



ADRIANA SEQUETO SILVA

## **EDIÇÃO GENÉTICA: técnica CRISPR/CAS9**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Banca Examinadora da  
Universidade Presidente Antônio Carlos,  
como exigência parcial para obtenção do  
título de Bacharel em Biomedicina

Juiz de Fora  
2020  
ADRIANA SEQUETO SILVA

## **EDIÇÃO GENÉTICA: técnica CRISPR/CAS9**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Banca Examinadora da  
Universidade Presidente Antônio Carlos,  
como exigência parcial para obtenção do  
título de Bacharel em Biomedicina.  
Orientador: Dra. Marcella Martins Terra

Juiz de Fora  
2020  
ADRIANA SEQUETO SILVA

## **EDIÇÃO GENÉTICA: técnica CRISPR/CAS9**

### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra. Marcella Martins Terra

Prof. Ms. Anna Marcella Neves Dias

Prof.

## EDIÇÃO GENÉTICA: técnica CRISPR/CAS9

GENETIC EDITION: CRISPR/CAS9 technique

ADRIANA SEQUETO SILVA<sup>1</sup>, MARCELLA MARTINS TERRA<sup>2</sup>

### RESUMO

**Introdução:** O avanço da tecnologia em conjunto com a ciência levou a descoberta de novas técnicas com utilização em edição do genoma através de clivagem do DNA, em busca de uma futura cura genética, câncer, anemia falciforme, entre outras. **Objetivo:** Relatar a utilização do sistema CRISPR/CAS9 para edição genética e avanços em curas de doenças. **Métodos:** Foi realizado um estudo de revisão bibliográfica e análise crítica de trabalhos pesquisados eletronicamente através das bases de dados do SciELO, em dissertações, artigos de periódicos e consultas a sites. Os artigos pesquisados datam de 2012 a 2020 e os descritores utilizados foram edição genética, CRISPR/CAS9, biologia molecular, DNA. **Revisão de literatura:** A técnica CRISPR/CAS9 possibilitou muitas mudanças na edição genética, não só dos seres humanos, como de animais e plantas, porém ainda necessita de mais estudos, e deve se atentar a questões éticas para tal uso. **Considerações finais:** CRISPR/CAS9 é uma tecnologia da engenharia genética que está se mostrando capaz de solucionar problemas que antes eram considerados impossíveis. Apesar de ser uma técnica com potencial elevado, possui restrições éticas, as quais cientistas estão sempre buscando melhorar.

**Descritores:** Edição genética. CRISPR/CAS9. DNA. Biologia Molecular.

---

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora – MG

<sup>2</sup> Biomédica, Professora do Curso de Biomedicina da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, mestrado.

## ABSTRACT

**Introduction:** The advancement of technology in conjunction with science has led to the discovery of new techniques with use in genome editing through DNA cleavage, in search of a future genetic cure, cancer, sickle cell anemia, among others. **Objective:** To report the use of the CRISPR/CAS9 system for genetic editing and advances in disease cures. **Methods:** A study of bibliographic review and critical analysis of works searched electronically through the SciELO databases was carried out, in dissertations, journal articles and website consultations. The researched articles date from 2012 to 2020 and the descriptors used were genetic edition, CRISPR/CAS9, molecular biology, DNA. **Literature Review:** The CRISPR/CAS9 technique enabled many changes in genetic editing, not only for humans, but also for animals and plants, but the ethics for such use are still very much analyzed. **Final Considerations:** CRISPR/CAS9 is a genetic engineering technology that is proving capable of solving problems that were previously considered impossible. Despite being a technique with high potential, it has ethical restrictions, which scientists are always looking to improve. **Keywords:** Genetic editing. CRISPR/CAS9. DNA. Molecular biology.

## INTRODUÇÃO

A edição genética é um estudo com técnicas cada vez mais atualizadas, que pode ser muito útil na melhoria de determinadas situações. É um assunto muito discutido em todo o mundo, pelo fato de ser possível modificar uma parte específica do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) ou até mesmo uma sequência. Com a quebra do DNA é possível introduzir alterações em uma determinada região, que pode fazer com que o indivíduo seja favorecido com a mutação realizada no genoma.<sup>1</sup>

Por apresentar grande potencial nas terapias gênicas, muitas pesquisas e experimentos sobre o assunto vêm sendo realizados. Com o avanço da tecnologia em meados dos anos 80, onde a técnica CRISPR foi descrita pela primeira vez por Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna, obteve a descoberta da proteína Cas9, que

foi encontrada em uma bactéria que causa infecção na garganta. Foi através do estudo dessa proteína Cas9 que foi percebida sua utilização para edição de genomas, porém usar CRISPR em células humanas foi possível apenas em 2013 com estudo do Feng Zhang do MIT e do BroadInstitute.<sup>2</sup>

O sistema CRISPR/Cas9 do tipo II ocorre de forma natural em bactérias e arqueas, como forma de proteção contra vírus e plasmídeos invasores e é exatamente esse sistema que deu origem a CRISPR/Cas9 (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Espaçadas).<sup>3</sup>

Essa técnica de edição de genoma tem feito com que o número de pesquisas aumente cada vez mais, inclusive pesquisas com seres humanos, já que com seu novo uso poderá fazer mudanças no genoma para uma futura cura genética. Já se tem dados que relatam sucesso na correção da mutação no gene da hemoglobina que dá origem a anemia falciforme, foram isoladas e editadas por CRISPR/Cas9 células de pacientes portadores da anemia e após 16 semanas os níveis de expressão do gene modificado obtiveram redução.<sup>3</sup>

A terapia gênica já foi aprovada em grande parte da comunidade científica, desde que não ultrapasse as questões morais, porém em 2015 houve pela primeira vez a modificação genética de células embrionárias utilizando a técnica CRISPR-Cas9, relato feito por pesquisadores chineses. Portanto, compreender o uso dessa técnica e nas terapias gênicas é de extrema importância para avaliar os riscos do procedimento e questões éticas envolvidas.<sup>3</sup>

O objetivo desse trabalho foi relatar a utilização do sistema CRISPR/Cas9 para edição genética e avanço em curas de doenças.

## **MÉTODOS**

Esta pesquisa referiu-se a um estudo de revisão bibliográfica e análise crítica de trabalhos pesquisados eletronicamente por meio do banco de dados SciELO em dissertações, artigos de periódicos e consultas a sites. Foram selecionados trabalhos da literatura médica portuguesa, publicados no período de 2012 a 2020.

Os descritores utilizados para essa pesquisa foram “edição genética”, “CRISPR/Cas9”, “biologia molecular”, “DNA”.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

## **HISTÓRICO DO CRISPR/CAS9**

Em 1987, o pesquisador Ishino e colaboradores da Universidade de Osaka estudaram cepas de *Escherichia coli* e descobriram um loco peculiar no genoma da bactéria, formado por uma configuração desconhecida: sequências repetidas e sequências espaçadoras intercaladas.<sup>4</sup>

Posteriormente, no ano de 1993 foi publicado um artigo de Francisco Mojica em que foi o primeiro a caracterizar o que hoje é chamado de CRISPR. Durante toda a década de 1990 ele trabalhou com esse sistema, e em 2000, foi reconhecido que as sequências díspares de repetição, realmente compartilhavam um conjunto comum de recursos, conhecidas hoje como marcas de sequências CRISPR. Em 2005, foi relatado por Mojica que parte dos genomas de bacteriófagos possui essas sequências de fragmentos, levando então, a hipótese de que CRISPR é um sistema imunitário adaptativo.<sup>5</sup>

Após 5 anos dessa descoberta, o entendimento da função e os mecanismos do sistema CRISPR ficaram mais claros, e com isso, vários estudos desse sistema com aplicações biotecnológicas foram explorados, mas ainda não havia sido explorado a edição do genoma utilizando desse sistema. Foram identificados quatro genes estritamente localizados as matrizes CRISPR, denominados como Cas, que possuem funções preditas de helicases, polimerases e nucleases, compreendendo então que o sistema CRISPR/CAS seria capaz de estar envolvido na reparação do DNA. A enzima Cas9 é a mais utilizada para uso em manipulação genética.<sup>5</sup>

### **Sistema CRISPR/CAS9**

O procedimento de edição genética tem a capacidade de deletar e inserir genes específicos do DNA, podendo ser células germinativas, que terão as alterações genéticas transmitidas aos descendentes, e células somáticas, que não será hereditário.<sup>6</sup>

O sistema CRISPR faz possível editar o genoma através da clivagem do DNA por uma endonuclease (Cas9), que é guiada com base na sequência de RNA, sendo projetado para reconhecer a sequência-alvo que será modificada. Quando as repetições e os espaçadores são transcritos, formam o RNA guia que servirá para direcionar a enzima Cas9 ao alvo. Após a clivagem, é feita a alteração da sequência do DNA adotando a modificação, podendo ser usado tanto para reparar mutações como para introduzir mutações.<sup>7</sup>

### **Aplicações do Sistema**

Em todas as áreas, o sistema CRISPR está tendo um grande avanço, na área Médica por exemplo, foi aplicado a técnica para editar embriões humanos, com intuito de corrigir uma mutação, resultado foi satisfatório. Na Área laboratorial, pode haver a possibilidade de ajudar cientistas a desvendar melhor certos genes. Na agricultura, onde mais se vê o uso, cientistas tentam livrar a natureza de germes indesejáveis, controlar espécies invasoras e prevenir doenças como malária e dengue.<sup>8</sup>

O CRISPR/CAS possui vários diferenciais importantes e tem sido muito usado para terapia de câncer em testes in vitro e in vivo. Por ser de fácil execução, alta eficiência e especificidade, tem a possibilidade de reparar a mutação nos tumores que possui várias mutações genéticas, fazendo então com que o CRISPR/CAS9 consiga construir um molde de tumor com múltiplas mutações no gene in vivo, simulando então doenças complexas.<sup>9</sup>

### **Implicações éticas**

A finalidade no uso da técnica CRISPR seria a cura de doenças genéticas não só do doente como em todos os descendentes futuros. Teve sucesso no uso em ratos e macacos e com isso, foi possível acreditar que seria o momento de estudar se tem utilidade em humanos.<sup>10</sup>

No ano de 2018 o pesquisador chinês He Jiankui revelou a criação dos primeiros bebês geneticamente modificados do mundo, com intenção de criar pessoas com resistência a possíveis infecções pelo vírus HIV. Após a divulgação, vários cientistas e instituições de ciência condenaram o experimento, não só pela possibilidade de os bebês desenvolverem problemas, mas também temem a rejeição da sociedade em outras pesquisas que não tenha envolvimento de embriões.<sup>10</sup>

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O descobrimento da técnica CRISPR/Cas9 foi um avanço tecnológico com a ciência em que abre muitas discussões éticas sobre a possibilidade do uso em humanos, já que, é uma técnica que fornece vantagens e desvantagens, gerando incertezas no meio científico. Seu uso em animais e plantas foi de grande sucesso, portando ainda há um longo caminho a percorrer.

### **REFERÊNCIAS**

- 1- Lins AA, Gonçalves FB, Mello PL. Edição Genética Associada ao uso da nova técnica CRISPR/Cas9, ferramenta de defesa utilizada pelas bactérias contra DNA invasor. Rev. Elet. Cient. 2018; 4(3): 358-67.
- 2- Caetano GCG, Matos HOSM, Simão PCR, Duarte RV, Barreto SA, Henriques IS. Técnica CRISPR-Cas9 e Sua Utilização na Área Laboratorial. Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR [periódico na internet]. 2018; 25(2): 1-4. <http://www.mastereditora.com.br/bjscr>
- 3- Gonçalves GAR, Paiva RMA. Terapia Gênica: avanços, desafios e perspectivas. Rev. Einstein. 2017; 15(3): 369-75.
- 4- Pereira TC. Introdução à técnica de CRISPR. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética; 2016.
- 5- Dias CAP, Dias JMR. O sistema CRISPR/CAS como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: aplicações e implicações [monografia]. Cachoeiro de Itapemirim: Faculdade do Espírito santo – Multivix.
- 6- Furtado RN. Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano. Revista Bioética. 2019; 27(2): 33.
- 7- Arend MC, Pereira JO, Markoski MM. O sistema CRISPR/CAS9 e a possibilidade de edição genômica para cardiologia. Rev. Arq Bras Cardiol. 2017; 108(1): 81-3.
- 8- Carmo BS. A evolução do sistema CRISPR/CAS9. In: 17º Congresso Nacional de Iniciação Científica; [S.l.].
- 9- Alcantara RL, Lima HPS, Barbosa GO, Gonçalves LC, Silva APL, Passos XS, et al. A tecnologia de CRISPR/CAS9 na terapia gênica do câncer de pulmão. Revista Brasileira Militar de Ciências. 2019; 5(13): 27-33.
- 10- Sganzerla A, Pessini L. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. Revista Saúde Debate. 2020; 44(125): 527-40.