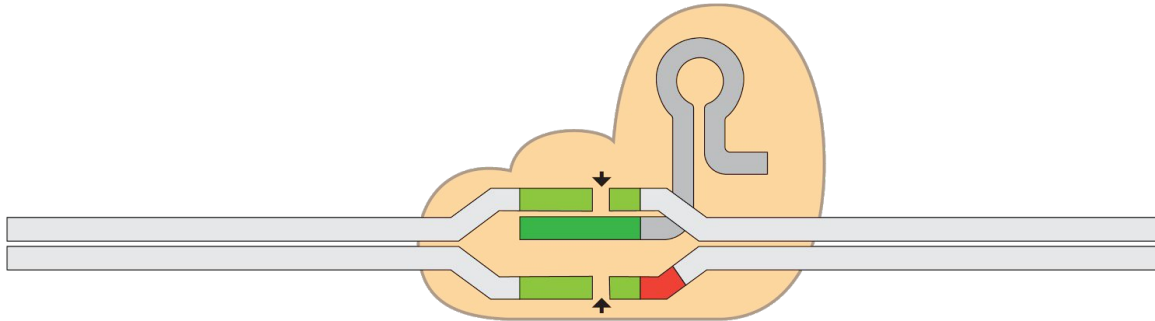


Erkennen und Vernichten



Erkennungssequenz

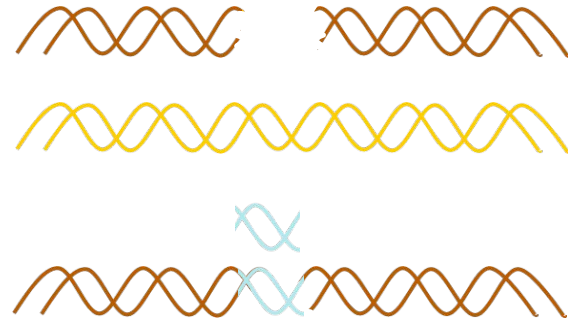
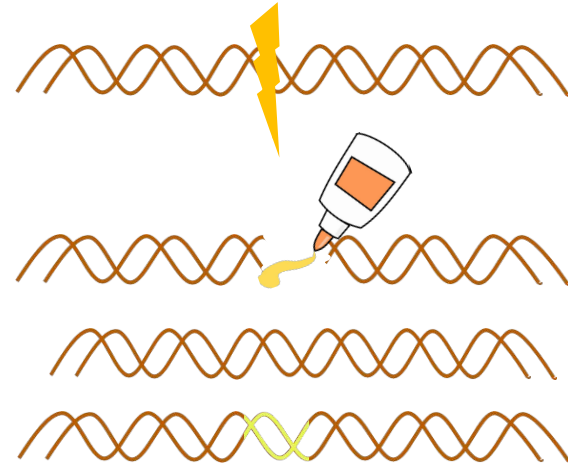
- Cas9 schneidet am Basentriplett “NGG”
- Kommt in jedem Genom überall vor
- 20 Basen als Erkennungssequenz → guideRNA (LeitRNA)
→ gRNA



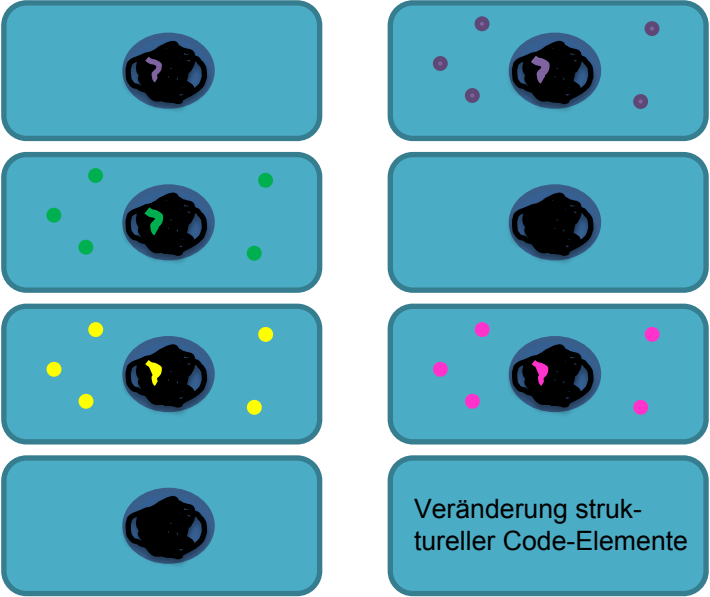
Grundlage: Anwendung

✓ Indel: Insertions and Deletions
Verschiebung des Leserasters
Gen wird zerstört

✓ Einfügen neuer Information
spezifisch



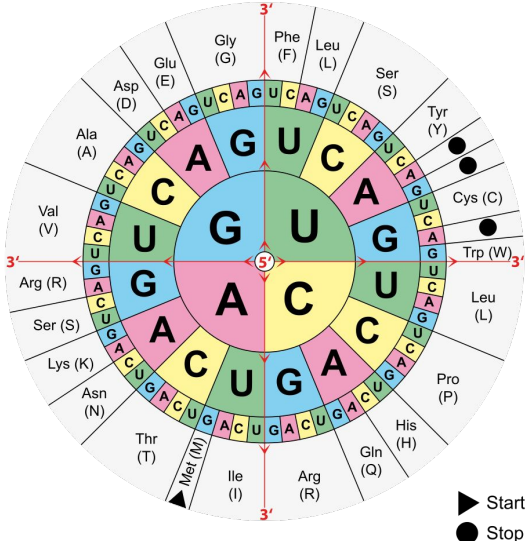
Modelle



Finding with Options: Case Sensitive A a

GGAATTCC

TTCCGGAA



Grundlagenforschung: Irgendwas ändern und gucken was passiert.

Technikvergleiche

- Cas9 \approx Virenschanner mit gRNA als -signatur [KonScience.de/kns029](https://www.konscience.de/kns029)
- CRISPR-Cas als Werkzeug oft verglichen mit:

Finding with Options: Case Sensitive **Aa**

GGAATTCC

TTCCGGAA

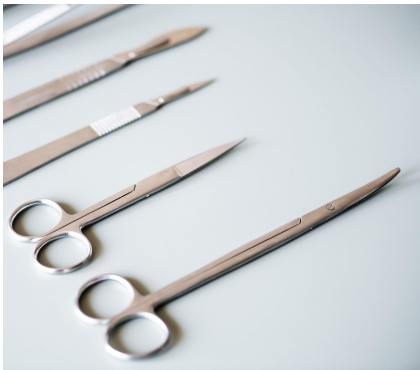
Aber bei “off-target effects” eher:

Finding with Options: Regex, Case Insensitive **Aa**

GG[AT]{4}CC

TTCCGGAA

[Forscher
geist.de
/podcast
/fg064](https://www.forschergeist.de/podcast/fg064)

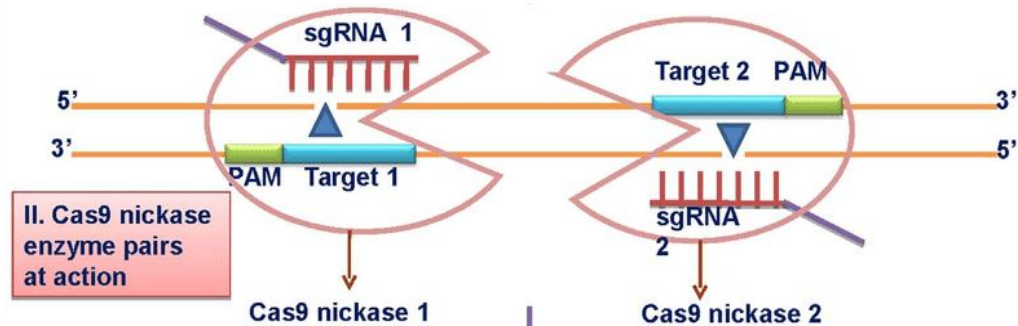


[Daisy
Ginsberg
.com
/work
/crispr
-emoji](https://www.daisy-ginsberg.com/work/crispr-emoji)

**OTEs \Leftarrow Diskussion über
Nebenwirkungen**

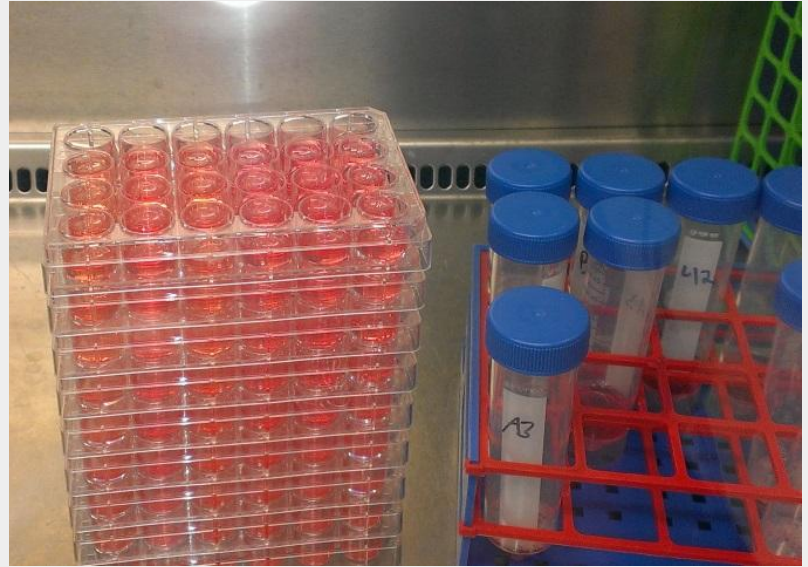
Es geht aber noch genauer

- Cas9 hat eine gewisse Fehlertoleranz
 - ⇒ Bioinformatik-Tools ([GitHub.com/topics/crispr](https://github.com/topics/crispr))
- Cas9-Nickase
 - Basiert auf 2x 20 Basen langer gRNA
- Unterschiedliche Cas-Proteine schneiden unterschiedlich spezifisch
- Anti-CRISPR-Proteine



CRISPR Grundlagen

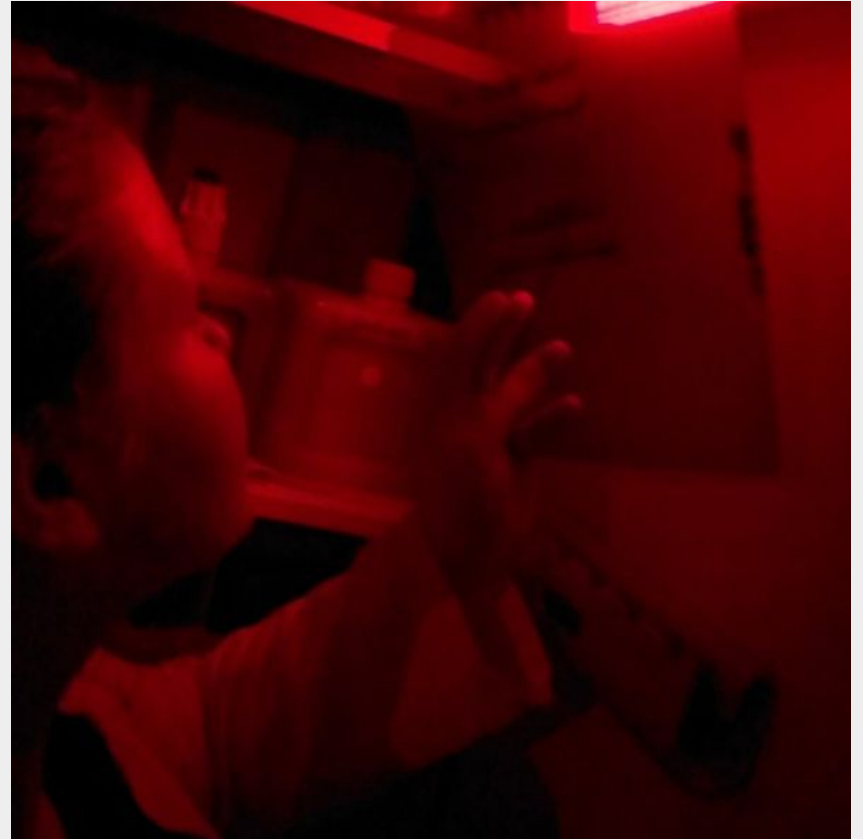
Die Wissenschaft



- ✓ CRISPR erleichtert die Grundlagenforschung (günstig, schnell, präzise)

CRISPR in der Medizin

Spezifischer Helfen



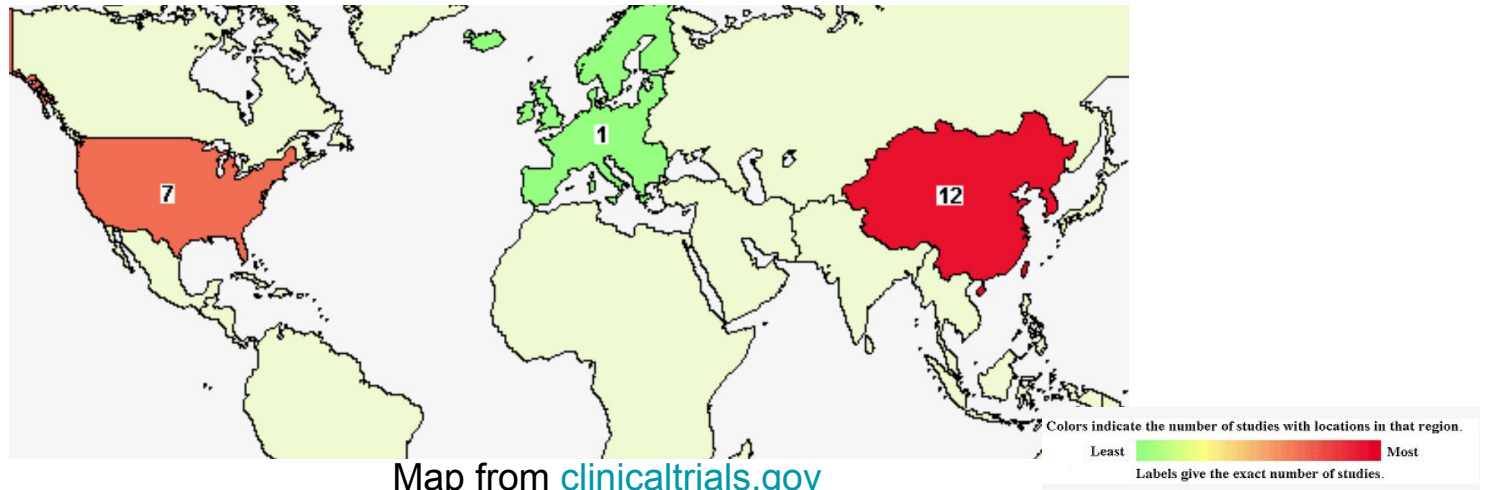
CRISPR in der Medizin

- Ist eine Heilung genetischer Krankheiten möglich?
 - Theoretisch ja, wenn:
 - Monogenetisch - nur ein Gen betroffen
 - Häufig dieselbe Mutation
 - Kein GenDoping
- Wie kommt CRISPR/Cas in die Zelle?
 - Stammzellen aus dem Körper gewinnen, extern behandeln und zurückführen



Klinische Studien

- Ca. 20 erste Studien zu CRISPR auf Clinicaltrials.gov gemeldet
- Erschaffung von CAR-T-Zellen gegen Krebs
 - Immunzellen werden aus dem Patienten gewonnen, verändert und wieder zugeführt
 - Bereits zugelassene Therapie aber neuer Weg über CRISPR
- β -Thalassämie
- HPV



Phenylketonurie



Villiger *et al.* (2018)

doi.org/10.1038/s41591-018-0209-1

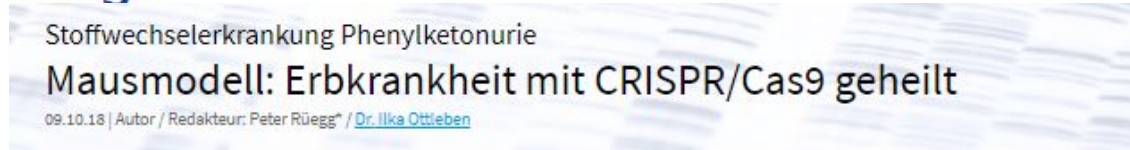
Erbkrankheit mittels Genkorrektur geheilt

08.10.2018 | News

Von: Peter Rüegg

Ein Forschungsteam der ETH Zürich und des Kinderspitals ein neu entwickeltes Korrekturwerkzeug angewandt, um einen gezielt zu korrigieren. Damit heilten die Wissenschaftler die an einer vererbten Stoffwechselerkrankung litten, die einen betrifft.

<https://www.ethz.ch/de/news-und-veranstaltungen/eth-news/news/2018/10/erbkran>



Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie

Mausmodell: Erbkrankheit mit CRISPR/Cas9 geheilt

09.10.18 | Autor / Redakteur: Peter Rüegg* / Dr. Ilka Ottleben

Im Rahmen des so genannten Neugeborenen-Screenings werden hierzulande alle Neugeborenen u.a. auf die erbliche Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie untersucht. Die Krankheit ist bislang nicht heilbar und beruht auf einer Mutation im Phenylalanin-Hydroxylase-Gen. Im Mausmodell ist es Forschern der ETH Zürich und des Kinderspitals Zürich nun mithilfe eines erweiterten CRISPR/Cas9-Systems gelungen, solche Gen-Mutationen gezielt zu korrigieren und die an Phenylketonurie erkrankten Mäuse zu heilen.

<https://www.laborpraxis.vogel.de/mausmodell-erbkrankheit-mit-crispr-cas9-geheilt-a-764630/>

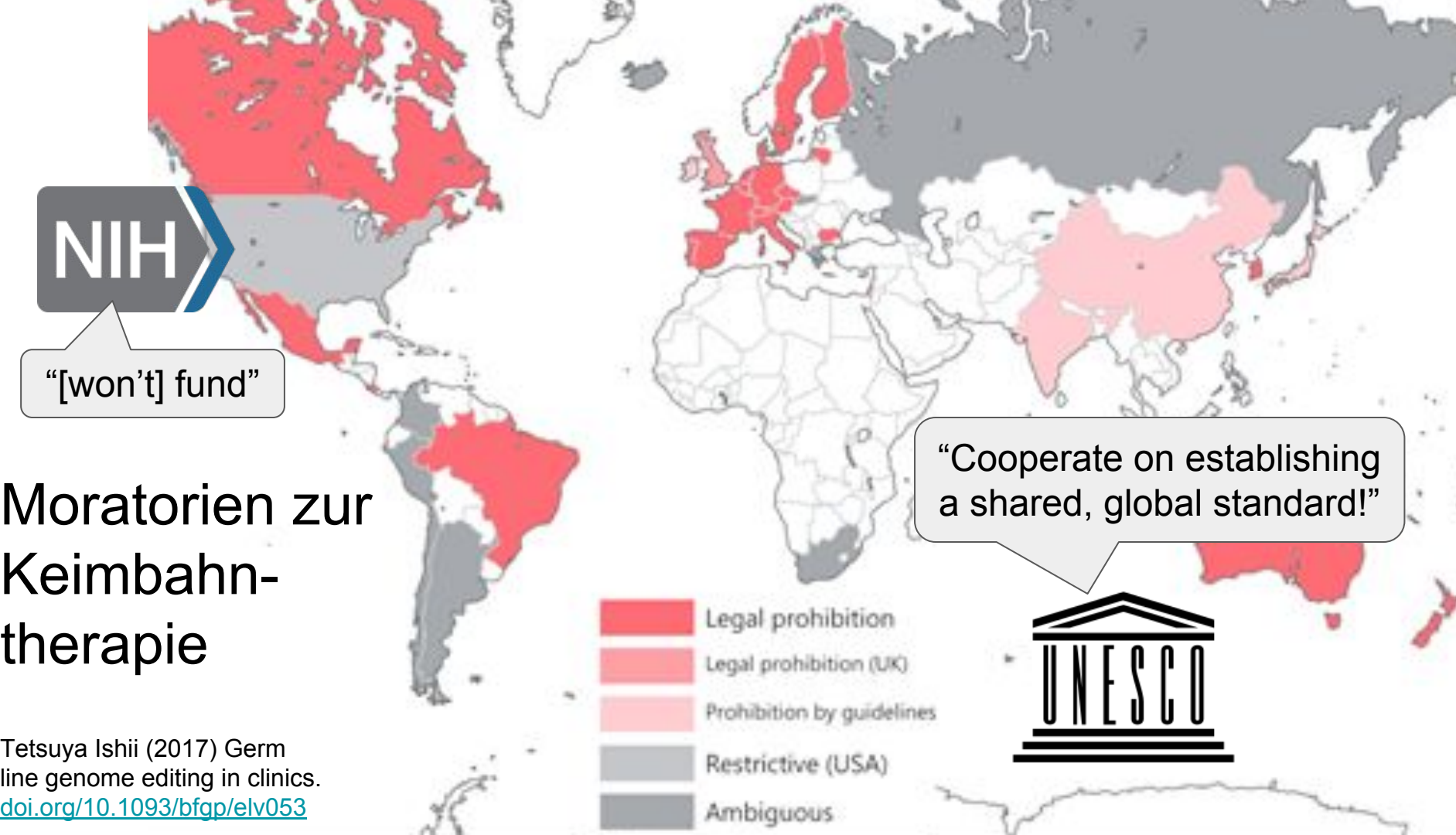
PKU hat >850 mögliche, krankheitsverursachende Mutationen

Keimbahn

- CRISPR-Anwendung in Embryo, Spermium oder Eizelle
 - CRISPR-Veränderung in fast jeder Zelle des Lebewesens
- Potential:
 - Erbkrankheiten könnten so genetisch korrigiert werden
 - Erfolgsquote derzeit ca 70 % ([Ma, 2017](#))
- Ist das sinnvoll?
 - Jedes Gen ist bei uns doppelt vorhanden (Ausnahme bei Männern, X-Chromosom)
 - Evtl. weniger kontrovers:
Gesunde Embryonen durch Präimplantationsdiagnostik selektieren*
- Ethische Probleme
 - Entsorgung
 - CRISPR: Off-target-effects, Einverständniserklärung



*Nur möglich wenn beide Elternteile ein gesundes Gen vererben können.



NIH

“[won’t] fund”

“Cooperate on establishing a shared, global standard!”



- Legal prohibition
- Legal prohibition (UK)
- Prohibition by guidelines
- Restrictive (USA)
- Ambiguous

Moratorien zur Keimbahntherapie

Tetsuya Ishii (2017) Germ line genome editing in clinics.
doi.org/10.1093/bfgp/elv053

BioHacking

<https://www.theatlantic.com/science/archive/2018/02/biohacking-stunts-crispr/553511/>

A Biohacker Regrets Publicly Injecting Himself With CRISPR

<https://www.technologyreview.com/s/611076/before-he-died-this-biohacker-was-planning-a-crispr-trial-in-mexico/>

MIT
Technology

Log in / Create an account Search Q

Safe, sane, consensual



Josiah Zayner has been experimenting with genetically engineering himself in his garage lab. (JOSIAH ZAYNER)

A Courting Peacock Can Shake Its Partner's Head From Afar
ED YONG



Who Gets to Look Out to the Edge of the Universe?
MARINA KOREN



'It Satisfies Every Childlike Curiosity'
DON DELILLO

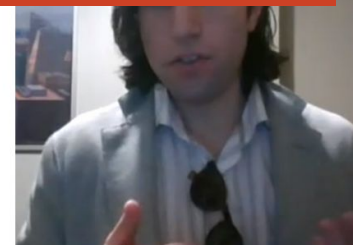


CRISPR trial in Mexico

Aaron Traywick and his company, Ascendance Biomedical, are connected to a website advertising a gene-therapy trial for lung cancer.

by Emily Mullin May 4, 2018

Aaron Traywick



SCREENSHOT OF AARON TRAYWICK FROM A PUBLIC FACEBOOK LIVE VIDEO

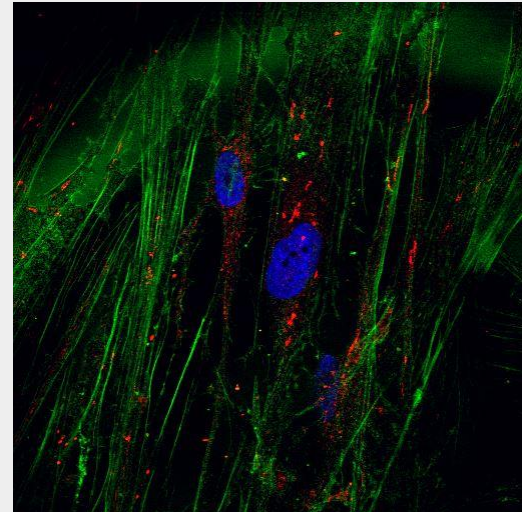
CRISPR in der Medizin

Spezifischer Helfen

✓ Für manche Erkrankungen
durchaus vorstellbar

✗ Im Embryo nicht unbedingt
notwendig/nötig

!! Bio-Hacker-Ethik?



CRISPR Babys

wo wir gerade von Ethik reden...

Rewriting Life

EXCLUSIVE: Chinese scientists are creating CRISPR babies

A daring effort is under way to create the first children whose DNA has been tailored using gene editing.

by Antonio Regalado November 25, 2018

When Chinese researchers first edited the genes of a human embryo in a lab dish in 2015, it sparked global outcry and pleas from scientists not to make a baby using the technology, at least for the present.

It was the invention of a powerful gene-editing tool, CRISPR, which is

technologyreview.com/s/612458/

WTF did He do?

- Anscheinend erste CRISPR Babys, Lulu & Nana
 - CCR5 deaktiviert
 - HI-Virus 1 benutzt CCR5 zur Infektion einer Zelle
 - Vorgehen “amateurhaft”, nix veröffentlicht bisher
 - “Probleme” mit Einverständniserklärung
 - Experimente geheim & geplante PR-Kampagne
 - Noch viel mehr...
-
- CCR5 ausschalten ≠ immun gegen HIV
 - Kanonen auf Spatzen.

Mehr Einordnung: Ed Young (@edyong209), the Atlantic:
theatlantic.com/science/archive/2018/12/15-worrying-things-about-crispr-babies-scandal/577234/

Twitter-Thread von @GaetanBurgio: twitter.com/GaetanBurgio/status/1067657557114679296



Dr. Jiankui He

(Bild CC BY 3.0, Wiki Commons, usr: Begoon)

CRISPR Babys

wo wir gerade von Ethik reden...

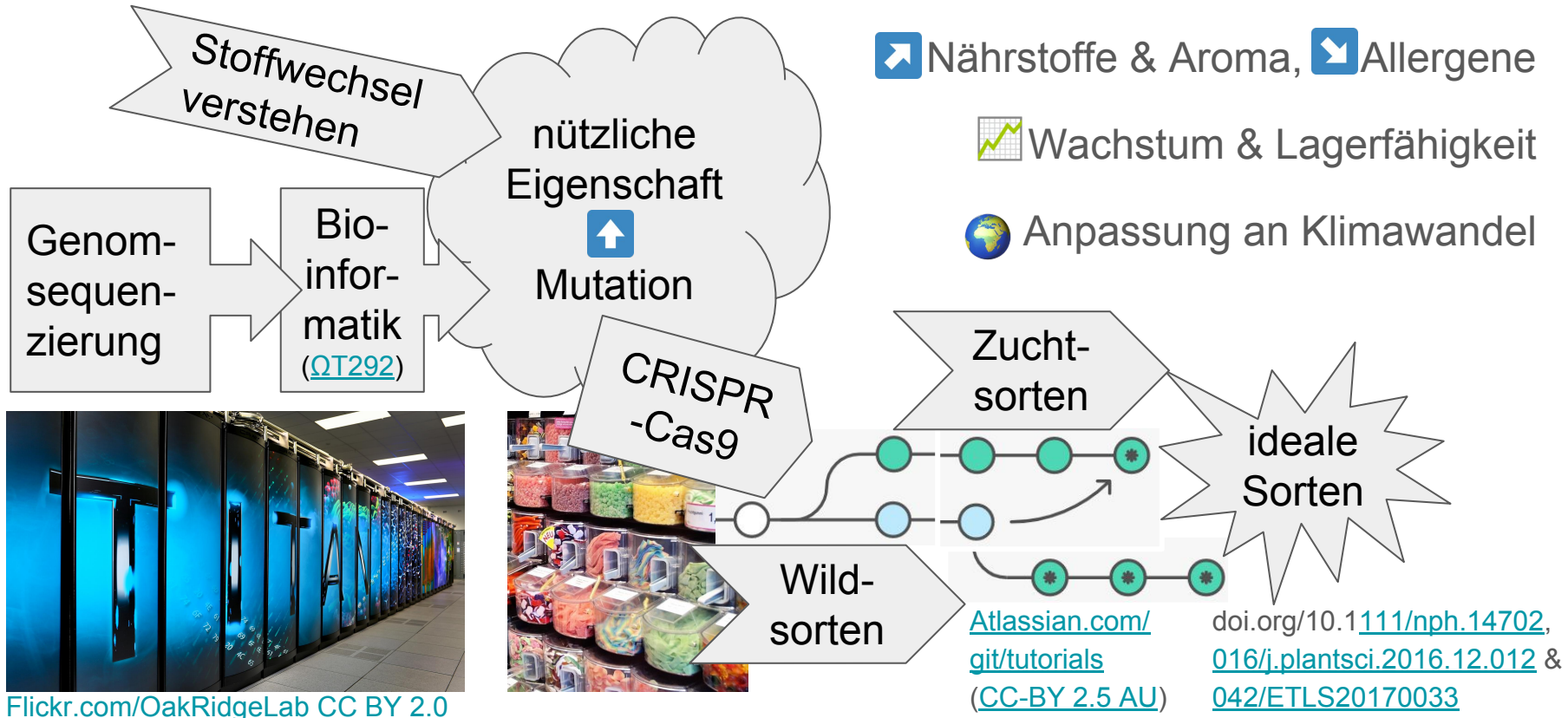
- !! Anscheinend erste CRISPR Babys geboren
- ?! Zielsetzung vollkommen seltsam
- !! Vorgehen mindestens bemerkenswert...

CRISPR in der Landwirtschaft

Zucht idealer Sorten



Zucht idealer Sorten

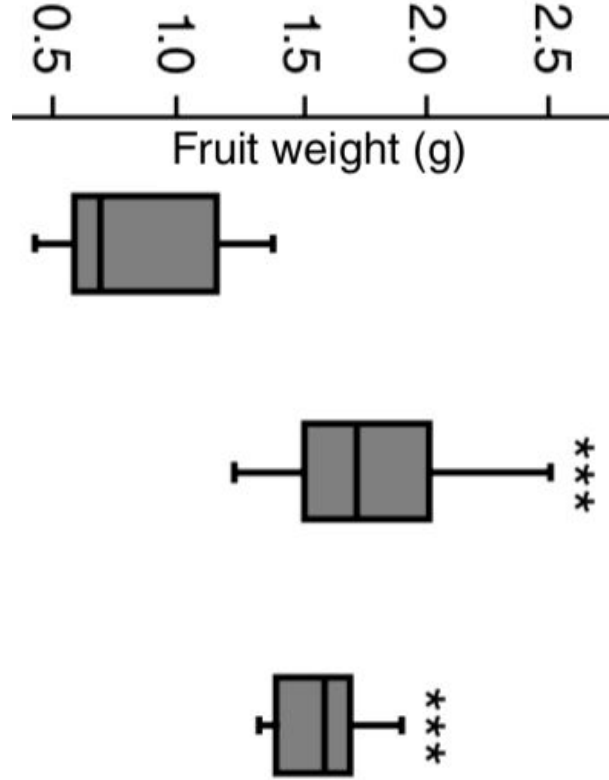
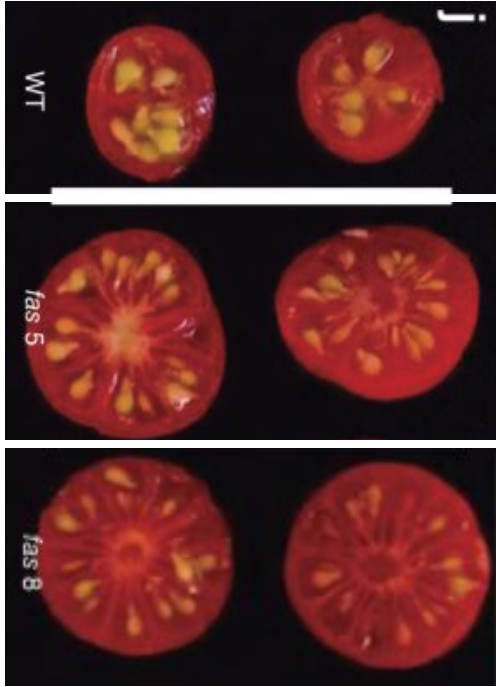
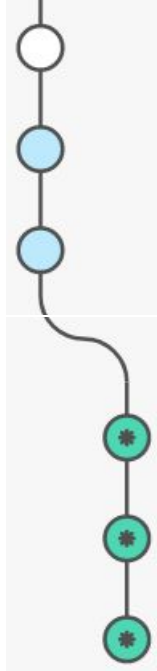


Wild- zu Kirschtomate editieren



Zsögön *et al.* (2018)

doi.org/10.1038/nbt.4272



Geschäftsmodelle attackieren?



Khanday et al. (2018)

doi.org/10.1038/s41586-018-0785-8

- Hybrid-Saatgut: einmalig hoher Ertrag, aber jährlicher Neukauf



Bestäubung
& erneute
Aussaat

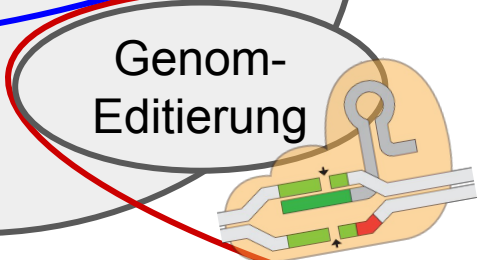
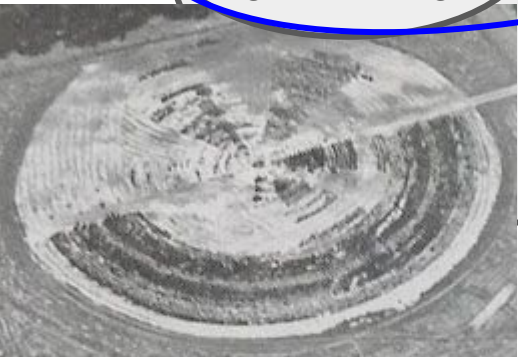
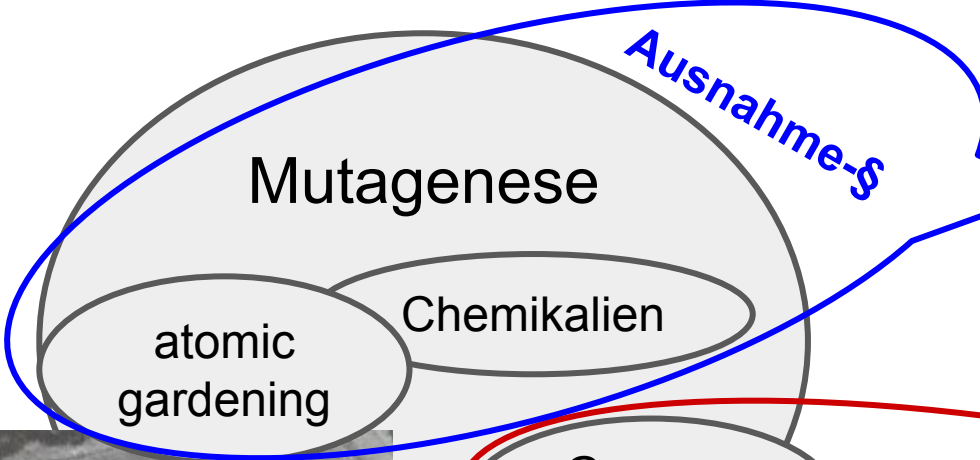
- editierter Reis-Hybrid erzeugt Körner klonal & behält Ertragsleistung



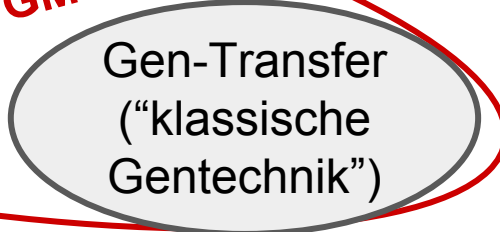
Rechtslage zu Genom-editierten Organismen



[EuGH C-528/16](#)



... weil schnell & einfach: Vorsorgeprinzip! GMO-§§§



CRISPR in der Landwirtschaft

Zucht idealer Sorten

- ✓ Zucht- & Wildsorten mit nützlichen Mutationen upgraden
- ? Wessen Ideale werden unter strenger EU-§ nun umgesetzt?

Zusammenfassung CRISPR/Cas

- günstig, schnell, präzise
- Cas markiert Schnittstellen
- Reparaturvorlage mitliefern → fertig.



Zusammenfassung CRISPR/Cas

- günstig, schnell, präzise
- Cas markiert Schnittstellen
- Reparaturvorlage mitliefern → fertig.

- erleichtert Grundlagenforschung
- könnte manche Krankheiten heilen
- Eingriff in Keimbahn nicht nötig
- CRISPR babies = why?
- gerichtet züchten könnte jeder
- Landwirtschaft:
Rechtslage... interessant
(ähnlich wie LSR & ©-Filter)



Was kann CRISPR/Cas? Was kann es nicht?

Forschung beschleunigen

Grundlagenforschung 

Angewandte Forschung 

Erste klinische Studien zu Therapie-Ansätzen

Nahrungspflanzen

Anscheinend Embryonen editieren

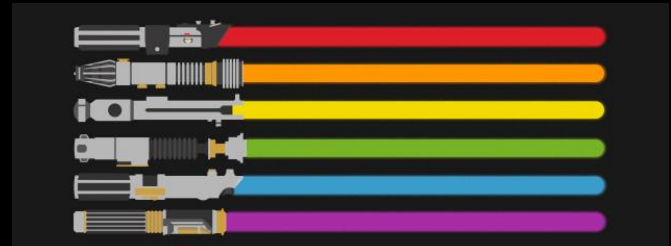
Nichts heilen was nicht genetisch ist

Nicht alle genetischen Krankheiten heilen

Nichts "verbessern" wie Größe, Intellekt, etc.

Ein Werkzeug...

...ein mächtiges Werkzeug



Welche Fragen Genom-Editierung aufwirft:

- Welcher Ethik folgen wir?
- Angst vorm Unbekannten...?
- Akzeptanz durch Passivität?
- Wer sollte was entscheiden?
- Reaktionsgeschwindigkeit von Gesetzgebung auf Wissenschaft?
- Patene und Monopole durch Konzerne?
- Atomic gardening is OK, aber gezielte Mutagenese nicht?
- CRISPR hat Demokratisierungs- & Dezentralisierungspotential.
→ Wie kann man das nutzen?
- Warum leisten wir uns “Locked up science” bei solchen Themen?
- Können wir das als Gesellschaft überhaupt noch diskutieren?



Herzlichen Dank fürs Zuhören!

CRISPR/Cas ist ein Werkzeug.

Was wir damit tun - darüber müssen wir reden.



Anna: zellmedien.de
[@_adora_belle_](http://scilogs.spektrum.de/lifescience)

André: andre-lampe.de
[@andereLampe](http://wirkstoffradio.de)

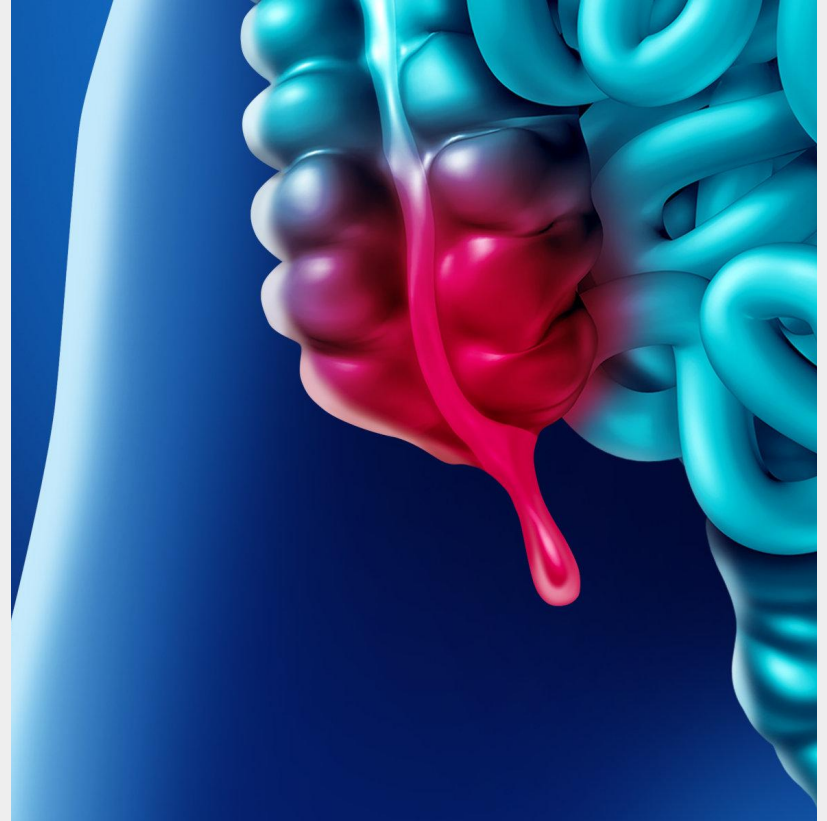
Katrin: GitHub.com/KatrinLeinweber
[@gittaca](https://gittaca)

Bitte sprecht uns an - wir sind oft hier (35c3):

Sendezentrum, Jugend hackt, online.

Appendix

But wait, there is more!



Kritik an der Rechtslage zu GE-Organismen

“GE-Prozess birgt mit GMO vergleichbare Risiken” => GMO-§



[EuGH C-528/16](#)

keine GE-spezifischen Gesetze theBulletin.org/2018/06/crispr

USDA

“GMOs are not *per se* more risky than e.g. conventional plant breeding”

[A decade \(2001 - 2010\) of EU-funded GMO research](#)

“detectability ... is not significantly different from that of GMOs”

doi.org/10.3389/fbioe.2018.00079
> “Product Monitoring”

GE-Produkte “indistinguishable from ... traditional breeding methods” => keine GMO-§ ([press release 0070.18](#))

GMOs in der EU: Fast nur fürs Geschäftsmodell

ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm

(toler|resist)ance

Prev

Next

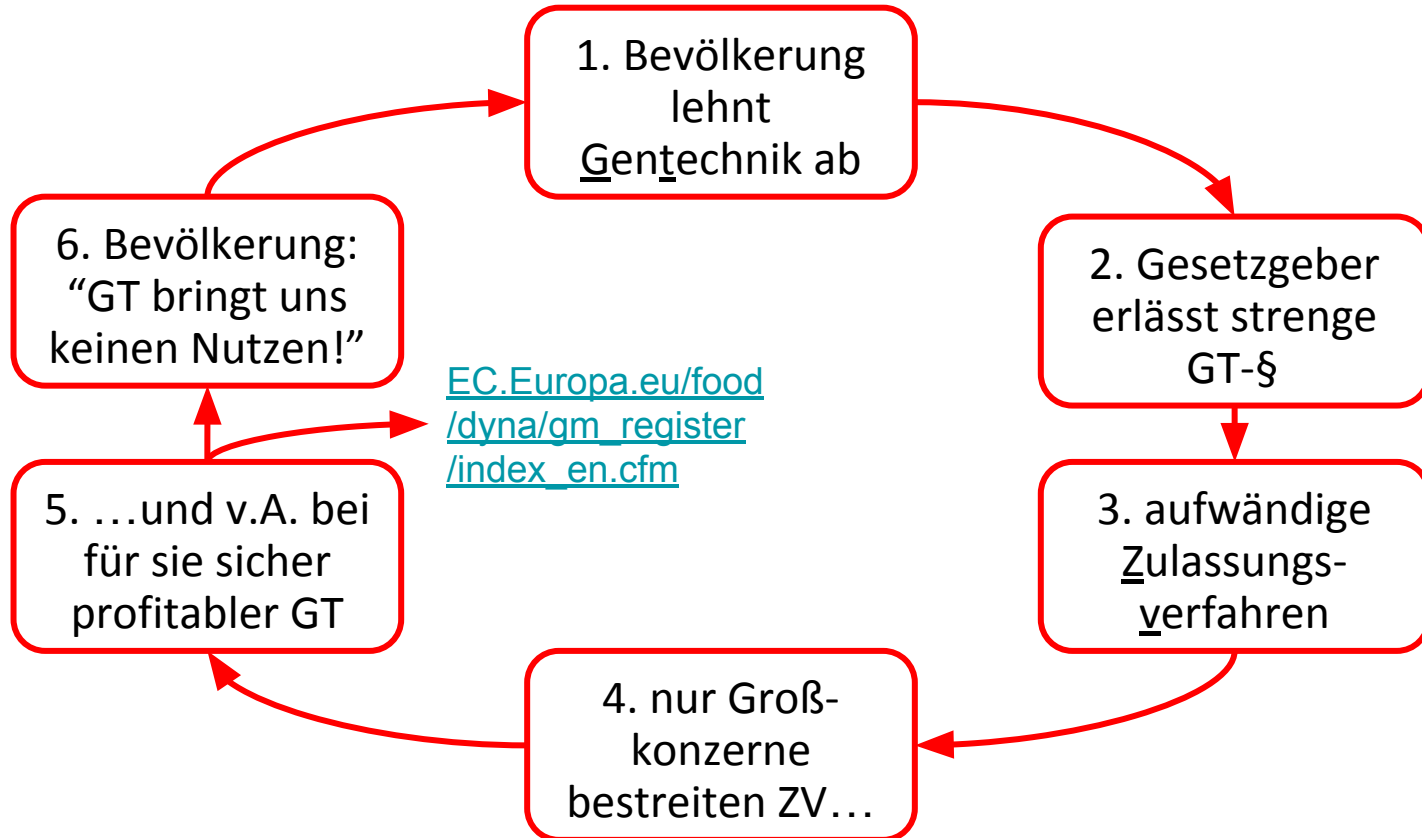
Case Insensitive

Search conducted on → **Status** : *Registered*

EU register of genetically modified food and feed

Transformation event Unique ID Company	Genes Introduced / Characteristics	Authorized use	Authorization Expiration Date	Details
Cotton (MON1445) MON-Ø1445-2 [Monsanto]	Genetically modified cotton which expresses: cp4 epsps gene inserted to confer tolerance to glyphosate herbicides	Food produced from MON- Ø1445-2 cotton	26/04/2025	

GMO-Zulassung als selbsterfüllende Prophezeiung



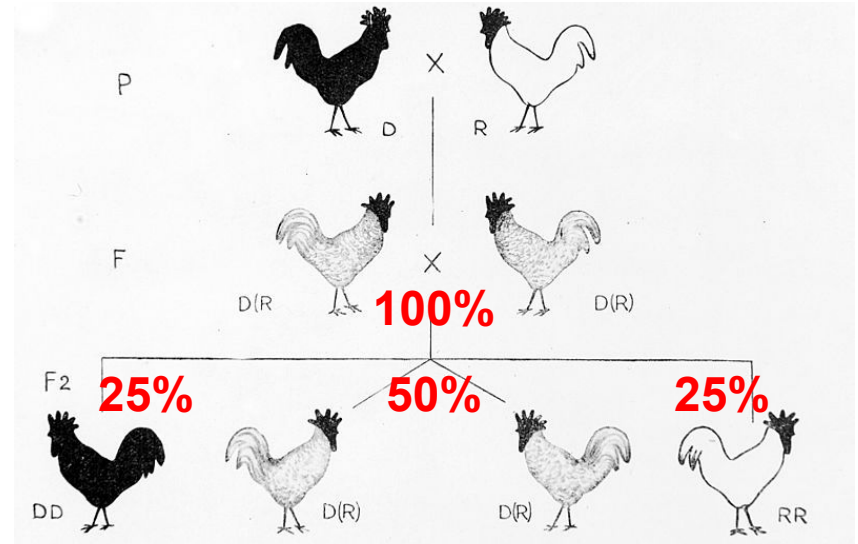
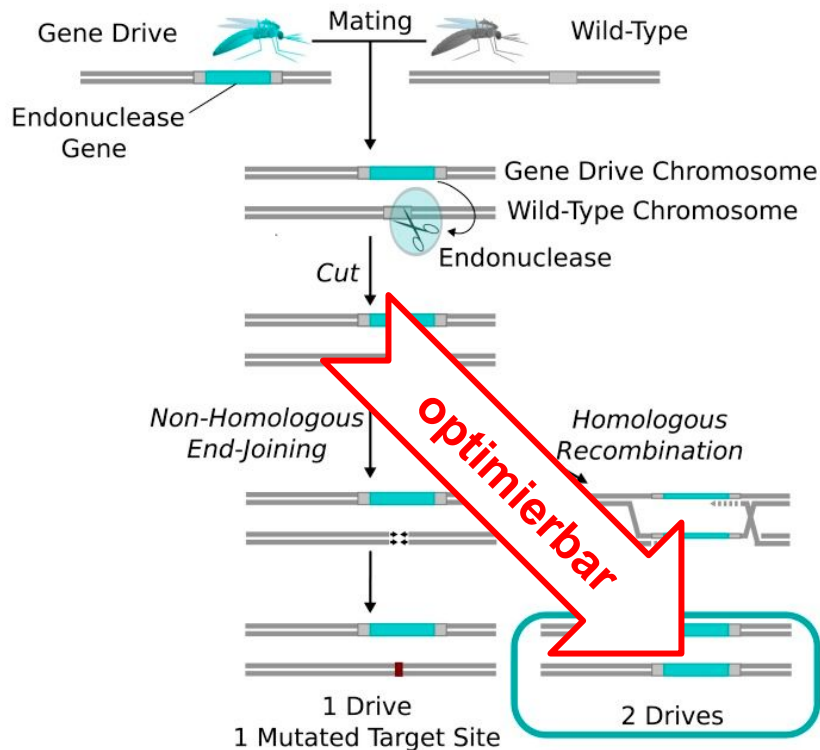
Gene Drives

Durch die freie Wildbahn



(As far as we know, photo is public domain)

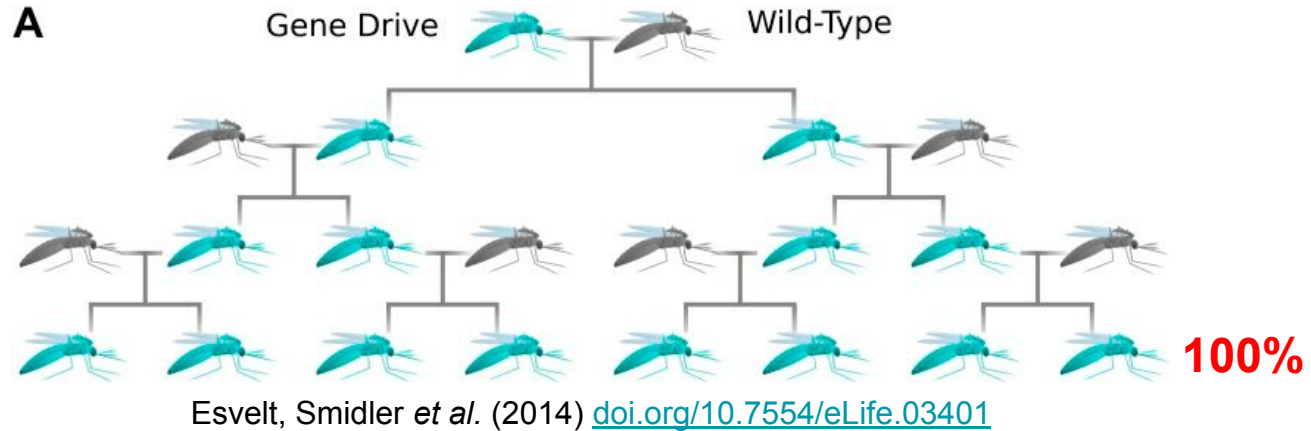
Gene Drives ignorieren Mendel'sche Vererbung



CC BY 4.0 via [commons.Wikimedia.org](https://commons.wikimedia.org)

👉 Cas9-Drive lässt sich auf andere Chromosomen kopieren

Gene Drives tricksen Evolution aus



- selbst bei geringerer Fitness der “Infizierten”
- nicht *für* Nutztiere/-pflanzen, sondern *gegen* “Schädlinge” in freier Wildbahn
- unklare Effekte in komplexen Ökosystemen & Nahrungsnetzen

THE PHANTOM MENACE

Gene Drives

Evolution austricksen

✓ gegen diverse “Schädlinge” im Labor

!! UN (Konvention zur Biodiversität):
“case-by-case risk assessment [and]
management [with] informed consent
[of] potentially affected [...] communities” ([CBD/COP/14/L31](#))

Sorge um Keimbahnmutation? Willkommen im Club!



International Agency for Research on Cancer



IARC TP53 Database



You are here

- ABOUT
- Aim & scope
- Database
- Credits

- ▶ Gene variations
- ▶ Somatic mutations
- ▶ Germline mutations
- ▶ Cell-lines
- ▶ Mouse models
- ▶ Exp. induced mutations
- ▶ Download Datasets

AIM AND SCOPE

The IARC TP53 Database compiles TP53 mutation databases. Database releases are identified by a

The current release is R19 (July 2018). The following

- TP53 **somatic mutations** in sporadic cancer
- TP53 **germline mutation** in familial cancer
- Common TP53 **polymorphisms** identified

Vokabular für [@c3lingo](#)

Grundlagenforschung – basic research –

Vorsorgeprinzip – precautionary principle –

Angriff der Klonkrieger – Attack of the clones –

Indels – (auch “indels”- Einfügung/Löschung) –

Leseraster – Reading Frame –

Basentriplett/Codon – triplet/codon –

(Endo)nuklease – (endo)nuclease –

Aminosäure – Amino acid –

Einverständniserklärung – informed consent