

Kann man Gene reparieren?

Andreas Dufke, 06.10.2018



Genome Editing

Techniken, die das Erbgut schnell, präzise und kostengünstig verändern können

Deutsches
Ärzteblatt

37



„Die Genomchirurgie ...
funktioniert in nahezu
allen Zellen. Vor allem
Menschen mit Erbgut-
krankheiten könnten
profitieren

–

wären da nicht noch
unkontrollierbare
Effekte.“

Anwendungsmöglichkeiten

Grüne Gentechnik

Allergenfreie Erdnuss, ertragreicher Mais, weißer Champignon, der langsamer braun wird, ...

Gene Drive

Reservoir (Stechmücke, Mäuse) von Erregern Malaria oder Zikaviren, ...

Eindämmung invasiver Arten

Keimbahntherapie

erblicher Brustkrebs, Taubheit und Erblindung, Bluterkrankheit, ...

Enhancement: Erbliche Immunität gegenüber HI-Virus

Intelligenz, Musikalität, Langlebigkeit, sportliche Leistung, ...

Somatische Gentherapie

Hämophilie A, Immundefekte, HIV, Leukämie, Muskelschwund-Erkrankungen, Sichelzellanämie, ...

CRISPR/Cas9:

Was eine Schere so macht

<https://www1.wdr.de/mediathek/video/sendungen/quarks-und-co/video-crispr-was-die-genschere-so-besonders-macht-100.html>

Schlagzeilen

Medizin

Off-Target-Effekte: Genschere CRISPR-Cas9 schneidet ungenau

Mittwoch, 18. Juli 2018

Hinxtin/England – Die Genschere CRISPR-Cas9, die bereits in klinischen Studien eingesetzt wird, scheint doch nicht so präzise zu arbeiten, wie bisher angenommen.

Britische Forscher berichten in Nature Biotechnology von Genverlusten und von Verlagerungen ganzer Abschnitte des Erbguts, was Fragen zur Sicherheit des... .. [Mehr](#)



Anwendung des Genome Editings

(1) in der Keimbahn

(2) in somatischen Geweben

Genome Editing in somatischen Geweben





- Körperzellen / Blutstammzellen
- Spenderzellen
- Vorteil: zielgenau, keine Transporterorganismen
- Problem: Erreichbarkeit der / aller Zielzellen

ARTICLE

DOI: [10.1038/s41467-017-00479-7](https://doi.org/10.1038/s41467-017-00479-7)

OPEN

Editing an α -globin enhancer in primary human hematopoietic stem cells as a treatment for β -thalassemia

Sachith Mettananda ^{1,2}, Chris A. Fisher¹, Deborah Hay¹, Mohsin Badat¹, Lynn Quek¹, Kevin Clark³, Philip Hublitz³, Damien Downes¹, Jon Kerry¹, Matthew Gosden¹, Jelena Telenius¹, Jackie A. Sloane-Stanley¹, Paula Faustino^{4,5}, Andreia Coelho⁴, Jessica Doondeea¹, Batchimeg Usukhbayar¹, Paul Sopp³, Jacqueline A. Sharpe¹, Jim R. Hughes ¹, Paresh Vyas ^{1,6}, Richard J. Gibbons¹ & Douglas R. Higgs ^{1,6}

Lyu *et al. Stem Cell Research & Therapy* (2018) 9:92
<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0839-8>

Stem Cell Research & Therapy

RESEARCH

Open Access

Targeted genome engineering in human induced pluripotent stem cells from patients with hemophilia B using the CRISPR-Cas9 system



Cuicui Lyu^{1,2}, Jun Shen¹, Rui Wang¹, Haihui Gu³, Jianping Zhang¹, Feng Xue¹, Xiaofan Liu¹, Wei Liu¹, Rongfeng Fu¹, Liyan Zhang¹, Huiyuan Li¹, Xiaobing Zhang⁴, Tao Cheng¹, Renchi Yang¹ and Lei Zhang^{1*}

Anwendung des Genome Editings

(1) in der Keimbahn

(2) in somatischen Geweben

Genome-Editing: Ausblick und Entwicklung seit 2014



05/2015: chinesische Forscher berichteten über die Erzeugung von gentechnisch veränderten Embryonen (Liang et al. Protein Cell. 2015 May; 6(5): 363–372 - CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes)

1.-3.12.2015 Washington: „International Summit on Human Gene Editing“: kein Moratorium zu Keimbahnveränderungen

01.02.2016: London: staatliche Behörde lässt gentechnische Experimente an künstlich befruchteten menschlichen Embryonen zu (HFEA; Forschungsantrag vom Francis Crick Institute in London)

ASHG / ESHG Positionspapiere über das Genom-Editing beim Menschen

Aufgrund der Bedeutung und Unwiderrufbarkeit des Eingriffs, der zahlreichen unklaren wissenschaftlichen, ethischen und sozialen Fragen ist ein Genomediting der Keimbahn welches zu einer Schwangerschaft führt, **heutezutage nicht vertretbar**.

(*In vitro* Forschung zur Genomeditierung an menschlichen Embryonen oder Gameten nach entsprechendem Einverständnis der Betroffenen unter klarer Kontrolle sollte erlaubt werden.)

Klinische Anwendung der Genomeditierung der Keimbahn sollte nicht begonnen werden, wenn nicht

- Eine klare medizinische Begründung vorliegt
- Ein klarer Nachweise für die klinische Anwendung, Nutzen und Sicherheit erfolgt ist
- Eine ethische Rechtfertigung / Begründung vorliegt
- Und ein transparenter öffentlich nachvollziehbarer Prozess aller Beteiligten nachweisbar ist.

Generation of Gene-Modified Cynomolgus Monkey via Cas9/RNA-Mediated Gene Targeting in One-Cell Embryos

Yuyu Niu,^{1,5,7} Bin Shen,^{2,7} Yiqiang Cui,^{3,7} Yongchang Chen,^{1,5,7} Jianying Wang,² Lei Wang,³ Yu Kang,^{1,5} Xiaoyang Zhao,⁴ Wei Si,^{1,5} Wei Li,⁴ Andy Peng Xiang,⁶ Jiankui Zhou,² Xuejiang Guo,³ Ye Bi,³ Chenyang Si,^{1,5} Bian Hu,² Guoying Dong,³ Hong Wang,^{1,5} Zuomin Zhou,³ Tianqing Li,^{1,5} Tao Tan,^{1,5} Xiuqiong Pu,^{1,5} Fang Wang,^{1,5} Shaohui Ji,^{1,5} Qi Zhou,⁴ Xingxu Huang,^{2,*} Weizhi Ji,^{1,5,*} and Jiahao Sha^{3,*}

¹Yunnan Key Laboratory of Primate Biomedical Research, Kunming 650500, China

²MOE Key Laboratory of Model Animal for Disease Study, Model Animal Research Center of Nanjing University, National Resource Center for Mutant Mice, Nanjing 210061, China

³State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Department of Histology and Embryology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

A Day 14



Table 1. Summary of Embryo Microinjection of Cas9 mRNA and sgRNAs

MII Oocyte	Injected Embryos	Embryos for ET	Pregnancies /Surrogates	Single Pregnancy	Multiple Pregnancy	Fetuses
198	186	83	34.5% (10/29)	4 ^a	3 twins, 3 triplets	19

^aOne miscarried 36 days after embryo transfer.

Genome Editing in der Keimbahn

- Heilen von Erbkrankheiten
 - Zwei Arbeiten in China (2015, 2016)
 - Wichtige Erkenntnisse zur momentanen Ineffizienz des Verfahrens / Hohe *off-target*-Rate
- Erzeugung von Modellorganismen
- Xenotransplantation

Genome Editing und fragile-X

CGG-Expansion führt zur Abschaltung des FMR1-Gens und Verlust des FMR1-Proteins ohne die DNA-Sequenz im Gen zu verändern. Das FMR1-Protein spielt eine Rolle in vielen Organsystemen.

Die genetische Therapie zielt auf die Reaktivierung des Gens und nicht auf die Korrektur der DNA-Sequenz

PubMed

CRISPR

Create RSS

Article types

Clinical Trial

Review

Customize ...

Text availability

Format: Summary Sort by:

Search results

Items: 1 to 20 of 8879

PubMed

CRISPR AND fragile X

Create RSS

Create alert

Adv

Article types

Clinical Trial

Review

Customize ...

Text availability

Abstract

Format: Summary Sort by: Most Recent

Search results

Items: 10

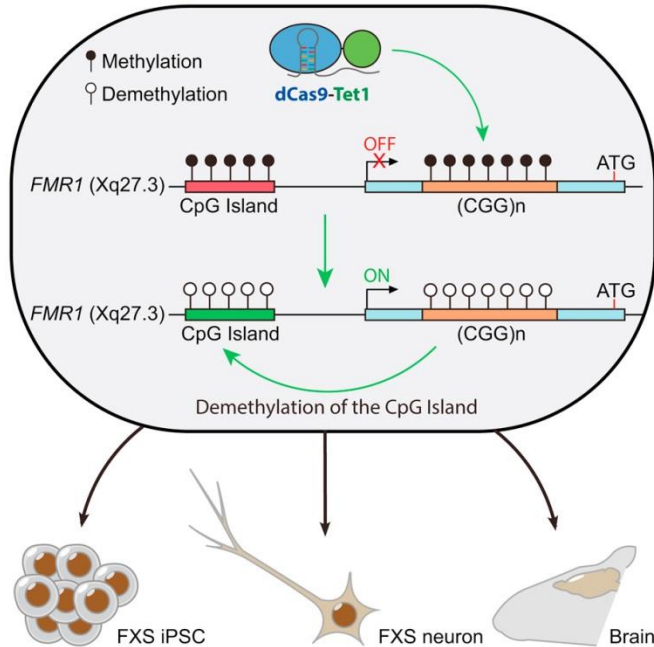
Rescue of Fragile X Syndrome Neurons by DNA Methylation Editing of the FMR1 Gene.

Liu XS¹, Wu H², Krzisch M¹, Wu X¹, Graef J³, Muffat J¹, Hnisz D¹, Li CH⁴, Yuan B¹, Xu C¹, Li Y¹, Vershkov D⁵, Cacace A³, Young RA⁴, Jaenisch R⁶.

Front Mol Neurosci. 2018 Aug 15;11:282. doi: 10.3389/fnmol.2018.00282. eCollection 2018.

Targeted Reactivation of FMR1 Transcription in Fragile X Syndrome Embryonic Stem Cells.

Haenfler JM^{1,2}, Skariah G¹, Rodriguez CM¹, Monteiro da Rocha A³, Parent JM^{1,4}, Smith GD⁵, Todd PK^{1,4}.



A



Ziel ist die Korrektur des primären Fehlers (embryonale Stammzellen?) und damit eine Effekt auf alle Zielorgane (im Gegensatz zur medikamentösen Therapie).

Szenario: Keimbahntherapie bei fragile-X

Familiäre Mutation bekannt

Testung der Vektoren *in vitro* und *in vivo* möglich



Szenario: Keimbahntherapie bei fragile-X

Wiederholungswahrscheinlichkeit: Knaben 50%
(Knaben und Mädchen: > 25%)

Jede effektive genome editing Therapie muss frühzeitig in der befruchteten Eizelle angewandt werden

In vitro Befruchtung notwendig

vorherige Testung (nicht betroffener Fet sollte nicht therapiert werden)

WARUM dann nicht gleich den nicht-betroffenen Feten implantieren?

Zusammenfassung Genome editing

„Die Genomchirurgie ... funktioniert in nahezu allen Zellen. Vor allem Menschen mit Erbkrankheiten könnten profitieren

–

wären da nicht noch unkontrollierbare Effekte.“

Beim **fragilen-X-Syndrom** wird ein anderer Ansatz als bei anderen genetischen Erkrankungen (**Reaktivierung statt DNA-Sequenzkorrektur**) verfolgt. Der **CRISPR-Ansatz** ist auch hier hilfreich.

Der Eingriff an Nervenzellen ist komplexer als in andere Zellsysteme, **hohe Hürden für eine somatische Therapie.**

Die Sicherheit und Effektivität einer **Keimbahntherapie** ist derzeit nicht ausreichend.