

**Dr. med. Benno Röthlisberger**

# **CRISPR / Cas9: Auf dem Weg zum Designerbaby?**

**Öffentliche Veranstaltung der Nationalen  
Ethikkommission im Bereich der Humanmedizin  
(NEK) an der Universität Luzern , 20.10.2016**

## GENE THERAPY

CLYDE E. KEELER

*Georgia State College for Women, Milledgeville, Georgia*

**P**ROBABLY the most common complaint brought by practical-minded medical men against medical genetics is the lack of effective therapies. Hereditary abnormalities are deep-seated in the germplasm. Although the effects of an hereditary deficiency may be relieved temporarily, as by injecting insulin into individuals suffering from diabetes mellitus, this does not purge the germplasm of its defects. Barring elimination of the morbid genes themselves, they are conceived of by the medical man as being fated always to reappear generation after generation, forever.

My studies in the last eight years have led me to the increasing realization that what is in effect a therapeutic technique actually is widely in use in applied genetics, and presumably in nature in the evolution of gene systems. This has the effect of achieving a permanent correction of hereditary diseases or dyscrasias occurring in strains of organisms, by a homozygous modification of the genetic formula. Although at present we may not envisage the application of such gene therapy to medico-genetic diseases in man, it appears worth while to explain the principles on which it operates in plant and animal breeding and presumably in nature. This note describes the selection and manipulation of requisite genes for the therapeutic treatment of hereditarily defective strains.

For purposes of this discussion a hereditary abnormality is considered as any statistically significant deviation from the average (or normal) manifestation of a characteristic determined by genetic factors (genes).

Therapy for abnormal hereditary conditions may be classified as follows:

A. *Environmental Therapy* (always phenotypic)

1. Supplying of lacking substances
2. Specialized environment
3. Blocks (surgical or otherwise)

- B. *Gene Therapy*
1. Phenotypic
  2. Heredo-phenotypic
    - a. reciprocal defect cancellation
    - b. genetic blocks

In environmental therapy we may provide from other sources the insulin that diabetics cannot produce, the thyroxin in the case of cretinism, or the hydrochloric acid and Castle's intrinsic factor in the case of pernicious anemia.

For those hereditary constitutions that react violently against strawberries, ragweed, fish, and a host of other allergen-bearing substances, we keep the body in perfect health by eliminating these environmental factors from the food or the surroundings. As long as the allergens are kept at a distance, all is reasonably well. Possibly the relationship between allergic tendencies and psychic manifestation may complicate this picture. And it should be borne in mind that the healthy phenotype must forever depend on a controlled environment.

Or, we may provide a particular, specialized environment in which the mutant gene will function in a relatively normal fashion. Thus, environmental therapy of this sort may be demonstrated by the character "reduplicated" in Drosophila, in which increased room temperature lowers the incidence of penetrance, and hence, reduces the proportion of individuals exhibiting the duplicated feet. At 10 degrees the penetrance is reduced by half.

Decreasing the temperature of the skin of Himalayan rabbits<sup>11</sup> and of Siamese cats<sup>12</sup> while the hair is developing will to a great extent correct the "pigment deficiency" that ordinarily gives these breeds a white coat. The moral of this is that Siamese cats can be virtually "cured" of melanism by moving them to the tropics or of "albinism" by transferring them to the Arctic. The cures are permanent as long as the environmental correctives are maintained.

# 1960s | 1978

## Discovery of restriction enzymes



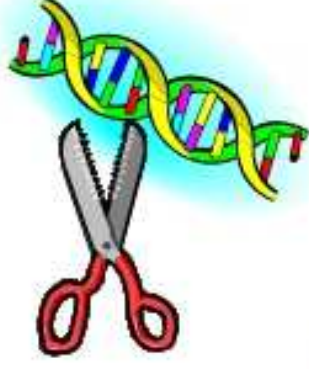
Werner Arber



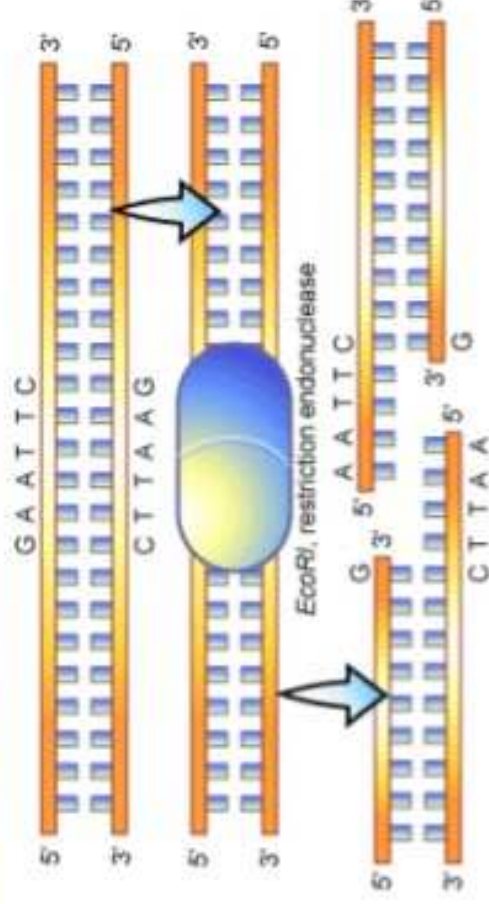
Daniel Nathans

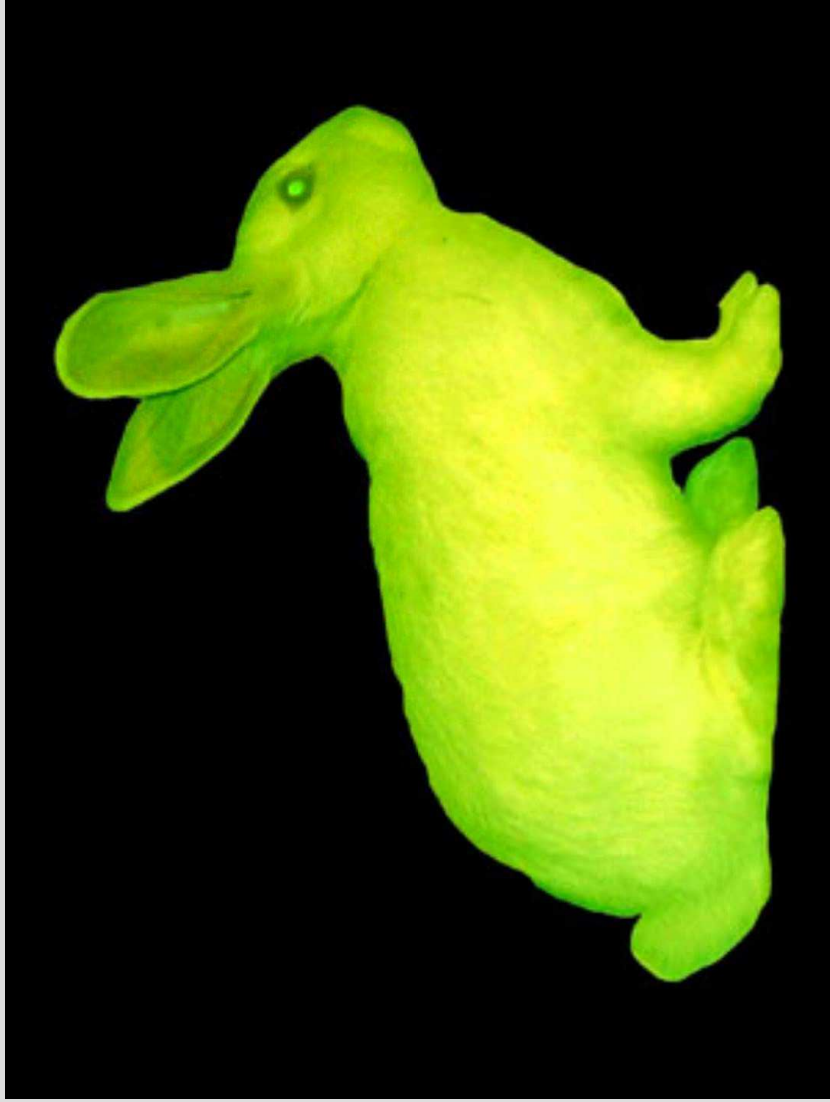


Hamilton O. Smith



Restriction enzymes are named for the organism they come from:  
**EcoRI** = 1st restriction enzyme found in *E. coli*

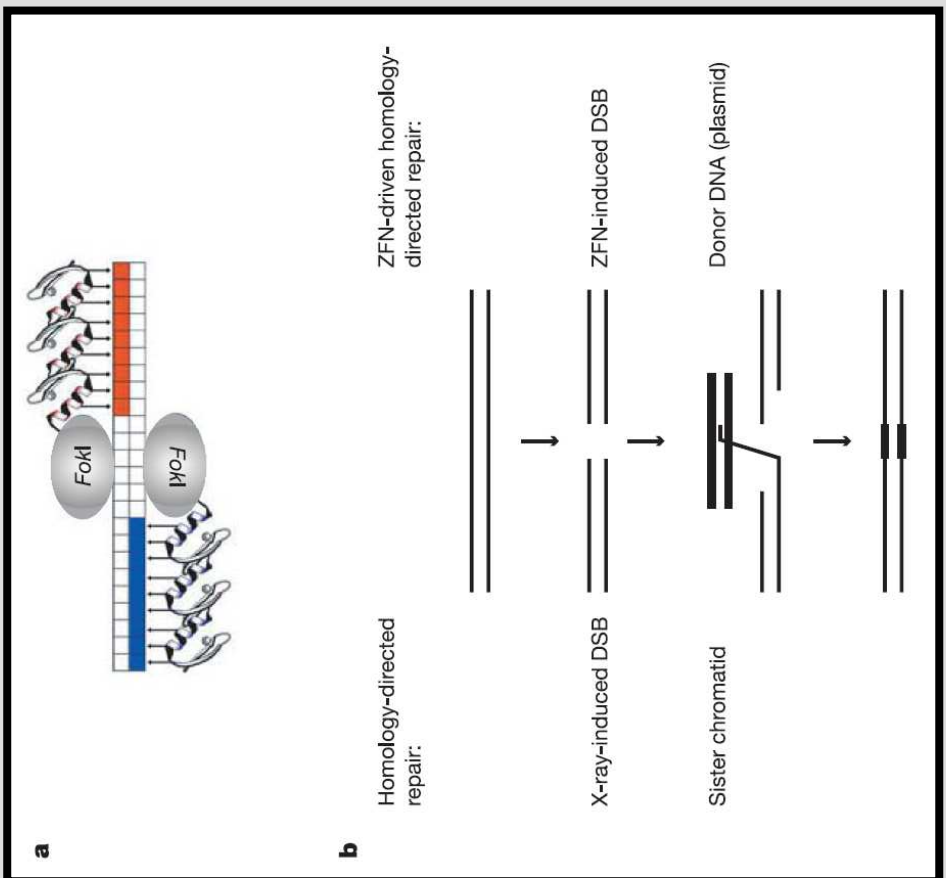




ARTICLES

# Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases

Fyodor D. Urnov<sup>1</sup>, Jeffrey C. Miller<sup>1</sup>, Ya-Li Lee<sup>1</sup>, Christian M. Beausejour<sup>1</sup>, Jeremy M. Rock<sup>1</sup>, Sheldon Augustus<sup>1</sup>, Andrew C. Jamieson<sup>1</sup>, Matthew H. Porteus<sup>2</sup>, Philip D. Gregory<sup>1</sup> & Michael C. Holmes<sup>1</sup>





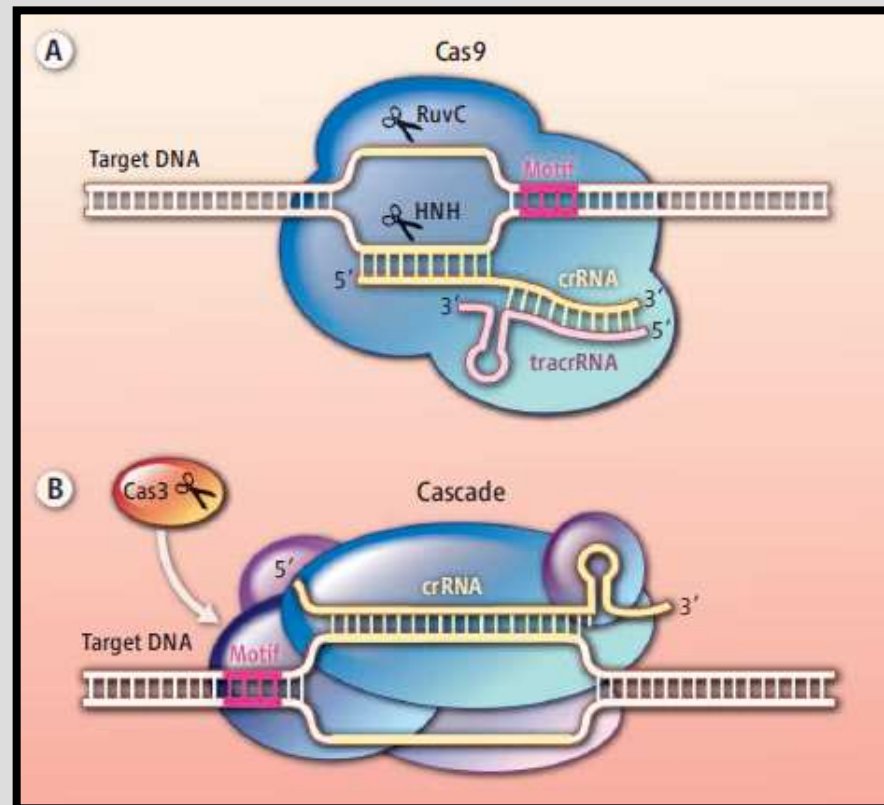


MOLECULAR BIOLOGY

# A Swiss Army Knife of Immunity

Stan J. J. Brouns

A duplex of two small RNA molecules directs the destruction of intrusive foreign DNA in bacteria.

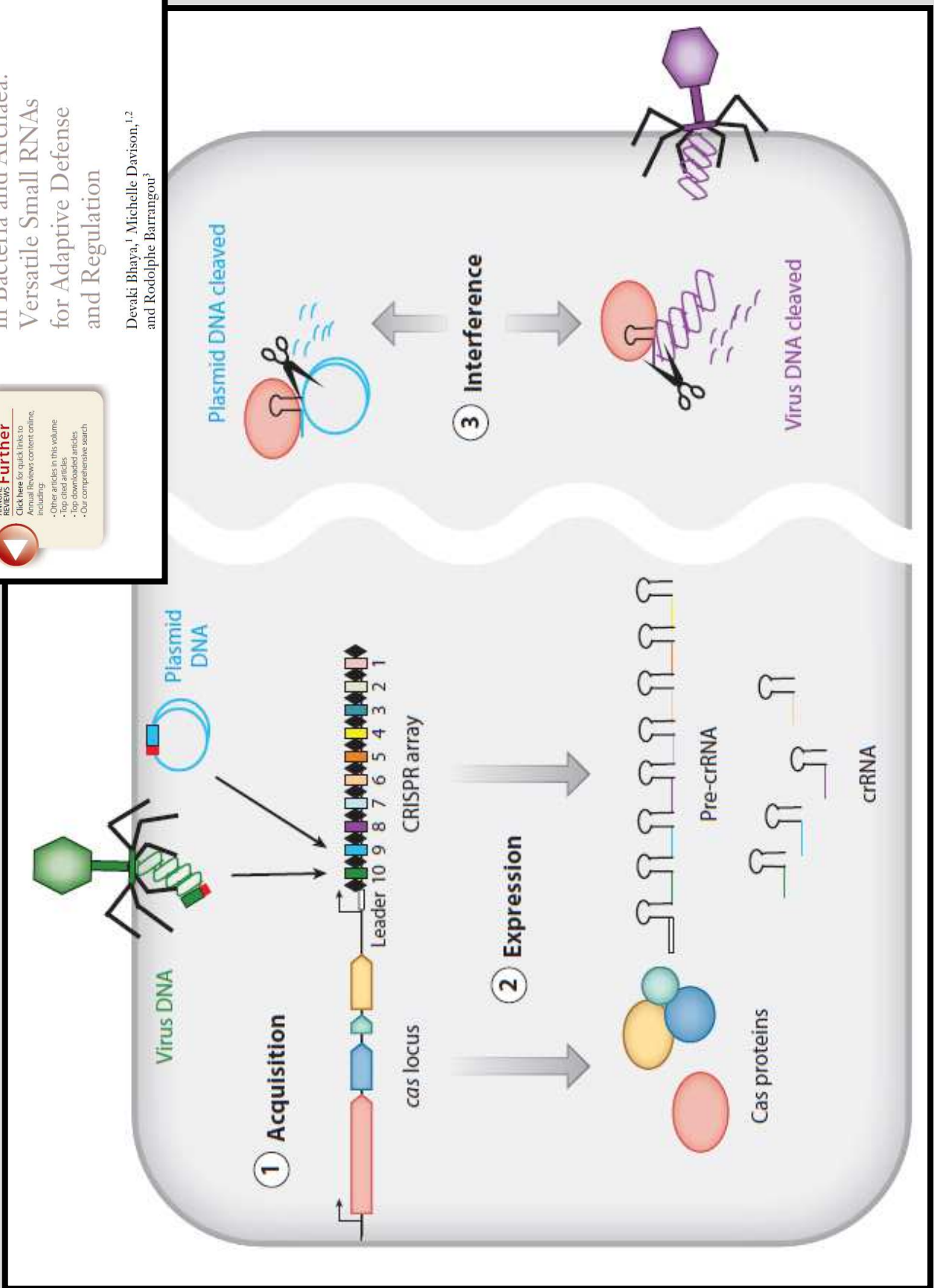


Brouns SJJ, Science, Vol 337, 808

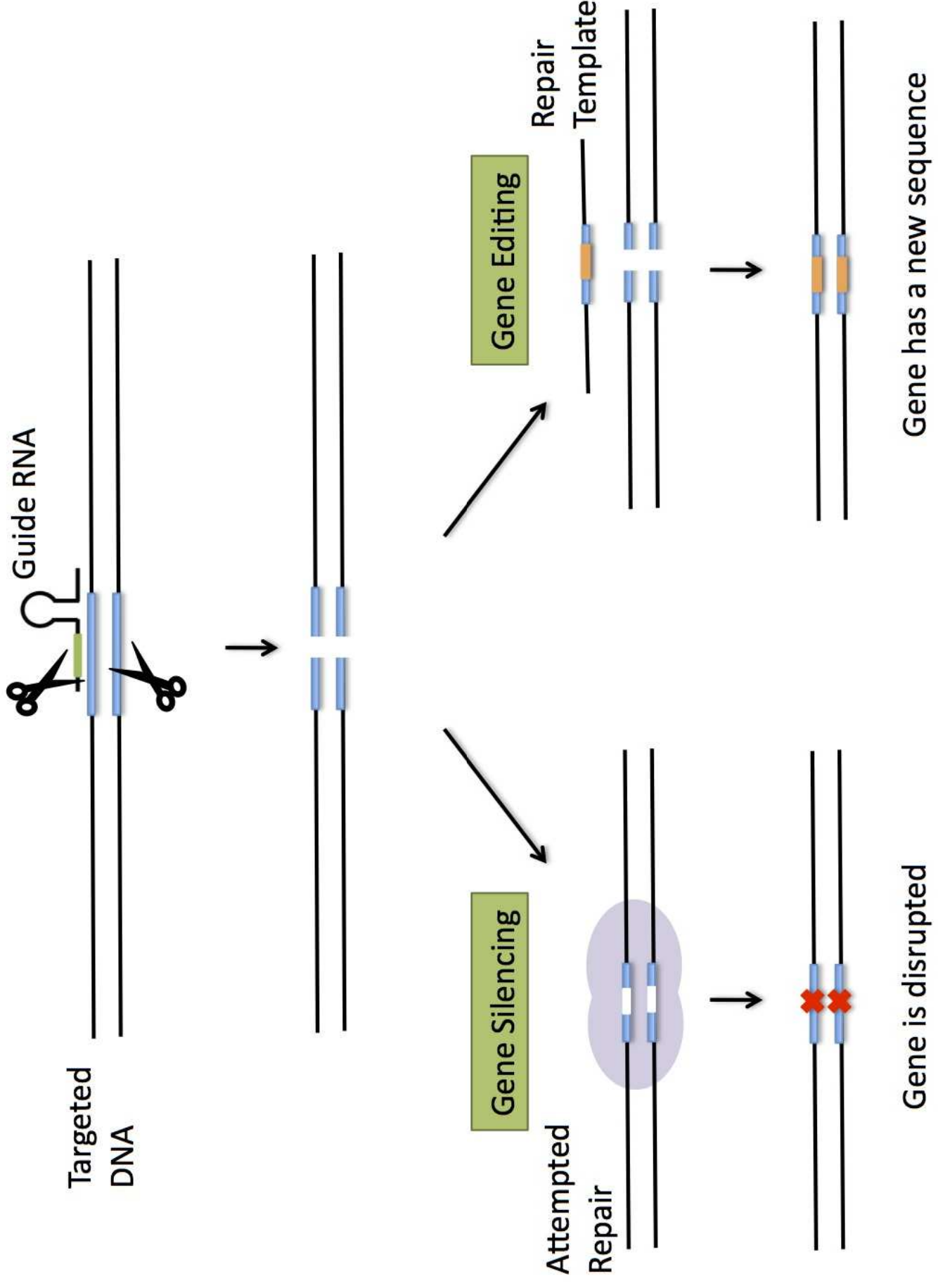
# CRISPR-Cas Systems in Bacteria and Archaea: Versatile Small RNAs for Adaptive Defense and Regulation

Devaki Bhaya,<sup>1</sup> Michelle Davison,<sup>1,2</sup>  
 and Rodolphe Barrangou<sup>3</sup>

**ANNUAL  
 REVIEWS  
 Further**  
 Click here for quick links to  
 Annual Reviews content online,  
 including:  
 • Other articles in this volume  
 • Top cited articles  
 • Top downloaded articles  
 • Our comprehensive search

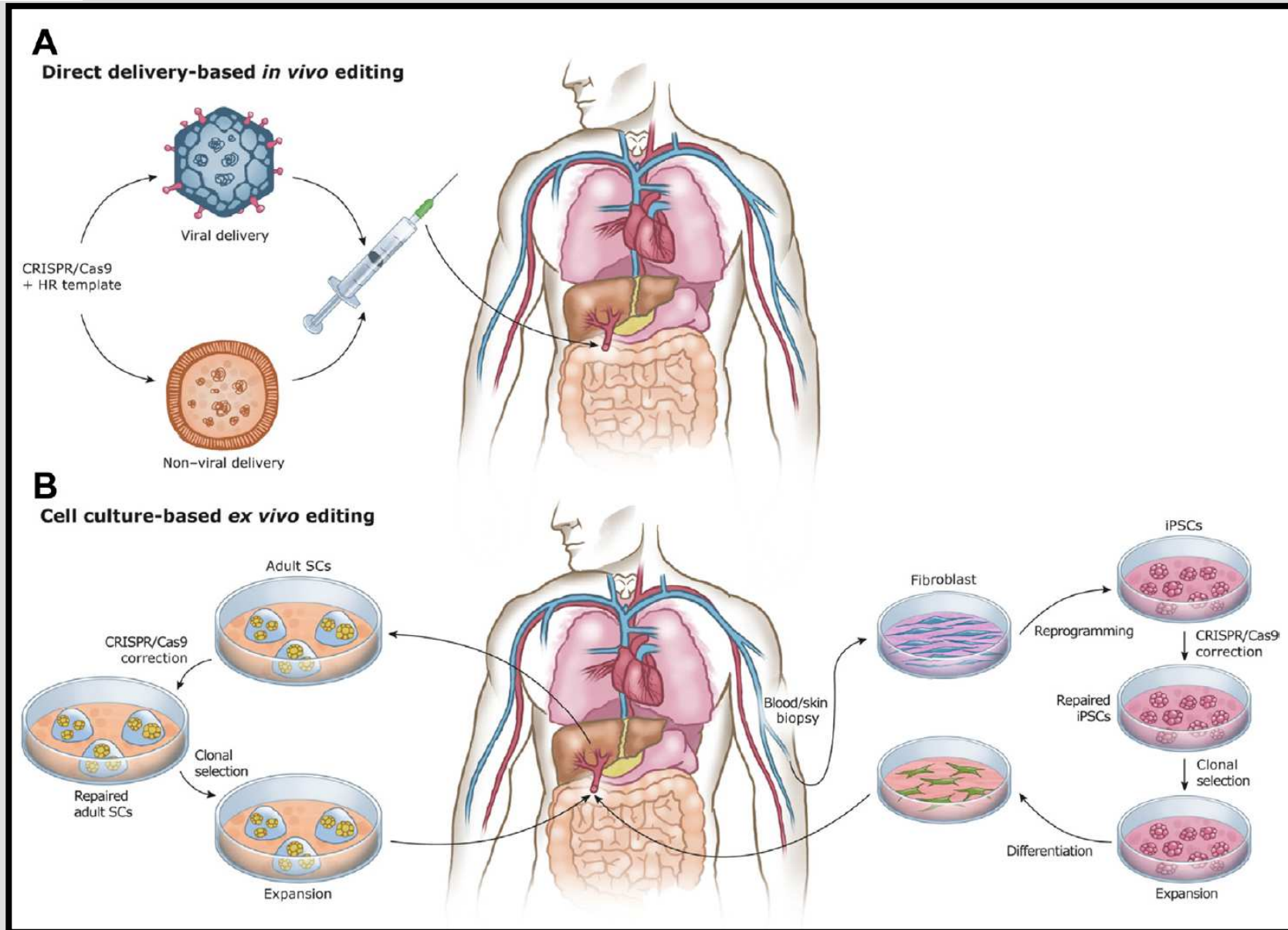






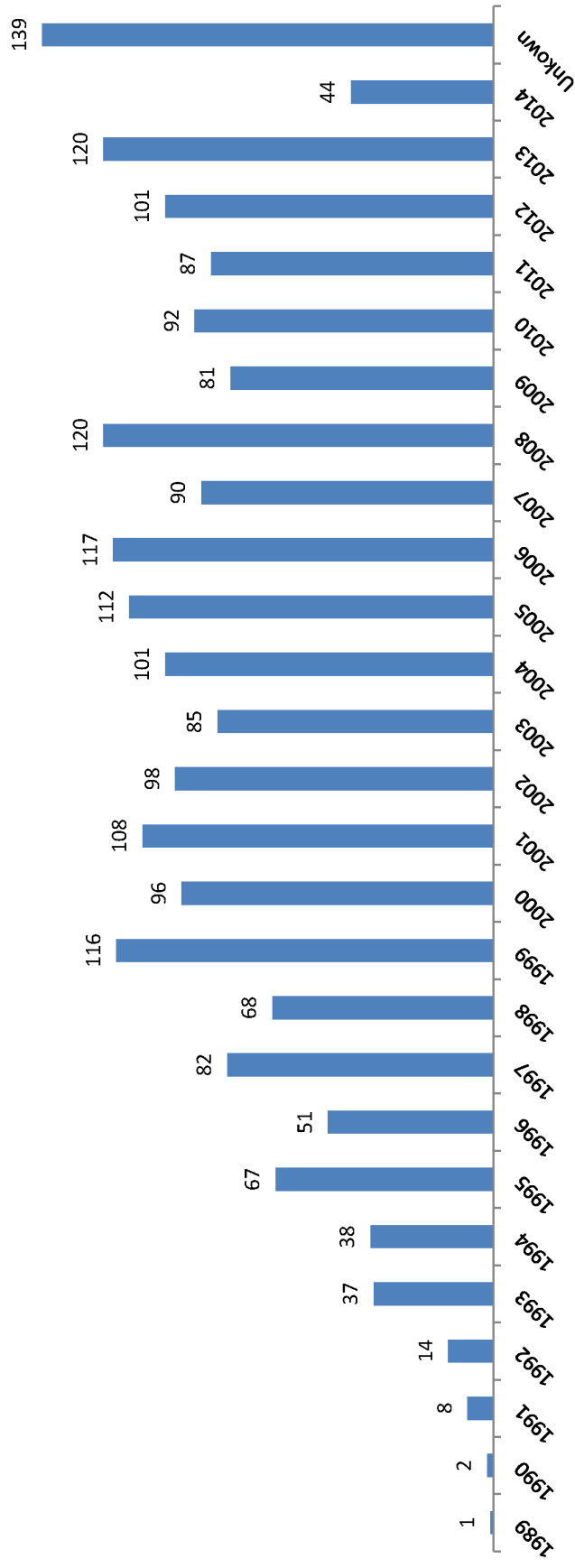
# Choozit Swift





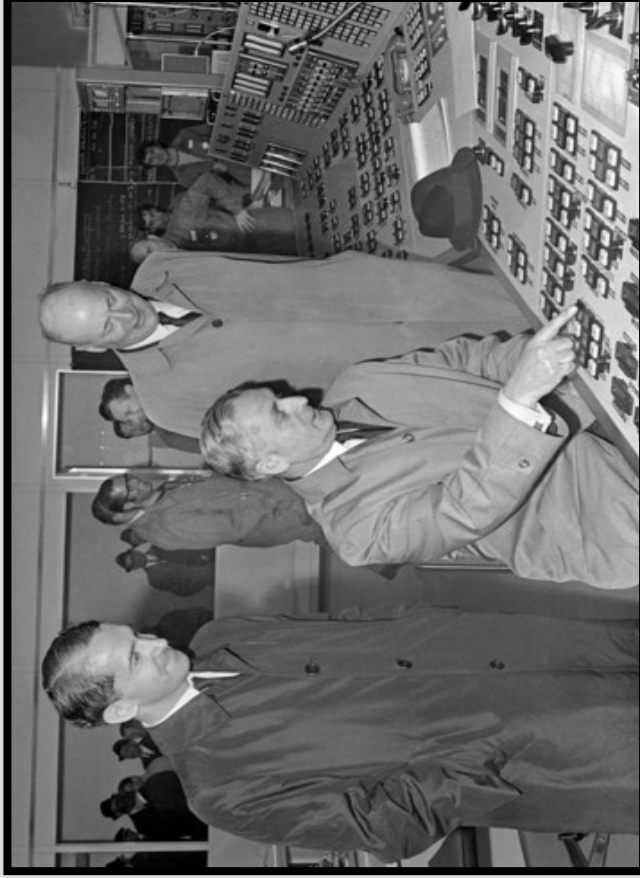
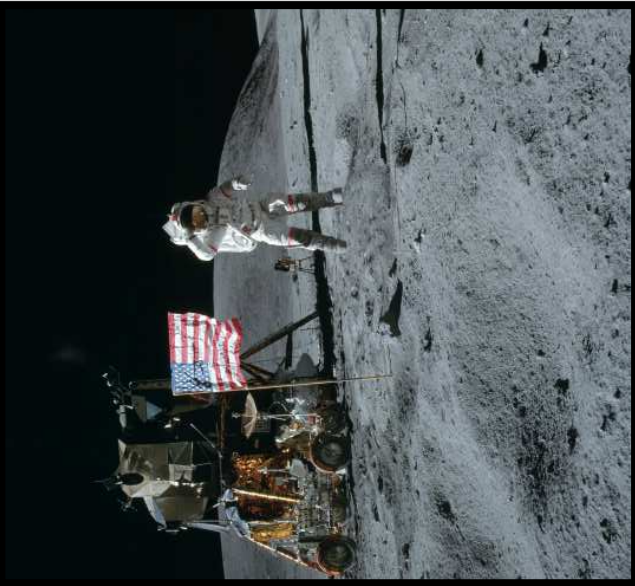


## Number of gene therapy clinical trials approved worldwide 1989-2014

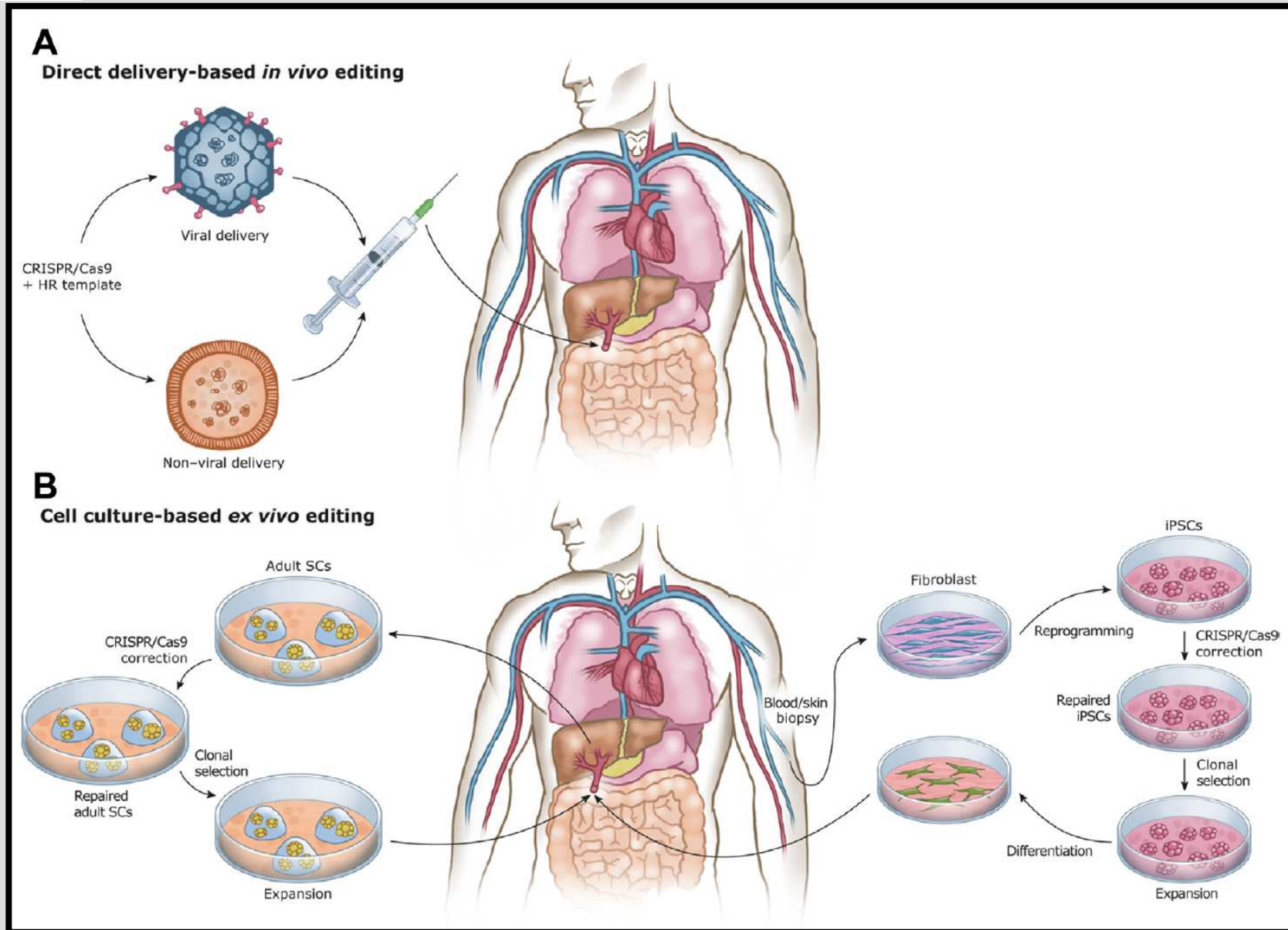




Vector type	Vector Name	gRNA promoter	All-in-one vector?	Selection/Screening Markers	Vector Price*
Lentiviral	plentiCRISPR v2	U6	Yes Driven by EFS promoter, with C-terminal DYK	AmpR, PuroR	From \$99
	plentiGuide-Puro	U6	No pLentiCas9-Blast or pLentiCas9-EGFP are provided free-of-charge for co-delivery	AmpR, PuroR	
	pSpCas9 BB-2A-GFP (PX458)	U6	Yes Driven by CBh promoter, with N-terminal DYK & NLS	AmpR, GFP	
	pSpCas9 BB-2A-Puro (PX459)	U6	Yes Driven by CBh promoter, with N-terminal DYK & NLS	AmpR, PuroR	\$199
Non-viral	pGS-gRNA	U6	No pSpCas9 (PX165) is provided free-of-charge for co-delivery	AmpR	
	pGS-gRNA-Neo	U6	No pSpCas9 (PX165) is provided free-of-charge for co-delivery	AmpR, NeoR	
AAV	pAAV SpGuide acceptor (PX552)	U6	No pAAV-SpCas9 (PX551) is provided free-of-charge for co-delivery	AmpR, GFP	









The above described types of gene therapy are only temporary and must be applied to the individuals of each generation. But there is another type of gene therapy (heredo-phenotypic therapy) that cures the strain as well as the individual, with the result that this therapy permanently cures or readjusts the germplasm.

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<sup>✉</sup>, Junjiu Huang<sup>✉</sup>

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](mailto:hjunjiu@mail.sysu.edu.cn) (J. Huang), [zhoucanquan@hotmail.com](mailto:zhoucanquan@hotmail.com) (C. Zhou)

Received March 30, 2015 Accepted April 1, 2015



Junjiu Huang



Kathy Niakan

# SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

## Multiplex gene editing via CRISPR/ Cas9 exhibits desirable muscle hypertrophy without detectable off-target effects in sheep

Received: 25 April 2016

Accepted: 04 August 2016

Published: 26 August 2016

Xiaolong Wang<sup>1,2</sup>, Yiyuan Niu<sup>1,2</sup>, Jiankui Zhou<sup>3,3,3</sup>, Honghao Yu<sup>4,5</sup>, Qifang Kou<sup>5</sup>, Anmin Lei<sup>6</sup>,  
Xiaoe Zhao<sup>6</sup>, Hailong Yan<sup>1,4</sup>, Bei Cai<sup>1</sup>, Qiaoyan Shen<sup>6</sup>, Shiwei Zhou<sup>1</sup>, Haijing Zhu<sup>4</sup>,  
Guangxian Zhou<sup>1</sup>, Wenzhi Niu<sup>5</sup>, Jinlian Hua<sup>6</sup>, Yu Jiang<sup>1</sup>, Xingxu Huang<sup>3,3</sup>, Baohua Ma<sup>6</sup> &  
Yulin Chen<sup>1</sup>





# Auferstehung in der Arktis

**Biotechnik** Der amerikanische Genforscher George Church verfolgt einen abenteuerlichen Plan: Er will Gene von Mammuts ins Erbgut von Elefanten einpflanzen – und die Designer-Tiere dann in einem sibirischen Eiszeitpark ansteden.

Die Malaria ausrotten? Kein Problem, sagt George Church, man müsse dazu nur neue Mücken konstruieren, die resistent gegen den Erreger sind. Den Virenkrankheiten ein Ende setzen? Auch das hält der Mann von der Harvard University für machbar: indem man einen Menschen erschafft, dessen Gencode mit dem der Viren nicht mehr kompatibel ist.

Nichts ist so abenteuerlich, als dass George Church es nicht ersinnen könnte. Der bärige Hüne ist einer der bekanntesten Visionäre der modernen Biotechnik. Die Zukunft, die er skizziert, mutet atemberaubend an.

Und doch wäre es zu leicht, all das als Spinnerei abzutun. Church ist kein Fantast. Er hat einen Ruf als Macher. Immerhin gehört der Mann zur Weltelite der Genomforscher, er leitet ein großes Harvard-Labor, hält mehr als 60 Patente und ist Mitgründer von rund einem Dutzend Biotech-Firmen. Und nun möchte George Church das Mammut wiederauferstehen lassen. Mit der Arbeit daran, sagt er, habe er bereits begonnen. Noch sei es zu früh vorzusagen, wie lange es dauern wird. „Wenn wirklich alles klappt, ist es nicht ausgeschlossen, unser Ziel innerhalb von vier Jahren zu erreichen“, so der Forscher.

Das Wort „unmöglich“, sagt Church, tauche in seinem Wortschatz nicht auf. Die Erfahrung hat ihn gelehrt, dass in seinem Forschungsfeld, der Genomik, selbst die kühnsten Prognosen von der Wirklichkeit übertroffen werden. 2,7 Milliarden Dollar

und 13 Jahre Forschung waren nötig, um das erste menschliche Genom zu entziffern. Heute, nur zwölf Jahre später, geht das an einem Nachmittag zum Preis von nicht einmal 1000 Dollar. Es ist wenig erstaunlich, dass ein solches Tempo die Fantasie beflügeln kann.

Je einfacher und billiger das Entziffern und Synthetisieren von Erbgut wird, desto näher rückt die Ära, in der das mutwillige Design von Lebewesen möglich wird. Die Arbeit mit dem Erbmolekül DNA ist für Church schon heute so einfach, was wie die Bastellei mit einem Baukasten. Dieser enthält Tausende Genklötzchen, aus denen er fast nach Belieben Neues zusammensetzen kann.

Und dann ist da in den vergangenen Jahren noch ein neues Werkzeug hinzugekommen, das sich anschießt, das Handwerk der Genetiker ein weiteres Mal zu revolutionieren. CRISPR-Cas9 heißt das neue Verfahren, und so sperrig der Name, so gewaltig ist die Erwartung, die sich daran knüpft. Vor gerade einmal drei Jahren haben Jennifer Doudna in Kalifornien und Emmanuelle Charpentier in Schweden die Methode entwickelt. Die Nobelpreisvergabe an die beiden Molekularbiologinnen gilt in Fachkreisen nur noch als eine Frage der Zeit.

Doudna und Charpentier hatten sich zunutze gemacht, dass auch Bakterien eine Art von Immunsystem haben, mit dessen Hilfe sie sich des Erbguts viraler Eindringlinge entledigen können. Die beiden Wissenschaftlerinnen stellten fest, dass sich die bakteriellen DNA-Abschnitte eignen, gezielte Eingriffe ins Erbgut vieler anderer Organismen vorzunehmen.

Erhalten wird. Die Arbeit mit dem Erbmolekül DNA ist für Church schon heute so einfach, was wie die Bastellei mit einem Baukasten. Dieser enthält Tausende Genklötzchen, aus denen er fast nach Belieben Neues zusammensetzen kann.

Und dann ist da in den vergangenen Jahren noch ein neues Werkzeug hinzugekommen, das sich anschießt, das Handwerk der Genetiker ein weiteres Mal zu revolutionieren. CRISPR-Cas9 heißt das neue Verfahren, und so sperrig der Name, so gewaltig ist die Erwartung, die sich daran knüpft. Vor gerade einmal drei Jahren haben Jennifer Doudna in Kalifornien und Emmanuelle Charpentier in Schweden die Methode entwickelt. Die Nobelpreisvergabe an die beiden Molekularbiologinnen gilt in Fachkreisen nur noch als eine Frage der Zeit.



Asiatischer Elefant  
Mammut-Gene  
Elefanten-DNA

## Pelz her!

Asiatische Elefanten sind die nächsten lebenden Verwandten des erst vor rund 4000 Jahren ausgestorbenen Wollhaarmammuts. Durch gezieltes **Einschleusen von Mammut-Genen** ins Erbgut von Elefantenzellen wollen Forscher mammutähnliche Tiere erschaffen.

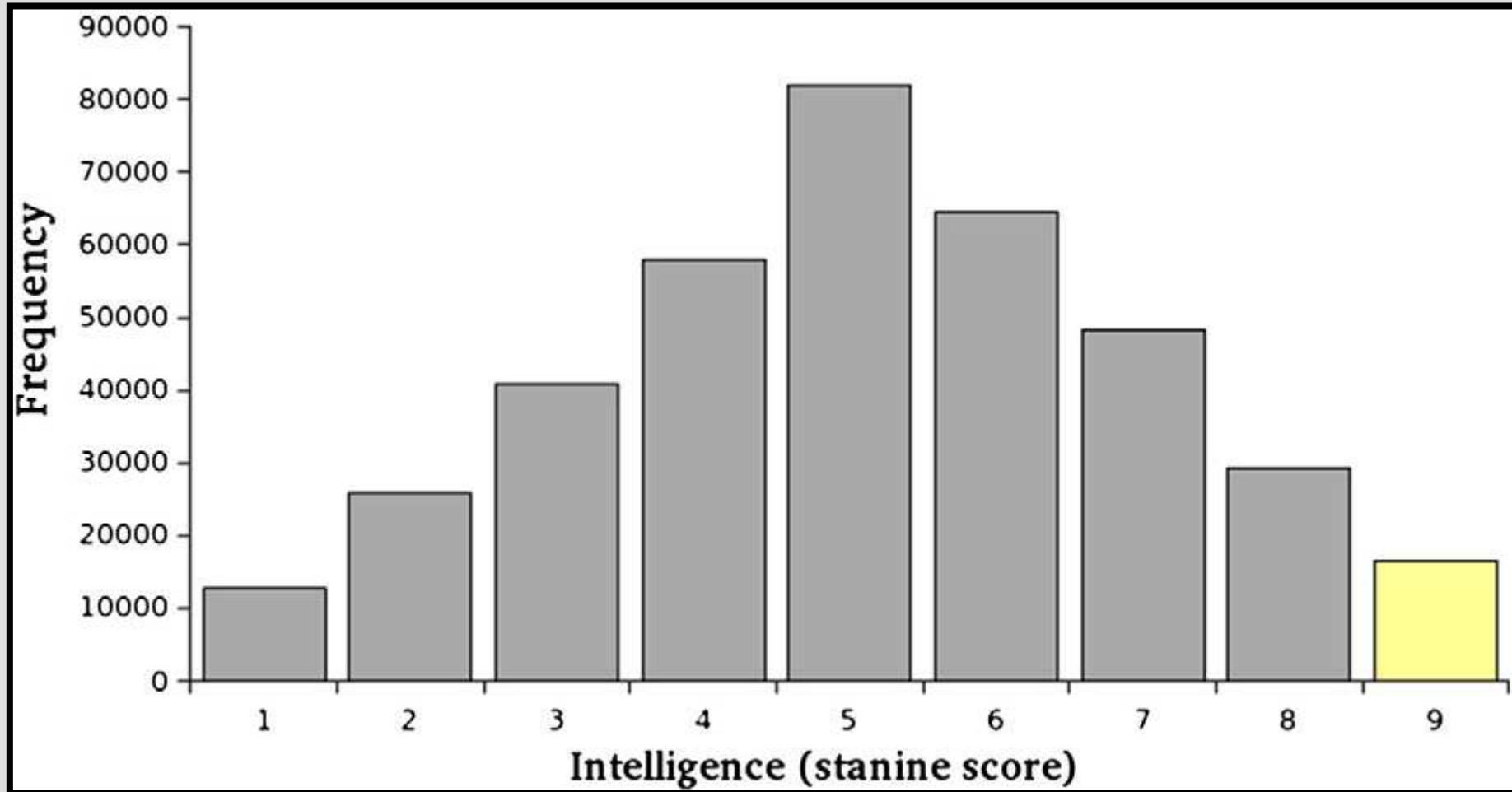
### Charakteristische Mammut-Merkmale

- dickes, zotteliges Fell
- dicke fettgew. abreschicht
- kleinere Ohren
- kürzer S Schwanz
- lange und stark gekrümmte Stoßzähne
- Hämoglobin-Variante: Der rote Blutfarbstoff von Mammuts konnte selbst unterkühlte Körperteile mit Sauerstoff versorgen.

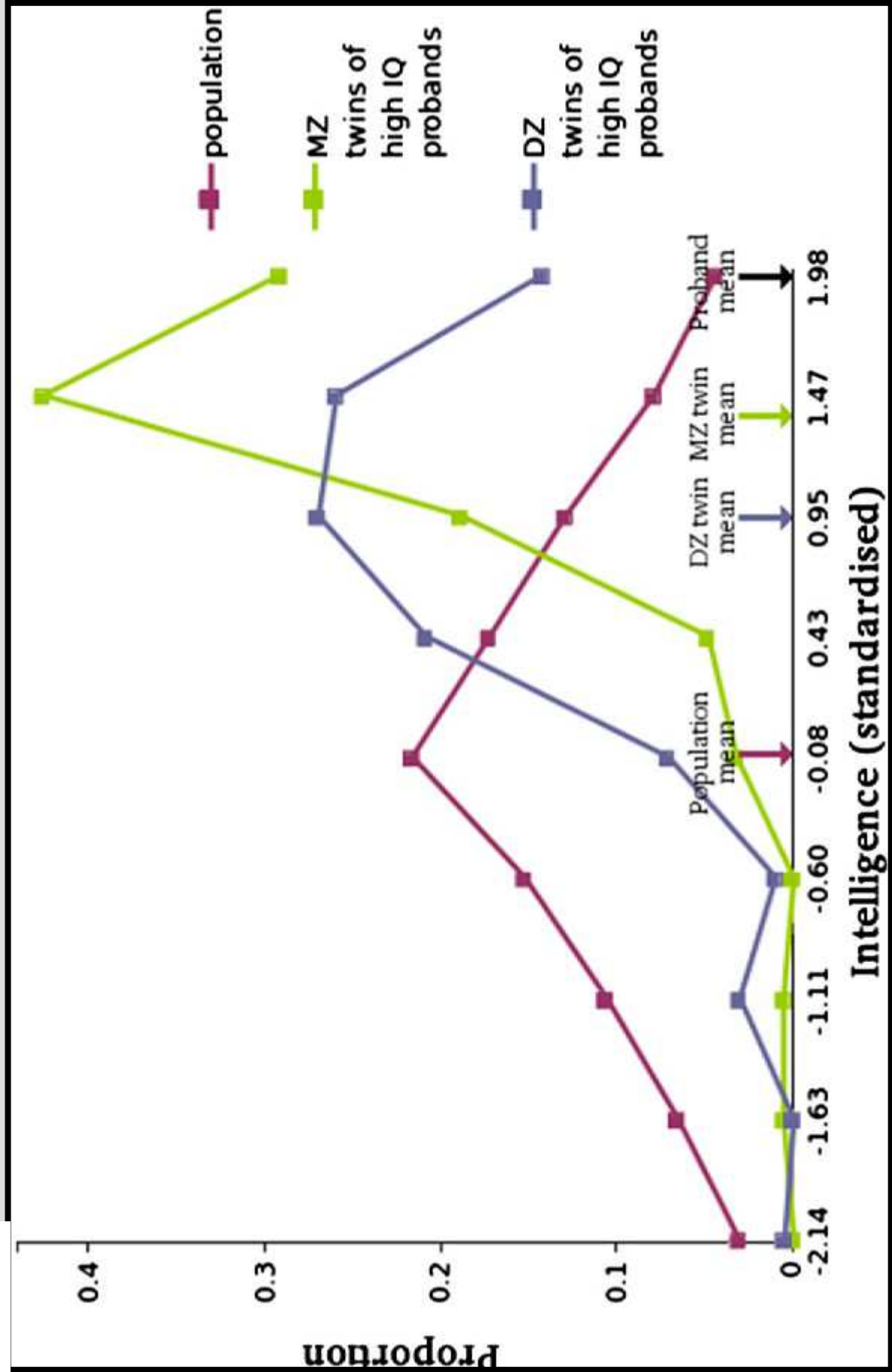




Several SNPs in the *OCA2* and *HERC2* genes identified as being associated with iris colour were analysed. The most strongly associated variant, rs12913832, shows the homozygous A allele in the Iceman's genome (coverage depth  $\times 31$ ), which is associated with brown eye colour in over 80% of cases even when regarded alone.



Shakeshaft NG et al, 2015 Jan;48:123-132.



- ***Ist die Keimbahntherapie unvermeidbar?***
- ***Technische Hindernisse?***
- ***Individuelle Gesundheitsrisiken?***
- ***Individuelle Vorteile?***
- ***Gesellschaftliche Risiken?***
- ***Gesellschaftliche Vorteile?***
- ***In welchen Fällen ist die Keimbahntherapie ethisch vertretbar?***

Bosley KS, et al., Nat Biotechnol. 2015 May;33(5):478-86.