

Marie Nyman

Gentekniknämnden
Marie.Nyman@genteknik.se
www.genteknik.se
www.genteknik.nu



Artikeln i sin helhet omfattas av
ovanstående rättigheter enligt
[Creative Commons](#)

Nobelpriset nästa för gensaxarna?

Genomredigeringstekniken CRISPR/Cas9 har kallats det största biotekniska framsteget sedan polymeraskedjereaktionen (PCR). Med PCR-tekniken kan man tillverka en stor mängd kopior av en bit DNA och den forskare som utvecklade tekniken, Kary B Mullis, tilldelades 1993 Nobelpriset i kemi. Sedan 2013 har CRISPR/Cas9 legat på topplistan över möjliga nobelpriskandidater.

CRISPR/Cas9 är egentligen ett immunförsvar hos bakterier som gör att de kan känna igen och oskadliggöra virus. Idag används bakteriernas försvarssystem i modifierad form på laboratorier över hela världen och CRISPR/Cas9-tekniken har använts på allt ifrån majs, champinjoner och potatis till kor, grisar, apor och befruktade mänskliga ägg.

Genomredigering innebär att man gör riktade förändringar i arvsmassan för att få fram en ny egenskap hos till exempel en växt eller ett djur. De verktyg som används kallas populärt för gensaxar och kan också användas för att korrigera en mutation som leder till sjukdom.

Det finns fler gensaxar än CRISPR/Cas9. De första som användes var zinkfingernukleas-tekniken och tekniker som bygger på meganukleaser [1]. De började utvecklas redan under 1990-talet. Under 2009 började TALEN-tekniken användas och 2013 fick CRISPR/Cas9 sitt stora genomslag i forskarvärlden. En bidragande orsak till CRISPR/Cas9-teknikens stora genombrott är att den är betydligt enklare och billigare att använda än de äldre teknikerna. Men även om antalet forskningsartiklar där CRISPR/Cas9 använts har ökat dramatiskt de senaste åren används fortfarande de äldre teknikerna och det har kommit en ny variant av CRISPR som kallas CRISPR/Cpf1.

Genomredigeringsteknikerna bygger alla på nukleaser, enzymer som kan klippa itu DNA-spiralen. Till nukleaset kopplas endera ett specialdesignat proteinkomplex eller RNA-molekyler (gäller CRISPR) som leder nukleaset till en förutbestämd plats i arvsmassan.

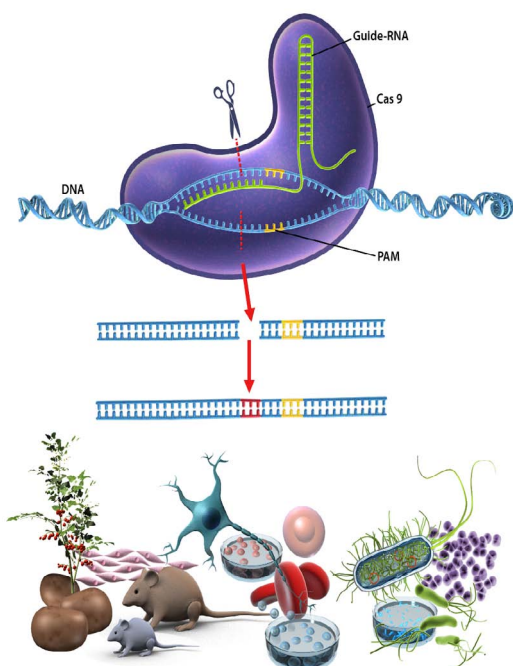
Teknikerna kan användas på olika sätt.

1) Om man vill stänga av proteinproduktionen från en viss gen kan man skapa en mutation med hjälp av till exempel CRISPR/Cas9. RNA-molekylen designas så att den binder till den del av arvsmassan där man vill skapa mutationen och nukleaset Cas9 följer med och klipper itu DNA-strängen. När DNA-strängen klipps itu startar cellens eget reparationssystem, men lagningen blir inte exakt. Några baspar kan försvinna eller läggas till. Man har skapat en mutation.

2) Vill man specifikt byta ut enstaka baspar för man tillsammans med CRISPR/Cas9 in en reparationsmall. Den består av DNA som är uppbyggt på samma sätt som den gen man vill för-

KORRESPONDENS:

Marie Nyman
Marie.Nyman@genteknik.se



FIGUR 1. CRISPR/Cas9 kan bland annat användas för att skapa en mutation på en förutbestämd plats i arvsmassa. För att DNA-strängen ska klippas upp måste det finnas en sekvens i närheten, den kallas för "protospacer adjacent motif" och förkortas PAM. PAM sekvensen för Cas9 är NGG, dvs en tripplett av nukleotider där N står för vilken nukleotid som helst och G för guanosinfosfat.

Copyright ©: Gunilla Elam. Figuren är reproducerad med tillstånd från Gunilla Elam (www.bitspin.net). För tillstånd att använda figuren för andra ändamål, kontakta Gunilla Elam på gunilla@bitspin.net.

ändra, förutom på den eller de platser där man vill byta ut ett baspar. Reparationsmallen kan vara enkelsträngad eller dubbelsträngad. När Cas9-enzymet klippt itu DNA-strängen kan cellen använda mallen som förlaga för att reparera skadan. Genen blir då som den var tidigare förutom de utbytta basparen.

3) Vill man föra in en gen på en specifik plats i arvsmassan gör man på samma sätt som ovan, men man för tillsammans med CRISPR/Cas9 även in en gen. Genen hamnar då där DNA-brottet skett. När man genmodifierar på det traditionella sättet, det vill säga utan någon gensax, vet man inte var i arvsmassan genen hamnar. Det får man analysera i efterhand. Med gensaxen kan man få genen att hamna där man vill.

Definitionerna i den lagstiftning som reglerar genetiskt modifierade organismer är över 25 år gammal. Forskning går per definition framåt och de senaste 25 åren har utvecklingen inom genteknikområdet gått rasande fort. Det har lett till att det är oklart om gensaxar som CRISPR/Cas9 leder till en genetiskt modifierad organism som ska regleras eller inte. Detta har diskuterats inom EU i snart 10 år utan att något beslut tagits. Under tiden utvecklas ytterligare nya tekniker i gränslandet mellan vad som ska regleras och vad som inte ska det.

Genomredigerade djur

Det första lantbruksdjur som genomredigerades var en gris och studien publicerades 2011. Den metod som då användes var zinkfinger nukleas-tekniken. Sedan den första redigerade grisen har olika gensaxar använts för att redigera arvsmassan i mer än 300 olika får, getter, grisar och kor, bland annat med TALEN-tekniken och CRISPR/Cas9. Nedan följer några exempel.



Minigrisar och grisar med motståndskraft mot virusjukdomar

PRRS är en förkortning av engelska *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome*, en virusjukdom som drabbar grisar. Sjukdomen orsakar djuren lidande och leder till betydande ekonomiska förluster. I Nordamerika beräknas sjukdomen kosta mer än 600 miljoner amerikanska dollar årligen och klassas som en av de allvarligaste grissjukdomarna av FN:s livsmedels- och jordbruksorganisation (FAO).

I Sverige konstaterades fall av sjukdomen för första gången 2007, ett utbrott som bekämpades framgångsrikt. Idag är Sverige fritt från PRRS-viruset, men eftersom viruset finns i stora delar av världen, inklusive de flesta länder i Europa, finns risken att svenska grisar åter drabbas av sjukdomen.

Forskare i USA har med hjälp av CRISPR/Cas9 slagit ut en gen i grisens arvs massa som är nödvändig för att viruset ska kunna infektera grisarna. När de modifierade grisarna infekterades med viruset visade de inga symptom på sjukdom.

Vid Roslininstitutet i Edinburg har man avlat fram grisar som är motståndskraftiga mot afrikansk svinfeber. Detta genom att med zinkfingernukleas-tekniken ändra några få baspar i grisens arvs massa. Den lilla ändringen gör att grisarnas immunsystem mer liknar vårtsvinets, en släkting till den domesticerade grisen som är motståndskraftig mot viruset.

I Kina har forskare med hjälp av TALEN-tekniken tagit fram minigrisar som i vuxen ålder bara väger cirka 15 kilo. Tanken var att använda minigrisarna som försöksdjur för att studera sjukdomar hos människa. *Beijing Genomics Institute*, som utvecklat grisarna, har också börja sälja dem som husdjur. Mi-

FIGUR 2. Virusresistenta grisar.

Copyright ©: University of Missouri, USA. Foto reproducerat med tillstånd från University of Missouri (<http://missouri.edu>). För tillstånd att använda fotot för andra ändamål kontakta MU News Bureau (Christian Basi, Director; basic@missouri.edu).

nigrisarna har fått genen för mottagarproteinet (receptorn) för ett tillväxthormon utslagen.

Hornlösa mjölkkor

I USA avlägsnas hornen på 80 procent av de kalvar som ska bli mjölkkor. Det betyder 4,8 miljoner kalvar per år. Bland kött-djursraserna är det vanligare att horn saknas, exempelvis rasen Angus. Cirka 25 procent (8,75 miljoner) av köttdjuren får sina horn avlägsnade. Hornen avlägsnas för att skydda djuren och de som har hand om dem, men det är en kostsam process och smärtsamt för djuren.

Att via klassisk avel ta fram mjölkdjur utan horn är en lång process och det skulle innebära att andra egenskaper följer med, egenskaper som är önskvärda i köttdjur, men inte mjölkdjur.

Det USA-baserade företaget *Recombinetics* har i samarbete med universitetsforskare avlat fram hornlösa mjölkdjur. Med hjälp av TALEN-tekniken ändrade de en gen i hornförsedda djurs arvs massa så att den liknar de hornlösas.

Resultatet så här långt är de två hornlösa kalvarna Spotigy och Buri.

Kashmirgetter med fler och längre ullfibrer

Kashmir är underullsfibrer från getter och används vid textiltillverkning. Då getterna börjar fälla sin vinterull tas kashmiren om hand.

Kinesiska forskare har med hjälp av CRISPR/Cas9 slagit ut en gen som påverkar fibrernas längd. Mutationer som gör att just den genen slås ut är anledningen till att till exempel norsk skogskatt har så lång päls. De genomredigerade kashmirgetterna producerade mer kashmir med i snitt längre fibrer än kontrollgetterna.

Verktyg för att studera malariaparasiten

För att förstå vad en viss gen har för funktion inaktiveras just den genen. Sedan kan forskarna studera hur det påverkar organismen och reda ut vad genen har för funktion.

Malariaparasitens arvs massa är sekvensbestämd, men man vet bara vad ungefär hälften av generna har för funktion. Det har hittills varit väldigt svårt att studera parasiten genetiskt eftersom det varit svårt att inaktivera enstaka gener. Om man inte förstår hur parasiten fungerar är det svårt att utveckla nya läkemedel eller vacciner. Med CRISPR/Cas9 har det blivit betydligt enklare att studera parasiten.

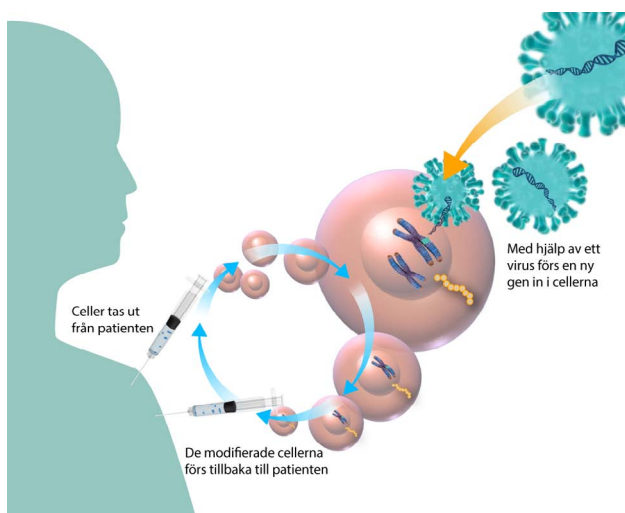
Människa och medicin

Genterapi

Genterapi är en behandlingsform som innebär att en korrekt gen förs in i vissa av patientens celler för att kompensera för motsvarande muterad gen. Det kan liknas vid en transplantation där man överför en gen i stället för ett organ. I och med de nya genomredigeringsverktygen skulle man även kunna ta

ut några av patientens celler, korrigerar den funktionsodugliga genen och därefter föra tillbaka cellerna. Det sistnämnda har ännu så läge enbart testats på försöksdjur.

Den form av genterapi som används i behandlingssyfte är så kallad somatisk genterapi. De innebär att det är kroppsceller (somatiska celler) som modifieras. Den nya genetiska informationen som introduceras påverkar endast den enskilda individen och kommer inte att gå i arv till nästa generation. Enligt svensk lagstiftning får försök i forsknings- eller behandlingssyfte som medför genetiska förändringar som kan gå i arv hos människa inte utföras. Det är dock tillåtet att utföra försök på mänskliga befruktade ägg upp till 14 dagar efter befruktningen, men de modifierade äggen får inte föras in i en kvinnas livmoder.



FIGUR 3. Somatisk genterapi. Patientens egna celler plockas ut och genmodifieras eller genomredigeras utanför kroppen. Cellerna förs därefter tillbaka in i patienten.

Copyright ©: Gunilla Elam. Figuren är reproducerad med tillstånd från Gunilla Elam (www.bitspin.net). För tillstånd att använda figuren för andra ändamål, kontakta Gunilla Elam på gunilla@bitspin.net.

CRISPR/Cas9 för behandling av blodbristsjukdomar

Sickelcellanemi och beta-thalassemi är allvarliga, ärftliga blodbristsjukdomar. Båda sjukdomarna orsakas av mutationer som ger förändringar i hemoglobinet, det protein i de röda blodkropparna som transporterar syre till olika delar av kroppen.

En forskargrupp har använt genomredigeringstekniken CRISPR/Cas9 och korrigerat mutationen som leder till sickelcellanemi i humana blodstamceller. De redigerade cellerna fördes in i möss. I mössen producerades tillräckligt mycket normalt hemoglobin för att det skulle ha en potentiellt klinisk effekt, det vill säga hjälpa människor med sickelcellanemi. Fler djurförsök krävs dock innan det testas på människor med sickelcellanemi.

Det syretransporterande hemoglobinet är uppbyggt av fyra enheter, två alfaglobiner och två betaglobiner. På fosterstadiet produceras inget betaglobin. Hos det ofödda barnet består hemoglobinet istället av två alfaglobiner och två gammaglobiner. Det kallas fetalt hemoglobin. Det finns människor som producerar fetalt hemoglobin hela livet. Det beror på att de bär på en mutation i de gener som producerar gammaglobin, vilket

leder till att gammaglobinproduktionen inte stängs av vid födseln. Mutationer i gammaglobingenen leder inte till sjukdom.

Med hjälp av CRISPR/Cas9 har forskare kopierat en mutation som ger upphov till fetalt hemoglobin i blodstamceller från patienter med beta-thalassemi. Det ledde till att det producerades mer fetalt hemoglobin, vilket man tror skulle kunna lindra symptom vid sickelcellanemi och beta-thalassemi. Det är ännu för tidigt att testa på människor.

Blinda råttor återfår till viss del synen

Retinitis pigmentosa, är ett samlingsnamn på ett hundratal ärftliga sjukdomar som drabbar ögats näthinna. Näthinnan innehåller celler som är känsliga för ljus. Dessa sinnesceller kallas tappar och stavar och bryts ner av sjukdomen. Den genetiska orsaken till sjukdomen kan variera. Det finns över 60 gener där en mutation kan leda till retinitis pigmentosa.

I en form av sjukdomen saknas en bit av en gen som kallas merkt och det finns försöksråttor som bär på just den genetiska förändringen och som därför är blinda.

Forskare har injicerat DNA som bland annat kodar för CRISPR/Cas9 och den del som saknas i merkt-genen in under näthinnan på de blinda råttorna. De korrigerade på så sätt den defekta genen vilket resulterade i att råttorna delvis återfick synen.

En annan forskargrupp har siktet inställt på en punktmutation i en annan gen som också den orsakar retinitis pigmentosa. De tog en typ av bindvävsceller från huden på en patient, omvandlade dem till stamceller och korrigerade mutationen med hjälp av CRISPR/Cas9.

De har därmed skapat patientspecifika stamceller med den korrekta genen som i framtiden skulle kunna användas för att behandla patienter med sjukdomen.

Immunterapi för behandling av cancer

Immunförsvaret känner igen och angriper det som är främmande för kroppen som exempelvis förkylningsvirus och bakterier. Cancerceller kan också ses som främmande för kroppen eftersom de avviker från normala celler, men immunförsvaret är inte så effektivt på att oskadliggöra dem. En del av kroppens immunförsvaret består av T-celler.

En form av immunterapi vid behandling av cancer innebär att T-celler genmodifieras så att de blir effektivare på att hitta och döda cancerceller. Vanligtvis används patientens egna T-celler. Cellerna tas ut ur kroppen, modifieras och förs in i patienten igen.

I april 2012 blev en femårig flicka i USA, det första barnet i världen att behandlas med genmodifierade T-celler. Den cancerform hon hade var akut lymfatisk leukemi (en form av blodcancer) och hon svarade inte på standardbehandlingar. Hon har nu varit fri från cancer i fyra år.

Vissa patienter har inte tillräckligt många friska T-celler för att denna form av immunstärkande terapier ska kunna användas.

Det gällde bland annat en brittisk flicka som vid 14 veckors ålder diagnosticerades med en aggressiv form av akut lymfatisk leukemi. När flickan var i ettårsåldern var alla möjligheter att rädda hennes liv uttömda och läkarna hade ingenting annat att erbjuda än palliativ vård.

Det fanns dock en behandling som ännu var på försöksstadiet och efter etiskt tillstånd och ett godkännande från föräldrarna testades den nya behandlingen. Läkarna använde sig av T-celler från en donator. Donatorns T-celler modifierades med gener som gav cellerna bättre förmåga att hitta och döda cancerceller. Dessutom användes TALEN-tekniken för att slå ut vissa gener i donatorns T-celler. Detta för att minska riskerna för avstötning. Efter två månader var barnet fritt från sin cancer och mår efter två år fortfarande bra. Det måste dock gå längre tid för att läkarna ska friskförklara henne.

I juni 2016 fick en forskargrupp i USA tillstånd att genomföra kliniska försök på människa med T-celler modifierade med CRISPR/Cas9. De kommer att ta T-celler från 18 patienter med olika former av cancer och göra tre genetiska förändringar i cellerna innan de förs tillbaka in i patienten. Forskarna hoppas starta studien under 2017.

En månad senare, i juli 2016, fick ett universitetssjukhus i Kina etiskt tillstånd att starta ett kliniskt försök med CRISPR-redigerade T-celler för behandling av patienter med metastaserad icke-småcellig lungcancer. Den 28 oktober fick den första patienten sin första behandling. I detta försök inaktiverades en gen för ett protein som kallas PD-1. Det finns sedan tidigare läkemedel för behandling av cancer som hämmar just PD-1.

Genomredigerade växter

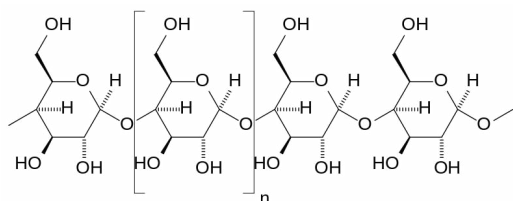
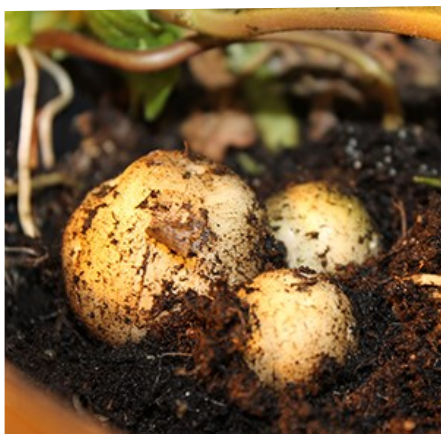
Potatis med förändrad stärkelsekvalité och potatis som bättre klarar kylförvaring

Potatisförädling är en långsam och komplicerad process. Det beror på att potatisen har en mycket komplex arvs massa. Den har till exempel fyra kopior av varje kromosom som dessutom är väldigt olika varandra när det gäller varianter av generna (allelerna) de bär på.

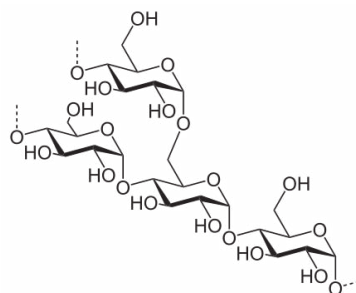
Korsar man två potatissorter i syfte att föra över en egenskap från en sort till en annan följer många andra, icke önskvärda egenskaper med. Man kan också förlora egenskaper man är intresserad av. Med en gensax kan man ändra en enskild gen och därmed en enskild egenskap i en viss potatissort.

Forskare vid Sveriges lantbruksuniversitet har med hjälp av CRISPR/Cas9 skapat riktade mutationer och i och med det stängt av de fyra kopiorna av en gen som är nödvändig för att amylos ska bildas i knölna. Amylos är en av de två molekyler som bygger upp stärkelse. Den andra molekylen heter amylopektin. Stärkelse är en vanlig konsistensgivare i soppor, såser, krämer, mejeriprodukter och andra livsmedel. Dagens potatisstärkelse måste modifieras genom olika industriprocesser

eftersom amylos inte är lagringsstabil. En del av dessa modifieringsprocesser kan orsaka miljöproblem. Stärkelsen i en potatis med bara amylopektin är naturligt lagringsstabil och kan användas i livsmedelsproduktionen utan några processtekniska modifieringar.



Amylos



Amylopektin

Kylförvaring är ett vanligt sätt att bevara potatis under en längre tid. Kyla gör dock att det ansamlas så kallade reducerande sockerarter i knölnarna. Till skillnad mot sackaros är till exempel glukos och fruktos reducerande sockerarter. När sedan potatisen behandlas vid höga temperaturer kommer dessa sockerarter att reagera med aminosyror i potatisen. Det resulterar i bruna potatisprodukter som smakar bittert och har förhöjda halter av akrylamid. Enligt den europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet är akrylamid potentiellt cancerframkallande.

Forskare har med hjälp av TALEN-tekniken stängt av genen för det enzym i potatis som omvandlar sackaros till glukos och fruktos. Det resulterade i potatisar utan reducerande socker och chips med ljusare färg och lägre halter av akrylamid.

Genomredigerade tomater och gurkor

Tomat härstammar från Sydamerika, nära ekvatorn. Den vilda tomatens blomningstid är beroende av dagslängden. Ju längre dagar desto längre tid tar det innan vildtomaten blommar. Den domesticerade tomaten är däremot relativt okänslig för dagslängd. Man säger att den är dagslängdsneutral. Forskare har

FIGUR 4. Med CRISPR/Cas9 har svenska forskare ändrat stärkelsen i potatis så att den kan användas som konstistensgivare i livsmedel utan att först modifieras kemiskt. Överst till vänster är ett foto på den krukodlade potatisen och till höger potatisodlingen i växthus.

Copyright ©: Mariette Andersson, forskare, Sveriges Lantbruksuniversitet. Foton reproducerade med tillstånd från Mariette Andersson. För tillstånd att använda foton för andra ändamål kontakta Mariette Andersson på mariette.andersson@slu.se. Strukturformler för amylos och amylopektin från Wikipedia (ej copyrightskyddade).

studerat tomat och vildtomat och kommit fram till vad som är grunden till denna skillnad. Att tomaten är dagslängdsneutral beror på en mutation i en gen för ett så kallat anti-florigen. Tomaten introducerades till Medelhavsområdet under 1600-talet. Man tror att det redan då fanns exemplar som bar på mutationen och att det därför fungerade att odla dem vid Medelhavet och senare längre norrut. Mutationen gör att det bildas mycket lite anti-florigen i tomat, men genen är inte helt utslagen. Det bildas lite anti-florigen även i den domesticerade tomaten.

Forskare har använt CRISPR/Cas9 och helt slagit ut genen för anti-florigen i tomat. Resultatet blev plantor som satte frukt betydligt snabbare än normalt. Genom att skapa ytterligare en riktad mutation fick tomatplantorna dessutom ett mer kompakt växtsätt. Forskarna menar att de genomredigerade tomaterna skulle kunna odlas längre norrut och att samma typ av mutationer kan ge samma egenskaper i andra växter som majs, vete och sojaböna.

Växtvirus orsakar stora skördeförluster världen över. Genom att stänga av en gen i gurka med hjälp av CRISPR/Cas9 har forskare tagit fram gurkor som är motståndskraftiga mot tre olika virussjukdomar.

Torktåligare majs

Etylen är ett växthormon som påverkar träd så att de fäller sina löv och som gör att blommor börjar vissna. När växter utsätts för stress som till exempel torka ökar produktionen av etylen.

I bland annat majs finns en gen vars proteinprodukt hämmar etylen. Det har tidigare visats att om man ökar produktionen från denna gen med hjälp av genmodifiering så blir växten mer torktålig.

Nu har forskare istället utnyttjat CRISPR/Cas9. De analyserade först den genetiska variationen i 419 majssorter i hopp om att hitta en variant av genen som producerar mer etylenhämmande protein. Variationen var dock låg och ingen av de sorter som undersöktes producerade tillräckligt mycket av proteinet för att göra den torktålig.

Med hjälp av CRISPR/Cas9 kunde forskarna byta ut startsekvensen (promotorn) för den majsigen de ville öka produktionen från mot en startsekvens från en annan majsigen som producerar mer protein. Det ledde till ökad produktion från genen och en ökad skörd vid torka.

Grönt ljus för genomredigerade trädgårdschampinjoner, majs och potatis

Forskare i USA har använt CRISPR/Cas9 på trädgårdschampinjon. Med tekniken har de skapat en mutation, vilket lett till att en viss gen inaktiverats. När denna gen är aktiv är det enzym som produceras anledningen till att champinjonen mörknar. Totalt finns sex sådana gener i champinjon och i ett första skede har forskarna inaktiverat en av dem.

Samma teknik har använts på potatis för att den inte ska mörkna när de till exempel utsätts för stötar. Med CRISPR/Cas9 har forskare även tagit fram majs med förändrad stärkelsekva-

litet.

Jordbruksdepartementet i USA har meddelat att CRISPR/Cas9 modifierade champinjoner, potatis och majs inte räknas som genetiskt modifierade organismer som ska regleras. Tidigare har USAs jordbruksdepartement kommit till samma slutsats när det gäller andra genomredigeringstekniker som till exempel TALEN.

Inom EU har man ännu inte bestämt om en gröda som utvecklats med till exempel CRISPR-Cas9 leder till en genetiskt modifierad organism som ska regleras enligt nuvarande GMO-lagstiftning.

Andra genomredigerade växter

Under 2016 har forskare också visat att CRISPR-Cas9 fungerar effektivt i bland annat Chardonnaydruvan, äppelsorten Golden delicious, petunia, ris, vete, durumvete, majs, en gummiproducerande maskrosart från Kazakstan och opiumvallmo.

Gendrivare

Med en gendrivare i arvsmassan kan en specifik gen eller mutation snabbt sprida sig i en population av växter eller djur. Därmed sprids också en egenskap. Diskussionerna om gendrivare har hittills framför allt handlat om att kontrollera insektsburna sjukdomar som malaria.

Utan en gendrivare är det 50 procents chans att en viss gen ärvs av en avkomma. Det gör att genen sprider sig långsamt i en population. Med en gendrivare sprider den sig snabbt. Den ser nämligen till att genen eller mutationen förekommer i homozygot form i varje generation.

Vissa delar av DNA:t ärvs av avkomman oftare än normalt. De följer inte Mendels lagar. De kopierar sig själva till andra delar av arvsmassan och kallas ibland själviska gener. Forskare har inspirerats av detta och idén om att med hjälp av själviska gener som gendrivare kontrollera sjukdomsbärande insekter föreslogs redan 2003.

Det var dock först i och med att CRISPR/Cas9 utvecklades som forskningen kring gendrivare tog fart. Det visade sig nämligen att CRISPR/Cas9-systemet är som klippt och skuret att fungera som gendrivare.

Det går till så att exempelvis honmyggor modifieras med en gendrivare i form av CRISPR/Cas9, med eller utan en gen kopplad till sig. De modifierade myggorna släpps ut och parar sig med vilda myggor. När ett ägg från en modifierad hona befruktats av en vild hane kommer hälften av arvsmassan i det befruktade ägget att komma från den genmodifierade honan och hälften från hanen som saknar gendrivare. Gendrivaren ser då till att kopiera sig själv och genen som man vill sprida till den del av det befruktade äggets arvs massa som kommer från hanen. Resultatet blir att den mygga som utvecklas från det befruktade ägget är homozygot för gendrivaren och den gen som eventuellt kopplats till gendrivaren. Det innebär att myggan har gendrivaren och genen på båda sina kromosomer i ett



FIGUR 5. Malariamyggan
Anopheles gambiae.

Foto: James Gathany, Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library (http://phil.cdc.gov/phil/details_linked.asp?pid=1354).

Fotot är fritt tillgängligt.

kromosompar.

Gendrivare fungerar bara på arter som förökar sig sexuellt och om det ska fungera effektivt att arten har en snabb generationstid, det vill säga att tiden från en generations början till påföljande generations början är kort.

I mars 2015 publicerades en vetenskaplig artikel där forskare för första gången visade att det fungerade i praktiken. Bananflugor modifierades med CRISPR/Cas9 som skapade en specifik mutation i bananflugornas arvs massa. Mutationen ledde till att flugorna fick gula ögon, en egenskap som snabbt spred sig i populationen.

I november 2015 publicerades en artikel där man gjort på liknande sätt med en art av malariamygga (*Anopheles stephensi*), men till skillnad mot bananflugorna, där enbart en mutation skapades, fördes två gener in i myggans arvs massa tillsammans med CRISPR/Cas9.

Malariaparasiten (*Plasmodium falciparum*) genomgår en rad utvecklingsstadier innan den slutligen når myggans spottkörtlar och kan infektera människor. De två generna som myggorna modifierats med producerar en typ av proteiner som hindrar malariaparasitens utveckling i myggan.

En månad senare presenterades resultat från en studie där forskare använt gendrivare i form av CRISPR/Cas9 för att sprida sterilitet bland honor av myggan, *Anopheles gambiae*, den huvudsakliga malariamyggan på den afrikanska kontinenten.

Target Malaria är ett icke-vinstdrivande forskningskonsortium vars mål är att utveckla och dela med sig av tekniker för att kontrollera malaria. Konsortiet ser gendrivare som ett komplement till andra strategier för att kontrollera malaria och hoppas kunna starta de första fältförsöken 2024.

I konsortiet ingår bland annat forskare, riskbedömningsexperter och experter på lagstiftning. Det har också upprättats en kommitté som ska ge råd i etiska frågor. I konsortiet ingår personer från Afrika, Europa och Nordamerika.

Inom konsortiet arbetar man med gendrivare i form av gener för meganukleaser. Målet är att minska antalet honor av malariamyggan *Anopheles gambiae* och därmed reducera myggpopulationen och antalet fall av malaria. För att uppnå målet arbetar konsortiet med två olika strategier. I det ena fallet blir resultatet att det enbart föds hanar och i det andra att den del av avkomman som är honor blir sterila.

Som ett svar på den snabba utvecklingen av gendrivare under 2015 ombads *The National Research Council of the National Academy of Sciences, Engineering, and Medicine* i USA att starta en kommitté med bred expertis. Uppdraget var att sammanfatta kunskapsläget och ge rekommendationer för en ansvarsfull användning av gendrivare.

I juni 2016 publicerades slutsatserna från arbetet. Kommittén skriver att gendrivare har potential när det gäller att lösa utmaningar inom miljö och hälsa, men att det krävs mer forskning på laboratorium och i väl kontrollerade fältförsök innan organismer med gendrivare i sin arvs massa släpps ut i miljön

för att till exempel reducera populationer av malariamyggor.

Inom FN:s konvention om biologisk mångfald hålls kontinuerligt så kallade COP-möten (Conference of Parties-möten). Vid konventionens möte i Sydkorea 2014 var gendrivare mest en teoretisk idé, men vid COP13-mötet i Mexiko 2016 fanns gendrivare med på agendan.

En rad organisationer uppmanade världens regeringar att införa ett moratorium för vidare teknisk utveckling och experimentella tillämpningar av gendrivare, samt mot frisläppande av organismer med gendrivare i miljön. COP13-delegaterna enades inte om ett moratorium, men att uppmana till försiktighet vid fältförsök och gav de stöd till bättre riskbedömning av potentiella effekter.

Referenser

1. Nyman, M. (2014) GMO eller inte GMO? Nya tekniker sätter lagstiftningen på prov. Bioscience Explained 8.

Webbsajter

Umeåprofessor serverar sin egen CRISPR-sallad: <http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=406&artikel=6508845>

Specialdesignade barn och mammutar i blåbärsskogen: <http://sverigesradio.se/sida/avsnitt/695286?programid=2702>

Kanske kan CRISPR fungera mot värsta fienden – bladmöglet: <http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=415&artikel=6541030>

Genmodifiering med ny teknik kan ske utan tillstånd: <http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=406&artikel=6303669>

Genkniven bland årets vetenskapliga genombrott: <http://sverigesradio.se/sida/artikel.aspx?programid=406&artikel=6328518>

Grabbing the Horns from the Bull, You tube: <https://www.youtube.com/watch?v=tdhJdVYkThU>

Ny genteknik väcker etiska frågor, Karolinska institutet: <http://ki.se/forskning/ny-genteknik-vacker-etiska-fragor>

How CRISPR lets us edit our DNA. TED talks, Jennifer Doudna: <https://www.youtube.com/watch?v=TdBAHexVYzc>

Science News har publicerat en populärvetenskaplig artikel om CRISPR: <https://www.sciencenews.org/article/crispr-inspires-new-tricks-edit-genes>

Genteknik för framtiden, Umeå universitet. Intervju med Emmanuelle Charpentier: http://www.umu.se/digitalAssets/193/193645_tank_20150908.pdf
CRISPR-Cas9 ("Mr. Sandman" Parody). A Capella Science, Youtube: <https://m.youtube.com/watch?sns=fb&v=k99bMtg4zRk>

Utrotning av Malaria:
<http://targetmalaria.org>

Förslag på ytterligare läsning

DNA-revolutionen. National Geographic, 2016, 9, 20-43.

Genteknikens utveckling 2016. Rapporten finns att läsa på www.genteknik.se.
Vill man följa utvecklingen av gentekniken så publicerar Gentekniknämnden en ny rapport varje år.

The CRISPR Pioneers. Time, 2016, 19, 72-77.