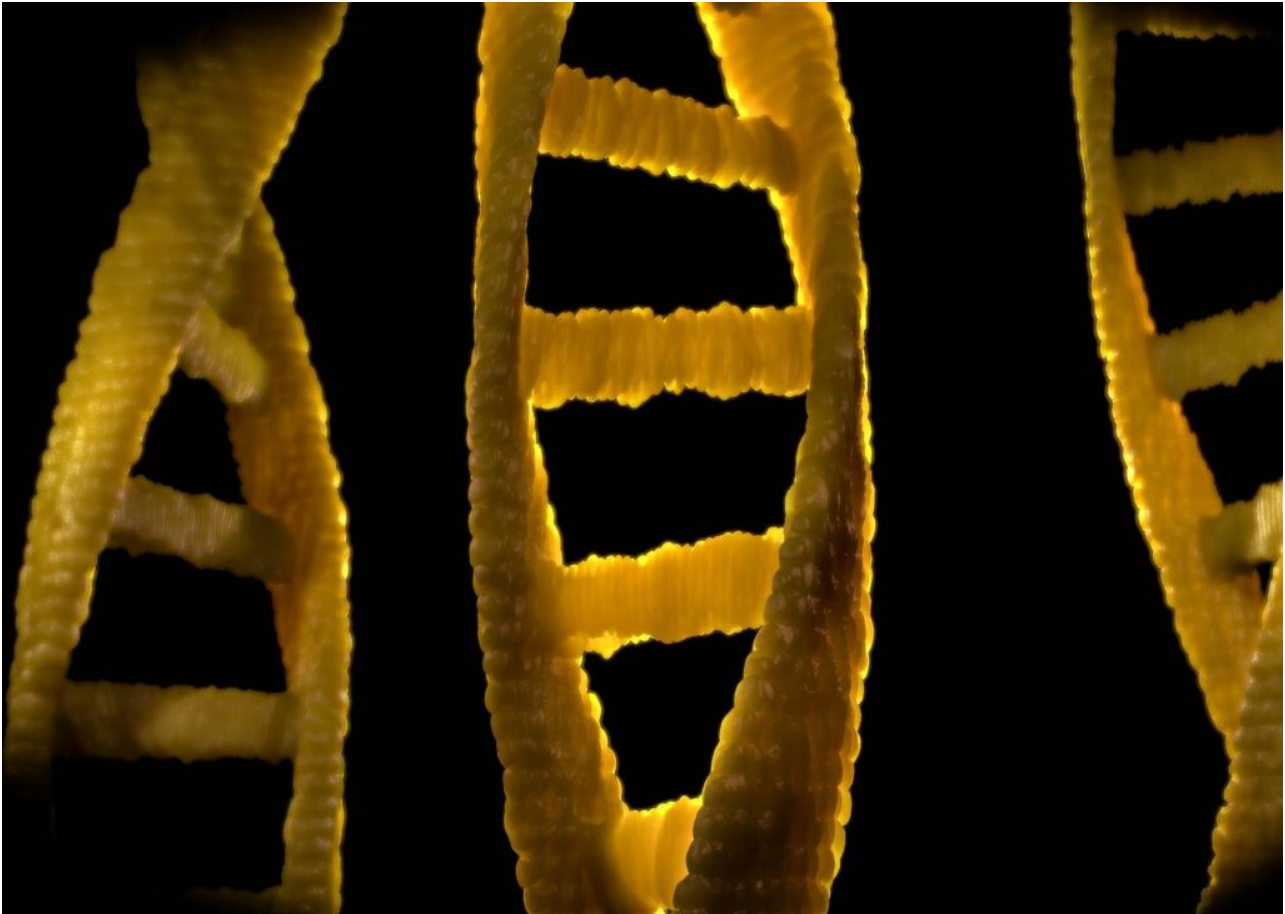


Checklist TU Delft moet gene editing met CRISP-Cas9 veiliger maken

6 december 2018



Het is [volgens de technische universiteit](#) sinds kort bekend dat het moleculaire gereedschap niet zo precies is als gedacht. Gebruik ervan kan ongewenste mutaties in het DNA van een cel veroorzaken. Delftse onderzoekers hebben nu een mechanisme geïdentificeerd dat dergelijke mutaties veroorzaakt wanneer CRISPR-Cas9 op een verkeerde manier wordt ingezet. Inactieve genen kunnen hierbij tot uitdrukking komen, wat volgens de wetenschappers erg gevaarlijk kan zijn.

Veiliger genoombewerking met checklist

De onderzoekers hebben op basis van hun bevindingen een checklist gemaakt, die moet helpen voorkomen dat het schadelijke mechanisme geactiveerd wordt. Daarmee moet en genoombewerking met CRISPR-Cas9 veiliger worden.

Net als die van veel andere organismen bevatten menselijke cellen twee exemplaren van elk chromosoom: één van elke ouder. Deze chromosoomkopieën zijn bijna identiek, maar ze bevatten kleine verschillen in een aantal genen. Die kleine variaties leiden tot de genetische verschillen tussen individuen.

Back-up kan problemen veroorzaken

De onderzoekers van de TU Delft hebben nu vastgesteld dat deze 'back-up' problemen kan veroorzaken in combinatie met genoombewerkingstechniek CRISPR-Cas9. "Wanneer met CRISPR-Cas9 een enkel chromosoom in heterozygote organismen zoals de mens wordt aangepast, wordt er een natuurlijk herstelmecanisme geactiveerd", vertelt onderzoeker dr. Jean-Marc Daran. "Het blijkt dat dit mechanisme de andere kopie van het chromosoom gebruikt als sjabloon voor het repareren van het DNA."

Normaal gesproken kunnen genoombewerkingsdeskundigen met CRISPR-Cas9 een deel van het genoom van een cel wijzigen door een nieuwe DNA-sequentie te introduceren. Het Cas-eiwit knipt het DNA open op een vooraf bepaalde plek, waarna men verwacht dat de cel zijn opgeknipte DNA repareert met behulp van deze nieuwe streng genetisch materiaal. Zo kunnen nieuwe genen in het DNA worden geplakt.

"Maar wanneer het reparatiemechanisme het andere chromosoom als sjabloon gebruikt in plaats van de nieuwe DNA-streng, lukt de bewerking natuurlijk niet", zegt Daran. Reparatie met behulp van het andere chromosoom is veel efficiënter, waardoor reparatie met behulp van het beoogde DNA-fragment bijna nooit voorkomt. Erger nog, er kan verlies van heterozygositeit optreden, met ernstige gevolgen voor de gezondheid. Ziektegenen die inactief waren, kunnen tot ontwaken: zoals genen die kanker veroorzaken.

Bij toeval ontdekt

De Delftse onderzoekers ontdekten het mechanisme bij toeval. Arthur Gorter de Vries, promovendus aan de TU Delft, probeerde vast te stellen hoe domesticatie van biergist uiteindelijk leidde tot de moderne gistsoorten die bierbrouwers nu gebruiken. "Ik probeerde een bepaald gen te verwijderen om de functie ervan te bepalen", vertelt Gorter de Vries. "Vreemd genoeg kon ik niet bevestigen dat ik het gen had weten te verwijderen. Ook merkte ik dat de cellen zich vreemd gedroegen."

Gorter de Vries had slechts één van de chromosomen in zijn gist genetisch bewerkt. Verdere experimenten toonden aan dat de gistcellen de andere kopie van het chromosoom als sjabloon gebruikten om hun DNA te repareren; het DNA dat hij juist probeerde te verwijderen.

Schadelijke mutaties

Dit nieuw ontdekte mechanisme kan ervoor zorgen dat genoombewerking mislukt en kan zelfs tot schadelijke mutaties leiden - echter alleen in heterozygote organismen. "Het is daarnaast belangrijk om te benadrukken dat het reparatiemechanisme alleen actief wordt als men zich op slechts één chromosoom richt bij de bewerking, en niet op allebei", stelt Daran.

Naast dit reparatiemechanisme zijn er nog andere factoren om rekening mee te houden bij gene editing in heterozygote organismen. De onderzoekers hebben daarom een checklist opgesteld om op een veilig manier het DNA van deze organismen te bewerken. De resultaten van hun onderzoek, inclusief de checklist, zijn gepubliceerd in *Nucleic Acids Research*.

*Meer weten over hoe, waarmee en met wie de zorg haar toekomst implementeert? Bezoek dan op 21 januari 2019 de jaarlijkse ICT&health Openingsmanifestatie van de e-healthweek. Entreekaarten zijn gratis, dus wacht niet en **[meld u snel aan](#)** want op is op!*