

DISCUSSÕES ÉTICAS PARA A TECNOLOGIA CRISPR-Cas9

Marília Marques da Costa¹

Thaís Martins de Campos Brito²

Frederico Augusto Vieira de Castro³

Resumo

Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespçadas (CRISPR), refere-se à um gene encontrado no mecanismo de defesa de bactérias contra bacteriófagos. A técnica de CRISPR tem se mostrado versátil e ampla nos estudos realizados nos últimos anos, abrindo possibilidade imensuráveis para terapia e diagnóstico de doenças. O presente trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão sobre o novo mecanismo de edição genética, através do uso da técnica CRISPR-Cas9. Para a produção desse artigo foi realizada uma pesquisa bibliográfica quantitativa e qualitativa de caráter exploratório/explicativo acerca do tema. As pesquisas realizadas apontam que os amplos benefícios e usos da técnica perpassa pelos critérios éticos, onde ainda há muito a que se estudar com relação a essa descoberta. Sua aplicabilidade apresenta diversas vantagens que devem seguir os preceitos éticos para que continue sendo uma esperança de melhorias e inovações para ciência e para saúde. Por ser uma técnica recente, suas consequências são ainda desconhecidas, mas essa descoberta representa um grande marco na pesquisa e para humanidade.

Palavras-chave: CRISPR-Cas9. Edição Genômica. Engenharia Genética. Bioética.

ETHICAL DISCUSSIONS FOR CRISPR-Cas9 TECHNOLOGY

Abstract

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) refer to a gene found in the defensive mechanism of bacteria against bacteriophages. The CRISPR technique has proved to be versatile and wide in the studies performed in the last years, opening immeasurable possibilities for therapy and diagnosis of diseases. The present work aims to present a review on the new mechanism of

¹Graduada em Biomedicina pelo UGB/FERP.

²Graduada em Biomedicina pelo UGB/FERP.

³Doutor em Bioquímica pela UFRJ.

genetic edition through the use of the CRISPR/Cas9 technique. In order to produce this article, a quantitative and qualitative bibliographic research was carried out from an exploratory/explanatory character about the theme. The researches performed point out that the broad benefits and uses of the technique pass through the ethical criteria, where there is still a lot to study in relation to this discovery. Your applicability shows different advantages that most follow ethics precepts so it can keep being a hope of improvements and innovations for science and health. For being a recent technique, your consequences still unknown, but the discovery represents a great symbol in research and for humanity. Your applicability shows different advantages that most follow ethics precepts so it can keep being a hope of improvements and innovations for science and health. For being a recent technique, your consequences still unknown, but the discovery represents a great symbol in research and for humanity.

Keywords: CRISPR/Cas9. Genomic Edition. Genetic Engineering. Bioethical.

Introdução

Com a evolução da Engenharia Genética e das técnicas de Biologia Molecular, sedimenta-se em 2012, ao acaso, a técnica de CRISPR (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas). O gene CRISPR, refere-se à organização de sequências de DNA curtas, repetidas e palindrômicas encontradas nos genomas de bactérias e outros microrganismos (INSTITUTO NANOCELL, 2016). As sequências repetidas, geralmente específicas para um determinado loco, são interespaçadas por sequências variáveis de tamanho constante e similar, chamadas de espaçadores (LINS, 2011).

Foi através dos mecanismos de defesa das bactérias que os pesquisadores descobriram dois componentes importantes, a parte CRISPR, uma pequena molécula de RNA que apresenta uma sequência complementar à sequência alvo contra a qual é dirigida; e a parte Cas9, uma endonuclease que corta o DNA no lugar indicado pela molécula de RNA. Esses dois componentes, quando unidos formam um complexo capaz de identificar e cortar pedaços específicos do DNA (ÁLVAREZ, 2017).

A técnica CRISPR possibilita a edição genética de células vivas, a marcação e o estudo de sequências características de DNA. Existem diversas aplicações para essa técnica, já utilizadas em modificação de genes de embriões humanos não-viáveis, edição genética de plantas para que sejam resistentes a pragas, tratamentos de doenças, entre outras (PASSOS et al., 2016) . De acordo com Giono e colaboradores (2017), “o desenvolvimento de técnicas que permitam editar ou corrigir o genoma de células vivas com precisão e eficiência é um dos principais objetivos da pesquisa biomédica”.

Nos anos 70, Paul Berg, Herbert Boyer e Stanley Cohen firmaram os fundamentos do DNA recombinante, que consiste na inserção no genoma de um organismo vivo, de genes que pertencem a outro (CORREA et al., 2013). Essa técnica era utilizada através de plasmídeos, enzimas de restrição e toda maquinaria necessária.

No caso da técnica de CRISPR usa-se a Cas9 como uma endonuclease, e o RNA-guia e seus aparatos fundamentais para efetivação da técnica de DNA recombinante.

A técnica de CRISPR tem se mostrado muito efetiva nos estudos realizados nos últimos anos, com descobertas diagnósticos e tratamentos promissores para doenças consideradas incuráveis, expondo uma gama de aplicações que utilizam seus princípios, para benefício da comunidade humana. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo geral apresentar os novos parâmetros para edição genética, através do uso da técnica CRISPR-Cas9 e sua ampla gama de aplicações. E como objetivos específicos revisar a literatura acerca do tema, apresentar o histórico da técnica de CRISPR-Cas9, discutir os critérios éticos, discorrer sobre a técnica e suas aplicações, enunciar as perspectivas.

Metodologia

Para a produção desse artigo foi realizada uma pesquisa bibliográfica quantitativa e qualitativa de caráter exploratório/explicativo acerca do tema Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR), com ênfase na técnica, aplicações e em seus pontos éticos.

Para a realização deste artigo foram dispostas publicações de conclusões de cursos, artigos científicos, dissertações, livros, entre outros. As publicações utilizadas foram encontradas em sites relacionados, tais como, Google Acadêmico, Scielo, Science, Cell, PubMed, Nature, entre outros. Utilizando as plataformas de pesquisas foram encontrados aproximadamente 145.292 trabalhos com base nas palavras-chave: CRISPR/Cas9, edição de genomas, engenharia genética, bioética.

Na pesquisa foram utilizadas 32 referências, dentre livros e artigos científicos, sendo realizada entre o período de janeiro de 2019 a junho de 2019. Os critérios de inclusão foram: artigos científicos e livros, nos idiomas português, inglês e espanhol, preferencialmente publicados nos últimos dez anos, trabalhos que remetem ao tema em geral e os critérios éticos. Já os de exclusão foram: trabalhos que não se referem ao tema, publicações em outros idiomas ou de caráter não científico, trabalhos com mais de dez anos.

Histórico

Nos últimos anos, a técnica CRISPR começou a ser estudada e aprimorada, contudo, a mesma desfruta de dados que a descrevem o mecanismo desde a década de 80. A primeira descrição se mostra em 1987, com o trabalho de Yoshizumi Ishino acerca do genoma da bactéria *Escherichia coli*, onde se identificou sequências repetidas com as mesmas características (ISHINO, 1987). Em 1989, o pesquisador Mojica, ao isolar em seu trabalho cepas de *Archaea* para seu estudo, ele encontrou em fragmentos de DNA uma estrutura que apresentava múltiplas cópias de uma sequência palindrômica que não se parecia com outras sequências

de qualquer família de bactérias (LANDER, 2016).

Foi Mojica o primeiro a caracterizar o que é hoje chamado de CRISPR, em seu artigo publicado em 1993, mas somente no início dos anos 2000 que a técnica começou a ser argumentada, onde reconheceu que as sequências de repetição, realmente compartilham um conjunto comum de recursos, hoje conhecidas por serem marcas de sequências CRISPR (DIAS & DIAS 2016). Mojica, em 2005, relatou que essas sequências correspondiam a fragmentos dos genomas do bacteriófago, que o levou a hipotetizar que o CRISPR é um mecanismo de defesa adaptativo (MOJICA et al., 2005, apud BROAD INSTITUTE, 2016).

Após cinco anos, em 2010, as primeiras evidências experimentais do CRISPR, que foi possível adquirir maiores conhecimentos sobre o comportamento das bactérias e seus mecanismos (DIAS & DIAS 2016). Com isso, vários estudos começaram a explorar o sistema de CRISPR para aplicações biotecnológicas, no entanto, a edição do genoma, utilizando o sistema, ainda não havia sido explorada (HSU et al., 2014).

Dias & Dias (2016) relataram que em 2012, foram identificados quatro genes isolados da bactéria *Streptococcus pyogenes*, que se associavam estritamente às matrizes CRISPR, que possuíam funções preditas de helicases, polimerases, e

8

nucleases, o que levou à hipótese de que o gene CRISPR-Cas poderia estar envolvido na reparação do DNA. Sendo a Cas9 uma nuclease utilizada apenas no mecanismo CRISPR-Cas9 do tipo II. Essa descoberta foi dada pelas pesquisadoras Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna, entre 2012 e 2014 (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014).

O estudo inicial das geneticistas Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier era baseado no mecanismo de defesa da *Escherichia coli*. A finalidade principal da pesquisa era saber como os microrganismos lidavam com as infecções virais, já que

em pouco tempo os vírus extinguiriam a estrutura celular, levando a morte da bactéria. Devido a esse motivo o seu mecanismo imunológico deveria ser eficiente e rápido na defesa a estes bacteriófagos (DIAS & DIAS, 2016).

No mesmo período, em 2013, o mecanismo de defesa de CRISPR passou a ser estudado, pelo grupo de Feng Zhang, para a edição de genomas, tendo seu foco na Engenharia Genética (ZHANG, 2013).

Nos anos que se seguiram, iniciaram-se as edições em embriões através do sistema CRISPR, e diversas discussões acerca da questão ética de sua utilização para o melhoramento genético. De acordo com Dias & Dias (2016) “um relatório publicado recentemente na revista Nature, publicações científicas sobre CRISPR superam qualquer outra tecnologia de edição de gene, atingindo mais de 700 estudos no início de 2014”.

Após esses marcos, em 2015, pesquisadores chineses ultrapassaram as questões morais e anunciaram pela primeira vez a modificação genética de células embrionárias utilizando a técnica por CRISPR-Cas9. Na sequência, outro grupo chinês também relatou a realização do mesmo feito com o intuito de conferir resistência ao HIV (GONÇALVES & PAIVA, 2017).

Após esses acontecimentos, a técnica de CRISPR-Cas9 vem sendo aprimorada ao longo dos anos, com a apresentação de diversas aplicações, levando a diversas discussões éticas acerca do assunto.

Conceitos básicos do mecanismo natural e da técnica

Na natureza, CRISPR-Cas é um mecanismo procariótico de imunidade baseado na captura e inserção de pequenos pedaços de DNA advindos da invasão por vírus ou plasmídeos, que são incorporados ao genoma da bactéria e contra os quais ela então adquire resistência (HORVATH & BARRANGOU, 2010).

O sistema CRISPR é uma matriz de cópias repetidas conectadas por sequências de ligação de comprimento fixo. As sequências ligantes são chamadas de espaçadores e são normalmente obtidas a partir dos genes dos bacteriófagos (DIAS & DIAS, 2016). Basicamente, a técnica de CRISPR envolve três moléculas: uma nuclease, geralmente a Cas9, associada ao loco CRISPR, um RNA-guia e a sequência alvo (VIEIRA et al., 2016).

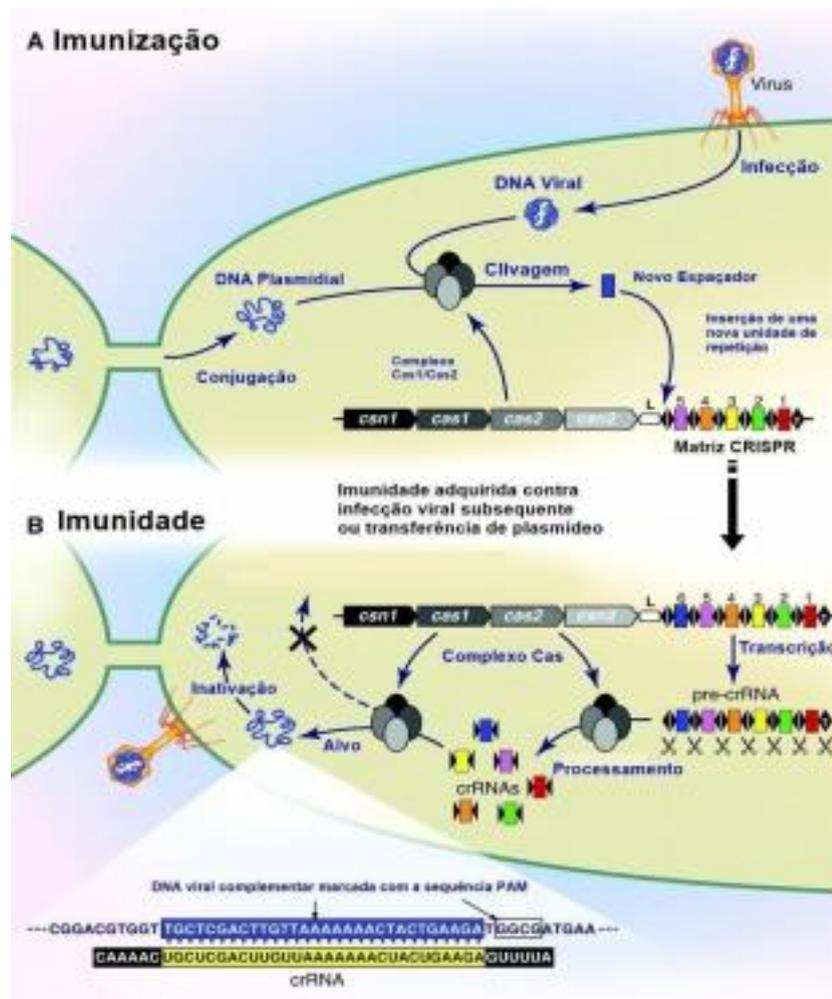
Inicialmente foram descritos três tipos diferentes de sistema CRISPR-Cas (I , II, III) e onze subtipos (IA-F, IIA-C e IIIA-B). E nove proteínas Cas integrando os sistemas. Cada sistema e subtipos utilizam suas proteínas Cas específicas, sendo Cas9 exclusiva do tipo II. O sistema CRISPR-Cas Tipo II é o mais simples de todos os sistemas, o gene Cas9 é o único necessário para combater o DNA invasor, sendo uma endonuclease que corta a dupla fita do DNA (BALBINO et al., 2016). A literatura descreve as variadas funções das outras enzimas Cas no mecanismo imunológico. Mas para fins de manipulação genética, a proteína Cas9 é a mais utilizada (RICHTER et al., 2012).

De acordo com Vieira *et al.* (2016), para que a Cas9 funcione corretamente, ela precisa ser ativada e direcionada ao alvo, através do RNA-guia. Na prática, o RNA-guia recruta a enzima Cas – que funciona como uma tesoura molecular – à região-alvo do DNA onde haverá a quebra.

Segundo Gonçalves & Paiva (2017) este é um mecanismo imunológico adaptativo, sendo capaz de reconhecer o material genético invasor, clivá-lo em pequenos fragmentos e o integrar ao seu próprio DNA. Em uma segunda infecção pelo mesmo agente, ocorrem os processos que formam complexos com as proteínas Cas, e estes reconhecem os ácidos nucleicos estranhos e finalmente o destroem

(Figura 1).

Figura 1. Visão geral do mecanismo de ação CRISPR / Cas-9.



Fonte: Adaptado de Horvath & Barrangou (2010).

Segundo Caetano et al. (2018), o mecanismo natural funciona da seguinte forma: o bacteriófago insere seu material genético na bactéria hospedeira com a finalidade de replicação, porém, através do mecanismo de defesa da bactéria, as

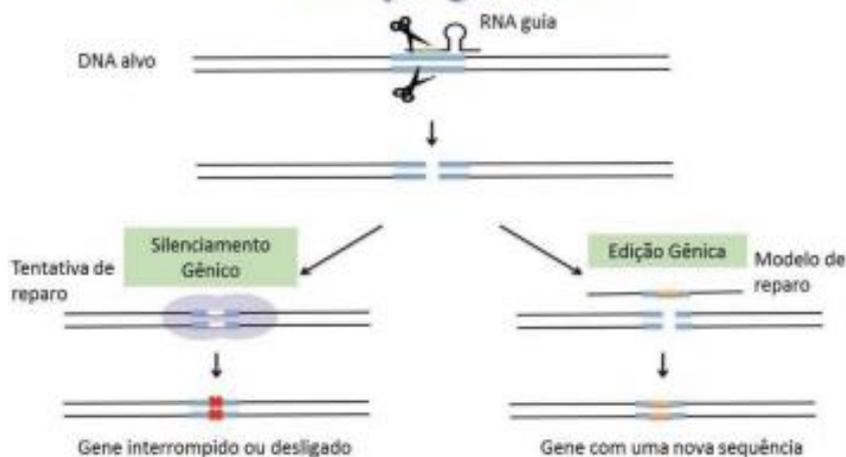
enzimas Cas1 e Cas2 (utilizadas nos três tipos de sistema CRISPR-Cas), fragmenta o material genético invasor e o integra como um novo espaçador nas regiões chamadas protoespaçadores do loco CRISPR, regiões que armazenam fragmentos de vários bacteriófagos, caracterizando a memória. Logo após, ocorre a transcrição e formação do pré-crRNA (RNA codificado em trans), com a mesma sequência genética do bacteriófago.

Ainda de acordo com Caetano et al. (2018), em um novo contato com o vírus infectante, ocorre o processamento e a tracrRNA (trans ativador de RNA) se liga ao pré-crRNA, clivando-o em pequenos pedaços de crRNA, que funcionará como RNA-guia, que contém uma sequência genômica do DNA invasor. Esse, irá se associar a Cas9 para que o complexo seja direcionado para se ligar a sequência reconhecida do DNA do bacteriófago, clivando-o, levando a sua inativação, conferindo resistência da bactéria.

Segundo o Instituto Nanocell (2016), a técnica permite aos cientistas modificar genes específicos, sem alterar os outros. Assim, ao invés de utilizar bactérias para gerar RNA CRISPR, sintetizaram pequenas moléculas de RNA que correspondem a um exemplo específico para a sequência de DNA humano, para que se pudesse trabalhar com edição de genoma. Segundo o Instituto, uma vez localizada a região do DNA de interesse, a maquinaria molecular pode silenciar um gene, ou mesmo alterar a sequência de um gene, como mostra a Figura 2.

Figura 2. Silenciamento e edição gênica com CRISPR

Editando o genoma humano para a cura de doenças genéticas



Fonte: Instituto Nanocell
 (2016)

No processo laboratorial, pode ser utilizado o complexo Cas9 na sequência alvo de interesse para silenciar, através de cortes, interrompendo ou desligando aquele gene, tendo como objetivo a tentativa de reparo.

Esse modelo pode ser utilizado em tratamentos, como por exemplo, de câncer. Em 2016, cientistas da Universidade de Chendu, em Sichuan, na China, foram pioneiros no uso em humanos. Eles silenciaram os genes responsáveis por codificar a proteína PD-1, que normalmente freia a resposta das células imunes, permitindo a proliferação do câncer. Esses genes silenciados foram utilizados em células sanguíneas imunes com a expectativa de que, sem a proteína PD-1, as células editadas poderiam lutar contra o câncer e, eventualmente, vencê-lo (CYRANOSKI, 2016).

Outra possível aplicação é no uso de Edição Gênica, onde através da clivagem possa ser inserido uma sequência do gene de interesse, como de resistência, conferindo uma nova sequência (INSTITUTO NANOCELL, 2016).

Aplicações

Rev. Episteme Transversalis, Volta Redonda-RJ, v.12, n.2, p.318-337, 2021.

Martinez (1994, apud CLOTET, 2009) discute que a Engenharia Genética compreende a totalidade das técnicas dirigidas a alterar ou modificar a carga hereditária de alguma espécie (Figura 3), seja com a finalidade de superar enfermidades de origem genética (terapia genética), ou com o objetivo de produzir modificações ou transformações com fins experimentais, isto é, de usufruir a concepção de um indivíduo com características até esse momento inexistentes na espécie humana (manipulação genética).

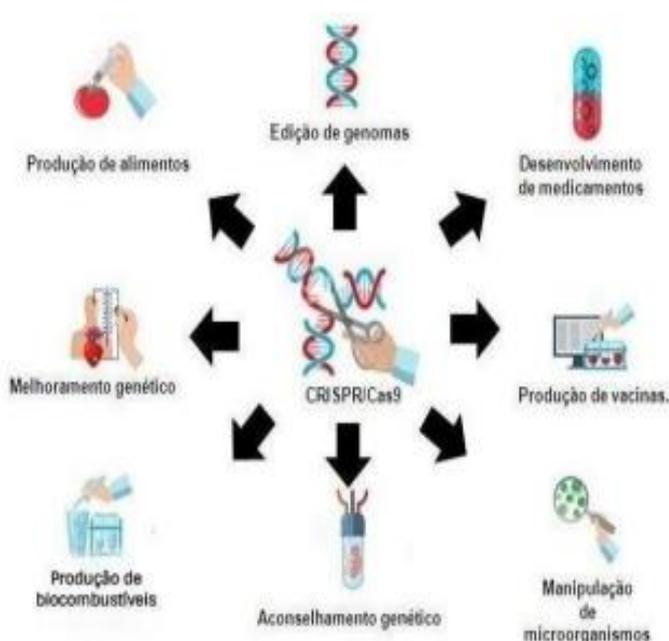


Figura 3. Benefícios da utilização do sistema CRISPR/Cas9.
Fonte: DIAS & DIAS (2016).

A criação do sistema CRISPR foi uma importante descoberta para a Engenharia Genética, surgindo como efeito de praticidade, objetividade e especificidade em pesquisas dessa área (DIAS & DIAS, 2016). Entre as aplicações procedentes estão incluídas o desenvolvimento de vacinas, prevenção e tratamento de infecções, engenharia microbiana, terapia celular e medicina regenerativa,

produção de biocombustíveis e engenharia de genomas (HEIDARI, 2015).

A finalidade do uso dessa técnica seria curar doenças genéticas na linha germinativa, quer dizer, não do próprio doente, e sim em seus filhos e descendentes. O método foi testado com sucesso em ratos e macacos, e por isso os cientistas acreditam que seria a hora de se estudar se tem utilidade médica em humanos (PESSINI & SILVA, 2017).

Além desses dois estudos os cientistas conseguiram, com a assessoria do sistema CRISPR, editar genes de vírus bacteriófagos que é conduzido a autodestruição quando infectam a célula, ainda atingiram a redução de fertilidade e o controle de genes descendentes dos mosquitos transmissores de doenças (PESSINI & SILVA, 2017). Existe ainda a edição de genes utilizada para eliminar o material genético do vírus HIV de organismos humanos, a técnica também tem sido utilizada para atingir o comando central do câncer fazendo com que sofra encolhimento da célula (GUIMARÃES, 2016).

Bioética e perspectivas da técnica

A comunidade científica encontra-se sob influência do avanço da genética humana e suas tecnologias. Gonçalves & Paiva (2017) discutem que a habilidade de fazer modificações pontuais no genoma humano tem sido o objetivo da Medicina desde o conhecimento do DNA como unidade básica da hereditariedade. As grandes transformações da ciência trouxeram diversos benefícios para o mundo, desde a cura de doenças a novidades na área da beleza. Com a evolução tecnológica, os cuidados com a ética e limitações da ciência se tornaram imprescindíveis para controle de experimentos.

A manipulação do DNA humano cria grandes discussões, pois por um lado, há milhares de pessoas com esperança nas pesquisas e técnicas para cura de

doenças, onde geralmente cientistas se apoiam para extrapolar cada vez mais os limites éticos e morais; e por outro, a grande preocupação com a falta de conhecimentos a longo prazo sobre as descobertas e suas implicações para os seres humanos. Segundo Hossne e Freitas (1998), existe a necessidade permanente de se discutir o uso da tecnologia em manipulações genéticas em seres humanos, para que além do benefício para humanidade e avanço da ciência, haja o respeito pela dignidade do ser humano.

De acordo com os mesmos autores, utilizar o conhecimento de forma indevida poderia levar a destruição da humanidade, sendo um dos fatores determinantes para as indagações bioéticas. Assim, “a sabedoria é definida como: o conhecimento de como usar o conhecimento para o bem social, [...] de modo que os valores éticos devem ser testados em termos de futuro e não podem ser divorciados dos fatos biológicos” (POTTER, 1971 apud DINIZ et al., 2016).

Lauxen & Goldim (2015), após análise de experimentos com camundongos e macacos argumentam que mesmo após resultados favoráveis, indaga-se a adequação em outras espécies com maior grau de desenvolvimento. E que uma das preocupações com CRISPR é a possível geração intencional de linhagens de portadores de doenças graves (como citadas no artigo, Alzheimer e Parkinson), de forma a acontecer no organismo humano. Além da possibilidade de patenteamento das respectivas linhagens e a consequente apropriação do patrimônio genético. Isso reforça o receio da comunidade científica quanto às incertezas das técnicas de modificação genética em humanos e as precauções quanto ao uso indevido do conhecimento da técnica.

Fusco (2017) apresenta que "com o domínio da técnica CRISPR-Cas9, pesquisas voltadas para a cura de diversas doenças se intensificaram nos laboratórios de biologia molecular espalhados pelo mundo e que muitas pesquisas giram em torno da cura do HIV". A técnica tem uma variedade de aplicações, já citadas no tópico anterior, e essas manipulações são preocupantes pelo risco de modificação de genes que levariam a morte das pessoas em teste, criação de

“super-raças” ou eugênias visando supremacia de raças.

Algumas aplicações da manipulação gênica foram vetadas pelos conselhos de ética, como edição de características físicas, como alteração da cor dos olhos, altura, cor da pele e características mentais, como nível intelectual e clonagem humana, que de acordo com a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos, dada pela UNESCO (2001) “práticas contrárias à dignidade humana, tais como a clonagem de seres humanos, não devem ser permitidas”.

Com esta perspectiva, surge o questionamento: Em que medida as pesquisas científicas realizadas envolvendo a utilização da ferramenta de edição genética pelo sistema CRISPR/Cas9 em humanos e espécies não humanas pode afetar o meio ambiente equilibrado? (RODRIGUES et al., 2017).

Alguns experimentos já foram testados através da CRISPR/Cas9 como a edição gênica em embriões, que ocorreu em 2015 na China, onde, de acordo com Diniz et al., (2016) “o objetivo era modificar o gene associados à β -talassemia.” Segundo os autores, mesmo que não houvesse possibilidade de desenvolvimento de um ser humano nos embriões do experimento, houve grande repercussão na comunidade científica sobre os riscos potenciais e as medidas para prevenir os danos.

Conforme a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos, dada pela UNESCO (2001) “a pesquisa, o tratamento ou o diagnóstico que afetem o genoma humano, devem ser realizados apenas após avaliação rigorosa e prévia dos riscos e benefícios neles implicados e em conformidade com quaisquer outras exigências da legislação nacional”.

Sendo assim, é notório a possibilidade de cura de diversas doenças através do uso da CRISPR/Cas9, entretanto, de acordo com Lauxen & Goldim (2015) “a distinção entre curar e melhorar, contudo, é uma linha tênue e polêmica no campo do aperfeiçoamento genético”.

Gonçalves & Paiva (2017) corroboram que a terapia gênica tem avançado no

decorrer das décadas, introduzindo os novos modelos de edição genética, trazendo consigo os contraditórios aspectos éticos e morais que margeiam a técnica.

A utilização deste sistema hoje é devido a um esforço coletivo causado pela curiosidade da função desconhecida de sequências encontradas em microrganismos. Sua simplicidade e economia criam um intenso potencial na área da pesquisa, contudo essa técnica ainda possui certas limitações (GIONO, 2017). Mencke et al. (2017), atesta que devido à potencialidade desta técnica ela deve ser estimulada, fazendo a compreensão do seu funcionamento e consequências para o público, pois se trata de uma ferramenta revolucionária em termos de custo e praticidade que possibilita a manipulação do DNA de várias formas, em especial, reparar mutações genéticas associadas a doenças como Alzheimer e câncer, além de impactos na agropecuária.

As primeiras aplicações da CRISPR/Cas9 em embriões não-viáveis geraram um debate mundial, contudo ressurgiram altas expectativas de que essas descobertas irão rapidamente apresentar benefícios clínicos para pacientes afetados por doenças genéticas (LIMA, 2018).

É de extrema importância que as novas perspectivas da técnica sejam amplamente discutidas, definindo as diretrizes para que a sociedade possa gozar com convicção de seu leque de possibilidades (MENCKE et al., 2017). Embora ainda há muito a ser descoberto, não há dúvida de que a CRISPR se tornou uma ferramenta valiosa na pesquisa (INSTITUTO NANOCELL, 2016).

Considerações finais

O mecanismo CRISPR-Cas tem como objetivo defender as bactérias de bacteriófagos através de uma memória imunológica adaptativa, que confere a ela resistência contra esses agentes virais. O uso da técnica ao longo dos anos permitiu

inovações na ciência molecular que desde sua descoberta beneficiaram não apenas a comunidade científica como a humanidade, através de suas versáteis aplicações que tem como promessa a cura de doenças antes desconhecida. Devido ao seu processo inicialmente simples e amplo, sua utilização abriu diversos questionamentos éticos no meio científico, que temem seu emprego indevido, podendo levar a criação de “super raças” ou organismos vulneráveis às transformações evolutivas. Sua aplicabilidade apresenta diversas vantagens que devem seguir os preceitos éticos para que continue sendo uma esperança de melhorias e inovações para ciência e para saúde. Por ser uma técnica recente, suas consequências são ainda desconhecidas, mas essa descoberta representa um grande marco na pesquisa e para humanidade.

Referências

ÁLVAREZ, Ângela Bernardo. **La revolución de CRISPR-Cas9: una aproximación a la edición genómica desde la bioética y los derechos humanos**. Revista Iberoamericana de Bioética; nº 03, Espanha, 2017. Disponível em: <<https://revistas.comillas.edu/index.php/bioetica-revista-iberoamericana/article/view/7653>>. Acesso: 19 fev. 2019.

BALBINO, Tereza C. Leal, et al. Introdução. In: PEREIRA, Tiago Campos. **Introdução à Técnica de CRISPR**. Sociedade Brasileira de Genética, São Paulo, Brasil, 2016.

BROAD INSTITUTE. **Pesquisa destacada sobre o CRISPR**. Disponível em: <<https://www.broadinstitute.org/research-highlights-crispr>>. Acesso em: 28 fev. 2019.

CAETANO, Gisdênilton C. Gonzaga, et al. **Técnica de CRISPR-Cas9 e a sua Utilização na Área Laboratorial**. Master Editora, Paraná, Brasil, 2018. Disponível em: <https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190103_214255.pdf>. Acesso: 29 mai. 2019.

CLOTET, Joaquím. **Bioética como ética aplicada e genética**. Revista bioética, v.

5, n. 2. Faculdade de Medicina da PUC/RS. Rio Grande do Sul. 2009. Disponível em:

<http://revistabioetica.cfm.org.br/index.php/revista_bioetica/article/view/381/481>. Acesso: 15 abr. 2019.

CYRANOSKI, David. **Edição de Gene CRISPR Testada em uma Pessoa pela Primeira Vez**. Nature, 2016. Disponível em:

<<https://www.nature.com/news/crispr-gene-editing-tested-in-a-person-for-the-first-time-1.20988>>. Acesso em: 29 maio 2019.

CORREA, C. et al. **Regimén legal de las patentes de invención**. Buenos Aires: La Ley; 2013. Disponível em:

<<https://static-laley.thomsonreuters.com/LALEYARG/product/files/41574371/41574371.pdf>>. Acesso em: 01 maio 2019.

DIAS, Camila Almeida de Paula; DIAS, Janice Maria Ribeiro. **O sistema CRISPR/Cas como uma nova ferramenta biotecnológica na edição de genomas: aplicações e implicações**. Faculdade do Espírito Santo, Espírito Santo, Brasil, 2016. Disponível em:

<<https://multivix.edu.br/wp-content/uploads/2018/08/o-sistema-crispr-cas-como-uma-nova-ferramenta-biotecnologica-na-edicao-de-genomas-aplicacoes-e-implicacoes.pdf>>. Acesso: 23 fev. 2019.

DINIZ, Nilza Maria, et al. **Questões éticas, legais, ambientais e de pioneirismo**. In: PEREIRA, Tiago Campos. Introdução à Técnica de CRISPR. Sociedade Brasileira de Genética, São Paulo, Brasil, 2016.

DOUDNA, Jennifer A.; CHARPENTIER, Emmanuelle. **A nova fronteira da engenharia do genoma com CRISPR-Cas9**. Science, 2014. Disponível em: <<https://science.sciencemag.org/content/346/6213/1258096>>. Acesso em: 06 jun. 2019.

FUSCO, Karina. **Edição Genética Contra o HIV**. Revista Microbiologia In Foco. São Paulo: SBM - Sociedade Brasileira de Microbiologia, p.11-16, SP, Brasil, 2017. Disponível em: <<https://sbmicrobiologia.org.br/revista/edicao-genetica-contra-o-hiv/>>. Acesso: 15 mai. 2019.

GIONO, Luciana E. **CRISPR/Cas9 y la terapia génica**. Fundación Revista Medicina, Buenos Aires, Argentina, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802017000500009>. Acesso: 01 mai. 2019.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. **Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas**. Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/eins/v15n3/pt_1679-4508-eins-15-03-0369.pdf>. Acesso: 15 abr. 2019.

GUIMARÃES, Maria. **Uma ferramenta para editar o DNA: sistema copiado de bactérias, CRISPR/Cas9 pode catalisar descobertas em biologia e medicina e suscita temores éticos**. Pesquisa FAPESP. Ciência e genética, SP, Brasil, 2016. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/2016/02/19/uma-ferramenta-para-editar-o-dna/>>. Acesso: 07 mar. 2019.

HEIDARI, Raheleh; SHAW, David Martin; ELGER, Bernice Simone. **CRISPR and the Rebirth of Synthetic Biology**. Science and Engineering Ethics, Suíça, 2015. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1007/s11948-016-9768-z>>. Acesso em: 28 fev. 2019.

HORVATH, Philippe; BARRANGOU, Rodolphe. **CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea**. Science, 2010. Disponível em: <https://www.sciencemag.org/sites/default/files/custom-publishing/documents/CRISPR-Cas9_booklet_LowRes.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2019.

HOSSNE, William Saad; FREITAS, Corina Bontempo D. **Pesquisas com seres humanos**. In: COSTA, Sérgio Ibiapina Ferreira. Iniciação à Bioética. Brasília: Conselho Federal de Medicina, Brasil, 1998. Disponível em: <http://www.portalmedico.org.br/biblioteca_virtual/bioetica/indice.html>. Acesso em: 15 abr. 2019.

HSU, Patrick; LANDER, Eric; ZHANG, Feng. **Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering**. Cell Magazine, Alemanha, p.157, 2014. Disponível em <[https://www.cell.com/cell/references/S0092-8674\(14\)00604-7](https://www.cell.com/cell/references/S0092-8674(14)00604-7)>. Acesso: 28 fev. 2019.

ISHINO, Yoshizumi, *et al.* **Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product**. Journal of Bacteriology, vol. 169, n. 12, Japão, 1987. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC213968/pdf/jbacter00202-0107.pdf>>. Acesso: 28 mai. 2019.

O JORNAL ELETRÔNICO DO INSTITUTO NANOCELL. Disponível em: <<http://www.nanocell.org.br/crispr-a-tecnica-de-engenharia-genetica-que-pode-muda-r-o-mundo/>>. Acesso: 29 mai. 2019.

LANDER, Eric S. **The heroes of CRISPR**. Cell Magazine, Alemanha. v. 164, p.18-28, jan 2016. Disponível em: <[https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(15\)01705-5.pdf](https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(15)01705-5.pdf)>. Acesso: 07 mar. 2019.

LAUXEN, Elis C. Uhry; GOLDIM, José Roberto. **Intervenções Genéticas em Seres Humanos: Aspectos Éticos e Jurídicos**. Universidade Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, 2015. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/barbaroi/article/view/6861/5246>>. Acesso: 28 mai. 2019.

LIMA, N. S. **Crispr/Cas9: reflexiones bioéticas sobre las modificaciones genómicas**. Journal of Basic and Applied Genetics. Vol XXIV (1), Buenos Aires, Argentina, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1852-62332018000100001>. Acesso: 26 mai. 2019.

LINS, Rosanny H. F. Benevides. **Avaliação dos locos CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) em estudos epidemiológicos de cepas de Yersinia pestis**. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ: Centro de Pesquisas Aggeu Guimarães, Recife, 2011. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/13297/1/480.pdf>>. Acesso: 29 mai. 2019.

MENCKE, C. F. et al. **Impactos da nova técnica de edições de genomas CRISPR/Cas9 na ciência e na sociedade**. São Paulo, Brasil, [s/d]. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/wp-content/uploads/CRISPR001.docx>>. Acesso em: 14 mar. 2019.

PASSOS, Geraldo Aleixo, et al. Aplicações da Técnica. In: PEREIRA, Tiago Campos. **Introdução à Técnica de CRISPR**. Sociedade Brasileira de Genética, São Paulo, Brasil, 2016.

PESSINI, Leo; SILVA, Daiane Priscila Simão. **Uma descoberta revolucionária na área genética - A CRISPR/Cas9: em conforto-o entusiasmos científico e interrogações éticas**. Livro: Bioética, tecnologia e genética, vol. 5, ed. CRV, 2017. Disponível em: <<http://www.camilliani.org/wp-content/uploads/2017/10/bioetica.pdf>>. Acesso: 19 fev. 2019.

RICHTER, Corinna; CHANG, James; FINERAN, Peter. **Function and Regulation of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) / CRISPR**

Associated (Cas) Systems. Viruses, Estados Unidos, 2012. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4915/4/10/2291/html>>. Acesso: 15 mar. 2019.

RODRIGUES, Luan Christ; PETERLE, Selma Rodrigues; MEDEIROS, Fernanda Luiza Fountoura. **O uso do sistema de edição genética CRISPR-Cas9 em humanos e espécies não humanas no Brasil.** Universidade La Salle, Rio Grande do Sul, Brasil, 2017. Disponível em: <<https://anais.unilasalle.edu.br/index.php/sefic2017/article/viewFile/722/661>>. Acesso: 23 fev. 2019.

UNESCO - **A Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura. Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos.** Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000122990_por>. Acesso: 28 mai. 2019.

VIEIRA, Gabriel Viliod, et al. **Visão Geral do Mecanismo Básico de Ação.** In: PEREIRA, Tiago Campos. **Introdução à Técnica de CRISPR.** Sociedade Brasileira de Genética, São Paulo, Brasil, 2016.

ZHANG, Feng, et al. **Engenharia de genoma usando o sistema CRISPR-Cas9.** Nature, 2013. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nprot.2013.143>>. Acesso em: 06 jun. 2019.