De qué hablamos cuando hablamos de Biología Sintética y Edición Génica.
Lo que se dice y lo que no se dice en cuánto a su precisión y riesgos potenciales.
Los productos de la Edición Génica, ¿son OGMs?

Transmisión en vivo: Redes - Amigos de la Tierra Uruguay @redes_at_

Actualización sobre cultivos transgénicos y edición génica en Uruguay y la región. Una revisión crítica.

Ronda 2

Edición génica; ser o no ser -genéticamente modificado-.
Una puesta a punto sobre esta tecnología y los debates en torno a su regulación. Y con la alimentación ¿cómo andamos?

> Claudio Martínez Debat.

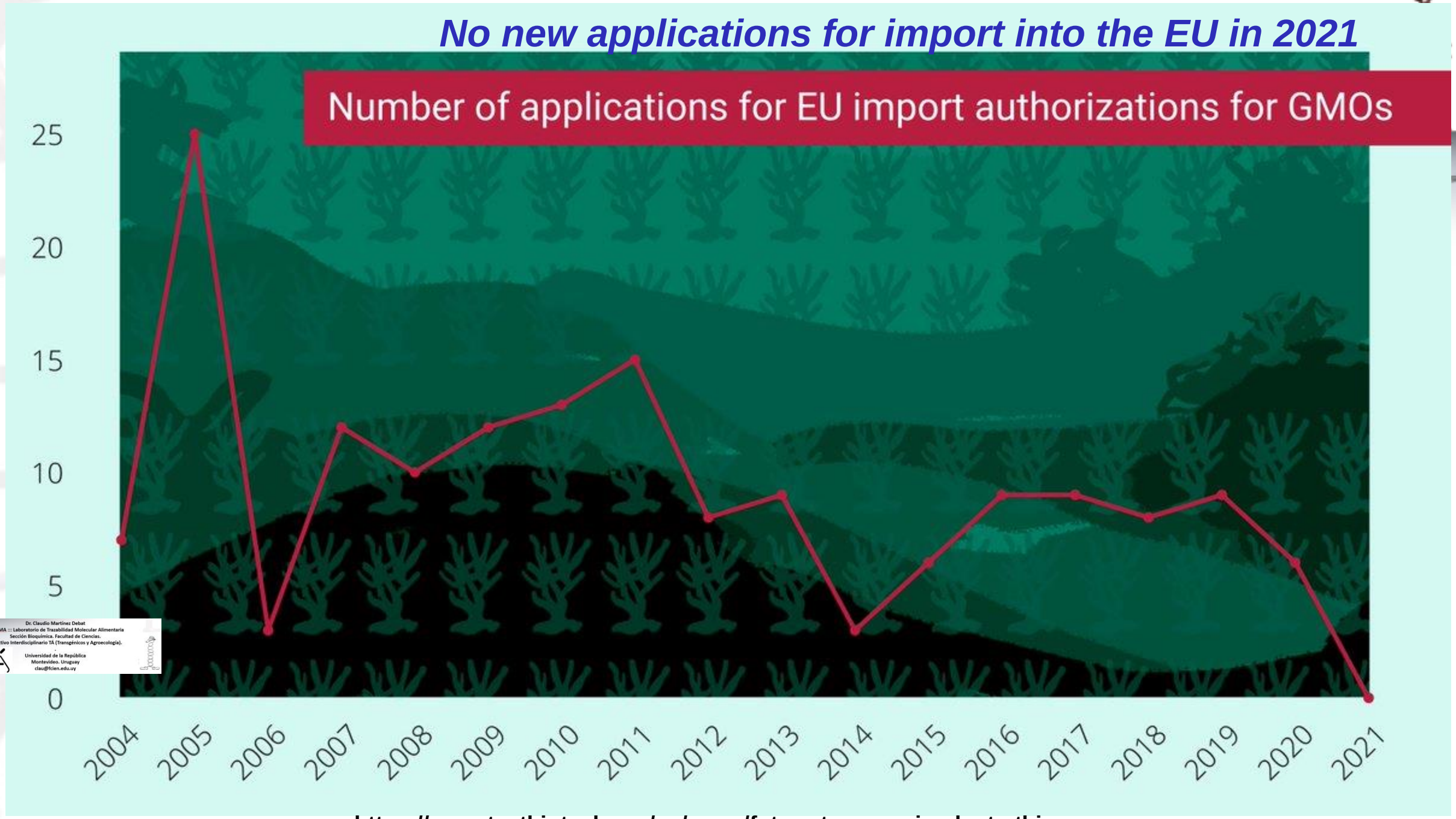
Químico farmacéutico y Dr. en Ciencias Biológicas. Prof. Libre en Facultad de Ciencias, Udelar. Integra el Colectivo TÁ, la UCCSNAL y el Grupo de DDHH y Ambiente de la Cátedra UNESCO, Udelar.

Organizan: REDES Amigos de la Tierra Uruguay · Colectivo TÁ

Apoya: Heinrich Böll Stiftung · iibce Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

Adhieren: Slow Food Uruguay · Red de Agroecología Uruguay · Red Nacional de Semillas Nativas y Criollas

No new applications for import into the EU in 2021



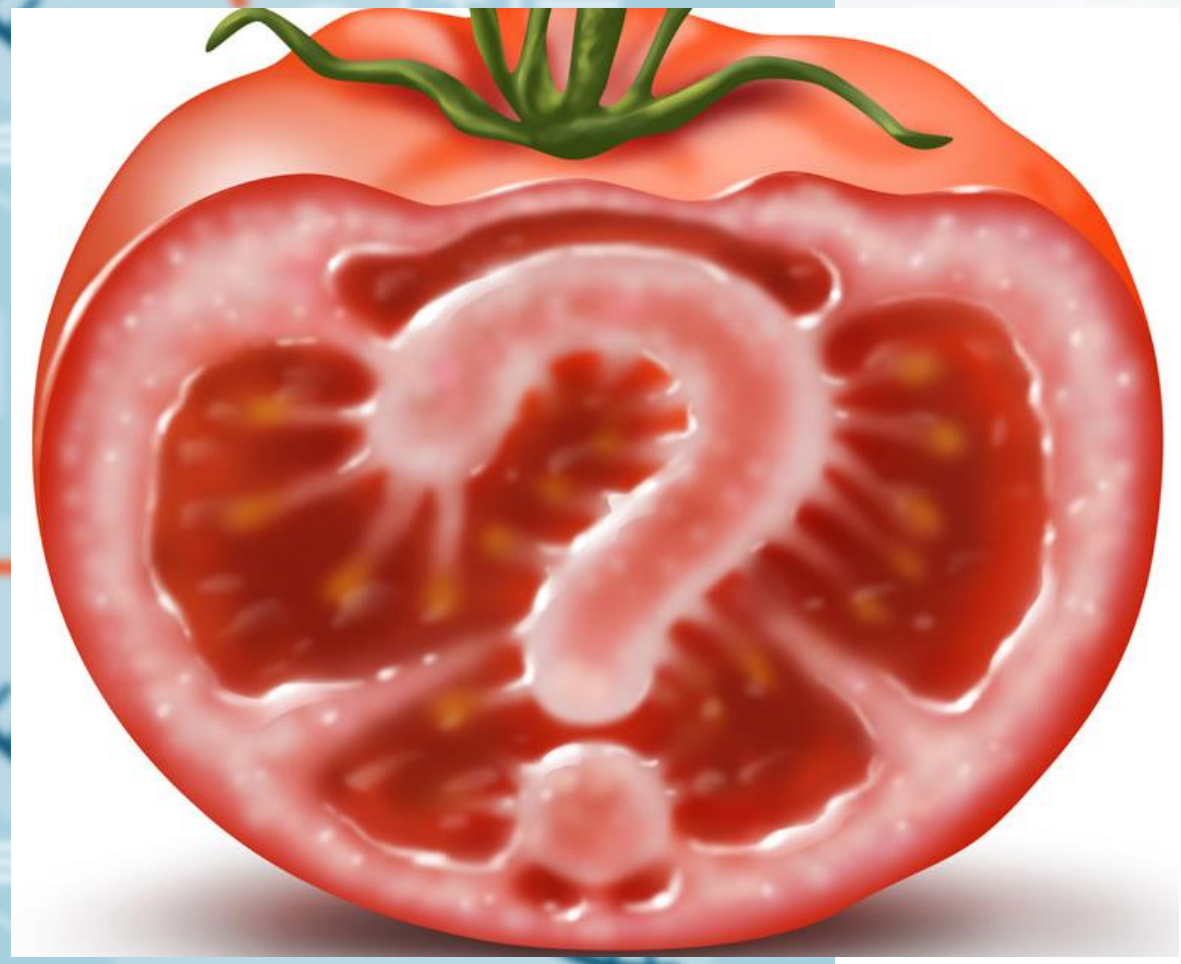
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

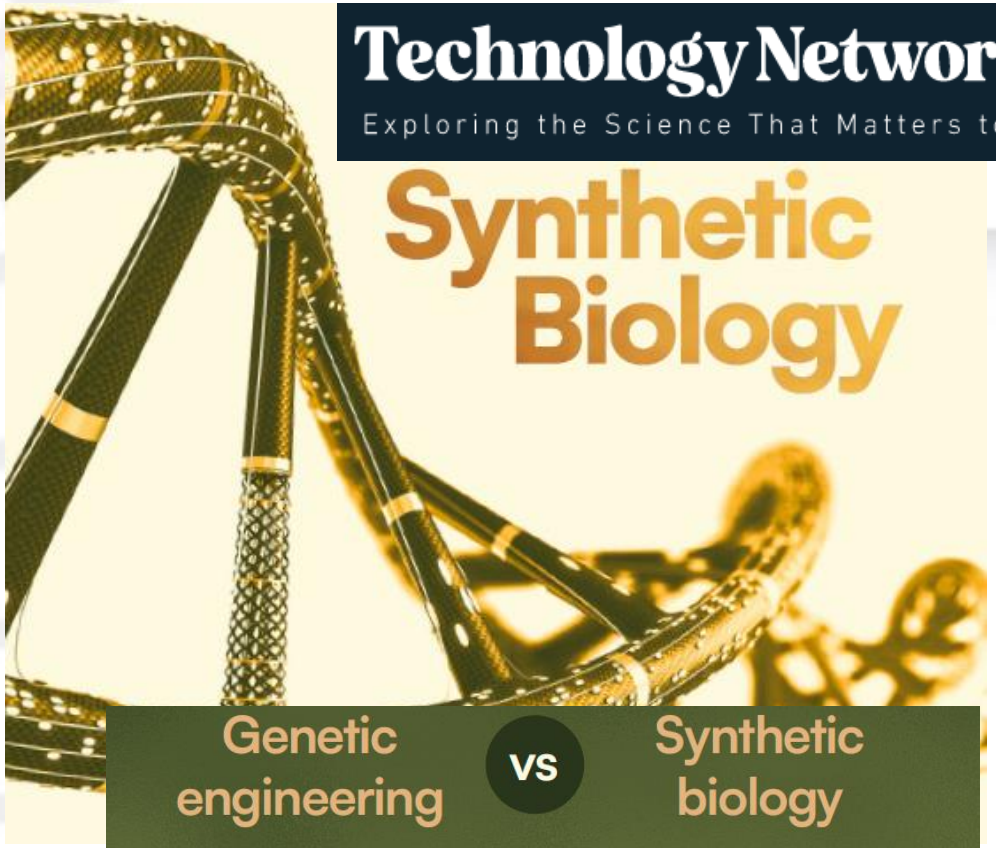
https://www.testbiotech.org/en/news/future-transgenic-plants-thing-

Ejemplo de Caso de "*New Plant-Breeding Technologies* (NPBTs, Nuevas Técnicas de "Mejoramiento")"

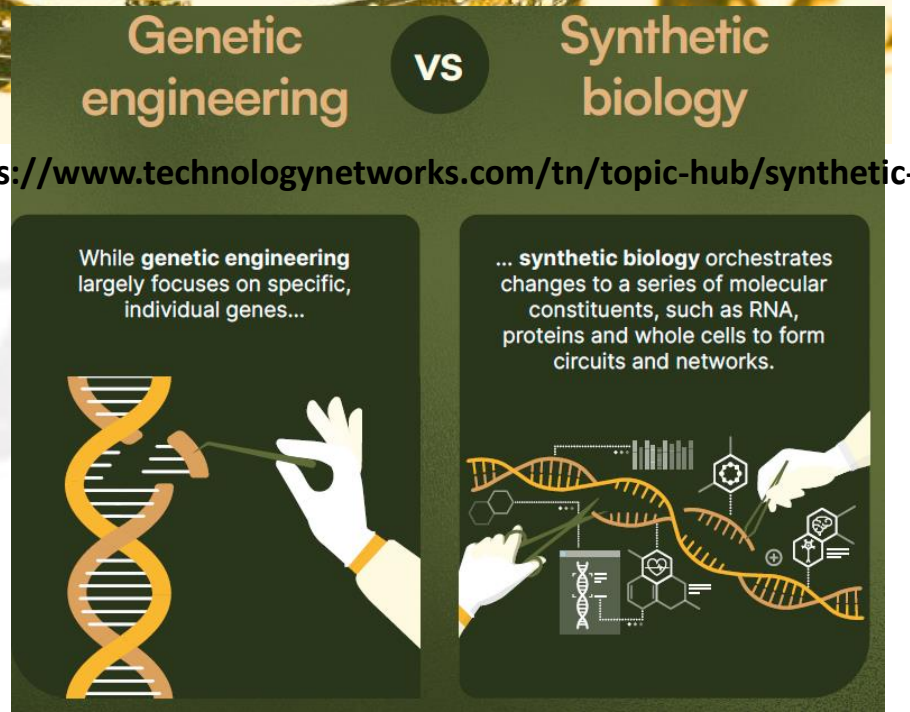
Japón: tomate tranquilizante con altos niveles de GABA, 2021

Efecto ~ benzodiazepinas





https://www.technologynetworks.com/tn/topic-hub/synthetic-biology



Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

https://www.ginkgobioworks.com/

GINKGO BIOWORKS

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Biology by design.

Biology is the most advanced manufacturing technology on the planet. We program cells to make everything from food to materials to therapeutics.

https://www.ginkgobioworks.com/

OUR WORK

FOOD

Changing the future of food

with Motif FoodWorks

LEARN MORE

AGRICULTURE

Designing probiotics for plants

with Joyn Bio

WASTE REMEDIATION

Enabling bioremediation solutions

with Allonnia

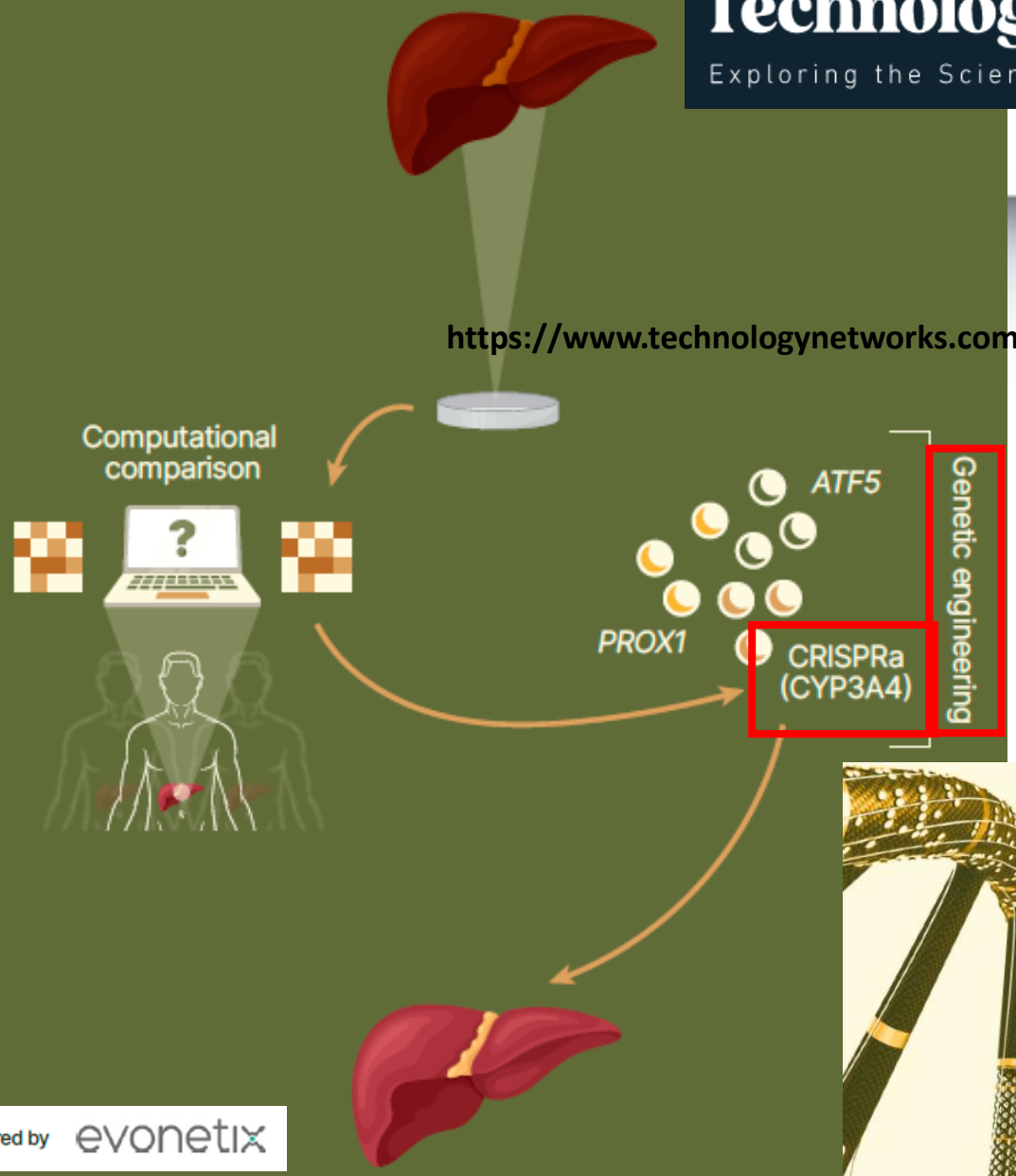
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Understanding diseases — engineering better organoids

Organoids – self-organized, three-dimensional tissue cultures – are derived from stem cells. They are revolutionizing our ability to study cellular mechanisms and disease pathology.

Sometimes, organoid phenotypes are immature, but synthetic biology can help.

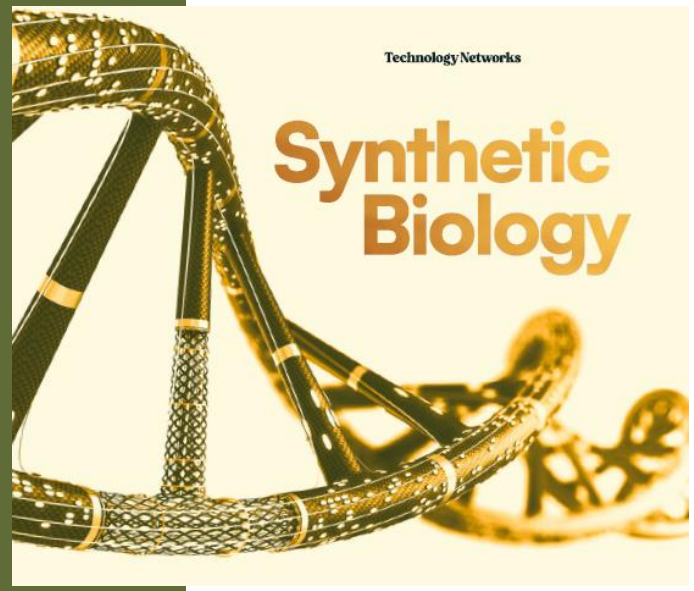
Scientists engineered gene regulatory networks in pluripotent stem cell-derived human liver organoids to direct maturation and morphogenesis of the organoids. Organoid function, signaling and enzymatic activity was improved compared to conventional PSC-derived liver organoids.[9]



Technology Networks
Exploring the Science That Matters to You

https://www.technologynetworks.com/tn/topic-hub/synthetic-biology

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy



ISO 5058-1:2021
Biotechnology — Genome editing
Part 1: Vocabulary

https://www.iso.org/standard/80679.html

3.1 Genome editing concepts

3.1.1

gene editing

techniques for **genome engineering** (3.1.3) that involve nucleic acid damage, repair mechanisms, replication and/or recombination for incorporating site-specific modification(s) into a gene or genes

Note 1 to entry: Gene editing is a subclass of **genome editing** (3.1.2).

Note 2 to entry: There are various genome editing tools (see 3.2 and Figure 1).

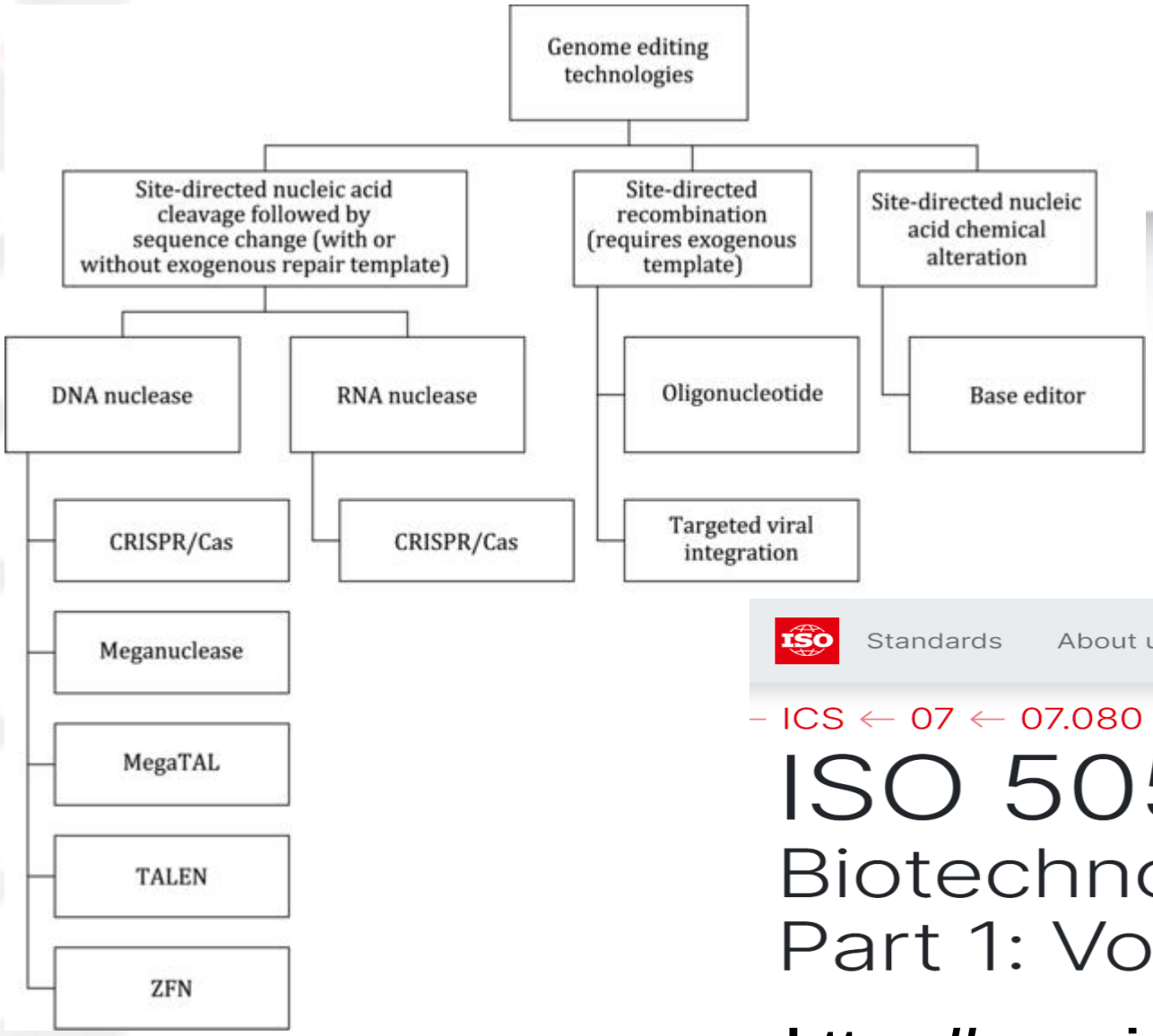
3.1.2

genome editing

techniques for **genome engineering** (3.1.3) that involve nucleic acid damage, repair mechanisms, replication and/or recombination for incorporating site-specific modification(s) into a genomic DNA

Note 1 to entry: **Gene editing** (3.1.1) is a subclass of genome editing.

Note 2 to entry: There are various genome editing tools (see 3.2 and Figure 1).



ISO Standards About us News Taking part **Store** Searc

ICS ← 07 ← 07.080

ISO 5058-1:2021

Biotechnology — Genome editing Part 1: Vocabulary

https://www.iso.org/standard/80679.html

Preview

Buy star

Format

Abstract

This document defines terms related to genome editing technology.

This document is applicable to general use of genome editing across species.

Type of nGM	nGM
Genome editing with site-directed nucleases (SDN)	CRISPR-based systems for genome editing (CRISPR)
	TALE-directed Nuclease systems for genome editing (TALEN)
	Zinc-Finger-directed Nuclease systems for genome editing (ZFN)
Genome editing directed by oligonucleotides	Oligonucleotide-directed Mutagenesis (ODM)
Modification of gene expression	Multiplex Automated Genomic Engineering (MAGE)
	RNA-directed DNA Methylation (RdDM)
Variants of GM technology	Cisgenesis (CG) / Intragenesis (IG)
	Transgrafting (TG)
Breeding support techniques	Agro-infiltration (AI)
	Haploid Induction (HI)
	Reverse Breeding (RB)

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

frontiers in Bioengineering and Biotechnolo

PRACTICE REVIEWS
blished: 05 March 2019
3389/fbioe.2019.00031

An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs)

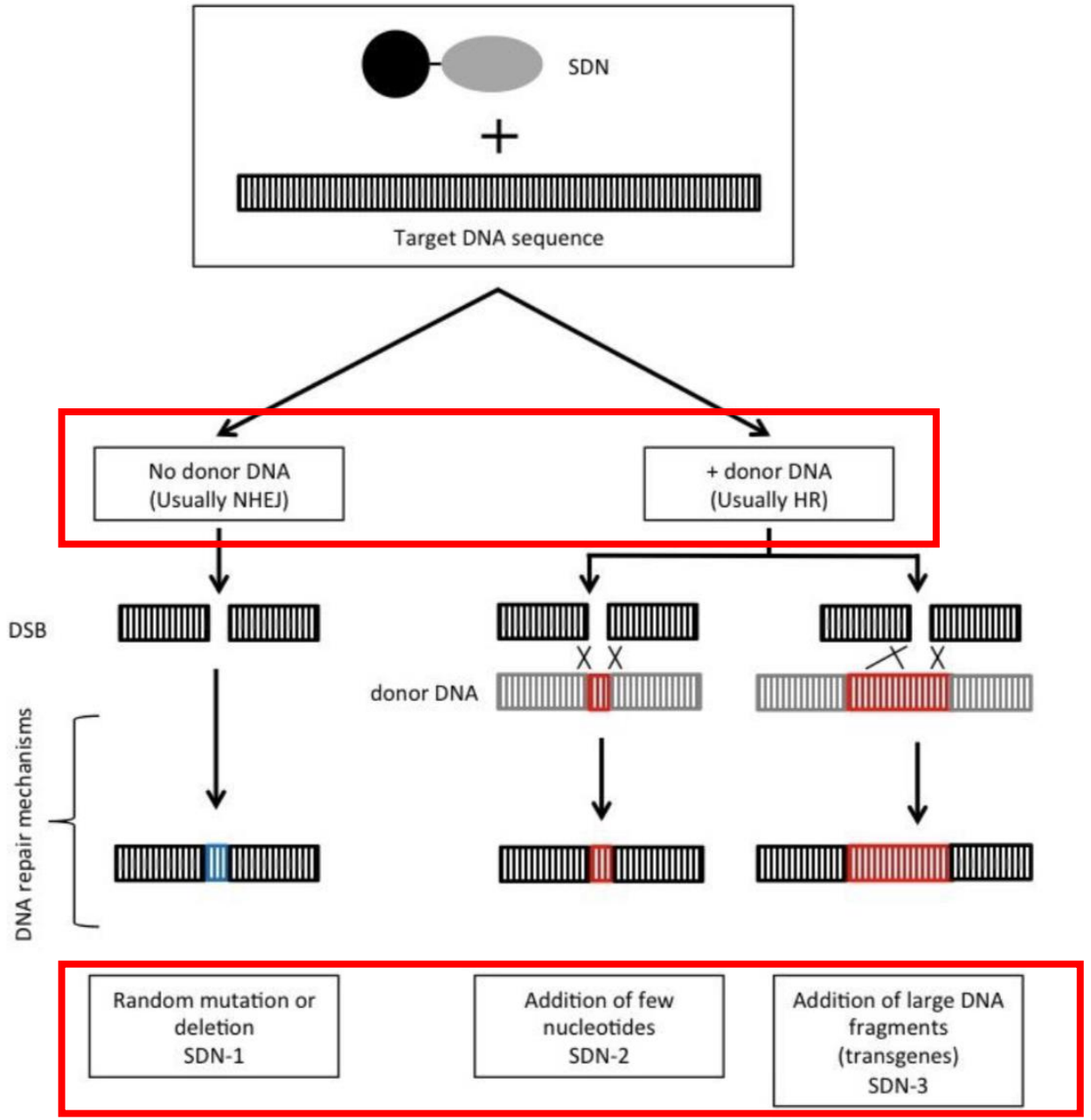
Michael F. Eckerstorfer[1], Marion Dolezel[1], Andreas Heissenberger[1], Marianne Miklau[1], Wolfram Reichenbecher[2], Ricarda A. Steinbrecher[3] and Friedrich Wallner[4]

Edición de genes por "categorías" de modificación prevista

SDN1: 2 sitios DSB que dan como resultado una eliminación una o mas bases

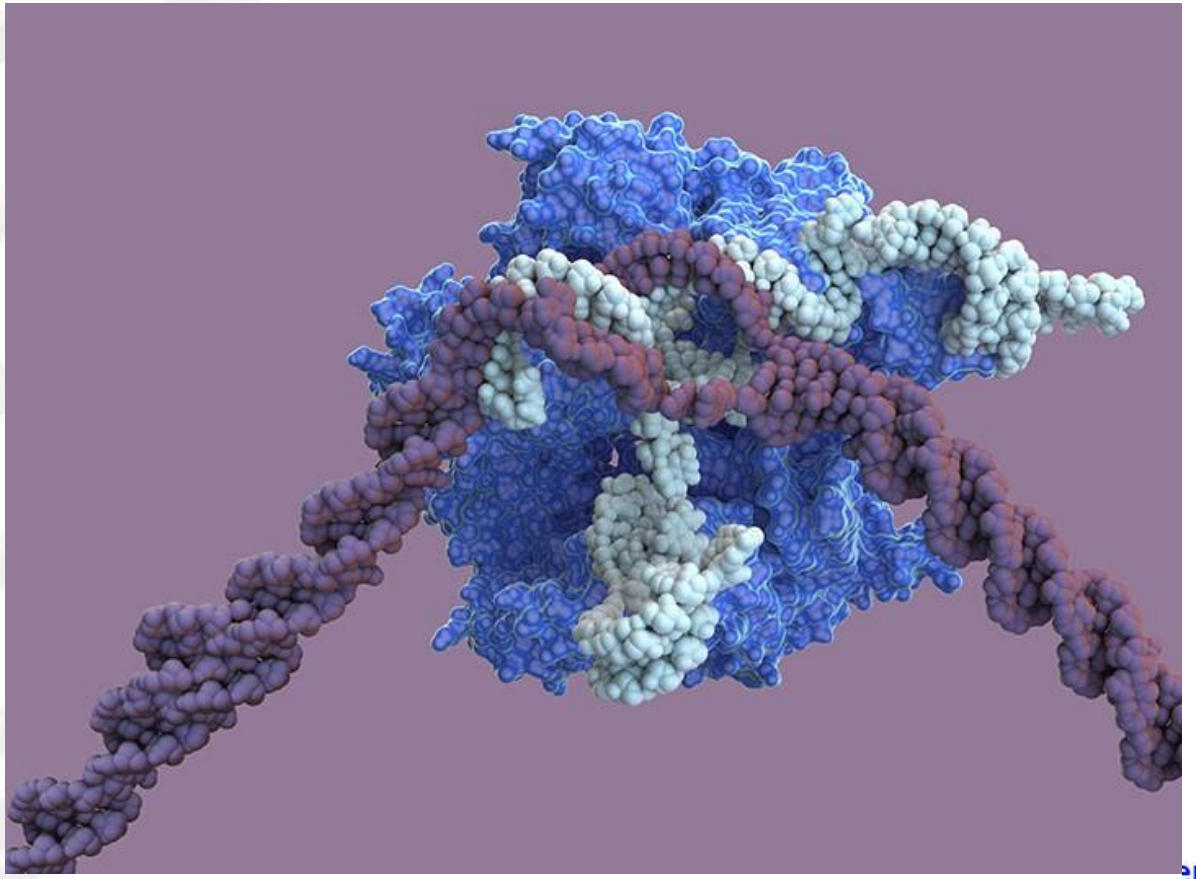
SDN2: mantiene el gen original (puede cambiar el alelo)

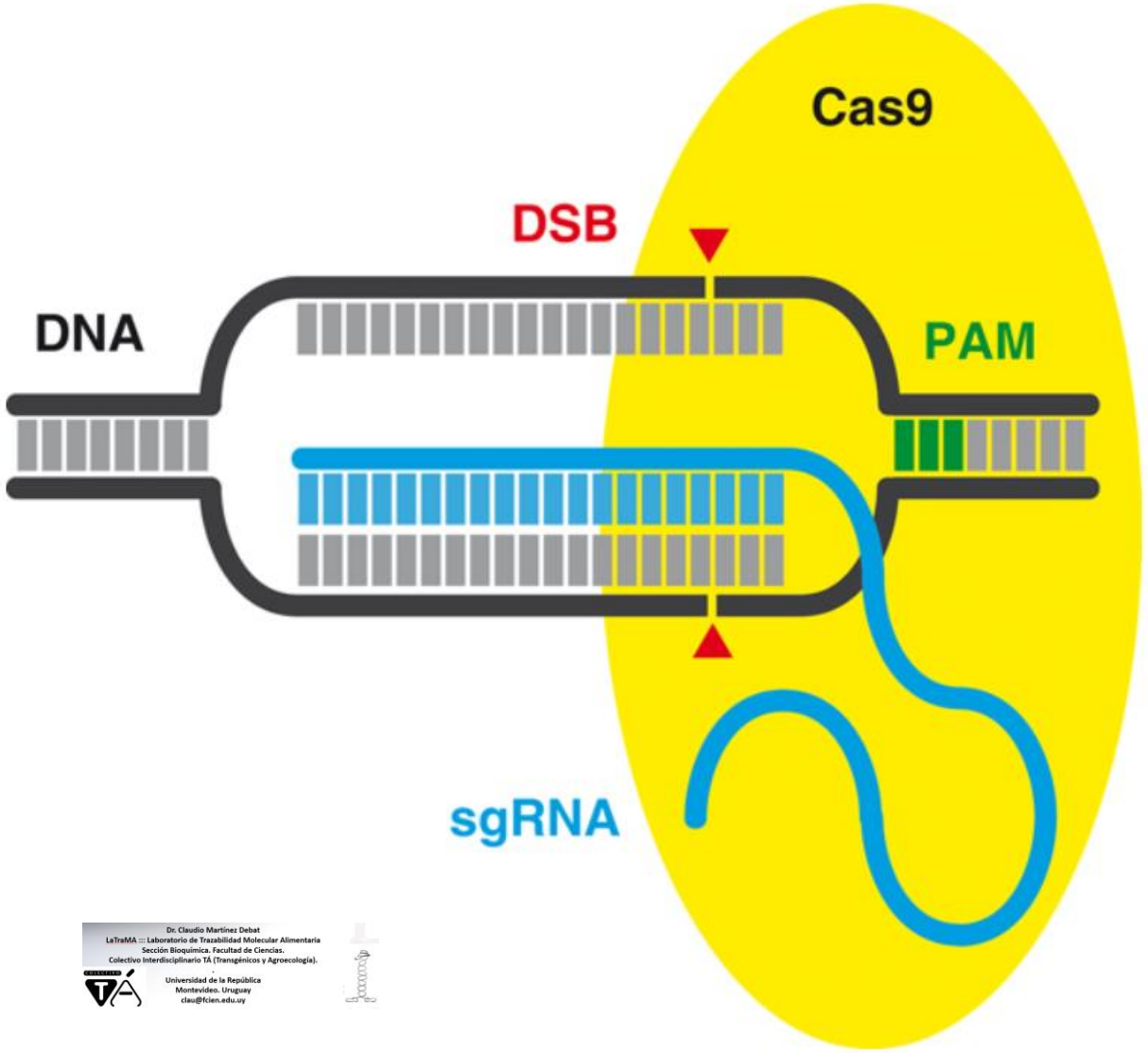
SDN3: introduce un nuevo gen



Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL.
Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

CRISPR/Cas9,
Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats /CRISPR-associated 9





Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

eme illustrating the two repair pathways occurring after CRISPR-Cas9 action (by Lluís Montoliu ©)

frontiers in Bioengineering and Biotechnology

POLICY AND PRACTICE REVIEWS
published: 05 March 2019
doi: 10.3389/fbioe.2019.00031

An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs)

Michael F. Eckerstorfer[1*], Marion Dolezel[1], Andreas Heissenberger[1], Marianne Miklau[1], Wolfram Reichenbecher[2], Ricarda A. Steinbrecher[3] and Friedrich Waßmann[4]

TABLE 2 | Research publications between 2011 and 2017 covering several applications for different nGMs.

Applications \ nGMs	Genome editing					RdDM	CG	IG	TG*	nGMs to support breeding	
	CRISPR*	TALEN	ZFN	MN	ODM					AI	HI
JAN. 2011–DEC. 2015											
Total number	**n.a.**	**10**	**17**	**5**	**1**	**6**	**7**	**4**	**n.a.**	**14**	**9**
JAN. 2016–JUNE 2017*											
Total number (172)	**114**	**8**	**7**	**1**	**1**	**1**	**2**	**4**	**23**	**4**	**7**
SDN–1	99	5	4	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SDN–2	5	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SDN–3	4	3	3	1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Base editing	4	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Other types of genome editing	2	–	–	–	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
OBJECTIVE OF APPLICATIONS (JAN. 2016–JUNE 2017)											
Method development	72	1	2	1	–	–	1	1	6	–	3
Basic research	22	1	2	–	–	–	–	–	7	4	1
Applied development	20	6	3	–	1	1	1	3	10	–	2

SDN, site-directed nuclease; CRISPR, CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeat)-directed nuclease; TALEN, Transcription activator-like effector nuclease; ZFN, Zinc-Finger-directed nuclease; MN, Meganucleases; ODM, Oligonucleotide-directed mutagenesis; RdDM, RNA dependent DNA methylation; CG, Cisgenesis; IG, Intragenesis; TG, Transgrafting; AI, Agro-infiltration; HI, Haploid induction; Other types of genome editing: different variants of CRISPR-based genome editing, including use of nickases; n.a.: not applicable.

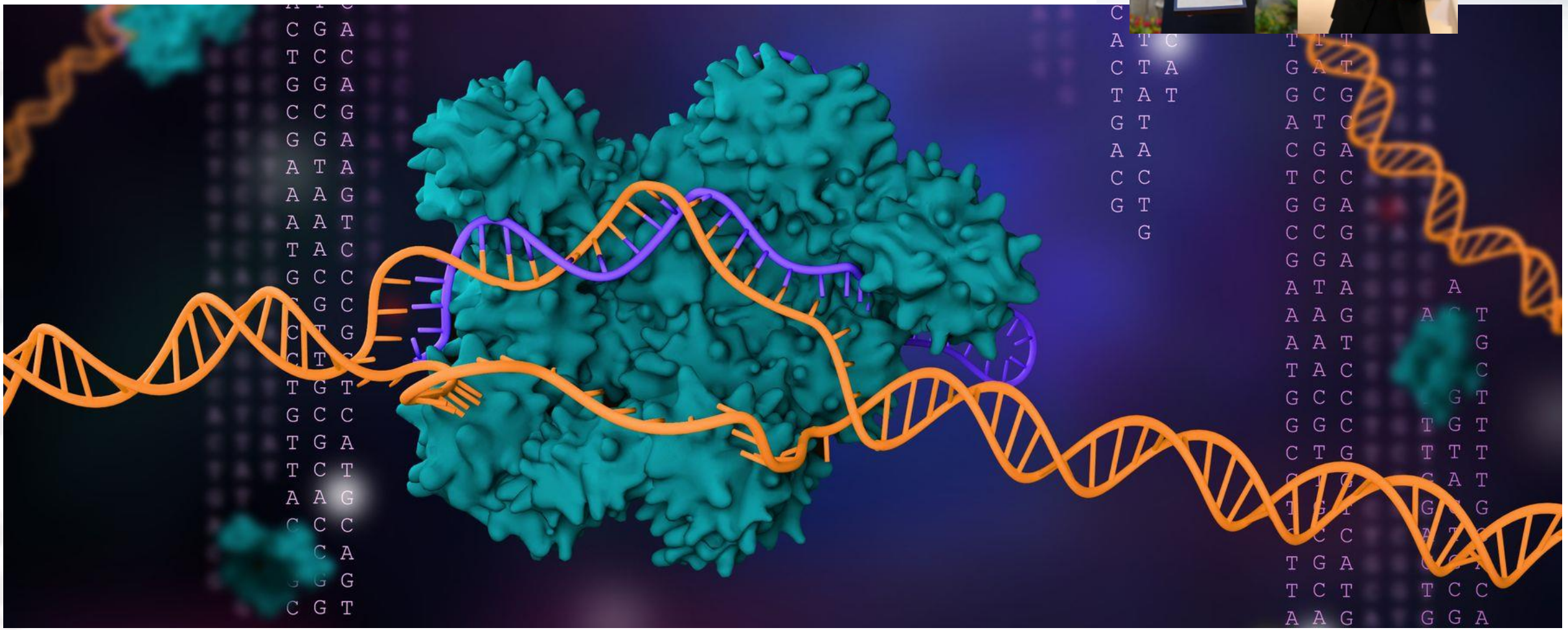
**For the use of CRISPR-based systems for genome editing and transgrafting literature was only screened for the time period Jan. 2016-June 2017.*

Bold values indicate total numbers of publications for individual nGMs for the indicated time periods.

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Ten Years of CRISPR

This month marks ten years since CRISPR-Cas9 was repurposed as a gene editing system, so we're looking back at what has been accomplished in a decade of CRISPR editing.



https://www.the-scientist.com/news-opinion/ten-years-of-crispr-70171

Received: 12 February 2018 | Accepted: 6 June 2019
DOI: 10.1002/jcp.29052

MINI-REVIEW

Journal of Cellular Physiology WILEY

A critical look on CRISPR-based genome editing in plants

Niaz Ahmad[1] | Mehboob-ur Rahman[1] | Zahid Mukhtar[1] | Yusuf Zafar[2] | Baohong Zhang[3]

fenotipo
genotipo epigenotipo

APLICACIONES
Investigación básica, mejoramiento, diagnóstico, terapéutica, otras

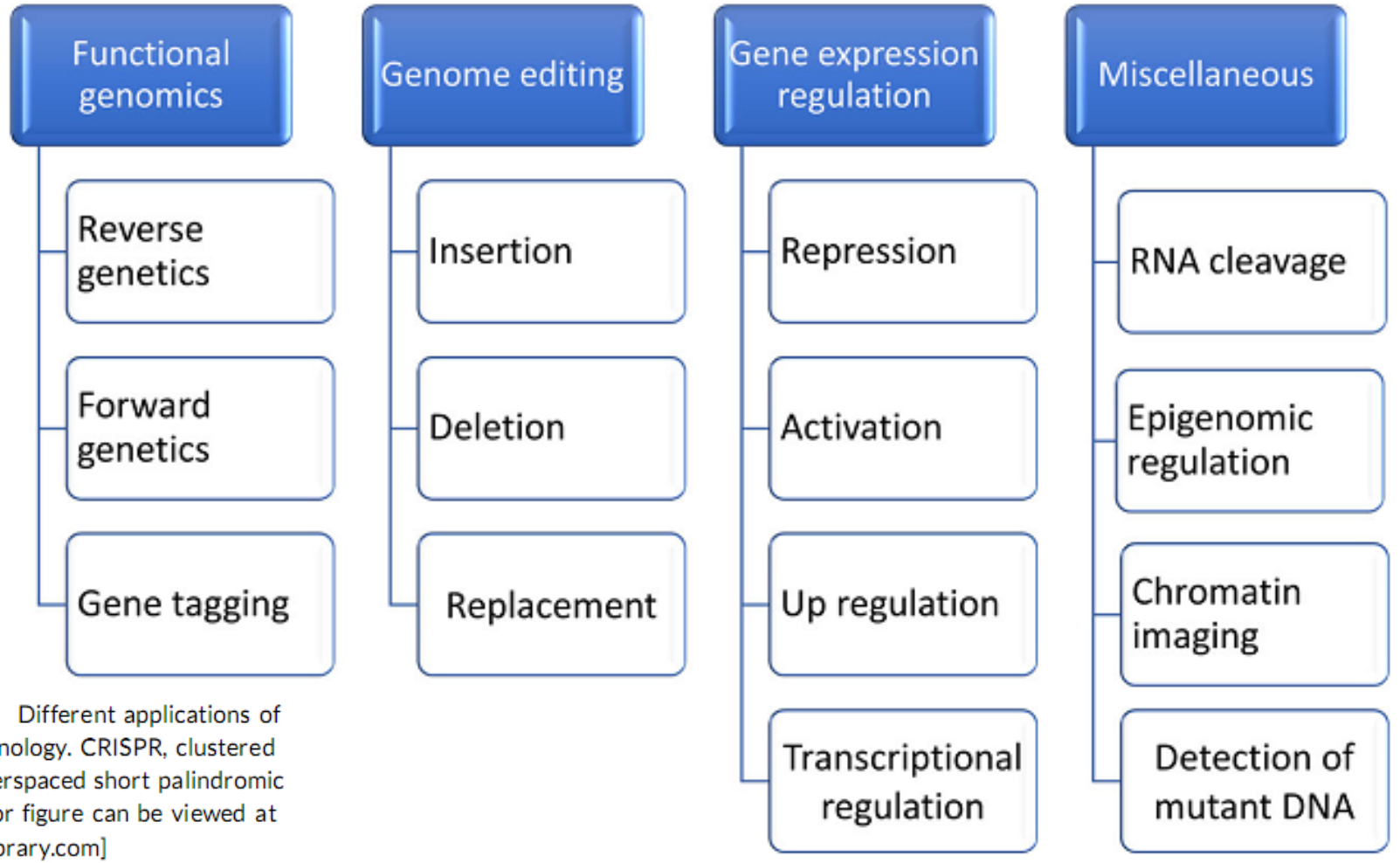
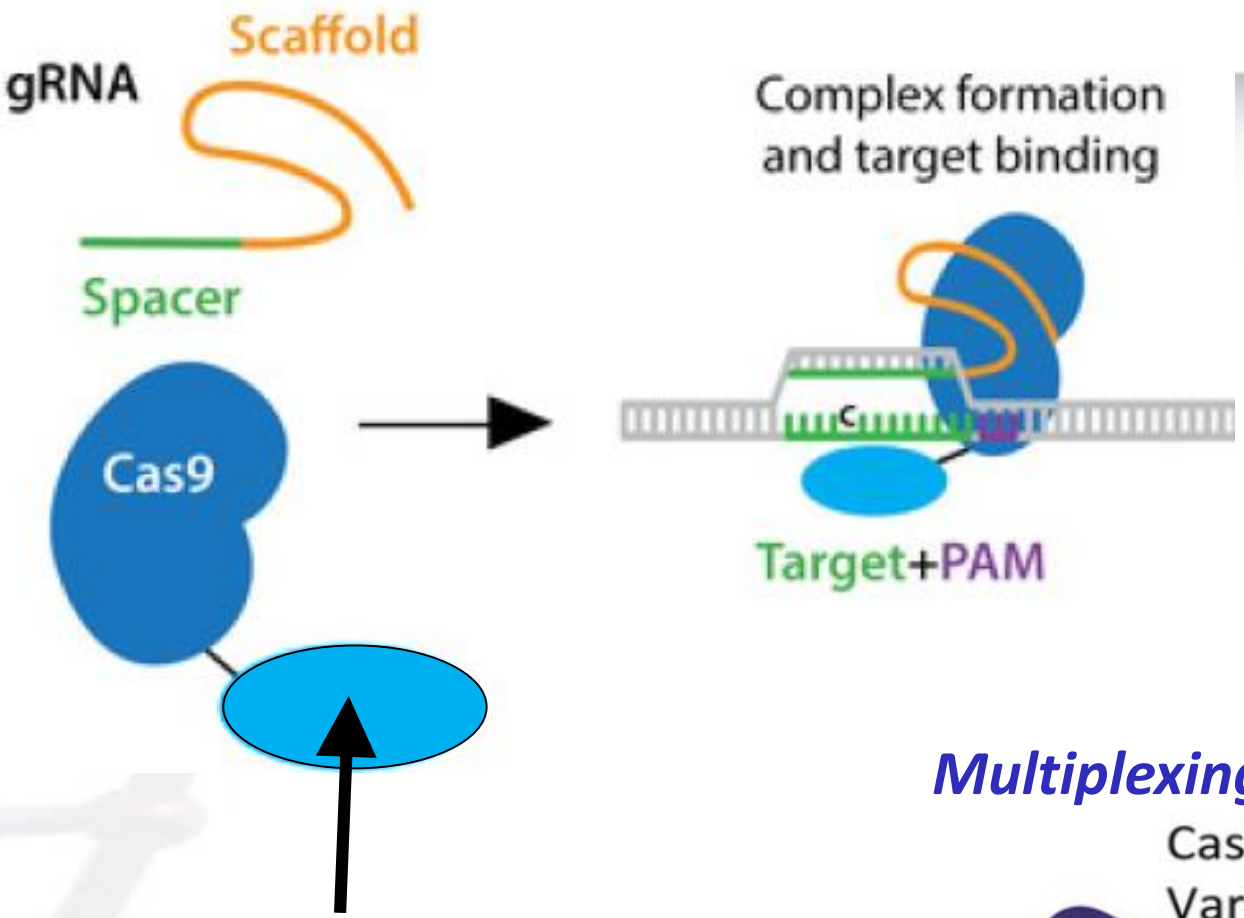
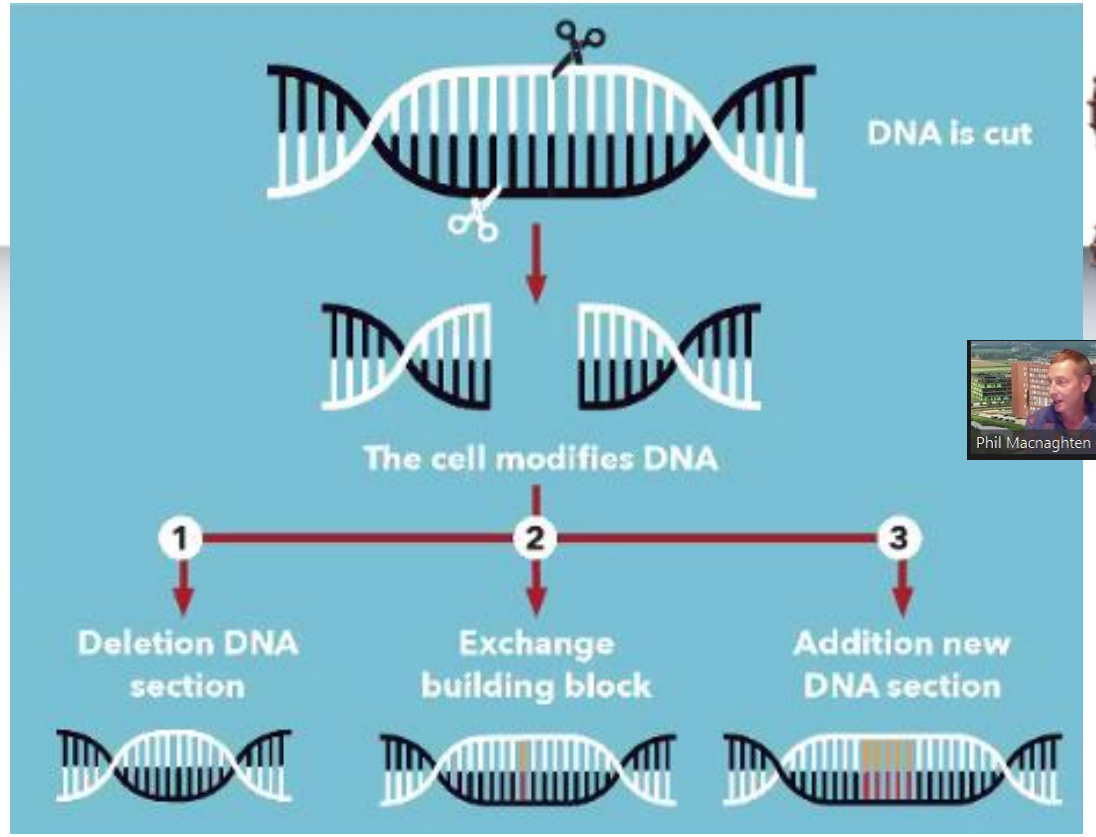


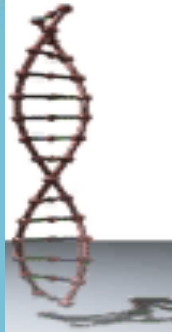
FIGURE 2 Different applications of CRISPR technology. CRISPR, clustered regularly interspaced short palindromic repeats [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Claudio Martínez Debat, QF, PhD
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Núcleo Colectivo TÁ. Espacio Interdisciplinario.
Universidad de la Republica.Montevideo. Uruguay.

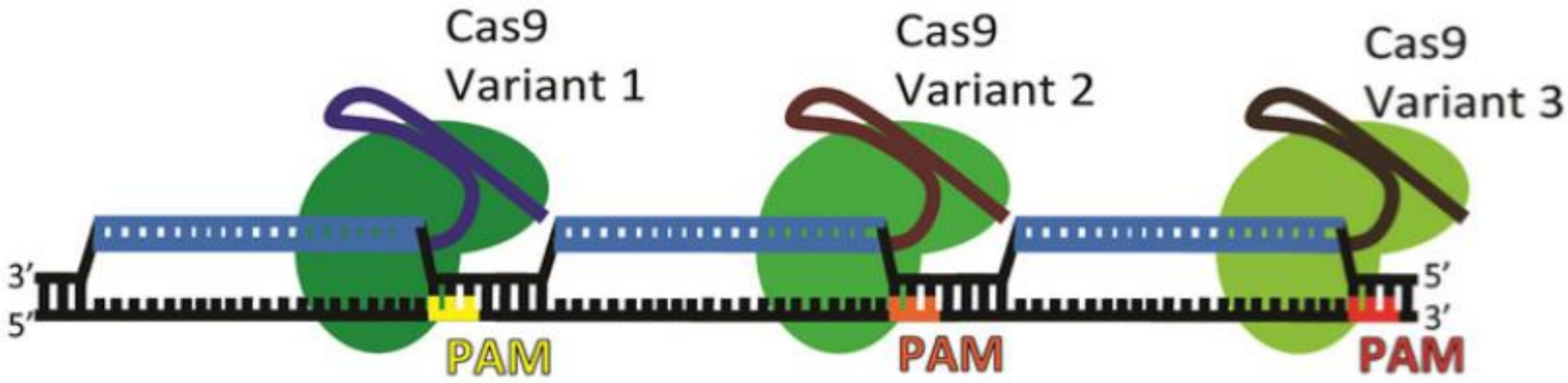
modularidad : Flexibilidad de diseño







Multiplexing: varios blancos simultáneos



Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Algun+s Fenotipos/características buscad+s (plantas)

Resistencia a herbicidas (ej MON 87429, 2020)*

Glifosato (*EPSPS*): TIPS (Tre102Ile +Pro106Ser) / TIPA (T102I + P106Ala)

Paquete Tecnológico asociado con el uso masivo de herbicidas

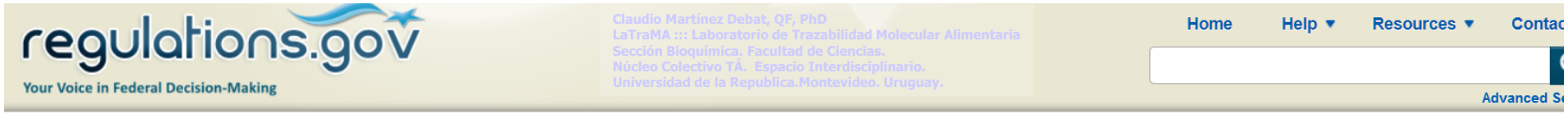
Resistencia a Enfermedades

Cambios en la composición

¿nuevos alérgenos?

Mejoras en el Rendimiento o Adaptación

Alteraciones morfológicas



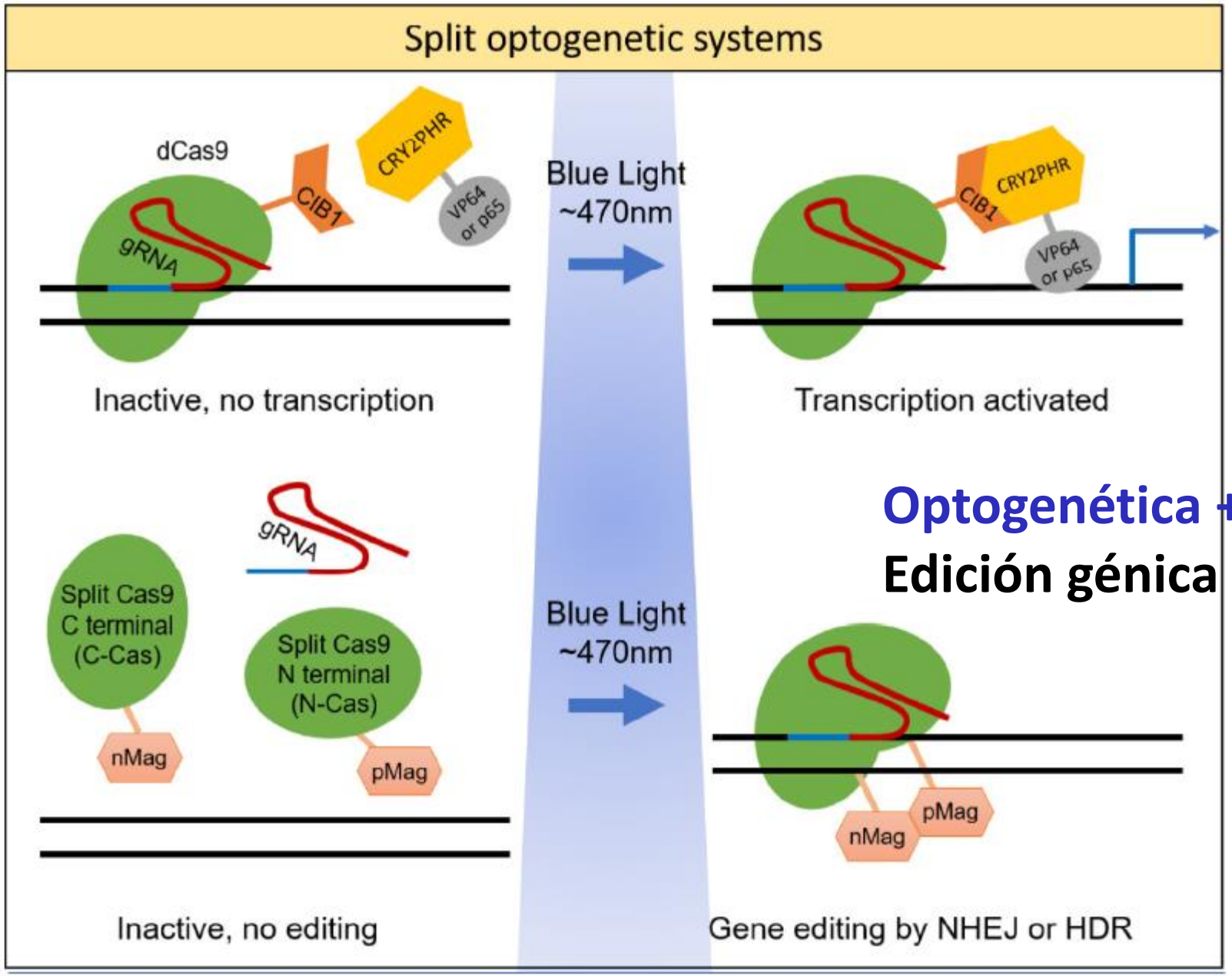
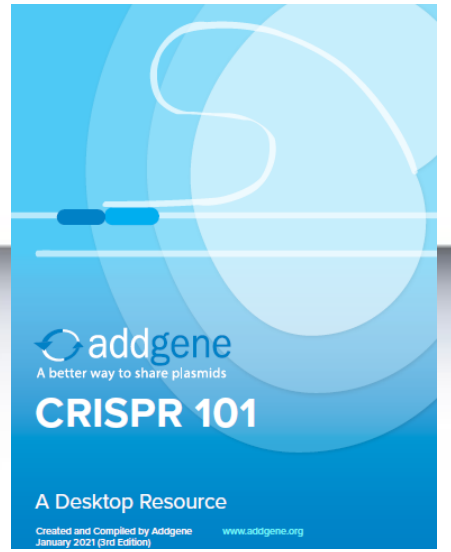


Figure 1: These split optogenetic system is activated by blue light to cause transcriptional activation or editing at target locus.



Optogenética + CRISPR:

Edición génica activada por LUZ

APLICACIONES
Investigación básica, mejoramiento, diagnóstico, terapéutica, otras

https://547446.fs1.hubspotusercontent-na1.net/hubfs/547446/Technology%20Networks/Landing%20Pages/Merck/2022/May/35936-CMO_Services_reagent_manufacturing_for_SARS_CoV_2_diagnostic_MRK_WEB%20(3).pdf?__hstc=8807082.9882f1866b31dd9a339e559109a0c1fb.1647963932 5&__hssc=8807082.1.1656428405526&__hsfp=1741560897&hsCtaTracking=145cb593-5f03-4ddf-af3b-2ad31cfebe0b%7C72791fe3-db06-4d75-8a95-9c1aea944241

Three unique reagents are used in the assays, all with different shipping requirements

Mammoth Biosciences

Otras variantes/tipos de CRISPR

Cas12, 13, 14, …

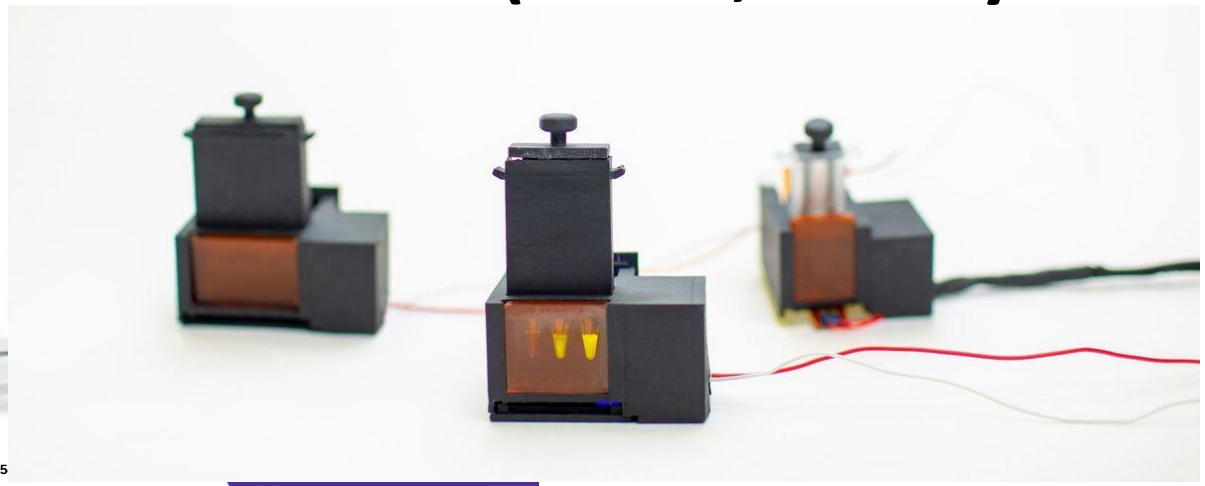
Cpf1 (Cas12a)

Casϕ

Sherlock (Cas13, corta y “come”)

etc

…



MERCK

ej.: detección de SARS-CoV 2

CRISPR-based DETECTR BOOST™ SARS-CoV-2 molecular assay on automated liquid handling

DIPA-CRISPR (direct parental), edición genómica de insectos, alta eficiencia*

Please cite this article in press as: Shirai et al., DIPA-CRISPR is a simple and accessible method for insect gene editing, Cell Reports Methods (2022), https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100215

Cell Reports Methods

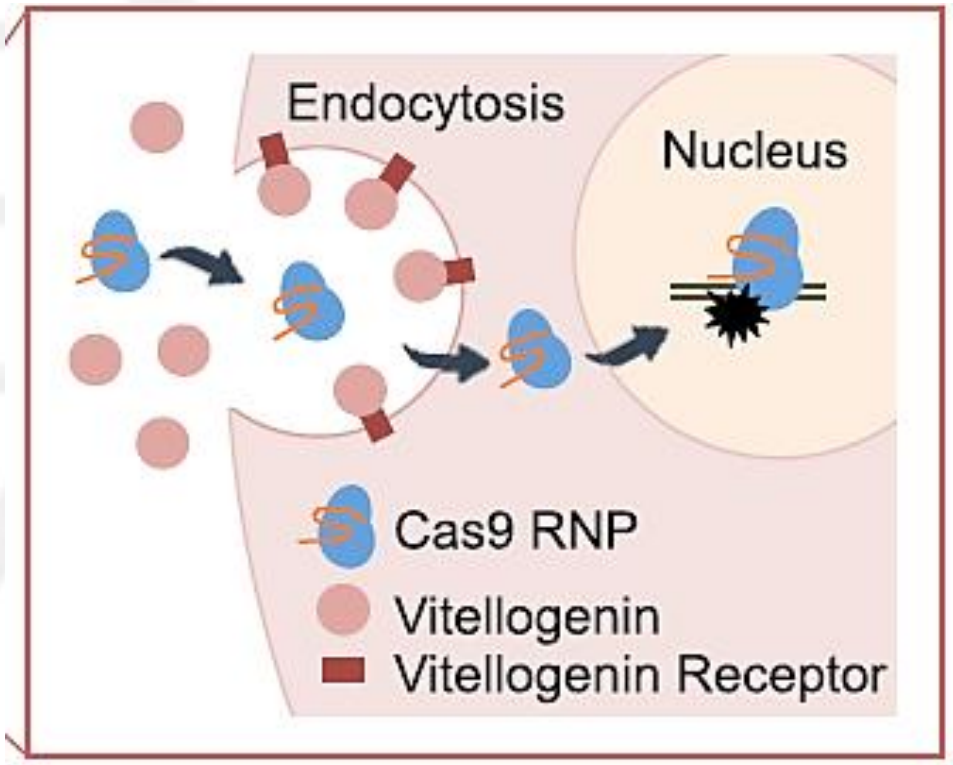
CellPress
OPEN ACCESS

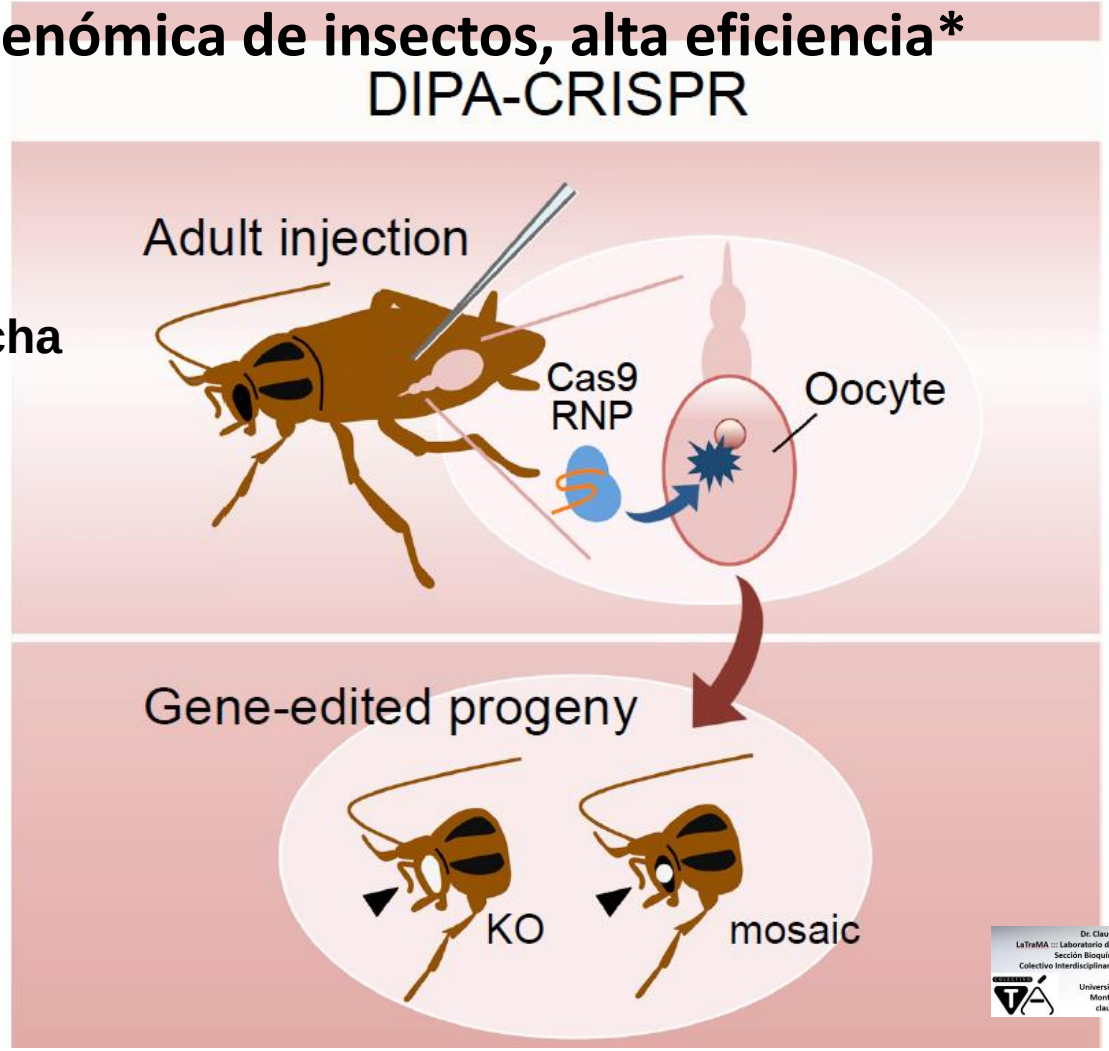
*: 2.3 – 21.8 % (G0), 24 – 100 % (G1) cucaracha

Report

DIPA-CRISPR is a simple and accessible method for insect gene editing

Yu Shirai,[1] Maria-Dolors Piulachs,[2] Xavier Belles,[2] and Takaaki Daimon[1,3,*]
[1]Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan
[2]Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), Passeig Marítim de la Barceloneta 37, Barcelona 08003, Spain





SDN-2

Dr. Claudio Martínez Debat
LeTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

antecedentes en insectos:
Receptor-Mediated Ovary Transduction of Cargo **(ReMOT), ligandos peptídicos derivados de los precursores de la proteína vitelina se fusionan con Cas9, el complejo Cas9/sgRNA se inyecta en hembras adultas para introducir mutaciones en ovocitos en desarrollo.**

Please cite this article in press as: Shirai et al., DIPA-CRISPR is a simple and accessible method for insect gene editing, Cell Reports Methods (2022), https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100215

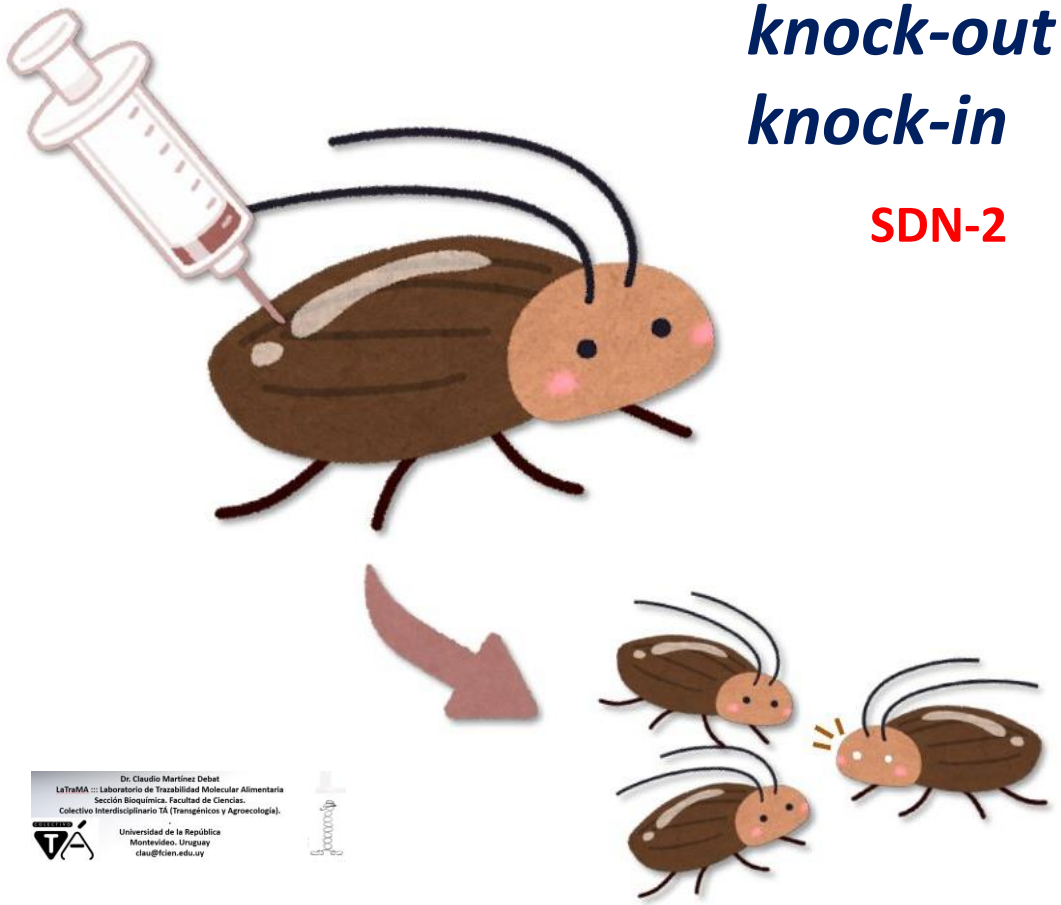
Cell Reports Methods

CellPress
OPEN ACCESS

Report

DIPA-CRISPR is a simple and accessible method for insect gene editing

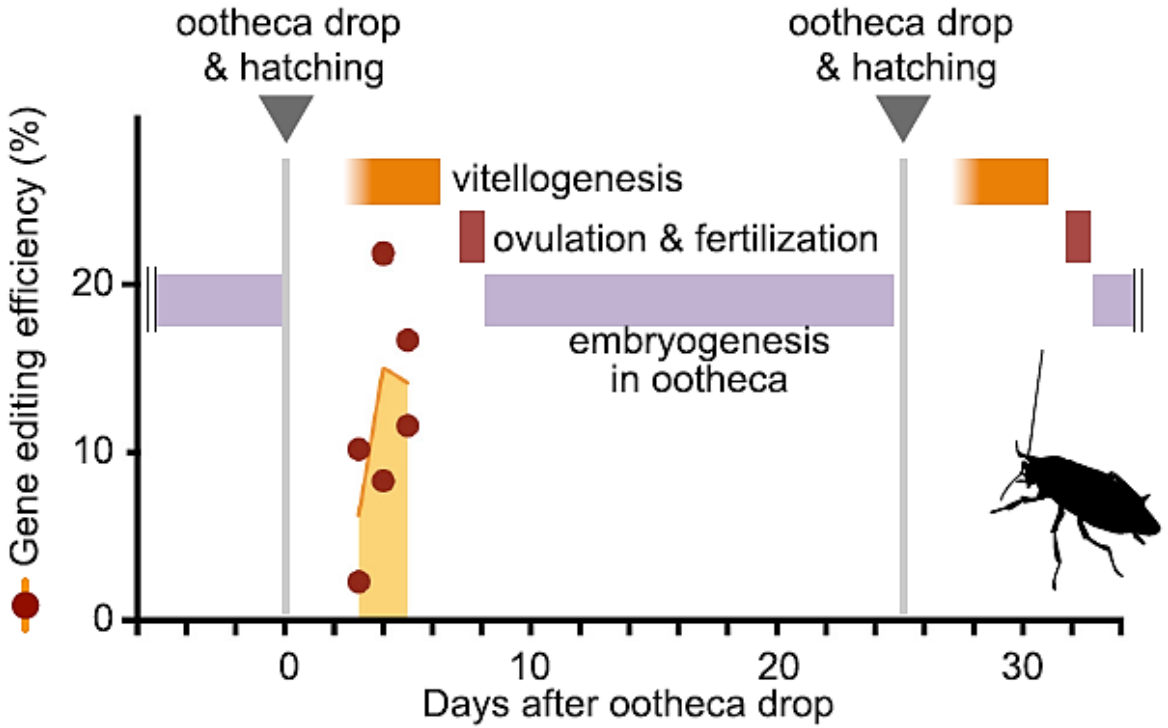
Yu Shirai,[1] Maria-Dolors Piulachs,[2] Xavier Belles,[2] and Takaaki Daimon[1,3,*]
[1]Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan
[2]Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), Passeig Marítim de la Barceloneta 37, Barcelona 08003, Spain

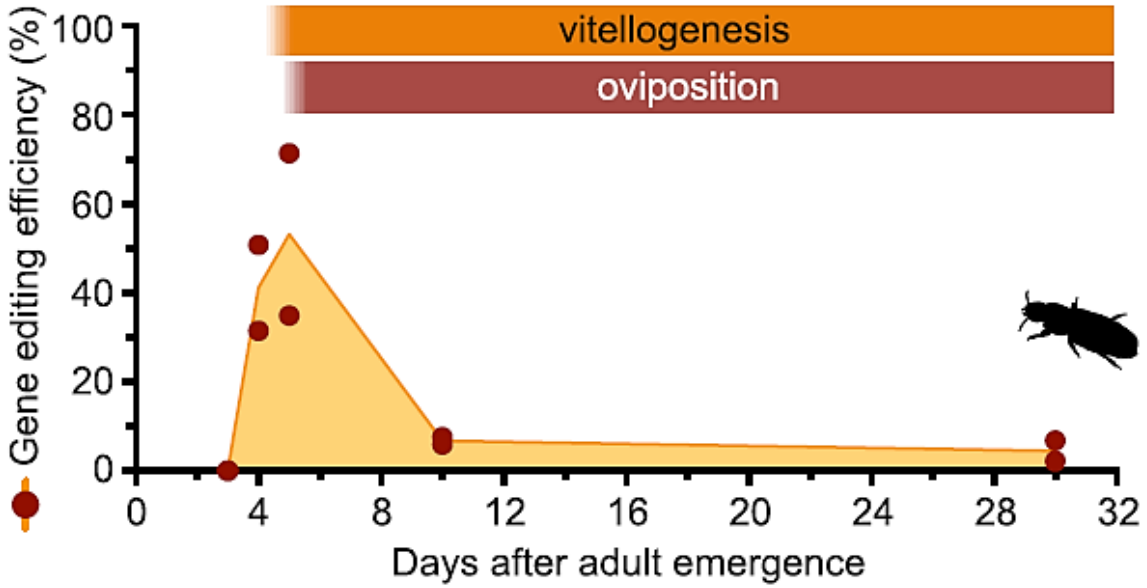


knock-out y knock-in

SDN-2

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy





nature plants

ARTICLES

https://doi.org/10.1038/s41477-022-01151-9

Check for updates

Boosting plant genome editing with a versatile CRISPR-Combo system

Changtian Pan[1], Gen Li[1], Aimee A. Malzahn[1], Yanhao Cheng[1], Benjamin Leyson[1], Simon Sretenovic[1], Filiz Gurel[1], Gary D. Coleman[1,2] and Yiping Qi[1,2]✉

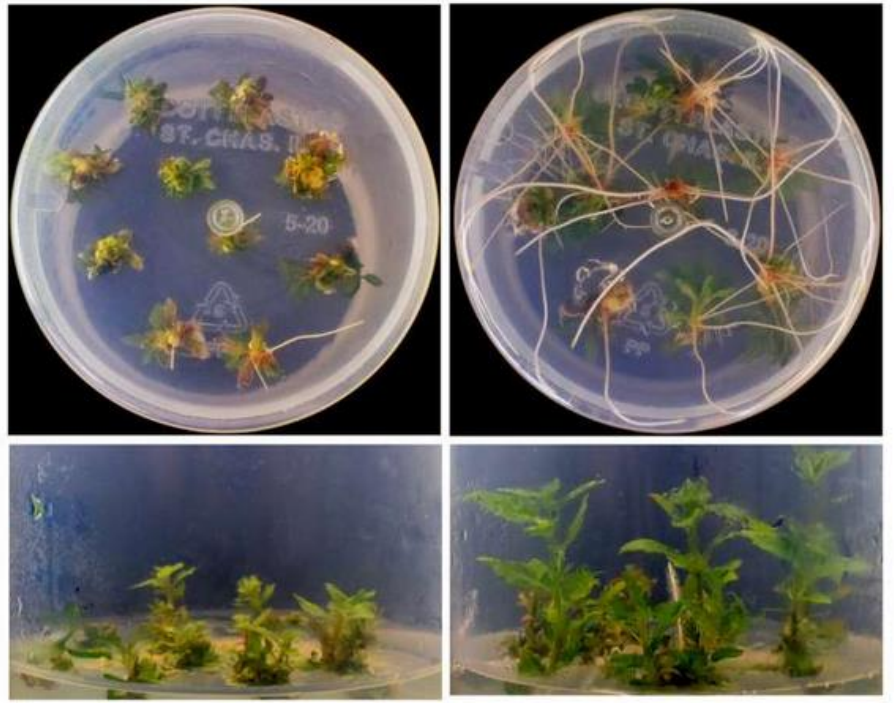
CRISPR-Cas9, its derived base editors and CRISPR activation systems have greatly aided genome engineering in plants. However, these systems are mostly used separately, leaving their combinational potential largely untapped. Here we develop a versatile CRISPR-Combo platform, based on a single Cas9 protein, for simultaneous genome editing (targeted mutagenesis or base editing) and gene activation in plants. We showcase the powerful applications of CRISPR-Combo for boosting plant genome editing. First, CRISPR-Combo is used to shorten the plant life cycle and reduce the efforts in screening transgene-free genome-edited plants by activation of a florigen gene in *Arabidopsis*. Next, we demonstrate accelerated regeneration and propagation of genome-edited plants by activation of morphogenic genes in poplar. Furthermore, we apply CRISPR-Combo to achieve rice regeneration without exogenous plant hormones, which is established as a new method to predominately enrich heritable targeted mutations. In conclusion, CRISPR-Combo is a versatile genome engineering tool with promising applications in crop breeding.

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

MAY 23, 2022

New 'CRISPR-Combo' method boosts genome editing power in plants

by University of Maryland



SDN-2

https://phys.org/news/2022-05-crispr-combo-method-boosts-genome-power.ht

Article

Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA

https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4
Received: 26 August 2019
Accepted: 10 October 2019

Andrew V. Anzalone[1,2,3], Peyton B. Randolph[1,2,3], Jessie R. Davis[1,2,3], Alexander A. Sousa[1,2,3], Luke W. Koblan[1,2,3], Jonathan M. Levy[1,2,3], Peter J. Chen[1,2,3], Christopher Wilson[1,2,3], Gregory A. Newby[1,2,3], Aditya Raguram[1,2,3] & David R. Liu[1,2,3]*

Prime editing

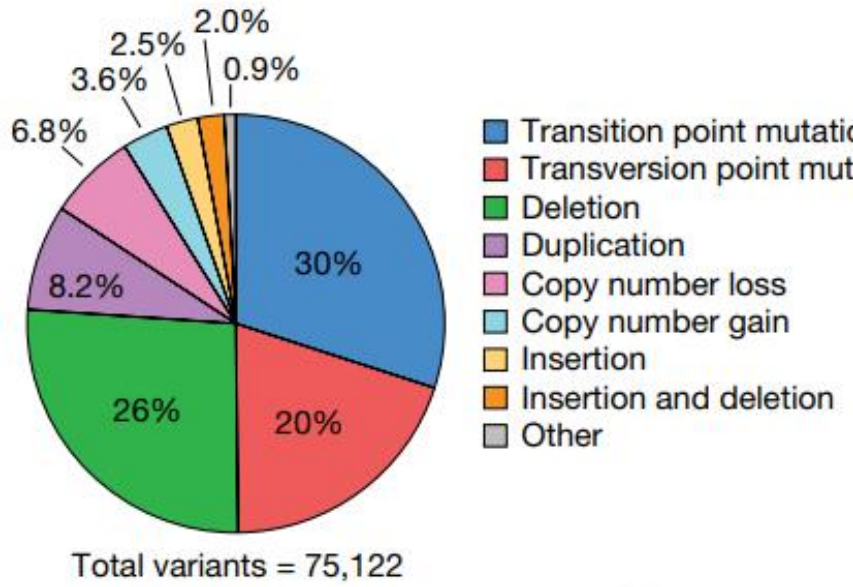
pegRNA + PE

(Cas9 + Transcriptasa Reversa)

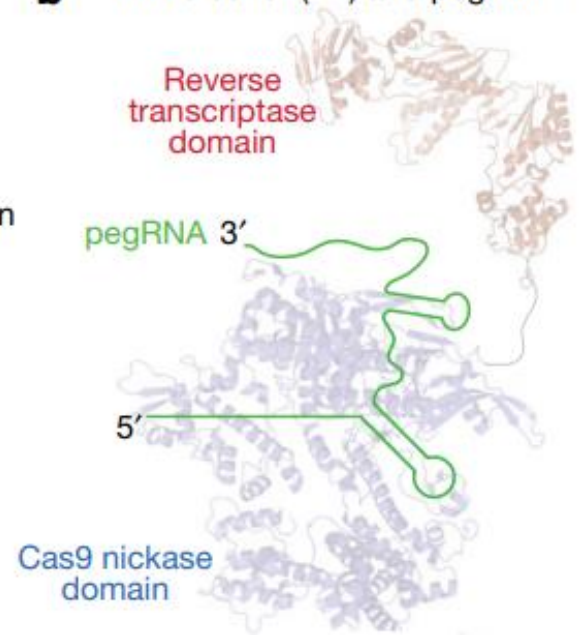
PE: Prime Editor; pegRNA: *prime editing guide RNA*

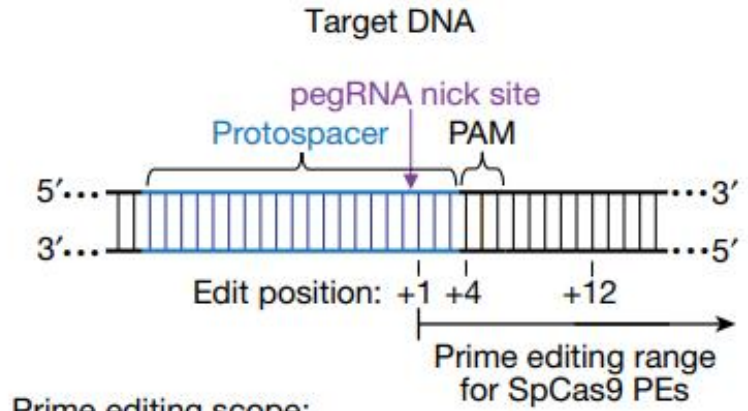
SDN-2

a Known human pathogenic genetic variants



b Prime editor (PE) and pegRNA



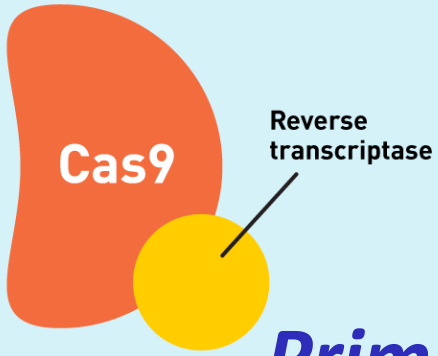


Prime editing scope:
- All 4 transition point mutations
- All 8 transversion point mutations
- Insertions (1 bp to ≥ 44 bp)
- Deletions (1 bp to ≥ 80 bp)
- Combinations of the above

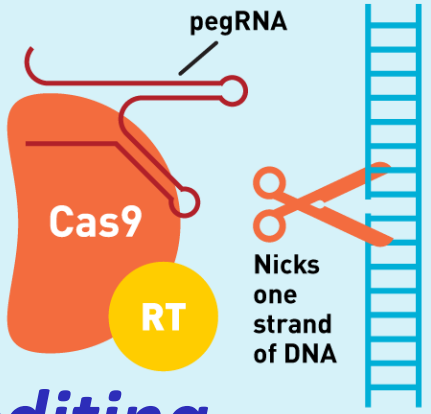
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Search-and-replace genome editing

The prime editor complex includes a **Cas9 enzyme,** modified to only nick one strand of DNA, and a **reverse transcriptase enzyme,** which can generate new DNA by copying an RNA template.

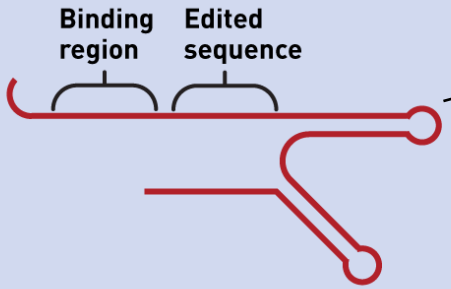


An **engineered "pegRNA"** (prime editing guide RNA) sends the editor to its target, where **Cas9 nicks the DNA.**

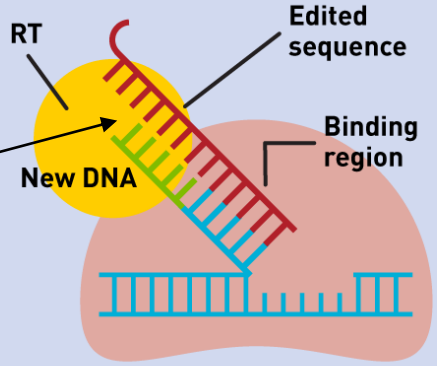


Prime editing

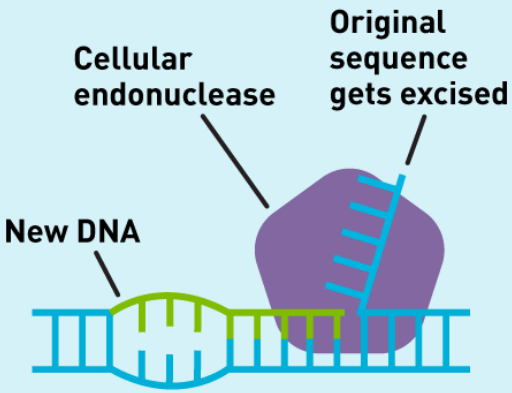
The **pegRNA** has two special components: **a section that binds to the nicked DNA,** preparing the nicked strand to have new DNA letters added, and a **section of RNA letters** that encode the desired edit.



To transfer the edited sequence from the pegRNA to the target DNA, the **reverse transcriptase** reads the **RNA** and attaches the corresponding DNA letters to the end of the **nicked DNA.**



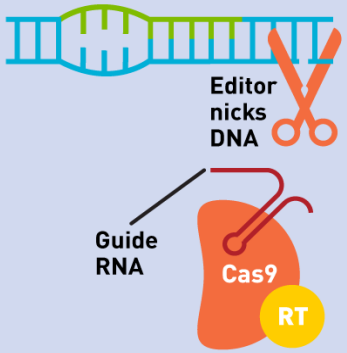
An **endonuclease** in the cell naturally excises the **old segment** of DNA and seals the **new letters** into the genome.



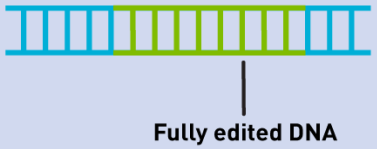
Now, the target site is left with **one edited strand and one unedited strand.**

SDN-2

To resolve the mismatch, favoring the permanent installation of the edited DNA, a **different guide RNA** directs the **prime editor** to nick the unedited strand.

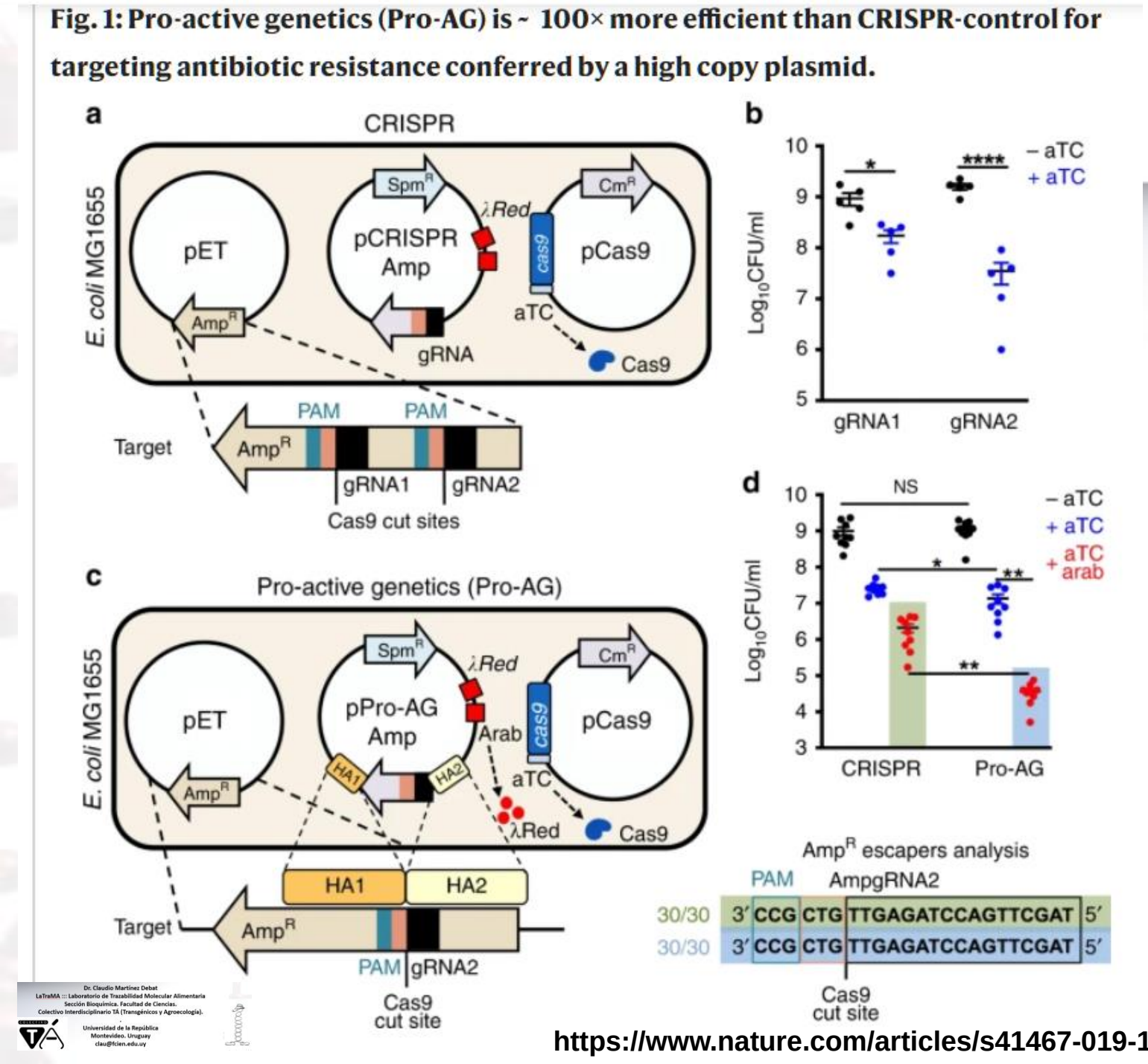


This nick prompts the cell to remake that nicked strand, using the **edited strand** as a template, thus completing the edit.



Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Otros usos



"pro-active" genetic system (Pro-AG)

Mecanismo autorreplicante

Sistema bacteriano

de impulsores génicos

edita e inactiva eficazmente un

locus de resistencia a antibióticos

SDN-2

nature communications

Explore content · About the journal · Publish with us

nature > nature communications > articles > article

Article | Open Access | Published: 16 December 2019

A bacterial gene-drive system efficiently edits and inactivates a high copy number antibiotic resistance locus

J. Andrés Valderrama, Surashree S. Kulkarni, Victor Nizet & Ethan Bier

Nature Communications **10**, Article number: 5726 (2019) | Cite this article

Eficiencia ~ 90%

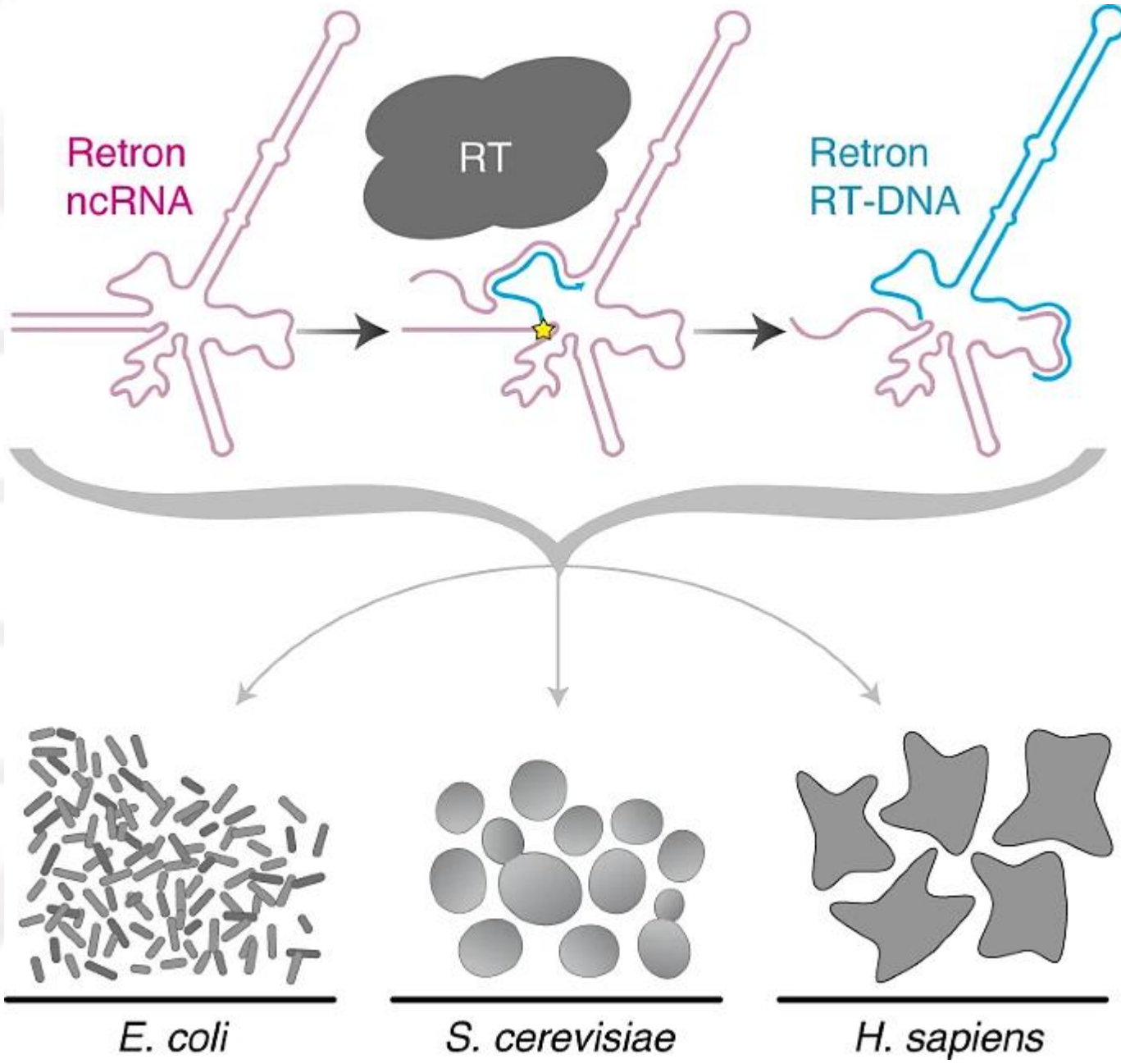
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

https://www.nature.com/articles/s41467-019-13649-6

Otros editores, sin CRISPR

Retron, retroelemento bacteriano que participa en la defensa contra los fagos.

“Identificamos modificaciones en el ARN no codificante (ARNnc) del retrón que dan lugar a un ADN por transcripción reversa (ADN-RT) más abundante.
El retron RT-DNA puede utilizarse para editar con precisión células humanas cultivadas”



Nature Chemical Biology

Explore content | About the journal | Publish with us

nature › nature chemical biology › articles › article

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Article | Published: 23 December 2021

Precise genome editing across kingdoms of life using retron-derived DNA

Santiago C. Lopez, Kate D. Crawford, Sierra K. Lear, Santi Bhattarai-Kline & Seth L. Shipman

Nature Chemical Biology **18**, 199–206 (2022) | Cite this article

Khalil *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* (2020) 18:68
https://doi.org/10.1186/s43141-020-00078-y

Journal of Genetic Engineering and Biotechnology

REVIEW Open Access

The genome editing revolution: review

Ahmad M. Khalil

SDN-2

Edición Epigenética
Edición de Bases (ARN o ADN)
no se generan cortes

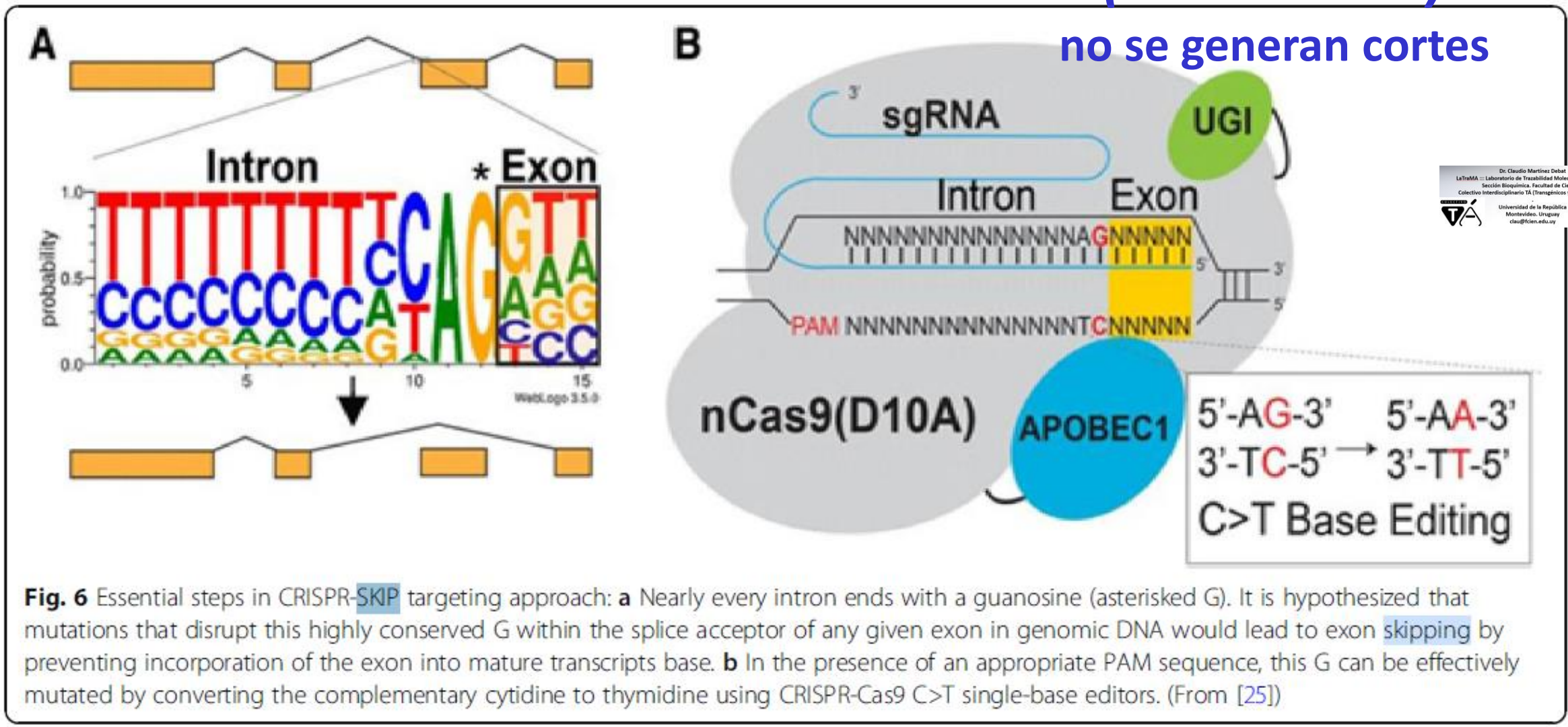


Fig. 6 Essential steps in CRISPR-SKIP targeting approach: **a** Nearly every intron ends with a guanosine (asterisked G). It is hypothesized that mutations that disrupt this highly conserved G within the splice acceptor of any given exon in genomic DNA would lead to exon skipping by preventing incorporation of the exon into mature transcripts base. **b** In the presence of an appropriate PAM sequence, this G can be effectively mutated by converting the complementary cytidine to thymidine using CRISPR-Cas9 C>T single-base editors. (From [25])

Article

A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing

https://doi.org/10.1038/s41586-020-2477-4

Received: 25 January 2020

Accepted: 26 May 2020

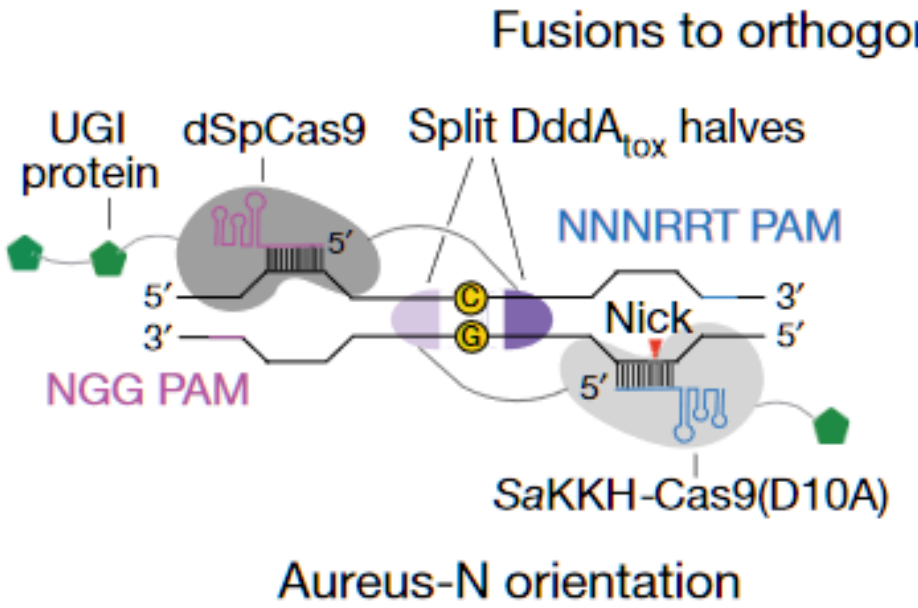
Beverly Y. Mok[1,2,3,11], Marcos H. de Moraes[4,11], Jun Zeng[4], Dustin E. Bosch[4,5], Anna V. Kotrys[8,9,10], Aditya Raguram[1,2,3], FoSheng Hsu[4], Matthew C. Radey[4], S. Brook Peterson[4], Vamsi K. Mootha[8,9], Joseph D. Mougous[4,6,7]✉ & David R. Liu[1,2,3]✉

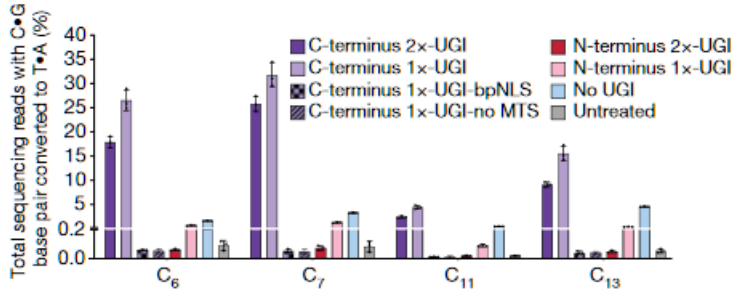
Edición Epigenética

Base Editing

"CRISPR-free"

sin nucleasas





Eficiencia ~ 20 - 4

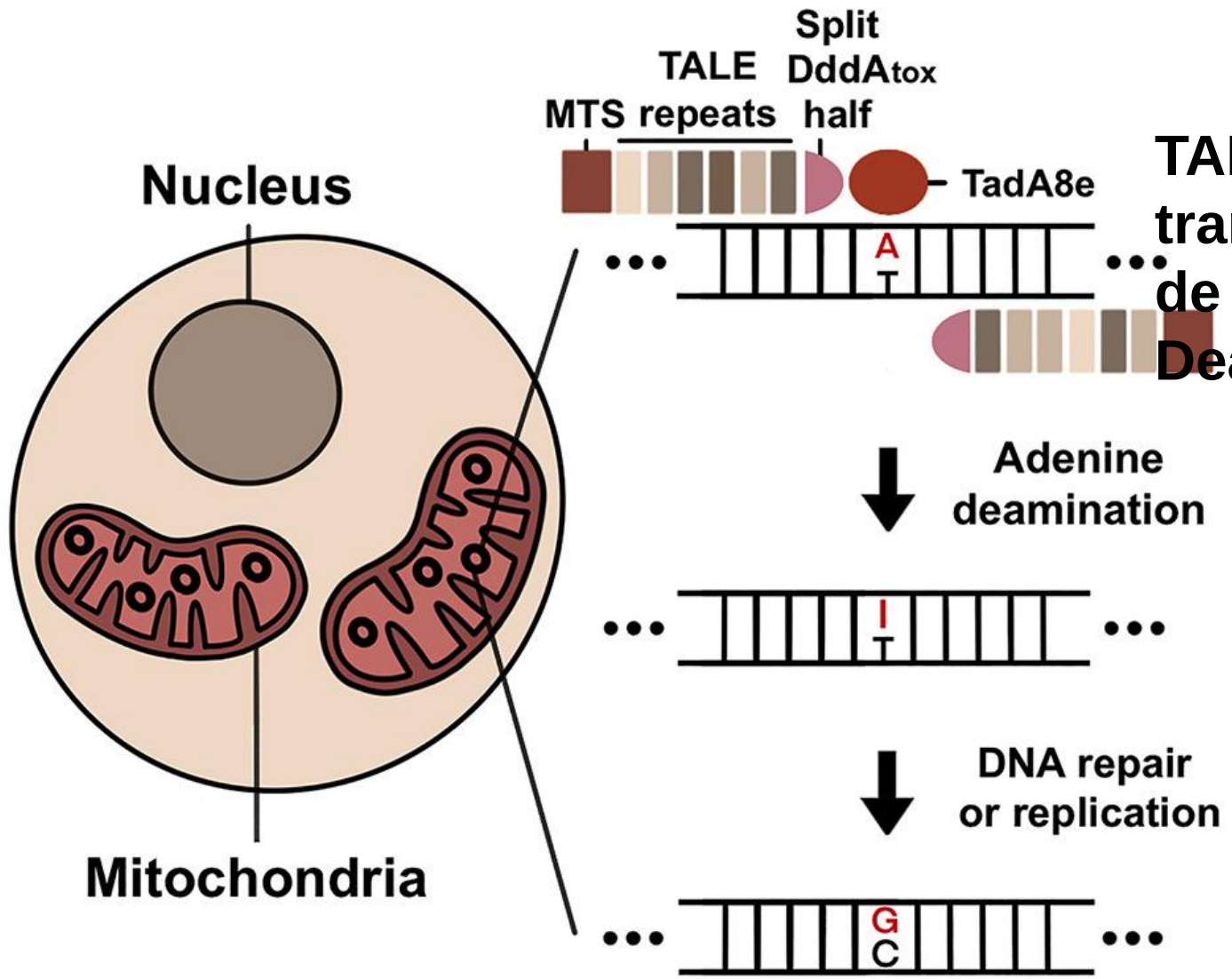
CBEs: C a T

Editores de bases de citosina, sin ARN, derivados de DddA, DdCBEs: conversiones mitocondriales C a T

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Edición dirigida de bases
A a G en el ADN mitocondrial humano
con deaminasas programables TALED

Edición Epigenética
Base Editing
"CRISPR-free"



TALE: efector tipo activador de la transcripción
de unión al ADN diseñado a medida
Deaminasa


Cell Supports open access

RESOURCE | VOLUME 185, ISSUE 10, P1764-1776.E12, MAY 12, 2022

Targeted A-to-G base editing in human mitochondrial DNA with programmable deaminases

Sung-Ik Cho • Seonghyun Lee • Young Geun Mok • ... Ji Min Lee • Eugene Chung • Jin-Soo Kim [3] •

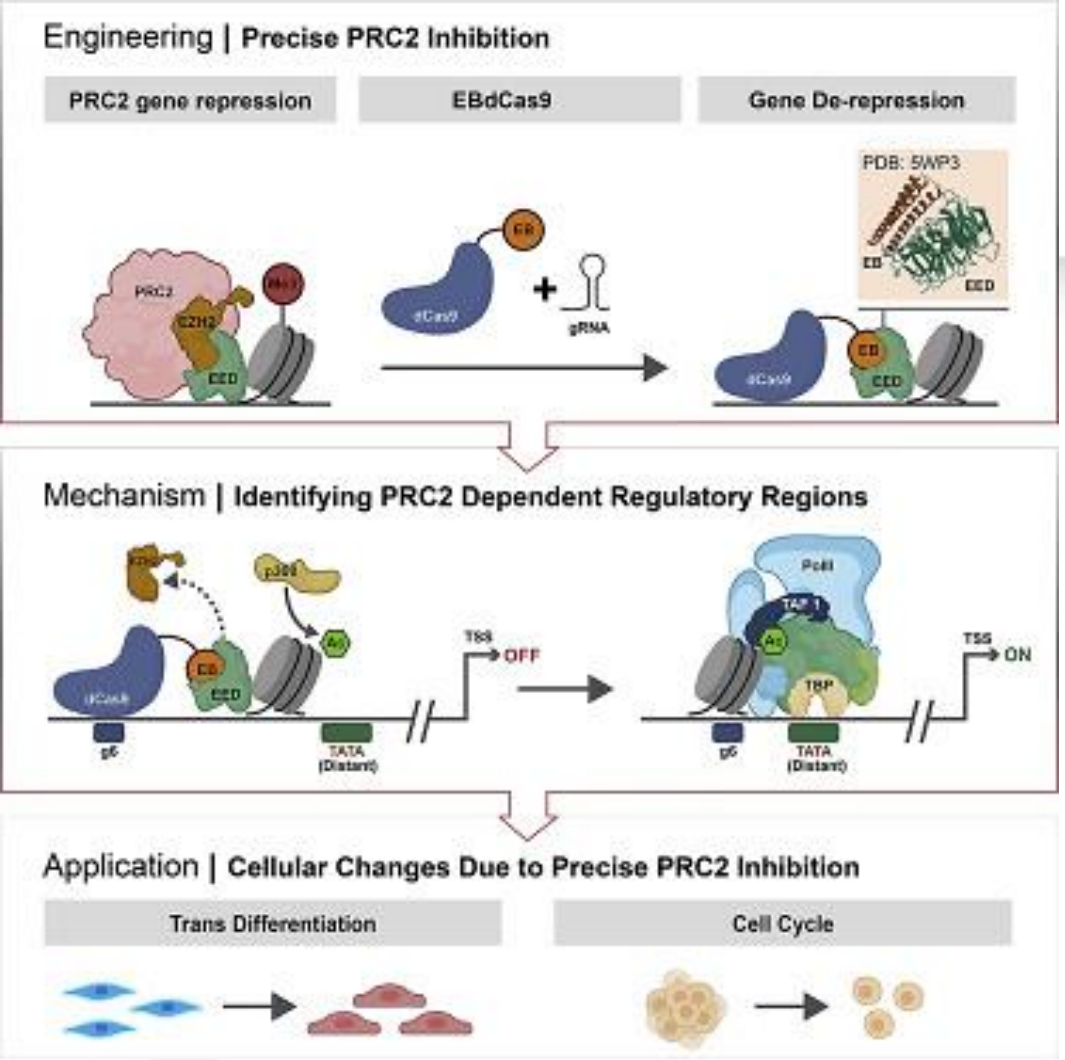
Show all authors • Show footnotes

Open Access • Published: April 25, 2022 • DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.03.039 •

Más eficiente ~90%

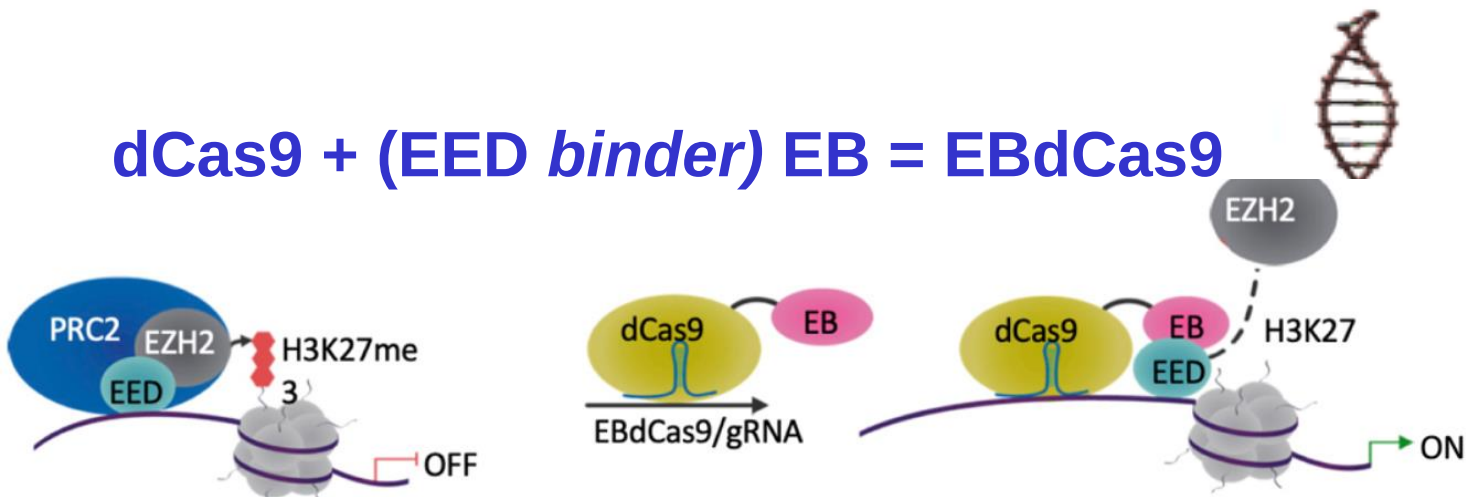
ABEs: A a G

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy



Edición Epigenética
Modificación de la cromatina
Proteína diseñada por IA

dCas9 + (EED *binder)* EB = EBdCas9



Cell Rep. 2022 Mar 1;38(9):110457. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110457.

dCas9 fusion to computer-designed PRC2 inhibitor reveals functional TATA box in distal promoter region

Shiri Levy [1], Logeshwaran Somasundaram [1], Infencia Xavier Raj [1], Diego Ic-Mex [1], Ashish Phal [2], Sven Schmidt [1], Weng I Ng [1], Daniel Mar [3], Justin Decarreau [4], Nicholas Moss [5], Ammar Alghadeer [6], Henrik Honkanen [1], Jay Sarthy [7], Nicholas Vitanza [8], R David Hawkins [5], Julie Mathieu [9], Yuliang Wang [10], David Baker [4], Karol Bomsztyk [3], Hannele Ruohola-Baker [11]

Affiliations + expand

PMID: 35235780 PMCID: PMC8984963 DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110457

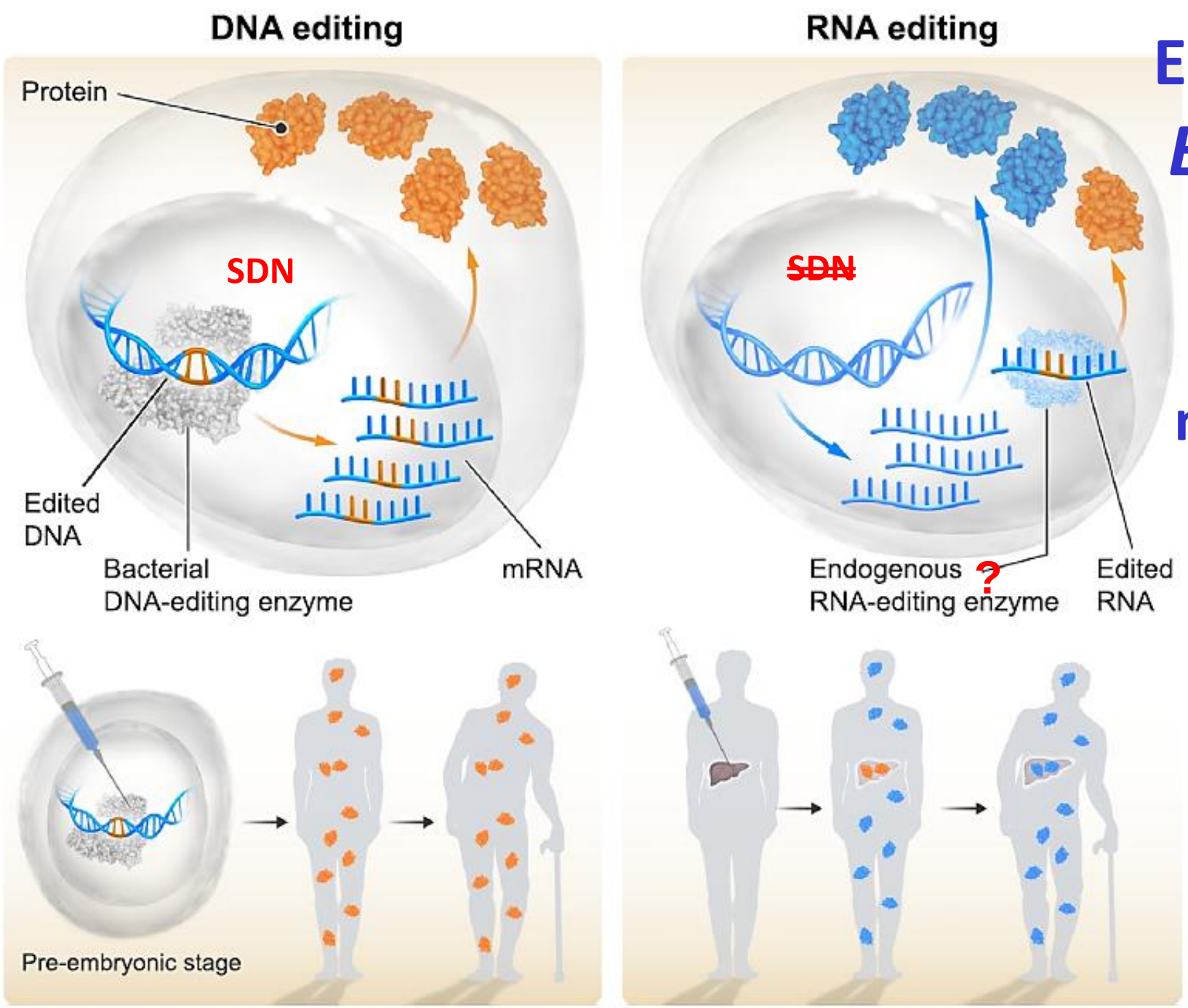
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

...”fusiones anteriores de dCas9 con enzimas pueden dar lugar a una actividad fuera del *locus* objetivo” (o blanco)

Edición Epigenética

Edición de Bases (ARN o ADN) en humanos

no se generan cortes



Trends in Genetics

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Science & Society

The New RNA-Editing Era – Ethical Considerations

Azgad Gold,[1,*] Erez Y. Levanon,[2,5] and Eli Eisenberg[3,4,5]

Trends in Genetics, August 2021, Vol. 37, No. 8

Edición Epigenética
Edición de Bases

Epigenetic modifications

Edición Epigenética
Edición de Histonas
(cromatina)
Modificación bioquímica

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Epigenetic modifications
Histone modifications and DNA methylation are epigenetic marks that affect gene expression. This poster highlights the different types of epigenetic modifications and their writers, readers, and erasers.

Epigenetic modifications at Abcam
To help support your research, we have a range of resources, including sample preparation kits, detection assays for epigenetic modifications, recombinant active proteins, inhibitors of epigenetic pathways, and peptide array-tested monoclonal antibodies to histone modifications.

To find out more, check out our epigenetics content library where you can find more posters, guides, protocols, and webinars.

www.abcam.com/epigenetics

Histone modifications

ac	Acetylation	cit	Deimination	o-p	O-palmitoylation
de-ac	Deacetylation	P	Phosphorylation	ub	Ubiquitination
me	Methylation	de-P	Dephosphorylation	adp	ADPRibosylation
de-me	Demethylation	iso	Isomerization		

Histone modifications binding proteins

Chromodomain proteins

CHD1	H3K4me2/3
HP1/spSwi6	H3K9me2/3
spChp1	H3K9me2/3
CDY1	H3K9me2/3
PC1/PC2/PC/LHP1	H3K27me3, H3K9me3
MSL3	H3K36me3
hMRG15	H3K36me, H3K4me3
scEaf3	H3K36me, H3K4me3
CBX1,3,5	H3K9me3/2
MPP8	H3K9me3/2
Tip60	H3K9me3/2
CBX2,4,6,7,8	H3K27me3/2, H3K9me3/2

http://docs.abcam.com/pdf/chromatin/epigenetic-modifications.pdf

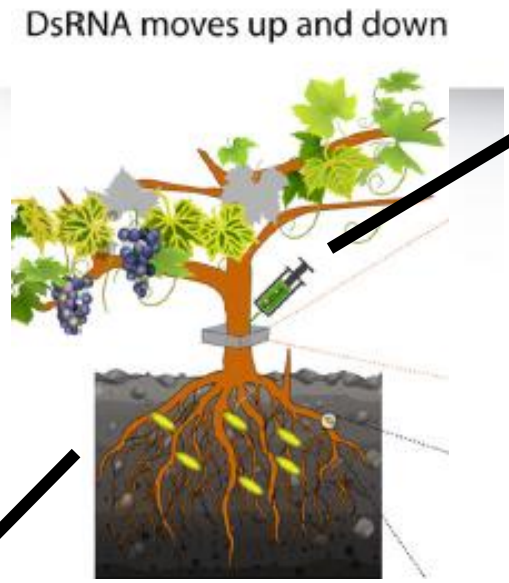
Edición Epigenética:

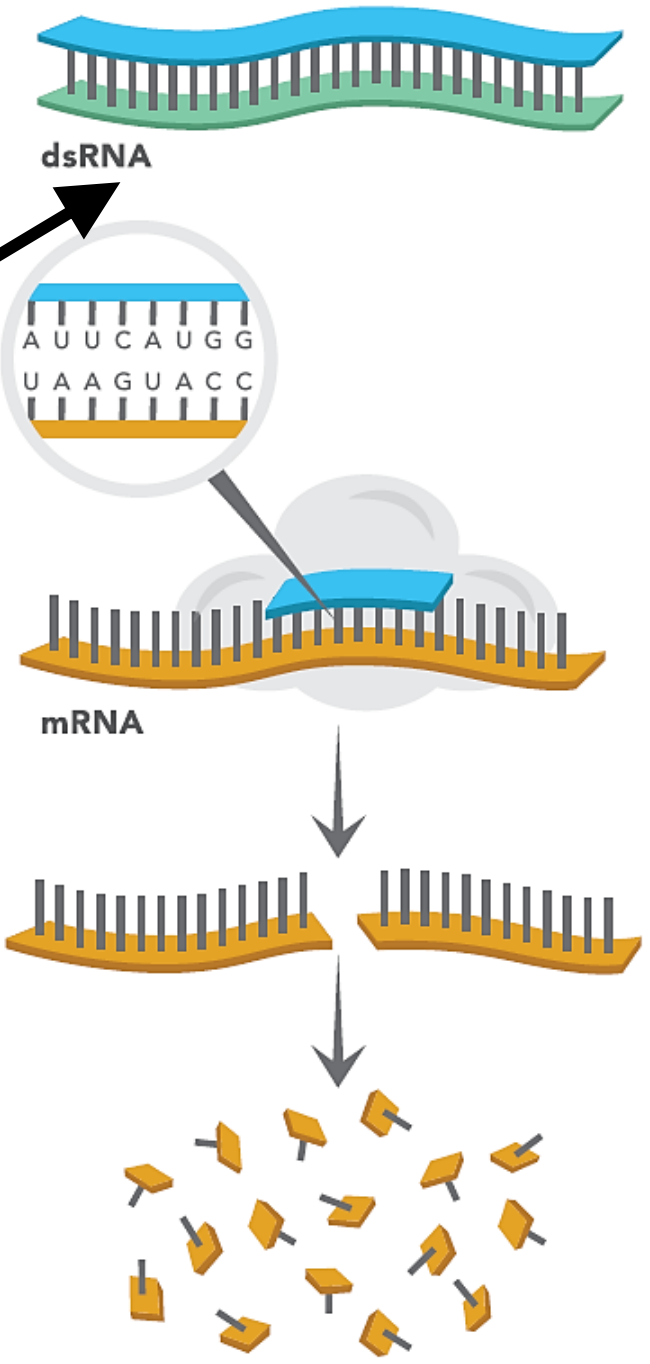
RNAi:

silenciamiento

pérdida de función

~~traducción del ARNm~~





Double-stranded RNA (dsRNA), dubbed 'interfering RNAs', are processed into smaller, active fragments.

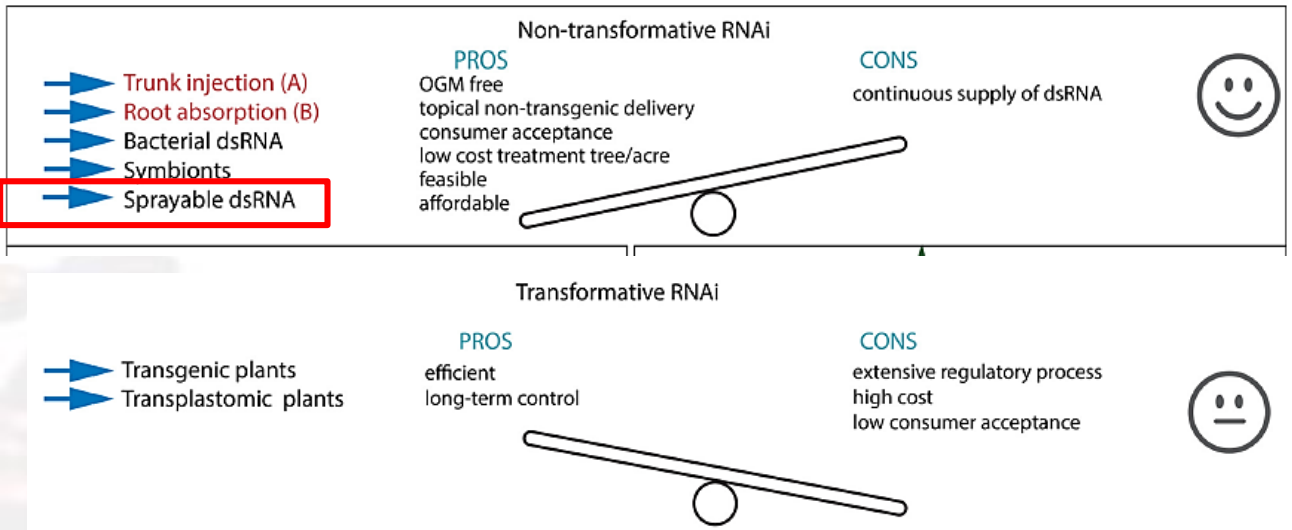
The interfering RNA and a target messenger RNA bind, as they share a sequence that is matching or similar to each other.

The messenger RNA is then cleaved and destroyed. No protein is produced, resulting in 'interference' of gene expression, also known as gene-silencing.

RNAi Efficiency, Systemic Properties, and Novel Delivery Methods for Pest Insect Control: What We Know So Far

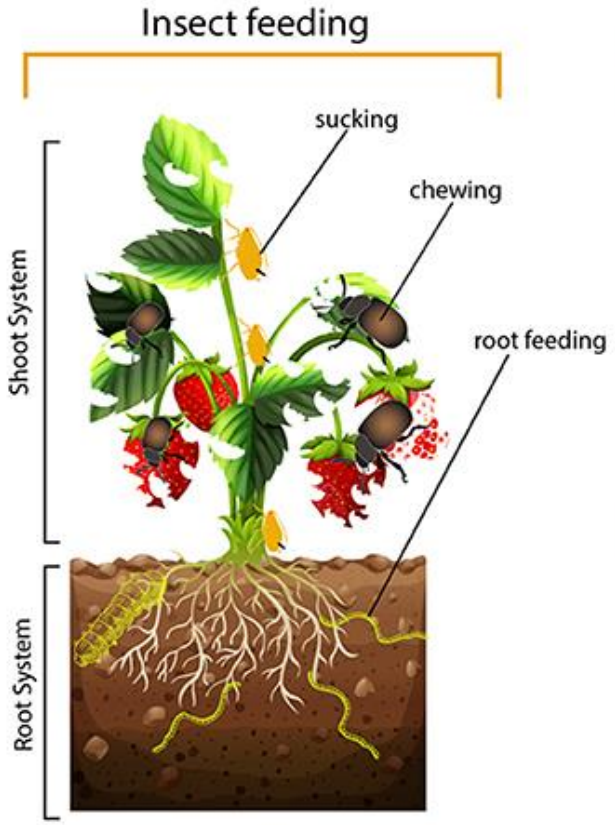
Mallikarjuna R. Joga[1], Moises J. Zotti[2*], Guy Smagghe[1] and Olivier Christiaens[1*]

[1] Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Gent, Belgium, [2] Department of Crop Protection, Molecular Entomology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil

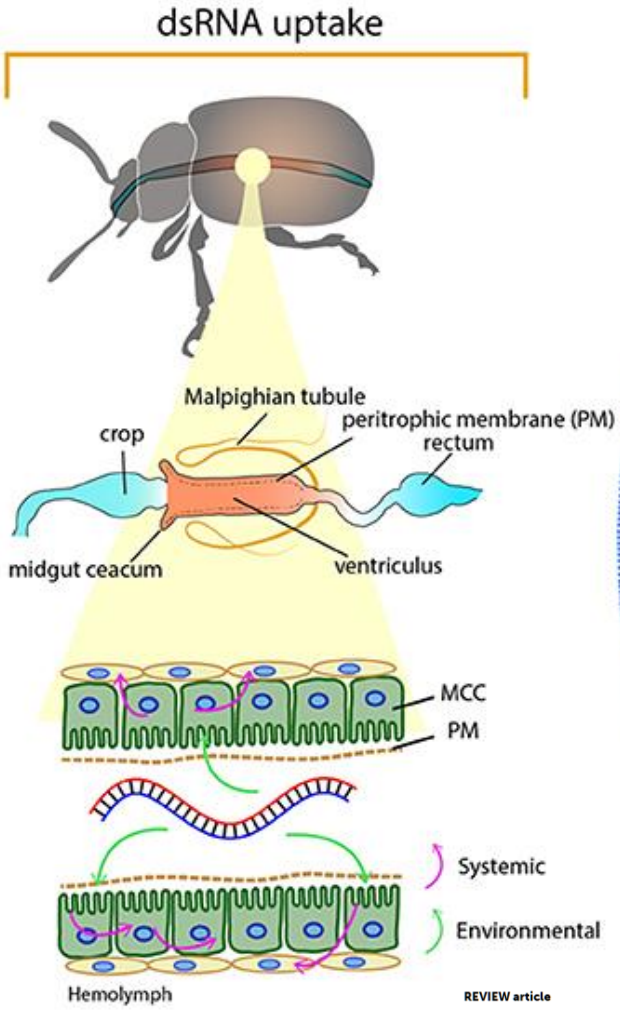


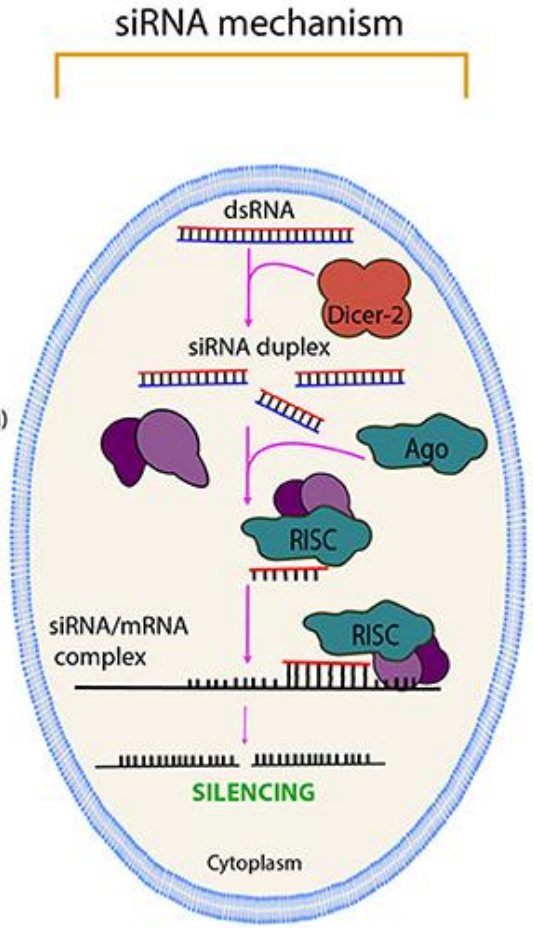
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

ARN de interferencia



Transformative or non-transformative RNAi-mediated plant protection ?





REVIEW article
Front. Physiol., 17 November 2016 | https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00553

RNAi Efficiency, Systemic Properties, and Novel Delivery Methods for Pest Insect Control: What We Know So Far

Mallikarjuna R. Joga[1], Moises J. Zotti[2*], Guy Smagghe[1] and Olivier Christiaens[1*]

[1]Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Gent, Belgium
[2]Department of Crop Protection, Molecular Entomology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2016.00553/full

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

RIESGOS en Humanos

Concerns Associated with Clinical Human Genome Editing	Examples
Risks of inaccurate or incomplete editing	Mosaicism, harmful off-target mutations
Unpredicted effects of genetic edits	Interaction with other variants/the environment decreases fitness - e.g. sickle-cell disease and malaria
Irreversibility of genetic edits once introduced into a population	Edits cannot be tracked once introduced into a population - may combine unfavorably through reproduction
Implications for individuals and future generations carrying genetic alterations	Edited individuals may struggle with feelings of "otherness"
Potential for permanent genetic enhancements affecting social structure	Designer babies, genetic underclass of unmodified individuals
Moral and ethical considerations of altering human evolution	Potential conflicts with religion - idea of "playing God"

Six key concerns associated with human clinical germline editing raised by the International Summit of Human Gene Editing. Adapted from Section 3 of the International Summit Statement.

In the closing paragraph of the statement, the committee calls for an ongoing international forum related to human gene editing. This forum should help inform policymakers and allow nations to coordinate regulation of editing. In addition to including researchers and policymakers, the forum would seek expertise and opinions

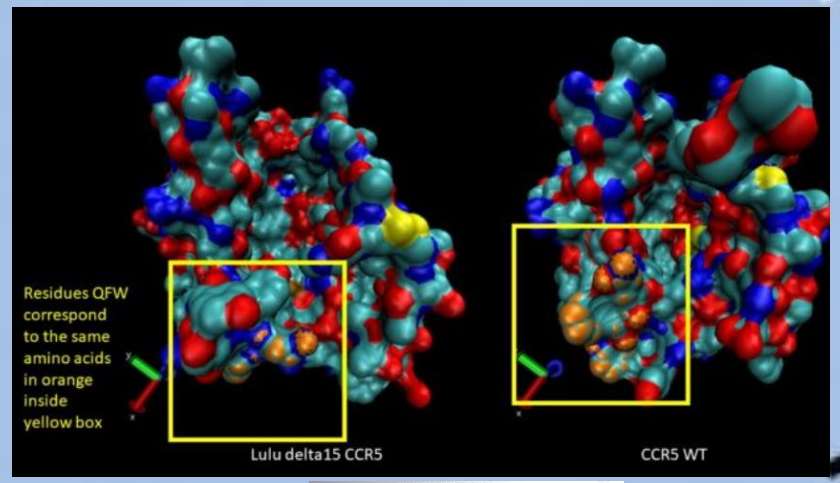
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

https://cdn2.hubspot.net/hubfs/306096/CRISPR_101_ebook/2nd%20Edition/CRISPR%20101%202nd%20Ed%20Final%20May%202018_2.pdf?

CRISPR–Cas9: gen *CCR5*, codifica para un co-receptor del VIH
las gemelas Lulu 露露 y Nana 娜娜. Mosaicos genéticos.

Humanos

CCR5WT	HFPYSQYQFWKNFQTLKIVILGLVLPLLVMVICYSGILKTLLRCRNEKKRH
LuluDelta15	-----QYQFWKNFQTLKIVILGLVLPLLVMVICYSGILKTLLRCRNEKKRH
CCR5delta32	HFPYIKDSHLGAGPAAACHGHLLGNPKNSASVSK----------
NanaInsert	HFPYKSVSILEEFPDIKDSHLGAGPAAACHGHLLGNPKNSASVSK------
NanaDelta4	HFPYSINSGRISRH----------



BIOTECHNOLOGY

Decoding the CRISPR-baby stories

Three books explore the He Jiankui affair and what gene editing means for the future of humanity.

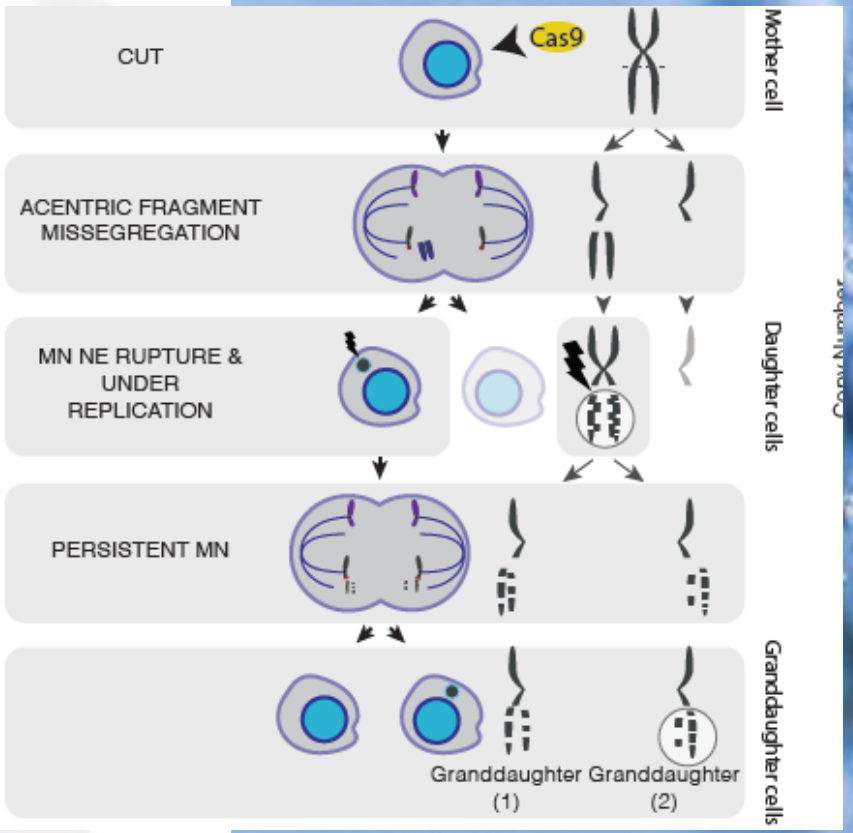
By J. Benjamin Hurlbut

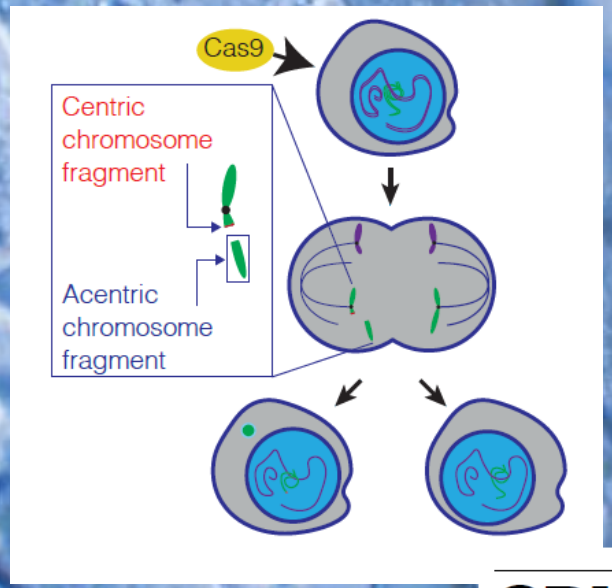
February 24, 2021

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

http://theantisense.com/2018/12/18/the-science-behind-the-crispr-babies-lulu-and-nana/

Chromothripsis as an on-target consequence of CRISPR-Cas9 genome editing





CRISPR EDITING WREAKS CHROMOSOMAL MAYHEM IN HUMAN EMBRYOS

Studies showing large DNA deletions and reshuffling heighten concerns about heritable genome editing.

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

inserciones de retrotransposones es un resultado potencial de la edición con CRISPR/Cas9. La retrotransposición se produjo hasta un 6% de las veces

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

https://doi.org/10.1038/s41467-022-31322-3 OPEN

Check for updates

Frequency and mechanisms of LINE-1 retrotransposon insertions at CRISPR/Cas9 sites

Jianli Tao[1,4✉], Qi Wang[1,4], Carlos Mendez-Dorantes[2], Kathleen H. Burns[2] & Roberto Chiarle[1,3✉]

NATURE COMMUNICATIONS | (2022)13:3685 | https://doi.org/10.1038/s41467-022-31322-3 | www.nature.com/naturecommunications

Article | Published: 30 June 2022

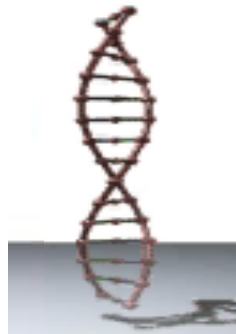
Frequent* aneuploidy in primary human T cells after CRISPR–Cas9 cleavage * ~ 10%!!

Alessio David Nahmad, Eli Reuveni, Ella Goldschmidt, Tamar Tenne, Meytal Liberman, Miriam Horovitz-Fried, Rami Khosravi, Hila Kobo, Eyal Reinstein, Asaf Madi ✉, Uri Ben-David ✉ & Adi Barzel ✉

Nature Biotechnology (2022) | Cite this article

La aneuploidía y los truncamientos cromosómicos son resultados frecuentes de CRISPR-Cas9 que deben ser controlados y minimizados en los protocolos clínicos.

nature communications



Article

https://doi.org/10.1038/s41467-022-32285-1

TP53-dependent toxicity of CRISPR/Cas9 cuts is differential across genomic loci and can confound genetic screening

Received: 20 December 2021

Accepted: 26 July 2022

Miguel M. Álvarez [1], Josep Biayna [1,3] & Fran Supek [1,2]

9 de agosto de 2022 -- La edición de genes mediante CRISPR-Cas9 puede provocar toxicidad celular e inestabilidad del genoma en función del punto del genoma humano al que se dirija.
Estos efectos secundarios no deseados están mediados por la proteína tumoral p53 (TP53) y están determinados por la secuencia de ADN cercana al punto de edición y varios factores epigenéticos en la región circundante.
15% de los genes humanos contienen al menos un punto de edición tóxica

2023: “CRISPRtripsis” en plantas (tomate)

Aviva Samach[1]*, Fabrizio Mafessoni[1]*, Or Gross [1]*, Cathy Melamed-Bessudo[1], Shdema Filler-Hayut[1], Tal Dahan-Meir[1], Ziva Amsellem[1], Wojciech P. Pawlowski[2], and Avraham A. Levy[1]

[1]Institution: Department of Plant and Environmental Sciences, The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.

[2]Institution: School of Integrative Plant Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.

* Equal contributors

Correspondence: Avraham A. Levy - Department of Plant and Environmental Sciences, The Weizmann Institute of Science, Rehovot 7610001, Israel.

Telephone: (W) 972 8 934 2734. Fax: 972 8 934 4181 E-mail: avi.levy@weizmann.ac.il

A CRISPR-induced DNA break can trigger crossover, chromosomal loss and chromothripsis-like rearrangements

Short title CRISPR-induced crossover and chromothripsis

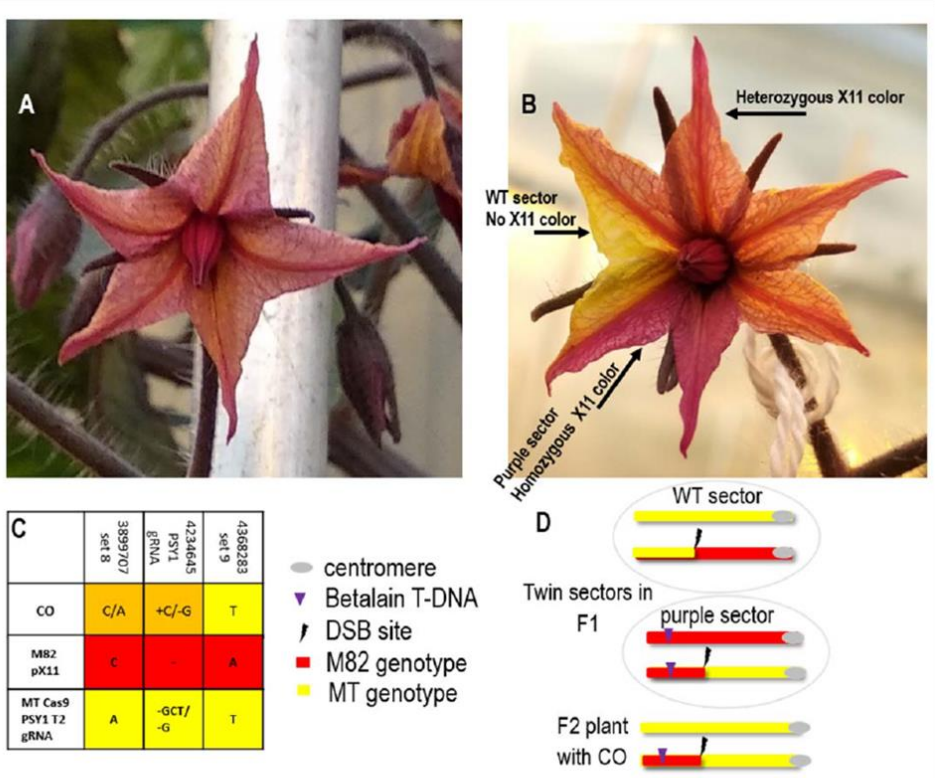


Figure 3. Detection of a targeted somatic crossover event on chromosome

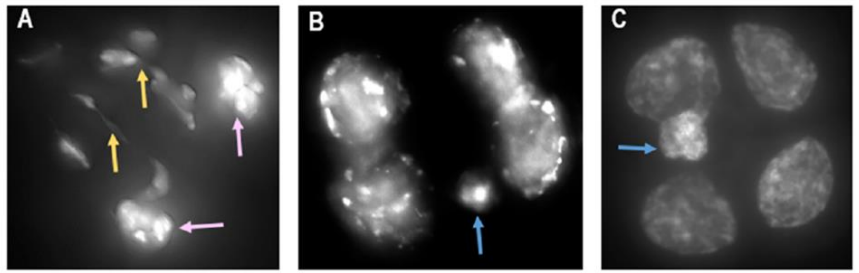


Figure 8. Cytological evidence of chromosomal rearrangements and micronuclei in meiocytes

Optimizando la Eficiencia de Cas9 (exactitud y velocidad)

nature

Explore content ▾ About the journal ▾ Publish with us ▾

nature › articles › article

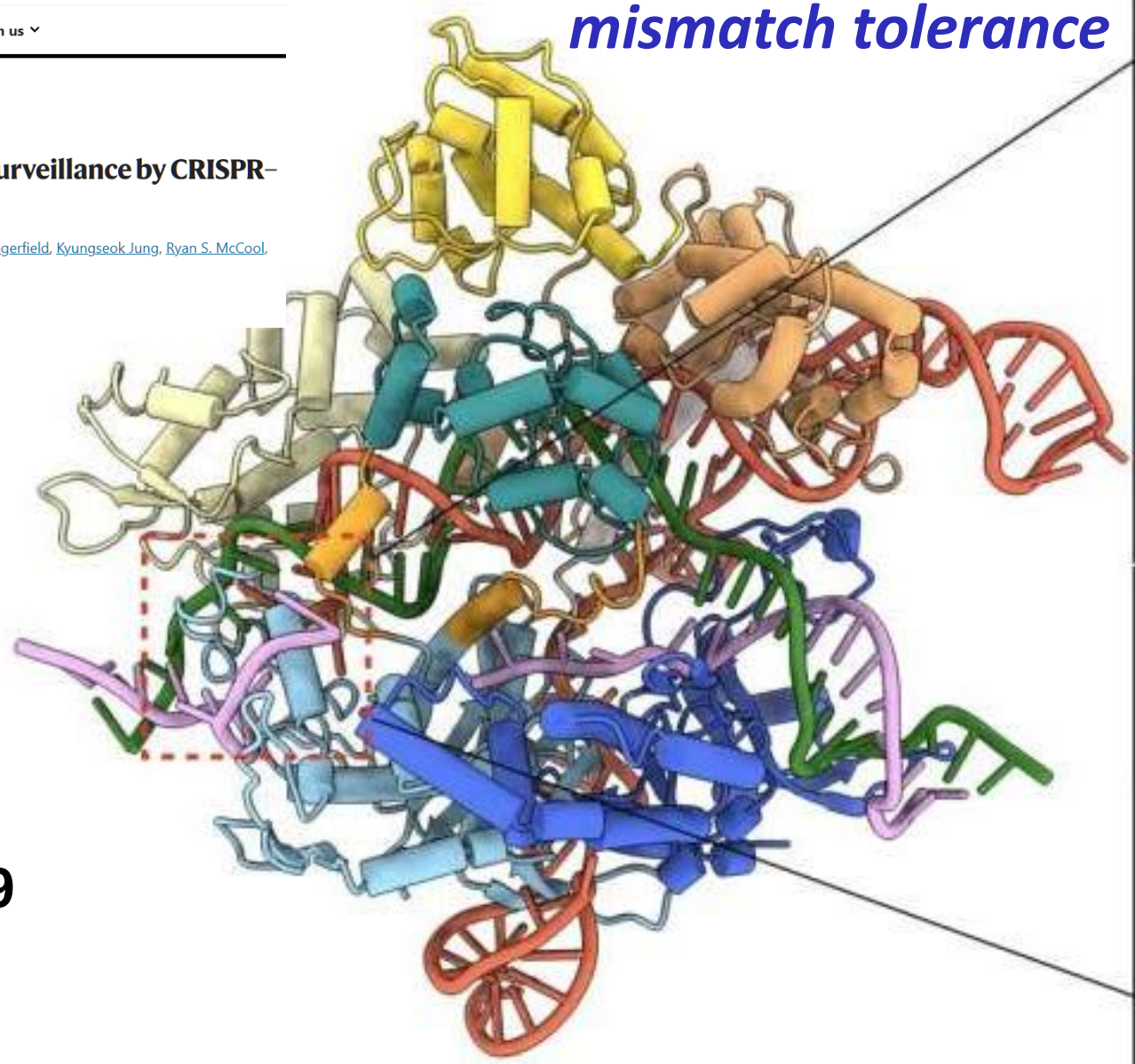
Article | Open Access | Published: 02 March 2022

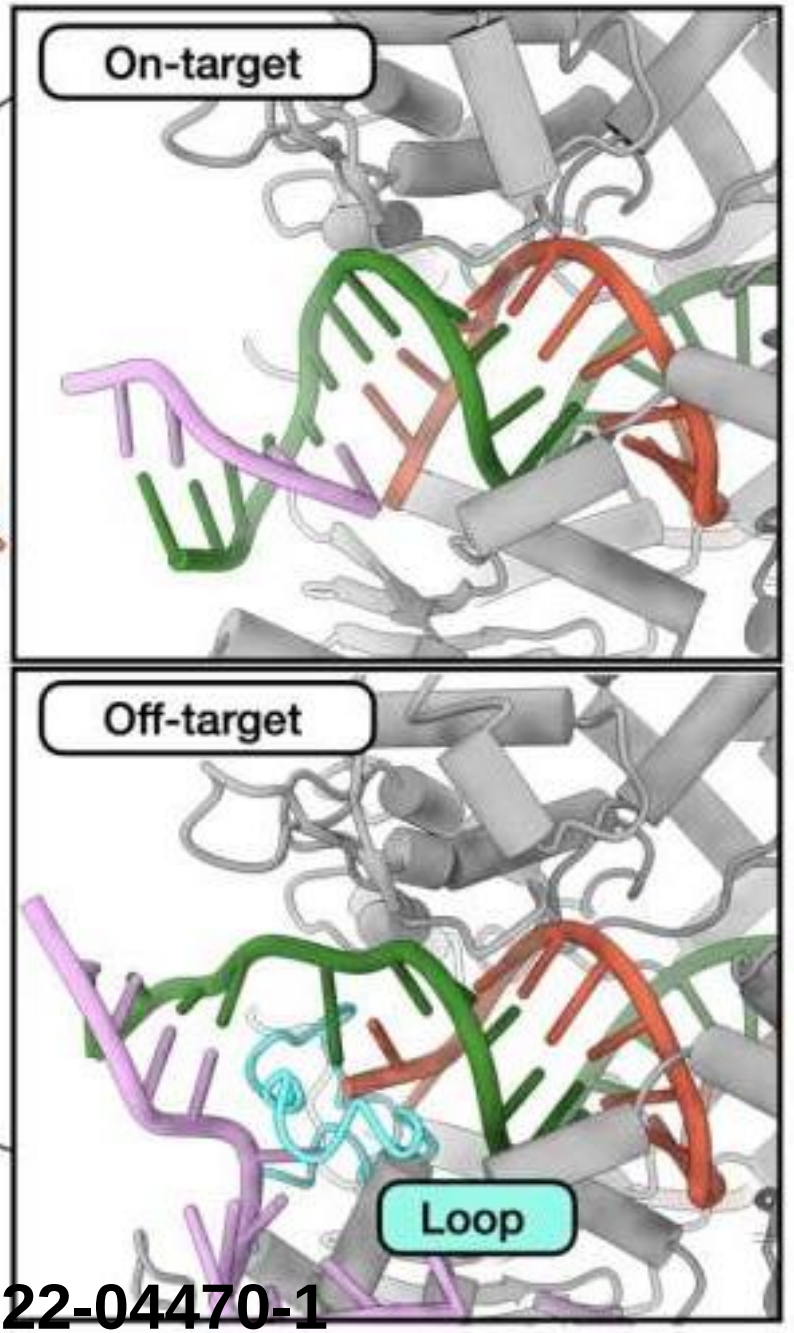
Structural basis for mismatch surveillance by CRISPR–Cas9

Jack P. K. Bravo, Mu-Sen Liu, Grace N. Hibshman, Tyler L. Dangerfield, Kyungseok Jung, Ryan S. McCool, Kenneth A. Johnson ✉ & David W. Taylor ✉

Nature **603**, 343–347 (2022) | Cite this article

mismatch tolerance





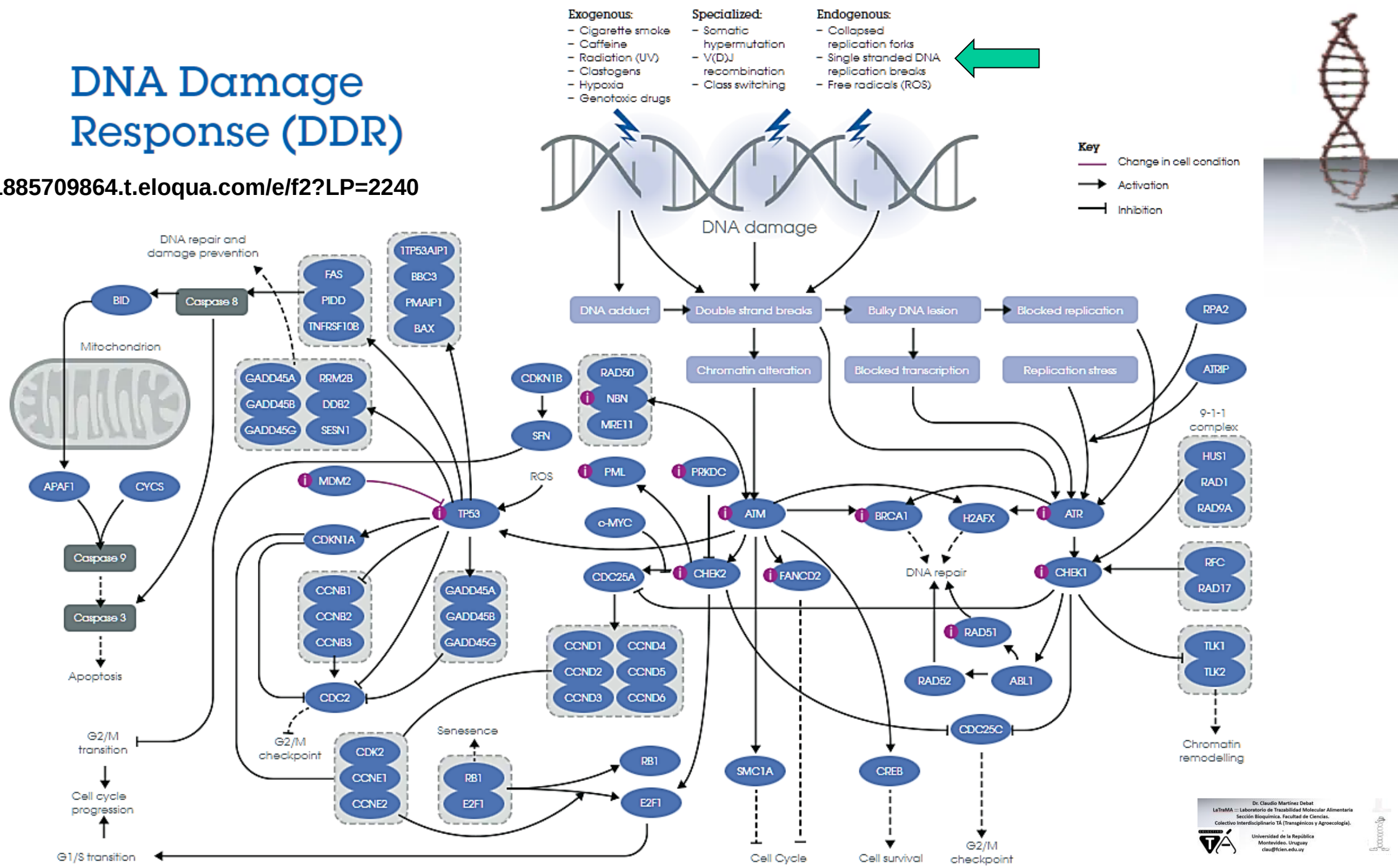
SuperFi-Cas9

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

https://www.nature.com/articles/s41586-022-04470-1

DNA Damage Response (DDR)

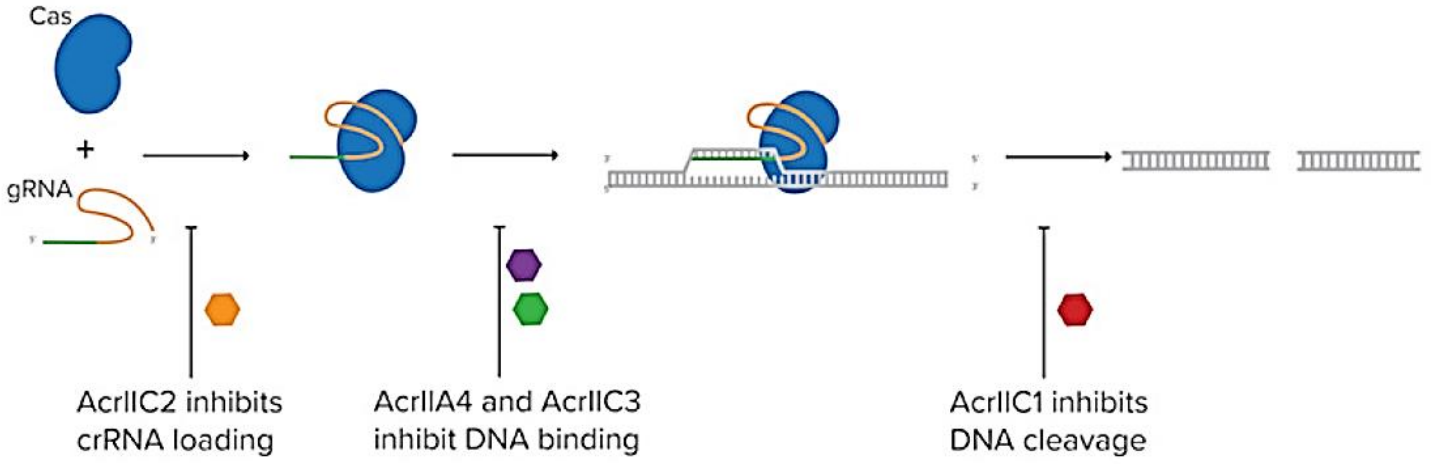
https://s1885709864.t.eloqua.com/e/f2?LP=2240

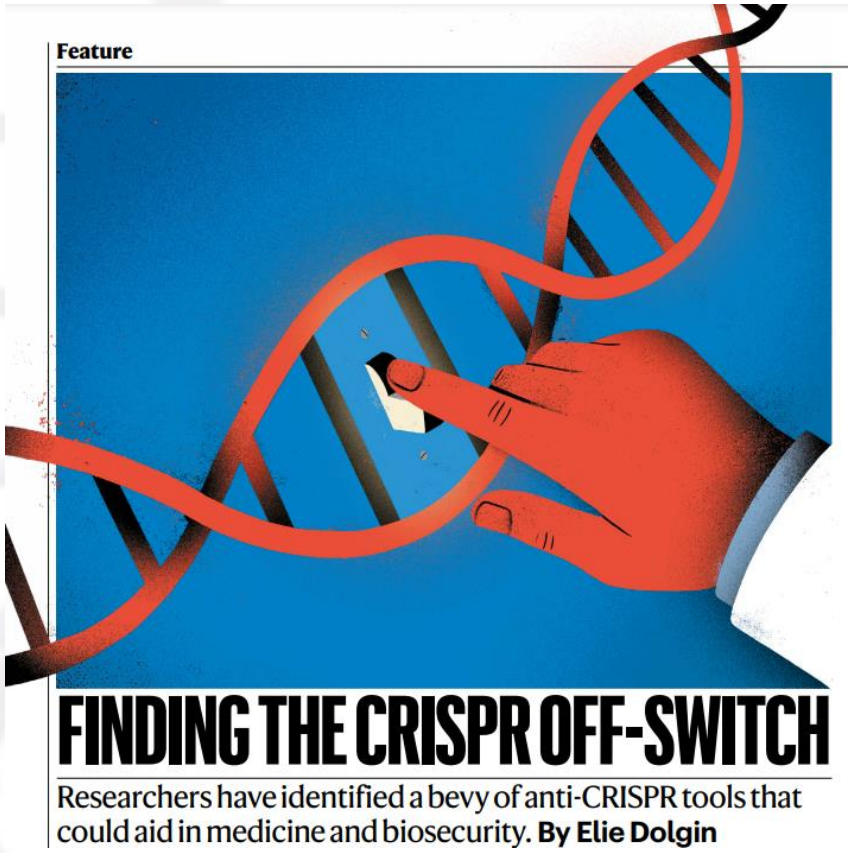


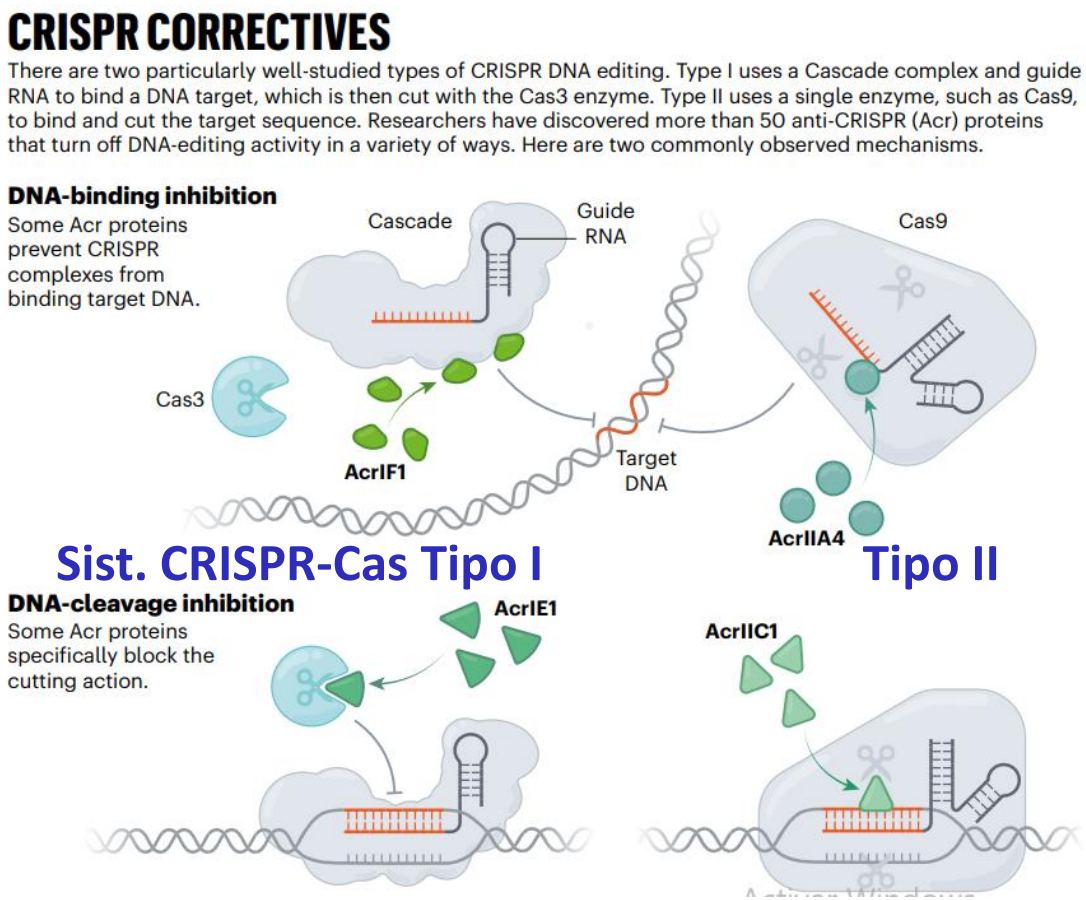
Cómo desactivar a CRISPR?

para disminuir efectos *off-target* y citotoxicidad

Inhibidores, reducción del tiempo o lugar de acción







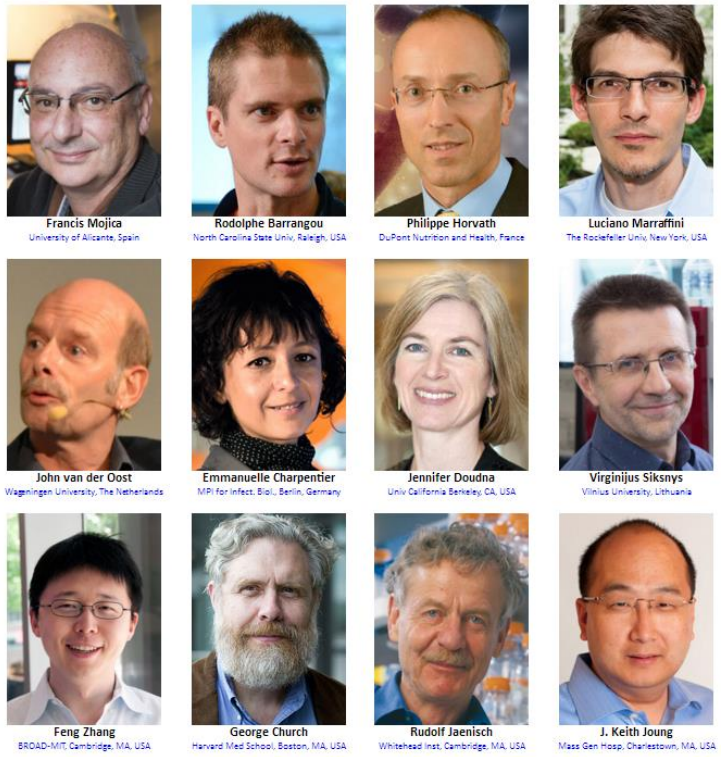
Berkeley News Research People Campus & commur

https://news.berkeley.edu/2017/07/19/defense-department-pours-65-million-into-making-crispr-safer/

MIND & BODY, RESEARCH, SCIENCE & ENVIRONMENT, TECHNOLOGY & ENGINEERING

Defense department pours $65 million into making CRISPR safer

Beneficiarios:
The Broad Institute of MIT and Harvard;
Harvard Medical School;
Massachusetts General Hospital;
Massachusetts Institute of Technology;
North Carolina State University;
University of California, Berkeley;
and University of California, Riverside



Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

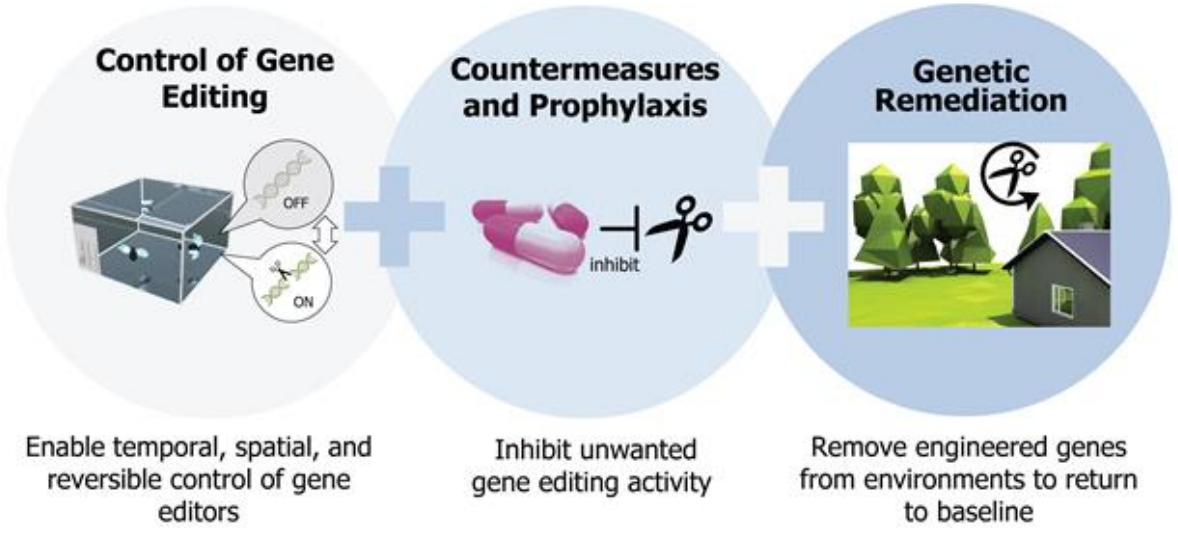
DARPA DEFENSE ADVANCED RESEARCH PROJECTS AGENCY ABOUT US / OUR RESEARCH /

Defense Advanced Research Projects Agency > News And Events

Building the Safe Genes Toolkit

Seven teams aim to develop new knowledge and tools to support responsible innovation in gene editing and protect against threats to genome integrity

OUTREACH@DARPA.MIL
7/19/2017



https://www.darpa.mil/news-events/2017-07-19

Gene Drive

Gene Drives, Impulsores Génicos, reacciçon mutagénica en cadena, mutaciones de pérdida de función dominante transgeneracional

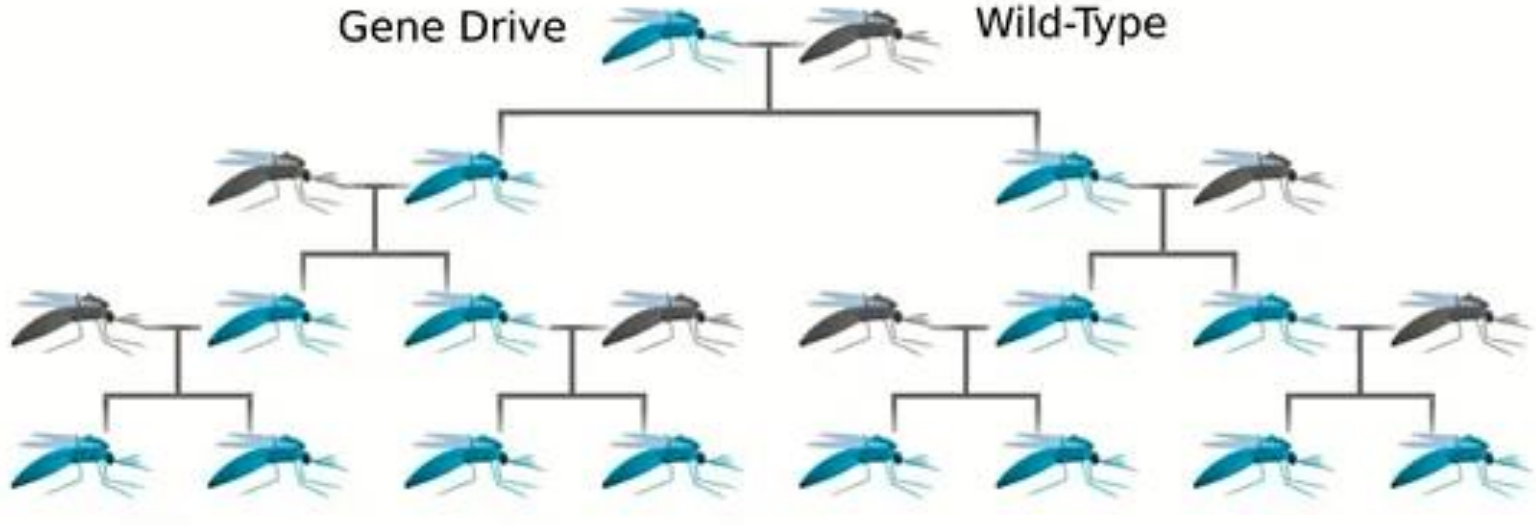
Selfish genetic construct that ***spreads rapidly*** through a population

Can be engineered to carry desirable traits

Esvelt *et al.* realized the potential of CRISPR/Cas9

Teach Me in 10 – Gene Drive Research With Dr Jennifer Baltzegar

https://www.labtube.tv/video/MTA3NTY4



Concerning RNA-guided Gene Drives for the Alteration of Wild Populations

eLife. 2014, 3:e03401

Extreme GM "extinction technology" of gene drives presented as "natural"

Published: 19 September 2022

https://gmwatch.org/en/106-news/latest-news/20098

JOURNAL OF RESPONSIBLE INNOVATION, 2018
VOL. 5, NO. S1, S81–S97
https://doi.org/10.1080/23299460.2017.1407910

Routledge
Taylor & Francis Group

RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS Check for updates

Anticipating complexity in the deployment of gene drive insects in agriculture

Jennifer Baltzegar [a*], Jessica Cavin Barnes [b*], Johanna E. Elsensohn [c*], Nicole Gutzmann [c*], Michael S. Jones [d*], Sheron King [e*] and Jayce Sudweeks [e*]

Gene Drives Still Under Development

Only exist in the laboratory, none have been released in the wild

Current areas of research

Resistance allele management	Spatially limiting spread	Social & governance issues

Métodos analíticos para la detección de productos EdGen
Más allá de la qPCR/ADN

proteínas
metabolitos
biomarcadores

Partners
Partners

The Research Council of Norway

NORDIC ECOLABEL

OSLOMET

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

AGES
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH

MUSÉUM NAL HIST NATURELLE

AUST
AMERICAN UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY

denofa

Graminor

umweltbundesamt
ENVIRONMENT AGENCY AUSTRIA

Food Print

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

¿Son importantes estas diferencias en proteínas y metabolismo en **plantas transgénicas**?

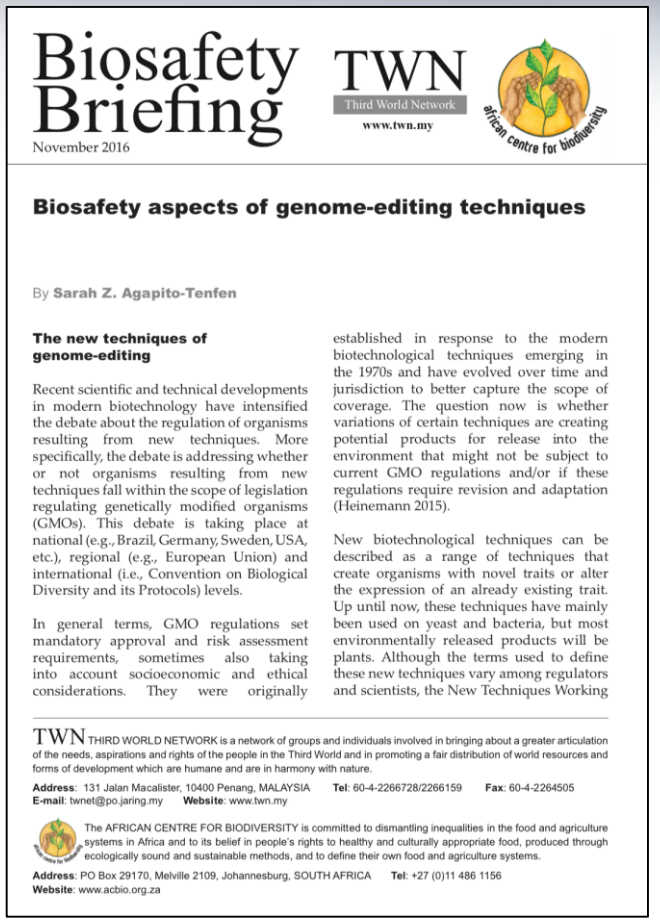
- Cada proteína encontrada podría provocar un cambio en una vía metabólica o una interacción dentro de la célula;
- Esta alteración genera o puede generar nuevas características en las plantas;
- Estas nuevas características afectan o pueden tener un efecto sobre la salud humana/animal o el ambiente;
- Estos efectos pueden o no ser detectados por las técnicas que se utilizan actualmente en el análisis de riesgo de los OMG, como las que se utilizan en la equivalencia sustancial;
- ¡Lo que no buscas, no lo encuentras! Agnotología. Ciencia no Hecha.

Modif. de Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL. Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

Agapito-Tenfen et al. BMC Plant Biology 2014, 14:346 http://www.biomedcentral.com/1471-2229/14/346

Diferencias entre transgénesis y edición génica

1) Modificar genes elegidos *in vivo*, y no solo *in vitro* seguido de reintroducción;
2) Aumentar la eficiencia de introducir la modificación prevista en un lugar previsto;
3) Aumentar la gama de organismos en los que se pueden lograr las dos primeras posibilidades.
4) Aumentar la escala en la que se pueden lograr las tres posibilidades.



Biosafety Briefing

TWN Third World Network www.twn.my

African Centre for Biodiversity

November 2016

Biosafety aspects of genome-editing techniques

By **Sarah Z. Agapito-Tenfen**

The new techniques of genome-editing

Recent scientific and technical developments in modern biotechnology have intensified the debate about the regulation of organisms resulting from new techniques. More specifically, the debate is addressing whether or not organisms resulting from new techniques fall within the scope of legislation regulating genetically modified organisms (GMOs). This debate is taking place at national (e.g., Brazil, Germany, Sweden, USA, etc.), regional (e.g., European Union) and international (i.e., Convention on Biological Diversity and its Protocols) levels.

In general terms, GMO regulations set mandatory approval and risk assessment requirements, sometimes also taking into account socioeconomic and ethical considerations. They were originally established in response to the modern biotechnological techniques emerging in the 1970s and have evolved over time and jurisdiction to better capture the scope of coverage. The question now is whether variations of certain techniques are creating potential products for release into the environment that might not be subject to current GMO regulations and/or if these regulations require revision and adaptation (Heinemann 2015).

New biotechnological techniques can be described as a range of techniques that create organisms with novel traits or alter the expression of an already existing trait. Up until now, these techniques have mainly been used on yeast and bacteria, but most environmentally released products will be plants. Although the terms used to define these new techniques vary among regulators and scientists, the New Techniques Working

TWN THIRD WORLD NETWORK is a network of groups and individuals involved in bringing about a greater articulation of the needs, aspirations and rights of the people in the Third World and in promoting a fair distribution of world resources and forms of development which are humane and are in harmony with nature.

Address: 131 Jalan Macalister, 10400 Penang, MALAYSIA **Tel**: 60-4-2266728/2266159 **Fax**: 60-4-2264505
E-mail: twnet@po.jaring.my **Website**: www.twn.my

The AFRICAN CENTRE FOR BIODIVERSITY is committed to dismantling inequalities in the food and agriculture systems in Africa and to its belief in people's rights to healthy and culturally appropriate food, produced through ecologically sound and sustainable methods, and to define their own food and agriculture systems.

Address: PO Box 29170, Melville 2109, Johannesburg, SOUTH AFRICA **Tel**: +27 (0)11 486 1156
Website: www.acbio.org.za

Modif. de Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL.
Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

Agapito-Tenfen, S.Z. Biosafety aspects of genome-editing techniques. Biosafety Briefing. TWN, November

La seguridad de las técnicas de edición génica se basa en dos premisas:

1. Cambios sólo en los lugares previstos
2. Sólo los cambios previstos

Modif. de Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL.
Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

Agapito-Tenfen, S.Z. Biosafety aspects of genome-editing techniques. Biosafety Briefing. TWN, November 2016.

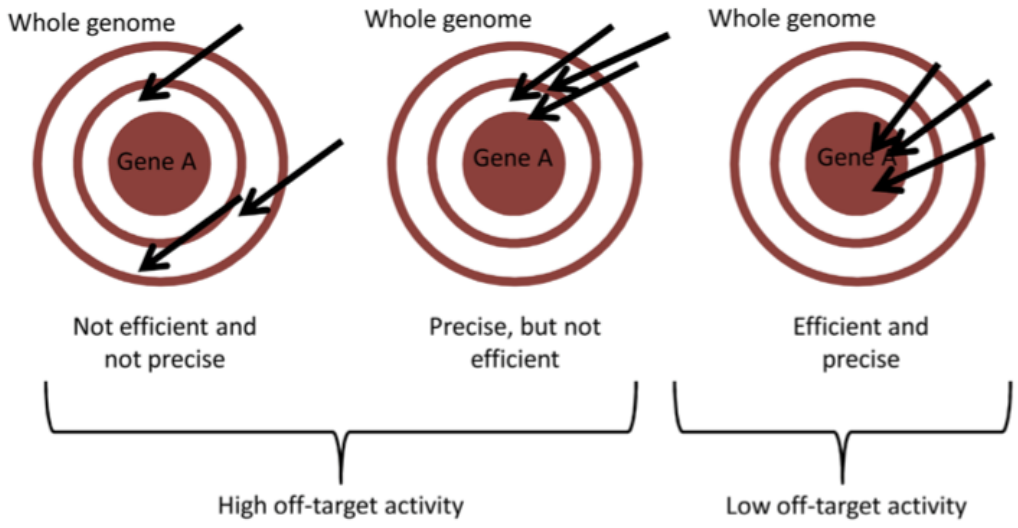
Seguridad de las técnicas de edición génica

Las técnicas de edición génica pueden llamarse "dirigidas" pero aún no "precisas".

"Dirigido" y "preciso" tienen diferentes significados: mientras que "objetivo" sugiere la idea de modificar un gen específico, "precisión" es la idea de modificar solo ese gen.

Representación gráfica de cómo una técnica puede ser exacta y precisa en términos de su actividad objetivo y no objetivo.

Figure 2. Graphical representation of off-target activity of genome-editing techniques



Agapito-Tenfen, S.Z. Biosafety aspects of genome-editing techniques. Biosafety Briefing. TWN, November 2016.

Modif. de Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL.
Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

Riesgos que justifican la regulación

Sin embargo, también es posible insertar o eliminar genes nuevos completos o secuencias grandes.

Sin embargo, no es posible simplemente cambiar el blanco objetivo previsto.

Así, a partir del proceso, los productos previstos no coinciden con los productos no previstos (por ej. *off-target*)

Agapito-Tenfen, S.Z. Biosafety aspects of genome-editing techniques. Biosafety Briefing, TWN, November 2016.

Riesgos que justifican una regulación

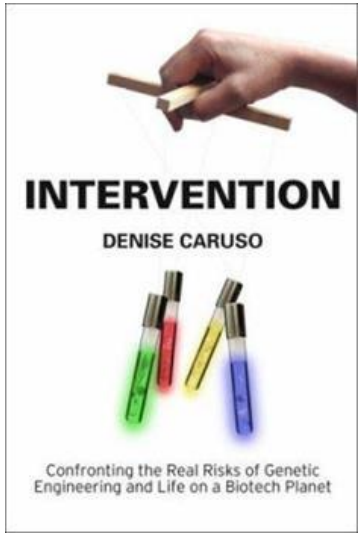
Las técnicas de edición génica plantean la posibilidad de apuntar, *in vivo*, a un gen o secuencia específica en el genoma de prácticamente cualquier especie.

La modificación del gen objetivo es la eliminación, inserción o alteración del orden de los nucleótidos en una molécula de ADN o ARN existente.

Los Riesgos no están relacionados a lo que los científicos sabemos, sino más bien a lo que No sabemos.

Riesgos están asociados a incertidumbres.

Caruso, D. *Intervention*. San Francisco, Hybrid Vigor Press, 2006



Agapito-Tenfen, S.Z. Biosafety aspects of genome-editing techniqu
Biosafety Briefing, TWN, November 2016.

¿Entonces, qué pasa?

- La edición de genes podría no resultar en una única mutación reproducible; también pueden ser muchas mutaciones, en muchos organismos, al mismo tiempo.
- Las mutaciones de edición de genes son diferentes de las mutaciones "naturales" espontáneas porque funcionan en base a la similitud de secuencia y debido a las diferencias en el mecanismo de reparación.
- No todos los sitios blanco y no blanco se editan de manera predecible
- La hipótesis de riesgo no debe limitarse a la presencia de ácidos nucleicos extraños.
- Enfoques de detección sin objetivo especifico para encontrar cambios no deseados en el genotipo y el fenotipo.
- Las hipótesis de riesgo no son mutuamente excluyentes

Limitaciones de las técnicas

*Baja Eficiencia

*Efectos no deseados

Recombinaciones, Rearreglos, Deleciones, Inserciones: MUTACIONES

(ni la ruptura ni la reparación son procedimientos "limpios“)

1. Vinculados a la manipulación genética

Introducción de moléculas exógenas

vectores de expresión de ADN recombinante,

complejos ribonucleopreoteicos,

protoplastos,

etapas posteriores de cultivo/selección/regeneración/propagación *in vitro*

2. Efectos “fuera de blanco” *off-target*

Integración genómica

de secuencias recombinantes, constructos, vectores

3. Efectos inesperados “dentro del blanco” *on-target* o sus cercanías

4. Pleiotrópicos, sistémicos y debidos a la modificación introducida (ej.p53, nuevos ARNm)

Respuesta inmunitaria

5. Persistencia de la actividad de la Nucleasa (ej. Impulsores Genéticos)

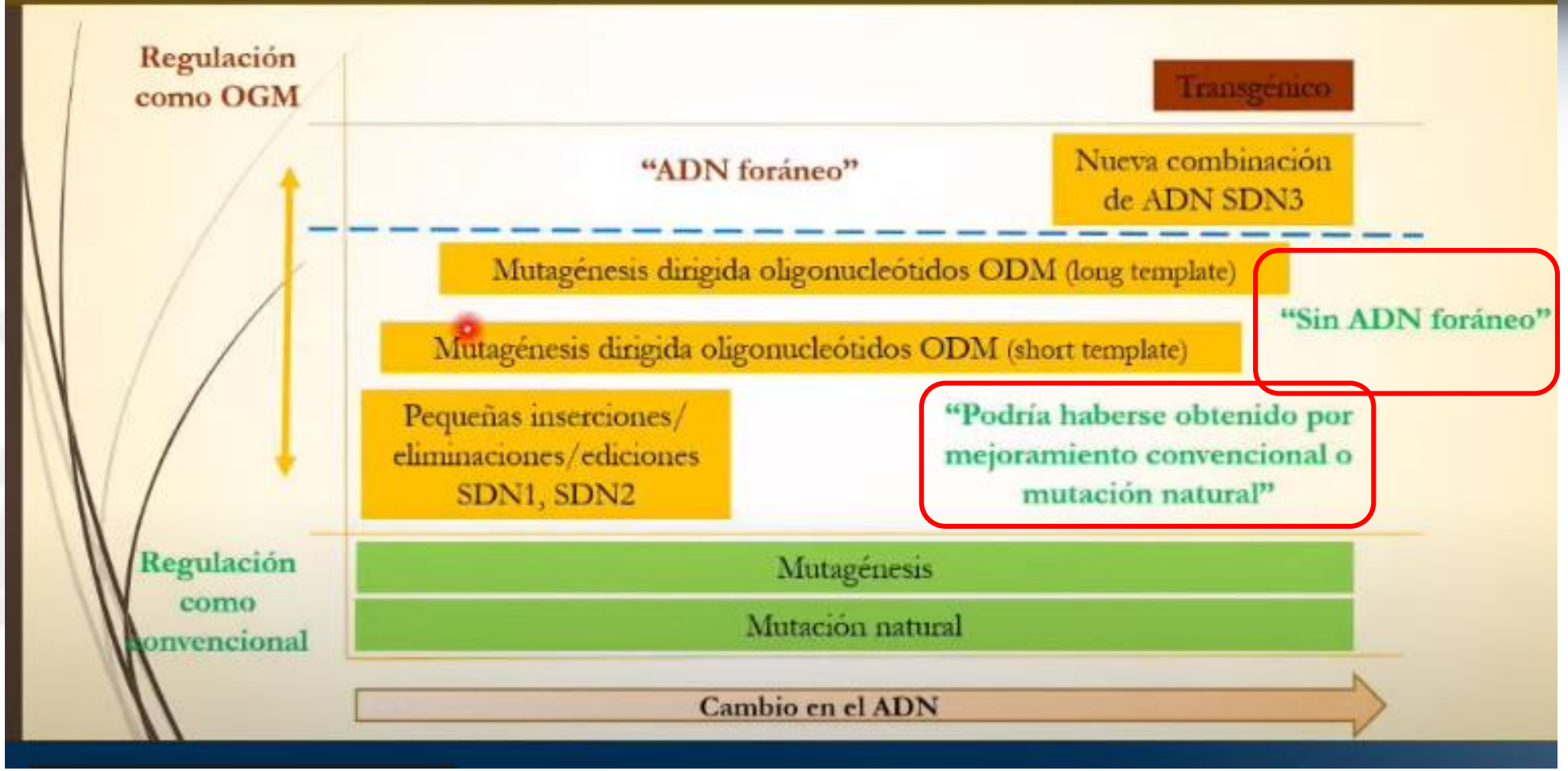
Efectos genéticos, epigenéticos, metabólicos, fenotípicos,

¿Pueden evitarse / suprimirse?

Claudio Martínez Debat, QF, PhD
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Núcleo Colectivo TÁ. Espacio Interdisciplinario.
Universidad de la Republica.Montevideo. Uruguay.

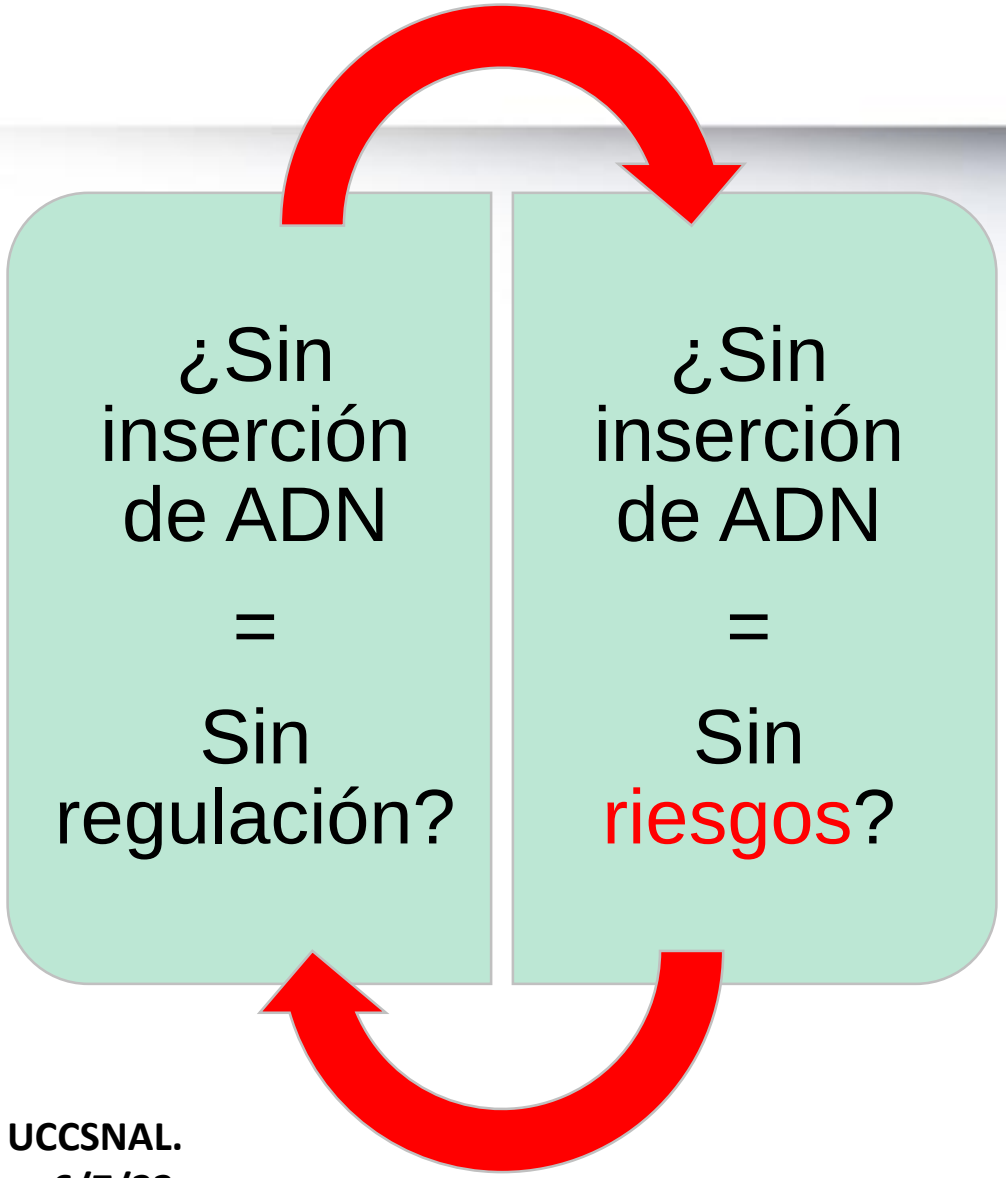
Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Procedimiento para determinar si es OGM



GNBio, 2021

¿Cuál es el criterio?



Modif de Dr Rubens Nodari. UFSC. UCCSNAL.
Ciclo de Webinarios EdGen Uru-Mex. 6/7/22

Calidad *Natural*

Ca-idad Edición

Canidad

Cantidad

Cantidad*Editado*

Organismo genéticamente modificado (OGM): aquel cuyo material genético ha sido alterado usando técnicas de **ingeniería genética**.

Fuente: Wiki

"Se entenderá por **organismo genéticamente modificado**, aquel que haya sido **alterado** a nivel **molecular** o **celular** en cualquier forma **distinta** a la posible bajo **condiciones** o **procesos naturales**. No serán considerados como procesos naturales o convencionales **todas las técnicas de ADN y ARN recombinante, incluyendo a la edición genómica y técnicas derivadas**."

Proyecto de Ley Etiquetado Uruguay, 2016.

Todos los Transgénicos son OGMs

Pero no todos los OGMs son Transgénicos

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Sugerencias:

Analizar el Proceso Y el Producto

Estudiar a fondo el Proceso

Verificar sus Productos (y su Evolución en el Tiempo) a través de

* **La secuenciación del genoma completo,**
* **Análisis profundos de perfiles moleculares ("ómicas“, para identificar cualquier compuesto potencialmente tóxico o alergénico o proteínas),**
* **Estudios de alimentación animal como los requeridos por la ley de la UE para los transgénicos “tradicionales”.**
* **Moratoria a los impulsores génicos**
  - **TRAZABILIDAD**

Claudio Martínez Debat, QF, PhD
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Núcleo Colectivo TA. Espacio Interdisciplinario.
Universidad de la República.Montevideo. Uruguay.

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA :: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TA (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

Organismo genéticamente modificado (OGM): aquel cuyo material genético ha sido alterado usando técnicas de **ingeniería genética**.

Fuente: Wiki

"Se entenderá por **organismo genéticamente modificado**, aquel que haya sido **alterado** a nivel **molecular** o **celular** en cualquier forma **distinta** a la posible bajo **condiciones** o **procesos naturales**. No serán considerados como procesos naturales o convencionales **todas las técnicas de ADN y ARN recombinante, incluyendo a la edición genómica y técnicas derivadas**."

Proyecto de Ley Etiquetado Uruguay, 2016.

Todos los Transgénicos son OGMs

Pero no todos los OGMs son Transgénicos

Dr. Claudio Martínez Debat
LaTraMA ::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria
Sección Bioquímica. Facultad de Ciencias.
Colectivo Interdisciplinario TÁ (Transgénicos y Agroecología).
Universidad de la República
Montevideo. Uruguay
clau@fcien.edu.uy

14 de octubre de 2022.

Posicionamiento del Colectivo TÁ referido al Proyecto de Ley:

"GRUPO DE TRABAJO TÉCNICO PARA DETERMINAR ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS"

COMISIÓN DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA

CÁMARA DE REPRESENTANTES

22 - REPARTIDO Nº 716, AGOSTO DE 2022

3) <u>Protocolo de Cartagena</u>: A través de la Ley Nro. 18792 (2011) nuestro país adhirió al **Protocolo de Cartagena** sobre Seguridad de la Biotecnología, el cual establece (entre otros):
- Lit. g) Por **"organismo vivo modificado"** se entiende cualquier organismo vivo que posea una combinación nueva de material genético que se haya obtenido mediante la aplicación de la biotecnología moderna.
- Lit. i.a) Por **"biotecnología moderna"** se entiende la aplicación de: Técnicas *in vitro* de ácido nucleico, incluidos el ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u orgánulos.

4) <u>Evaluación de riesgo en bioseguridad de las NBTs</u>: Los organismos provenientes de las NBTs son obtenidos mediante la aplicación de la biotecnología moderna, dado que se realiza la aplicación de técnicas *in vitro* de ácido nucleico **(2)** y presentan una combinación nueva de material genético **(3)**, por lo que están incluidos en la referida definición vinculante del Protocolo de Cartagena y deben ser regulados sobre la base de la correspondiente **evaluación de riesgo en bioseguridad**.

Adhieren a este posicionamiento:

COLECTIVO TÁ

coendu
CONSERVACION DE ESPECIES NATIVAS DEL URUGUAY

Red Nacional de Semillas Nativas y Criollas
Sistema Colectivo de Conservación de Valores Genético "In Situ"

RED DE AGROECOLOGÍA URUGUAY

Red de Huertas Comunitarias del Uruguay

REDES Amigos de la Tierra Uruguay

Slow Food Uruguay

Referencias:¶

Agapito-Tenfen, S. Z., Okoli, A. S., Bernstein, M. J., Wikmark, O. G., & Myhr, A. I. (2018). Revisiting risk governance of GM plants: The need to consider new and emerging gene editing techniques. Front Plant Sci, 9, 1874. doi:10.3389/fpls.2018.01874¶

Anderson, K. R., Haeussler, M., Watanabe, C., Janakiraman, V., Lund, J., Modrusan, Z., Stinson, J., Bei, Q., Buechler, A., Yu, C., Thamminana, S. R., Tam, L., Sowick, M. A., Alcantar, T., O'Neil, N., Li, J., Ta, L., Lima, L., Roose-Girma, M., Rairdan, X., Durinck, S., Warming, S. (2018). CRISPR off-target analysis in genetically engineered rats and mice. Nat Methods, 15, 512–514. doi:10.1038/s41592-018-0011-5¶

Biswas, S. et al. (2020) Investigation of CRISPR/Cas9 induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. Journal of Genetics and Genomics, https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.04.004¶

Braatz, J., Harloff, H. J., Mascher, M., Stein, N., Himmelbach, A., Jung, C. (2017) CRISPR-Cas9 targeted mutagenesis leads to simultaneous modification of different homoeologous gene copies in polyploid oilseed rape (*Brassica napus*). Plant Physiol, 174, 935-942. doi:10.1104/pp.17.00426¶

Eckerstorfer, M. F., Dolezel, M., Heissenberger, A., Miklau, M., Reichenbecher, W., Steinbrecher, R. A., Wassmann, F. (2019) An EU perspective on biosafety considerations for plants developed by genome editing and other new genetic modification techniques (nGMs). Front Bioeng Biotechnol, 7, 31. doi:10.3389/fbioe.2019.00031¶

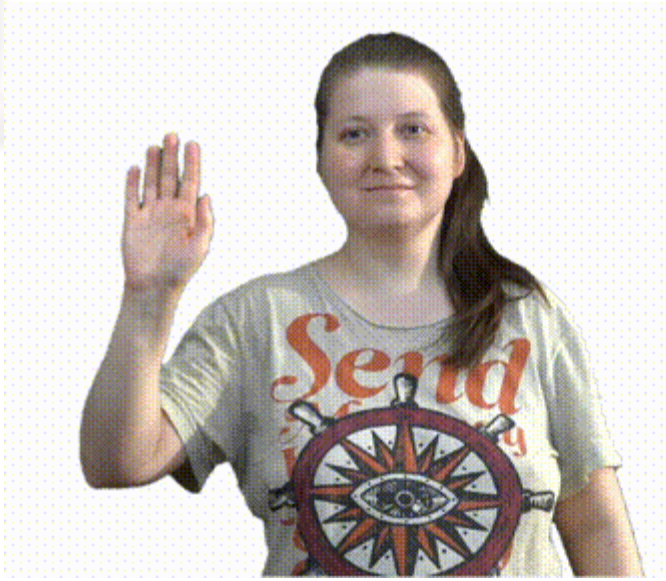
Forsbach, A., Schubert, D., Lechtenberg, B, Gils, M., Schmidt, R. (2003) A comprehensive characterization of single copy T-DNA insertions in the *Arabidopsis thaliana* genome. Plant Mol Biol, 52, 161-176. doi:10.1023/a:1023929630687¶

Hahn, F., Nekrasov, V. (2019) CRISPR/Cas precision: do we need to worry about off-targeting in plants? Plant Cell Rep, 38(4), 437-441. doi:10.1007/s00299-018-2355-9¶

Hilbeck, A. et al. (2015). No scientific consensus on GMO safety. Env Sci Europe 27(1):4. http://www.enveurope.com/content/27/1/4/abstract¶

Jupe, F., Rivkin, A. C., Michael, T. P., Zander, M., Motley, S. T., Sandoval, J. P., Slotkin, R. K., Chen, H., Castanon, R., Nery, J. R., Ecker, J. R. (2019) The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. PLoS Genet, 15(1), e1007819. doi:10.1371/journal.pgen.1007819¶

Kim, S. R., Lee, J., Jun, S. H., Park, S., Kang, H. G., Kwon, S., An, G. (2003) Transgene structures in T-DNA inserted rice plants. Plant Mol Biol, 52, 761-773. doi:10.1023/a:1025093101021¶



https://sci-hub.tw/

FACULTAD DE CIENCIAS

Kuzma, J. (2018) https://research.ncsu.edu/ges/2018/12/kuzma-issues-regulating-gene-edited-crops/¶

Latham, J. R., Wilson, A. K., Steinbrecher, R. A. (2006) The mutational consequences of plant transformation. J Biomed Biotechnol, 2006, 25376. doi:10.1155/JBB/2006/25376¶

Liang, Z., Chen, K., Li, T., Zhang, Y., Wang, Y., Zhao, Q., Liu, J., Zhang, H., Liu, C., Ran, Y., Gao, C. (2017) Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. Nat Commun, 8, 14261. doi:10.1038/ncomms14261¶

Lusser, M., Parisi, C., Plan, D., Rodriguez-Cerezo, E. (2012) Deployment of new biotechnologies in plant breeding. Nat Biotechnol, 30, 231-239. doi:10.1038/nbt.2142¶

Kosicki, M., Tomberg, K., Bradley, A. (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. Nat Biotechnol, 36, 765-771. doi:10.1038/nbt.4192¶

Mou, H., Smith, J. L., Peng, L., Yin, H., Moore, J., Zhang, X.-O., Song, C.-Q., Sheel, A., Wu, Q., Ozata, D. M., Li, Y., Anderson, D. G., Emerson, C. P., Sontheimer, E. J., Moore, M. J., Weng, Z., Xue, W. (2017) CRISPR/Cas9-mediated genome editing induces exon skipping by alternative splicing or exon deletion. Genome Biol, 18, 108. doi:10.1186/s13059-017-1237-8¶

Makarevitch, I., Svitashev, S. K., Somers, D. A. (2003) Complete sequence analysis of transgene loci from plants transformed via micro 421-432. doi:10.1023/a:1023968920830¶

Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., the available evidence for the range of applicatio trait modification and the potential occurrence map. Environmental Evidence, 8, 27. doi:10.1186/

Raitskin, O., Patron, N. J. (2016) Multi-gen nuclease. Curr Opin Biotech, 37, 69-75. doi:10.101

Rang, A., Linke, B., Jansen, B. (2005) Det transgene in Roundup Ready soybean. doi:10.1007/s00217-004-1064-5¶

Ryu, J., Prather, R. S., Lee, K. (2018) Use of modifications in pigs. J Anim Sci Biotechnol, 9, 5.

Sander, J. D., Joung, J. K. (2014) CRISPR-Ca genomes. Nat Biotechnol, 32, 347-355. doi:10.103

Sharpe, J. J., Cooper, T. A. (2017) Unexpe CRISPR-generated mutations. Genome Biol, 18, 10 Kapahnke, M., Banning, A., Tikkanen, R. (2016) single base change in the target exon of CRISPR/ doi:10.3390/cells5040045¶

Shin, H. Y., Wang, C., Lee, H. K., Yoo, K. H., C., Hennighausen, L. (2017) CRISPR/Cas9 targ insertions at 17 sites in the mouse genome. Nat Co

Testbiotech (2019) Am I Regulated? The engineering crop plants need to be regulated, ww

Testbiotech (Institute for Independent Im Then, Juliana Miyazaki, Andreas Bauer-Panskus, K genome editing applications using SDN-1 and SDN

Tuladhar, R., Yeu, Y., Tyler Piazza, J., Ta Herbert, J., Mathews, D. H., Kim, J., Hwang, T. H., L

FACULTAD DE CIENCIAS

frequently provokes on-target mRNA misregulation. Nat Commun, 10(1), 4056. doi:10.1038/s41467-019-12028-5¶

Wang, H., La Russa, M., Qi, L. S. (2016a) CRISPR/Cas9 in genome editing and beyond. Annu Rev Biochem, 85, 227-264. doi:10.1146/annurev-biochem-060815-014607¶

Windels, P., De Buck, S., Van Bockstaele, E., De Loose, M., Depicker, A. (2003) T-DNA integration in Arabidopsis chromosomes. Presence and origin of filler DNA sequences. Plant Physiol, 133, 2061-2068. doi:10.1104/pp.103.027532¶

Wolt, J. D., Wang, K., Sashital, D., Lawrence-Dill, C. J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome, 9(3):1-8. doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047¶

Zetsche, B., Heidenreich, M., Mohanraju, P., Fedorova, I., Kneppers, J., DeGennaro, E. M., Winblad, N., Choudhury, S. R., Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., Wu, W. Y., Scott, D. A., Severinov, K., van der Oost, J., Zhang, F. (2017) Multiplex gene editing by CRISPR-Cpf1 using a single crRNA array. Nat Biotechnol, 35, 31-34. doi:10.1038/nbt.3737¶

Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R. M., Fischer, R., Capell, T., Schillberg, S., Christou, P. (2017) Characteristics of genome editing mutations in cereal crops. Trends in Plant Science, 22(1):38–52. doi:10.1016/j.tplants.2016.08.009¶

¶

¶

Dr QF Claudio Martínez Debat¶

LaTraMA :::: Laboratorio de Trazabilidad Molecular Alimentaria, Coordinador,¶

Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias.¶

Núcleo Interdisciplinario Colectivo TÁ, Espacio Interdisciplinario.¶

Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.¶