

Co nového v genetice.
„Revoluce“ v genetice
- snadná změna DNA.

Doc. MUDr. Marie Černá, CSc.
Ústav obecné biologie a genetiky
3. lékařská fakulta
Univerzity Karlovy v Praze

CRISPR

**Clustered Regularly-Interspaced
Short Palindromic Repeats**

*Soustředěná, Pravidelně Oddělená
Krátká Palindromická Opakování*

Historie

- 1987 – popsána soustředěná opakování u *Escherichia coli*
- 2000 – podobná opakování identifikována i u jiných prokaryot
- 2002 – poprvé použit název CRISPR
- 2005 – navržena funkce v získané imunitě u bakterií
(publikováno po tříletém zasílání do mnoha časopisů)
 - úseky „spacer“ pocházejí z virů, které infikovali buňku

CRISPR

Segmenty prokaryotické – bakteriální DNA
obsahující krátké repetice sekvencí bází.

Každá **repetice** je následována krátkými segmenty „**spacer DNA**“ pocházející z předcházejících expozic bakteriálními viry či plasmidy. Úseky „spacer“ rozpoznávají a štěpí tyto exogenní genetické elementy způsobem analogním k RNA interferenci u eukaryotických organizmů. CRISPR se nachází u 40% genomů bakterií a u 90% genomů Archaea.

Cas

s CRISPR-asociované geny

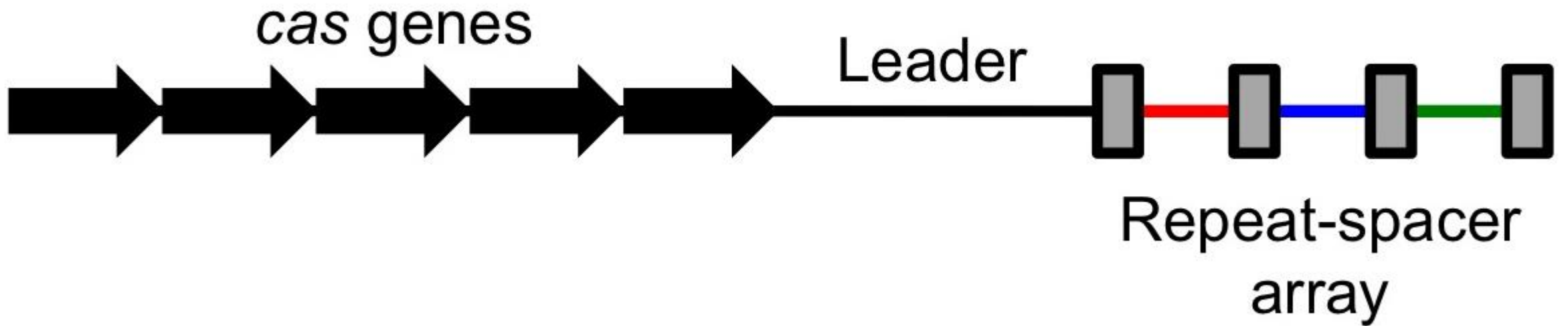
kódují enzymy: nukleázy a helikázy

Helikázy – rozpoznávají a rozvolňují DNA

Nukleázy – štěpí DNA dvakrát

(na každém vlákně jednou)

Jednoduché schéma lokusu CRISPR

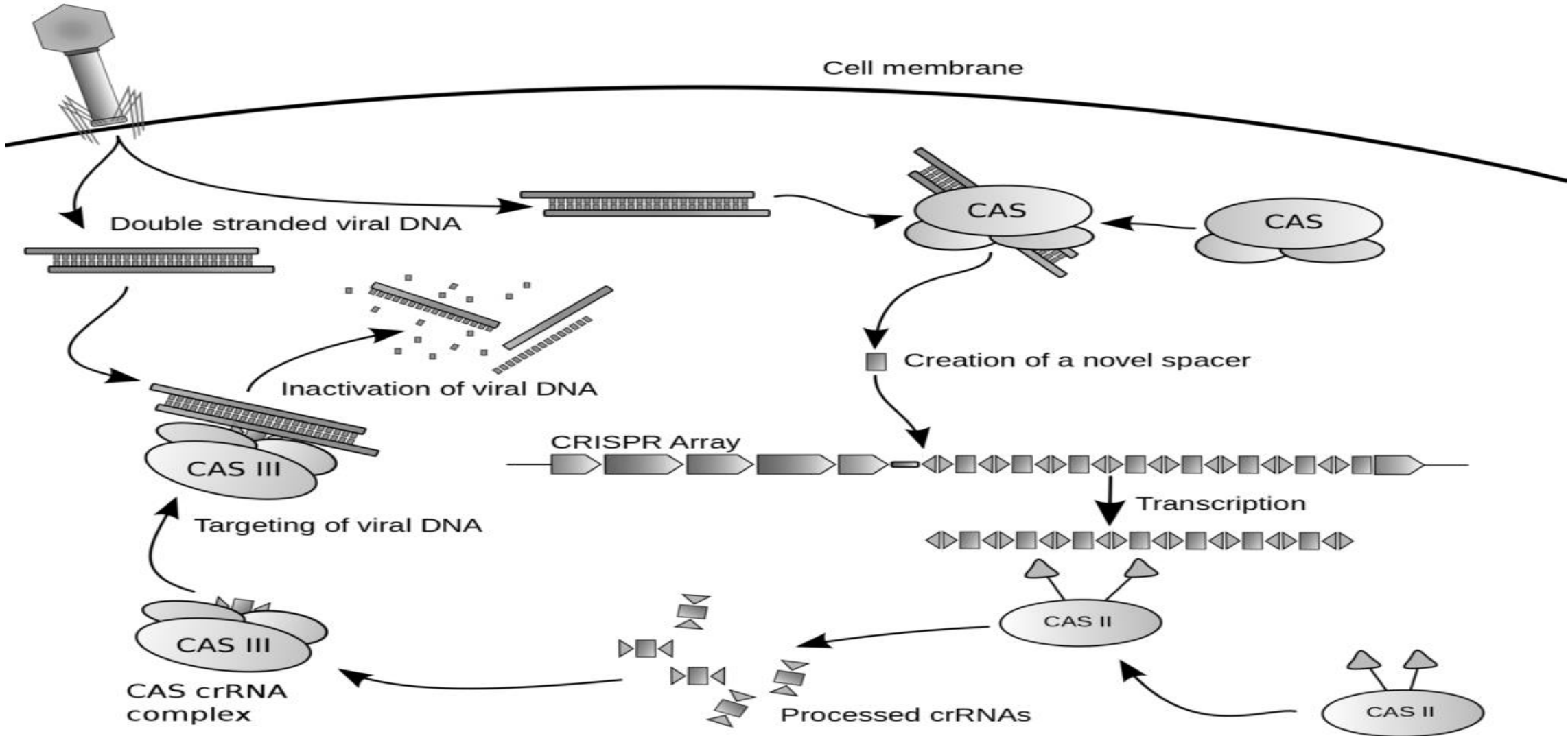


délka jednoho opakování 24 – 48 bp (párů bází, nukleotidů)

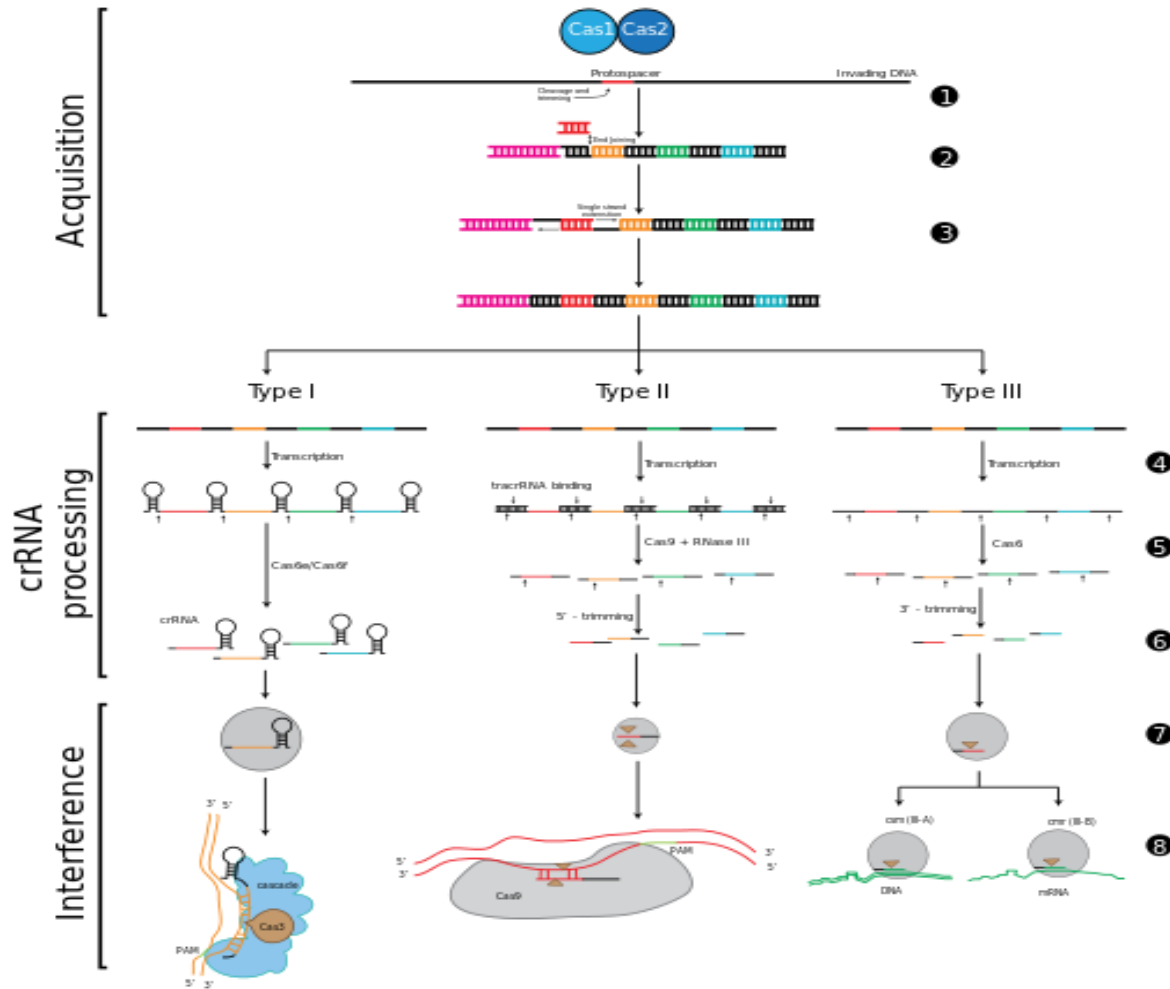
CRISPR / Cas systém

Prokaryotický – bakteriální imunitní systém,
který dává vznik rezistenci na cizí genetické elementy,
jako jsou plasmidy a fágy (bakteriální viry),
a zajišťuje tak určitou formu získané imunity.

Schéma antivirového obranného mechanizmu CRISPR u bakterií



Fáze odpovědi CRISPR u tří typů adaptivní imunity



1. Rozpoznání a vyštěpení (Cas1 a Cas2) sekvence „protospacer“
2. Ligace „protospacer“ do vedoucí sekvence
3. Jednořetězcová extenční oprava
4. Vznik primárního transkriptu CRISPR
5. Vznik crRNA (po štěpení Cas)
6. Sestřih crRNA (u II. a III. typu imunity)
7. Asociace crRNA s proteiny Cas
8. Degradace vniklé DNA

Biotechnologie využívající CRISPR/Cas systém

- Odlišení kmenů bakterií pomocí segmentů „spacer DNA“
- Imunizace průmyslově důležitých bakterií - v potravinách a při fermentaci
- Studium nižších biologických systému (plísně)
- Produkce biopaliv kvasinkami
- Produkce geneticky modifikovaných organismů (GMO), plodin
- Genová manipulace (komáři)
 - rezistence vůči parazitům malárie, neplodnost u samic
- **Funkční inaktivace genů „in vitro“ a „in vivo“**
- **Oprava genových mutací „in vitro“ a „in vivo“,**
 - u zvířecích modelů a lidského materiálu

Důvody požití biotechnologie CRISPR/Cas9

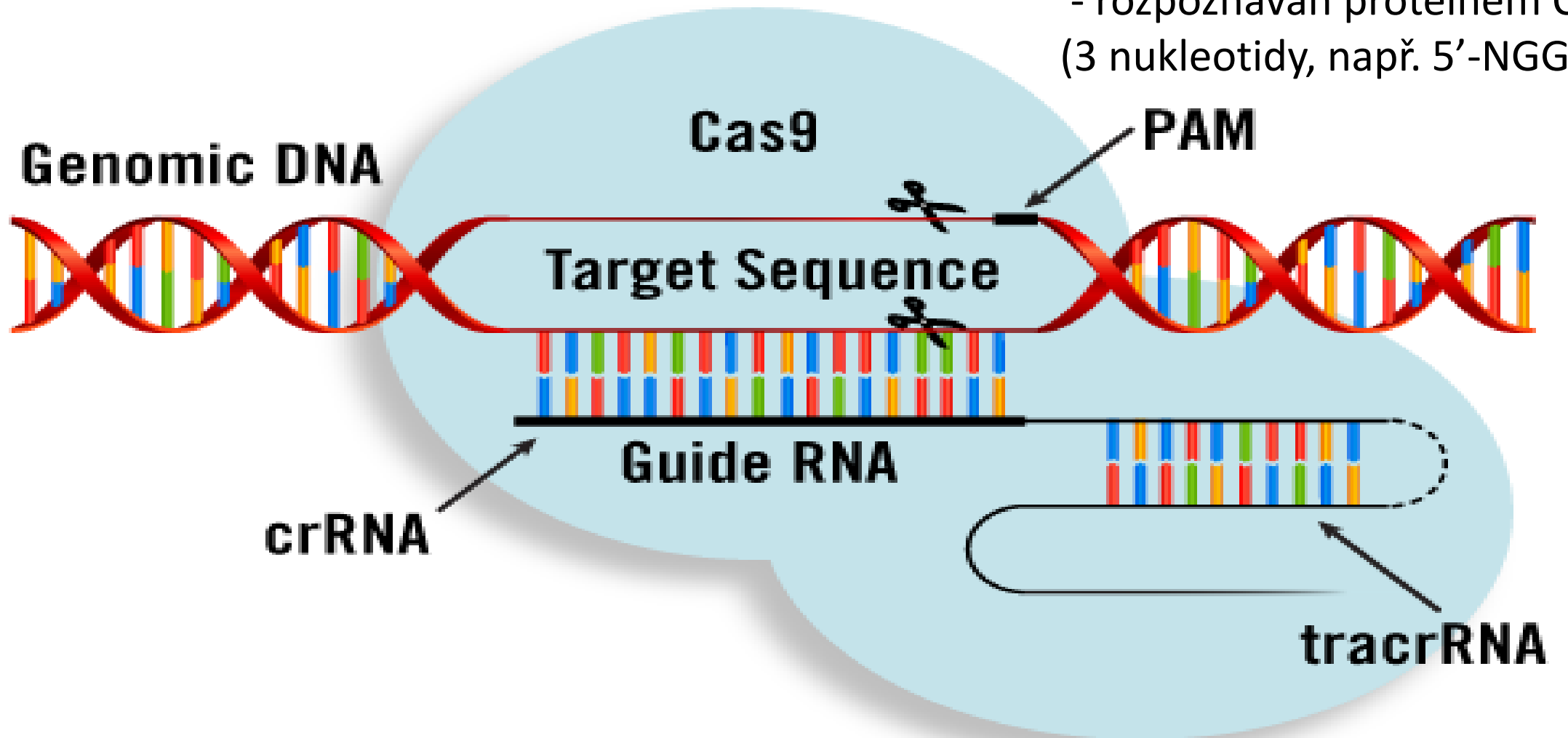
- **Přesnost**

přesně vyštěpuje a vkládá sekvenci
na specifickém místě

- **Jednoduchost**

používá 1 enzym a 1 RNA

PAM = Protospacer adjacent motif
- rozpoznáván proteinem Cas
(3 nukleotidy, např. 5'-NGG-3')



crRNA = CRISPR RNA
(20 nukleotidů)

tracrRNA = trans-activating crRNA
komplex crRNA/tracrRNA aktivuje protein Cas

CRISPR Cas-9 and Genome Editing

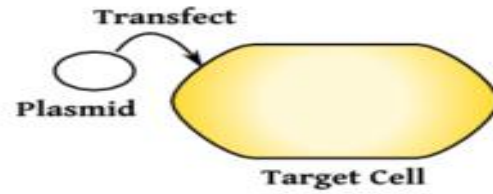
5' CRISPR target sequence PAM 3'
.....AGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCCTGGAGTC.....
.....TCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGACCTCAG.....



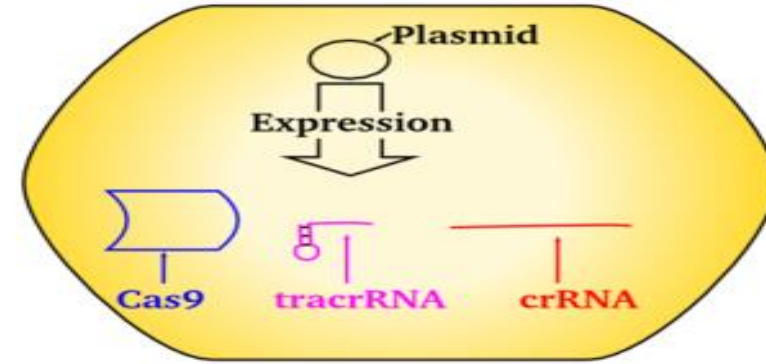
5 – 62 crRNA na jednom čipu (array)



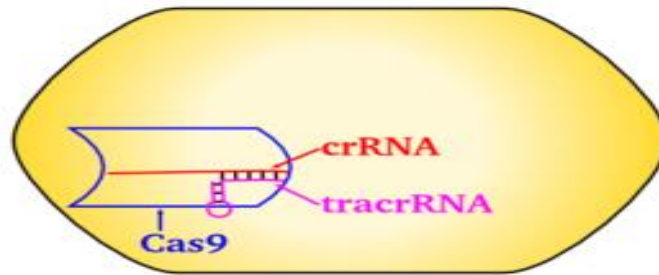
1: Transfection



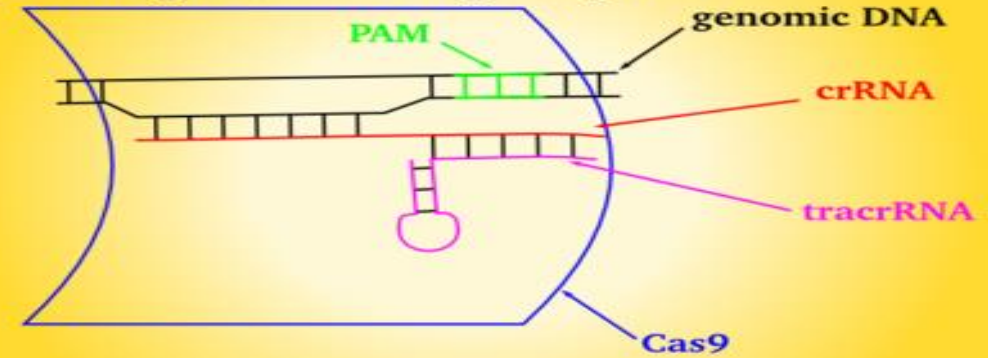
2: Expression of Plasmid



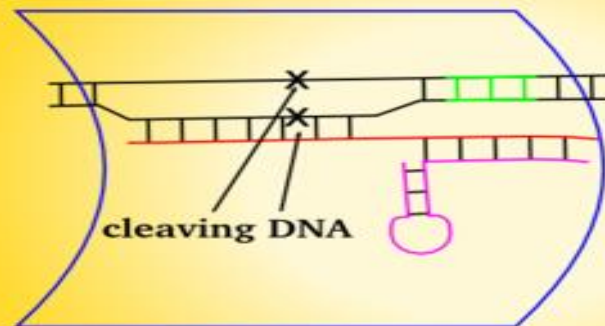
3: Activation of Cas9



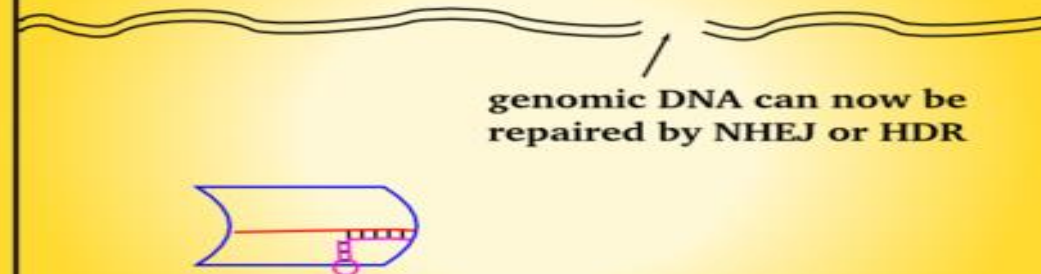
4: Binding to Genome Target Sequence



5: Cleaving Genomic DNA



6: DNA is now ready for repair



Štěpení genomické DNA

- **Dvouvláknové zlomy – double strand break**
vedou k nehomolognímu koncovému spojení
- non-homologous end joining (NHEJ),
- **Jednovláknové zlomy – single strand break**
vedou k homologní přímé opravě
- homology directed repair (HDR),
→ méně inkorporovaných chyb
nutná přítomnost opravného templátu DNA
– přesahuje zlom o 40-90 nukleotidů na každé straně

Další aplikace – CRISPR interference u neštěpících „dead“ verzí Cas

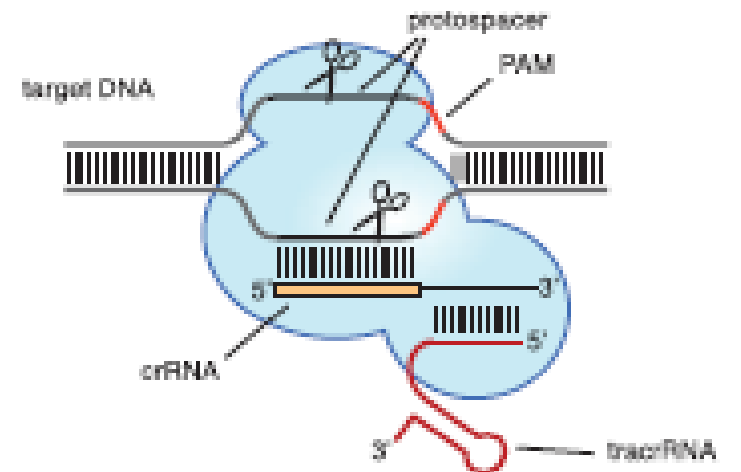
- **Inhibice transkripce pomocí RNA interference**
 - komplementární vazba CRISPR na DNA
s následnou epigenetickou modifikací (DNA metylace)
- **Aktivace genů pomocí transkripčních faktorů**
 - syntetické transkripční faktory navázané na Cas
a vázající se do různých míst promotoru genu

A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity

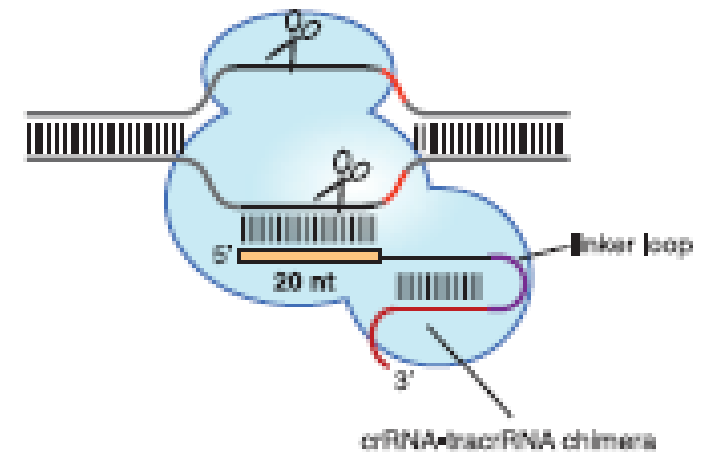
Martin Jinek,^{1,2*} Krzysztof Chylinski,^{3,4*} Ines Fonfara,⁴ Michael Hauer,^{2†}
Jennifer A. Doudna,^{1,2,5,6‡} Emmanuelle Charpentier^{4‡}

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) systems provide bacteria and archaea with adaptive immunity against viruses and plasmids by using CRISPR RNAs (crRNAs) to guide the silencing of invading nucleic acids. We show here that in a subset of these systems, the mature crRNA that is base-paired to trans-activating crRNA (tracrRNA) forms a two-RNA structure that directs the CRISPR-associated protein Cas9 to introduce double-stranded (ds) breaks in target DNA. At sites complementary to the crRNA-guide sequence, the Cas9 HNH nuclease domain cleaves the complementary strand, whereas the Cas9 RuvC-like domain cleaves the noncomplementary strand. The dual-tracrRNA:crRNA, when engineered as a single RNA chimera, also directs sequence-specific Cas9 dsDNA cleavage. Our study reveals a family of endonucleases that use dual-RNAs for site-specific DNA cleavage and highlights the potential to exploit the system for RNA-programmable genome editing.

Cas9 programmed by crRNA:tracrRNA duplex



Cas9 programmed by single chimeric RNA



SCIENCE VOL 339 15 FEBRUARY 2013

RNA-Guided Human Genome Engineering via Cas9

Prashant Mali,^{1*} Luhan Yang,^{1,3*} Kevin M. Esvelt,² John Aach,¹ Marc Guell,¹ James E. DiCarlo,⁴ Julie E. Norville,¹ George M. Church^{1,2†}

Methods Enzymol. 2014 ; 546: 215–250. doi:10.1016/B978-0-12-801185-0.00011-8.

The iCRISPR platform for rapid genome editing in human Pluripotent Stem Cells

Zengrong Zhu^{1,2}, Federico González^{1,2}, and Danwei Huangfu¹

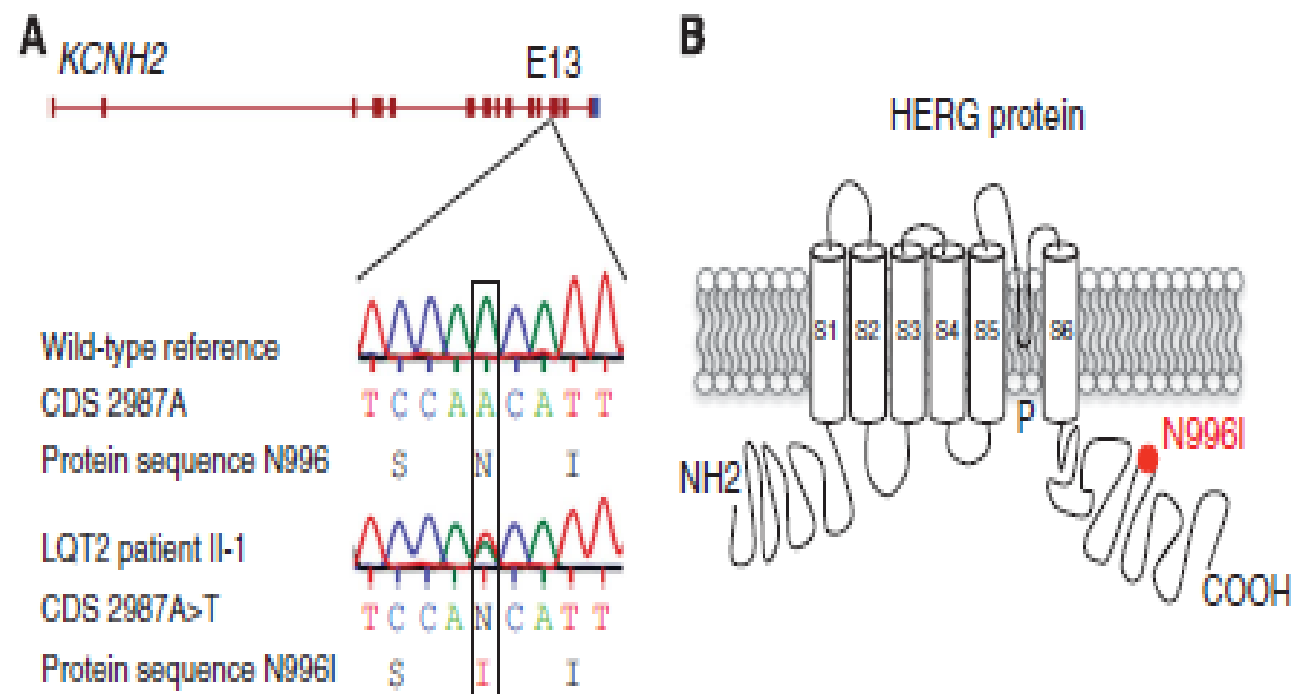
Danwei Huangfu: huangfud@mskcc.org

¹Developmental Biology Program, Sloan-Kettering Institute, 1275 York Avenue, New York, New York 10065, USA

Isogenic human pluripotent stem cell pairs reveal the role of a KCNH2 mutation in long-QT syndrome

Milena Bellin^{1,*}, Simona Casini^{1,7},
Richard P Davis^{1,2,7}, Cristina D'Aniello^{1,7},
Jessica Haas³,
Dorien Ward-van Oostwaard¹,
Leon GJ Tertoolen¹,
Christian B Jung³, David A Elliott⁴,
Andrea Welling^{5,6},
Karl-Ludwig Laugwitz^{3,6},
Alessandra Moretti^{3,6,*} and
Christine L Mummery¹

¹Department of Anatomy and Embryology, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands, ²Netherlands Proteomics Institute, Utrecht, The Netherlands, ³I. Medizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Munich, Germany, ⁴Murdoch Childrens Research Institute, Royal Childrens Hospital, Parkville, Victoria, Australia, ⁵Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Technischen Universität München, Munich, Germany and ⁶DZHK (German Centre for Cardiovascular Research)—Partner Site Munich Heart Alliance, Munich, Germany



ARTICLE

Received 28 May 2015 | Accepted 24 Sep 2015 | Published 23 Oct 2015

DOI: 10.1038/ncomms9715

OPEN

Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids

Benjamin S. Freedman^{1,2,3,4,†}, Craig R. Brooks¹, Albert Q. Lam^{1,5}, Hongxia Fu⁶, Ryuji Morizane¹, Vishesh Agrawal^{7,8}, Abdelaziz F. Saad¹, Michelle K. Li^{1,9}, Michael R. Hughes¹⁰, Ryan Vander Werff¹⁰, Derek T. Peters^{9,11}, Junjie Lu^{7,8}, Anna Baccei^{7,8}, Andrew M. Siedlecki¹, M. Todd Valerius^{1,5}, Kiran Musunuru^{9,11}, Kelly M. McNagny¹⁰, Theodore I. Steinman^{1,12}, Jing Zhou^{1,5}, Paul H. Lerou^{5,7,8} & Joseph V. Bonventre^{1,5}

Human-pluripotent-stem-cell-derived kidney cells (hPSC-KCs) have important potential for disease modelling and regeneration. Whether the hPSC-KCs can reconstitute tissue-specific phenotypes is currently unknown. Here we show that hPSC-KCs self-organize into kidney organoids that functionally recapitulate tissue-specific epithelial physiology, including disease phenotypes after genome editing. In three-dimensional cultures, epiblast-stage hPSCs form spheroids surrounding hollow, amniotic-like cavities. GSK3 β inhibition differentiates spheroids into segmented, nephron-like kidney organoids containing cell populations with characteristics of proximal tubules, podocytes and endothelium. Tubules accumulate dextran and methotrexate transport cargoes, and express kidney injury molecule-1 after nephrotoxic chemical injury. CRISPR/Cas9 knockout of podocalyxin causes junctional organization defects in podocyte-like cells. Knockout of the polycystic kidney disease genes *PKD1* or *PKD2* induces cyst formation from kidney tubules. All of these functional phenotypes are distinct from effects in epiblast spheroids, indicating that they are tissue specific. Our findings establish a reproducible, versatile three-dimensional framework for human epithelial disease modelling and regenerative medicine applications.

One-Step Generation of Mice Carrying Mutations in Multiple Genes by CRISPR/Cas-Mediated Genome Engineering

Haoyi Wang,^{1,6} Hui Yang,^{1,6} Chikdu S. Shivalila,¹ and Rudolf Jaenisch^{1,3,*}

¹Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge

²Department of Biology

³Computational and Systems Biology Program

⁴McGovern Institute for Brain Research, Department of Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA

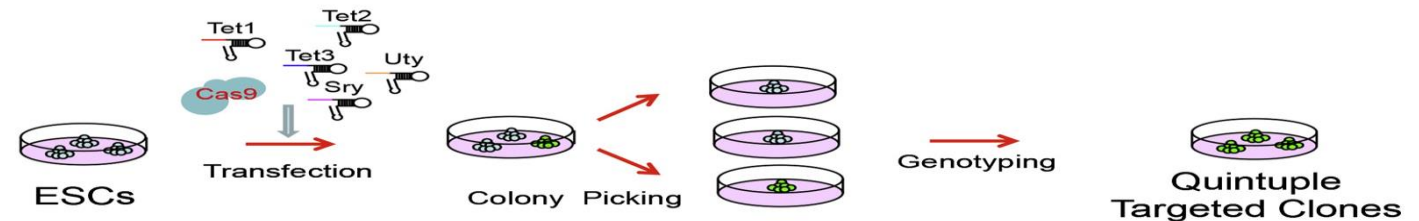
⁵Broad Institute of MIT and Harvard, 7 Cambridge Cent

⁶These authors contributed equally to this work

*Correspondence: jaenisch@wi.mit.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.025>

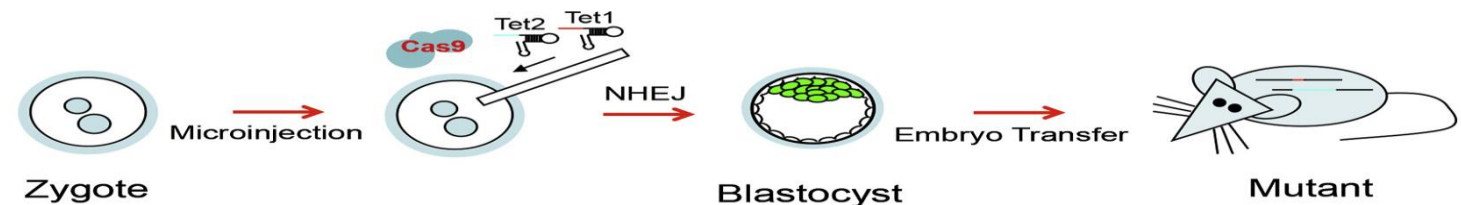
Mutiple Gene targeting in ES cells



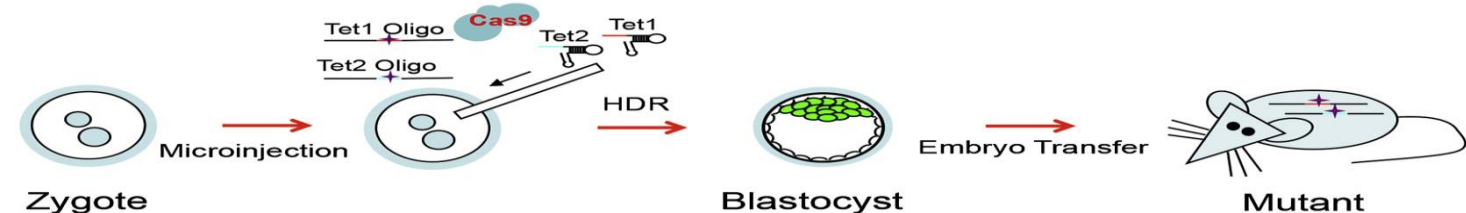
B

One Step Generation of Mice With Mutiple Mutations

Targeted Mutations (Deletion / Insertion)



Predefined Precise Mutations



Massachusetts, USA

Generation of Gene-Modified Cynomolgus Monkey via Cas9/RNA-Mediated Gene Targeting in One-Cell Embryos

Yuyu Niu,^{1,5,7} Bin Shen,^{2,7} Yiqiang Cui,^{3,7} Yongchang Chen,^{1,5,7} Jianying V Wei Si,^{1,5} Wei Li,⁴ Andy Peng Xiang,⁶ Jiankui Zhou,² Xuejiang Guo,³ Ye E Hong Wang,^{1,5} Zuomin Zhou,³ Tianqing Li,^{1,5} Tao Tan,^{1,5} Xiuqiong Pu,^{1,5} Xingxu Huang,^{2,*} Weizhi Ji,^{1,5,*} and Jiahao Sha^{3,*}

¹Yunnan Key Laboratory of Primate Biomedical Research, Kunming 650500, China

²MOE Key Laboratory of Model Animal for Disease Study, Model Animal Research Center Mutant Mice, Nanjing 210061, China

³State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Department of Histology and Embryology, Peking University, Beijing 100191, China

⁴State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

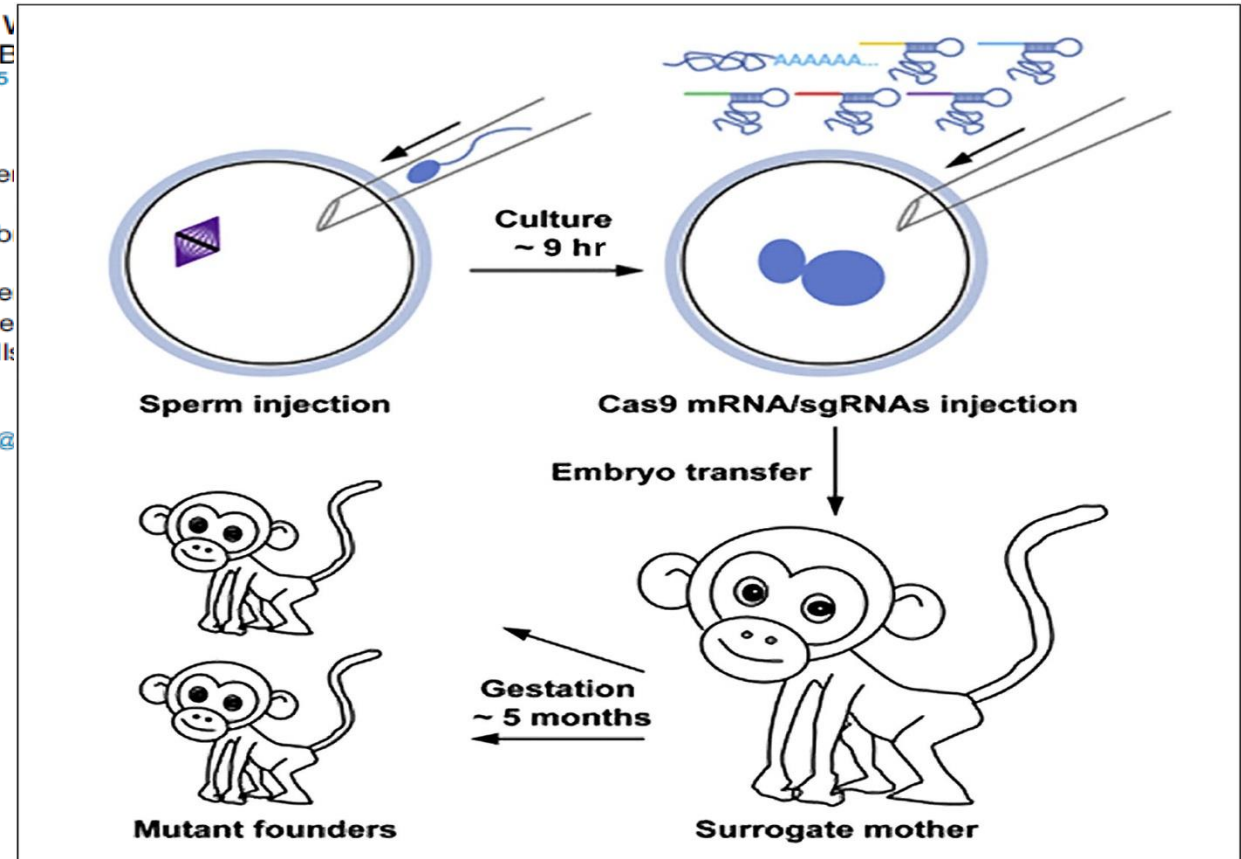
⁵Kunming Biomed International and National Engineering Research Center of Biomedicine, Kunming 650106, China

⁶Center for Stem Cell Biology and Tissue Engineering, Key Laboratory for Stem Cell Biology, Guangzhou 510080, China

⁷These authors contributed equally to this work

*Correspondence: shajh@njmu.edu.cn (J.S.), wji@kbimed.com (W.J.), xingxuhuang@pku.edu.cn (X.H.)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.027>

China



Genome editing with Cas9 in **adult mice** corrects a disease mutation and phenotype

Hao Yin^{1,9}, Wen Xue^{1,9}, Sidi Chen¹, Roman L Bogorad¹, Eric Benedetti², Markus Grompe², Victor Koteliansky³, Phillip A Sharp^{1,4}, Tyler Jacks^{1,4,5}, and Daniel G Anderson^{1,6,7,8}

¹David H. Koch Institute for Integrative Cancer Research, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA

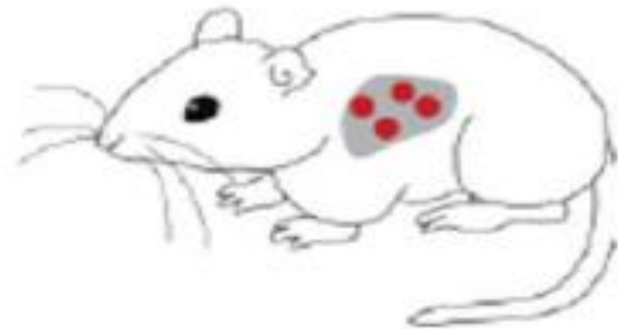
Hydrodynamic injection
(Cas9 + sgRNA + ssDNA)



Fah^{mut/mut}



NTBC withdrawn



Fah⁺ hepatocytes?



Functional Repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in Intestinal Stem Cell Organoids of Cystic Fibrosis Patients

Gerald Schwank,^{1,2,7} Bon-Young Koo,^{1,2,7,8} Valentina Sasselli,^{1,2} Johanna F. Dekkers,^{3,4} Inha Heo,^{1,2} Turan Demircan,¹ Nobuo Sasaki,^{1,2} Sander Boymans,¹ Edwin Cuppen,^{1,6} Cornelis K. van der Ent,³ Edward E.S. Nieuwenhuis,⁵ Jeffrey M. Beekman,^{5,6} and Hans Clevers^{1,2,*}

¹Hubrecht Institute/KNAW

²University Medical Center Utrecht
Uppsalalaan 8, Utrecht 3584 CT, The Netherlands

³Department of Pediatric Pulmonology

⁴Department of Immunology

⁵Department of Pediatric Gastroenterology

Wilhelmina Children's Hospital, University Medical Center, Lundlaan 6, Utrecht 3584 EA, The Netherlands

⁶Department of Medical Genetics, UMC Utrecht, Universiteitsweg 100, Utrecht 3584 GG, The Netherlands

⁷These authors contributed equally to this work

⁸Present address: Wellcome Trust: Medical Research Council Stem Cell Institute, University of Cambridge, Cambridge CB2 1QR, UK

*Correspondence: h.clevers@hubrecht.eu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2013.11.002>

***CFTR* Inactivation by Lentiviral Vector-mediated RNA Interference and CRISPR-Cas9 Genome Editing in Human Airway Epithelial Cells**

Author(s): Jessica Bellec, Marc Bacchetta, Davide Losa, Ignacio Anegon, Marc Chanson and Tuan Huy Nguyen

Affiliation: Laboratory of Clinical Investigation III, Department of Paediatrics and Department of Cell Physiology & Metabolism, 1 rue Michel-Servet, 1211 Geneva, Switzerland.

Current Gene Therapy, 2015; 15 (5): 447-459.

Cell Rep. 2015 September 1; 12(9): 1385–1390. doi:10.1016/j.celrep.2015.07.062.

Functional Gene Correction for Cystic Fibrosis in Lung Epithelial Cells Generated From Patient iPSCs

Amy L Firth^{a,1}, Tushar Menon^{a,1}, Gregory S Parker^a, Susan J Qualls^a, Benjamin M Lewis^a, Eugene Ke^a, Carl T Dargitz^a, Rebecca Wright^a, Ajai Khanna^b, Fred H Gage^a, and Inder M Verma^{a,2}

^aThe Salk Institute of Biological Studies, Laboratory of Genetics, 10010 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA

^bCenter for Gut Rehabilitation and Transplantation, Digestive Disease Institute and Lerner College of Medicine, Cleveland Clinic, 9500 Euclid Avenue, Cleveland, OH 44195

Biomedicína využívající CRISPR/Cas systém

- Inhibice genů kódujících rezistenci na antibiotika
- Inhibice genů kódujících rezistenci na nádorovou terapii (u melanomu)
- Nové možnosti pro transplantace
 - u xenotransplantace eliminace retrovirových DNA z genomu prasete
 - u alotransplantace vytvoření lidských cév bez exprese HLA II. třídy, která bývá příčinou rejekce transplantátu

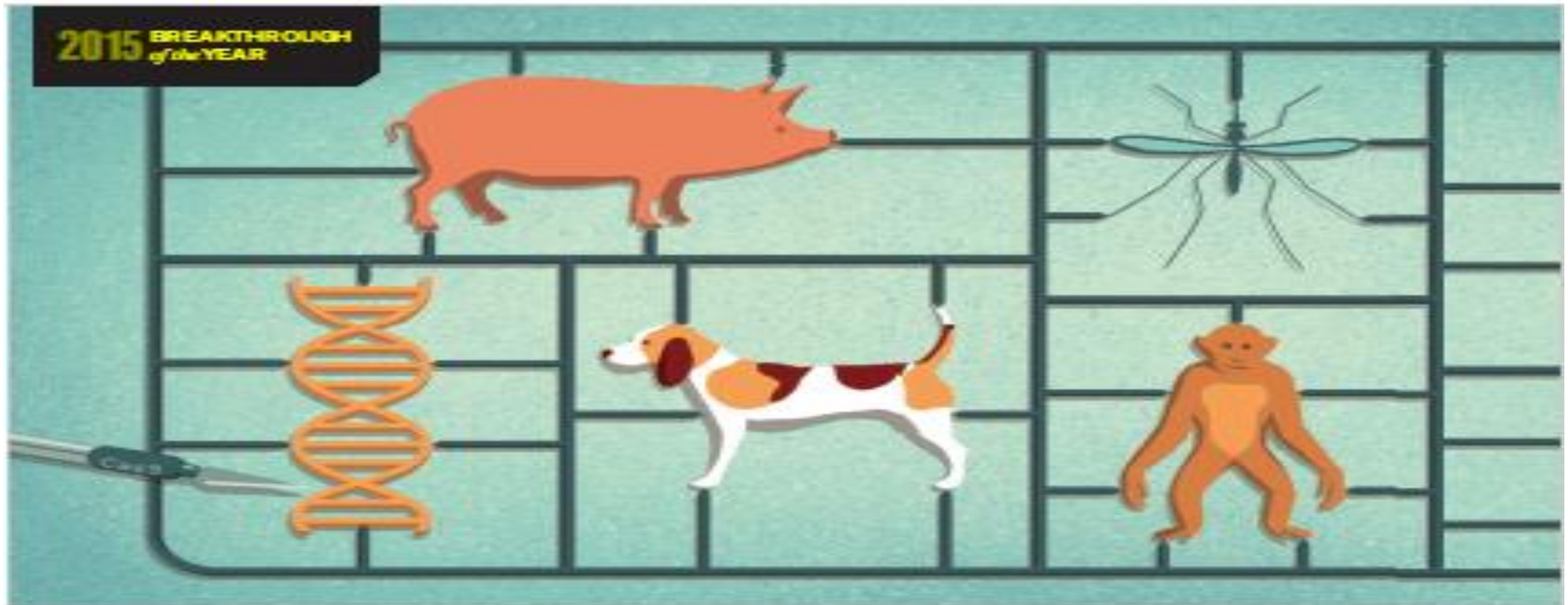
Vědecký výzkum

Systematická studie funkce genů lidského genomu - jejich postupná inaktivace

1/10 (2 000 genů) ze všech 20 000 genů je esenciální

- ↑ aktivace, ↓ mutace, = přítomnost v jiných druzích

Science: Největší průlom ve vědě roku 2015



Making the cut

CRISPR genome-editing technology shows its power

By John Travis

2015 Světové moratorium aplikace CRISPR na lidských zárodečných buňkách pro klinické použití

Vědci se musí vyhnout, i pokušení při laxní jurisdikci, tomu, aby prováděli pokusy s modifikací genomu lidských zárodečných buněk za účelem klinické aplikace do té doby, než všechny možné důsledky budou prodiskutovány mezi vědeckými a vládními organizacemi.

Technologie CRISPR není dostatečně dobře vyvinuta pro jakékoli klinické použití k provádění dědičných změn u lidí!

Existují významné limity našich vědomostí o lidské genetice, interakcích genů s prostředím a vzájemném ovlivnění chorob či stavů u jednoho pacienta.

In vitro fertilizace

- ↓ DNA metylace v placentě
- ↑ DNA metylace v pupečnickové krvi
- ↓ **genomový imprinting** →
 - ↑ **Beckwith-Wiedemann syndrom**
 - ↑ **Angelman syndrom**
 - ↑ **nádory**

neživotaschopná embrya

RESEARCH ARTICLE

CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes

Reparace beta-talasemie – genu beta globin

Puping Liang, Yanwen Xu, Xiya Zhang, Chenhui Ding, Rui Huang, Zhen Zhang, Jie Lv, Xiaowei Xie, Yuxi Chen, Yujing Li, Ying Sun, Yaofu Bai, Zhou Songyang, Wenbin Ma, Canquan Zhou[✉], Junjiu Huang[✉]

Guangdong Province Key Laboratory of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital, and Key Laboratory of Gene Engineering of the Ministry of Education, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

✉ Correspondence: hjunjiu@mail.sysu.edu.cn (J. Huang), zhoucanquan@hotmail.com (C. Zhou)

Received March 30, 2015 Accepted April 1, 2015

Čínští vědci pro časopis Nature:

velice nízká účinnost, ovlivnění jiných genů → zastavení výzkumu

Prosinec 2015, Washington D.C.

Mezinárodní summit o editaci lidských genů

Předseda David Baltimore

Členové národních akademií věd Ameriky, Británie a Číny

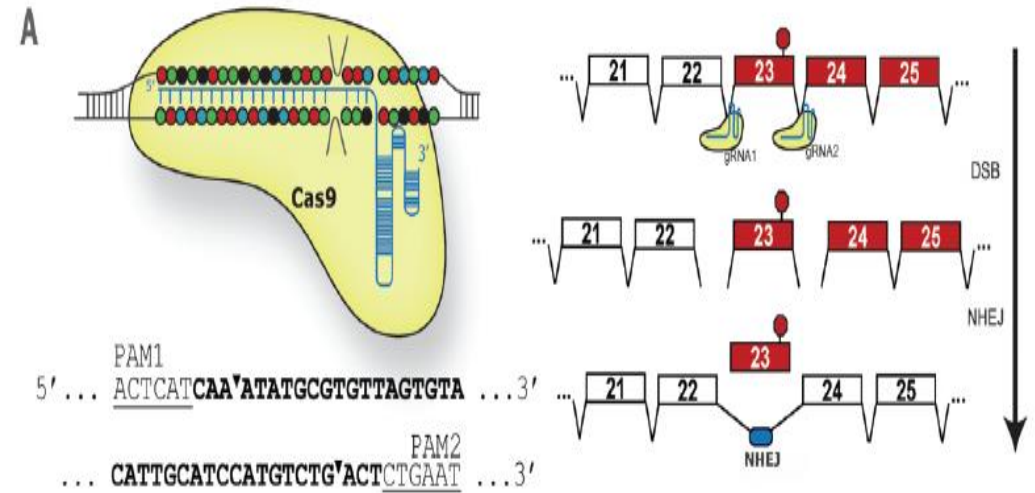
- Souhlas pro základní a klinický výzkum
- **Specifické rozlišení mezi užitím: somatických buněk**, kde účinky oprav jsou omezeny na jedince, **versus zárodečných buněk**, kde změny genomu budou zděděny budoucími generacemi.
- **Alterace lidských gametocytů a embryí s cílem zavedení dědičných změn u lidí může mít nechtěné a dalekosáhlé důsledky pro lidskou evoluci, geneticky (interakce genů s prostředím) a kulturně (sociální Darwinismus). Takové počínání je nezodpovědné!**

GENE EDITING

In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy

Christopher E. Nelson,^{1,2} Chady H. Hakim,³ David G. Ousterout,^{1,2}
 Pratiksha I. Thakore,^{1,2} Eirik A. Moreb,^{1,2} Ruth M. Castellanos Rivera,⁴
 Sarina Madhavan,^{1,2} Xiufang Pan,³ F. Ann Ran,^{5,6} Winston X. Yan,^{5,7,8}
 Aravind Asokan,⁴ Feng Zhang,^{5,9,10,11} Dongsheng Duan,^{3,12} Charles A. Gersbach^{1,2,13*}

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a devastating disease affecting about 1 out of 5000 male births and caused by mutations in the dystrophin gene. Genome editing has the potential to restore expression of a modified dystrophin gene from the native locus to modulate disease progression. In this study, adeno-associated virus was used to deliver the clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)–Cas9 system to the *mdx* mouse model of DMD to remove the mutated exon 23 from the dystrophin gene. This includes local and systemic delivery to adult mice and systemic delivery to neonatal mice. Exon 23 deletion by CRISPR-Cas9 resulted in expression of the modified dystrophin gene, partial recovery of functional dystrophin protein in skeletal myofibers and cardiac muscle, improvement of muscle biochemistry, and significant enhancement of muscle force. This work establishes CRISPR-Cas9–based genome editing as a potential therapy to treat DMD.



TECHNOLOGICAL INNOVATIONS

neživotaschopná embrya

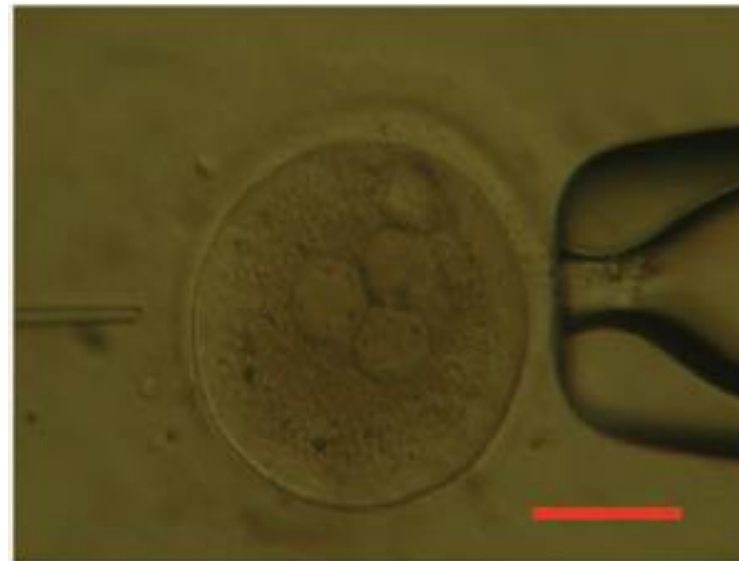
Introducing precise genetic modifications into **human 3PN embryos** by CRISPR/Cas-mediated genome editing

Rezistence na HIV – mutace genu CCR5

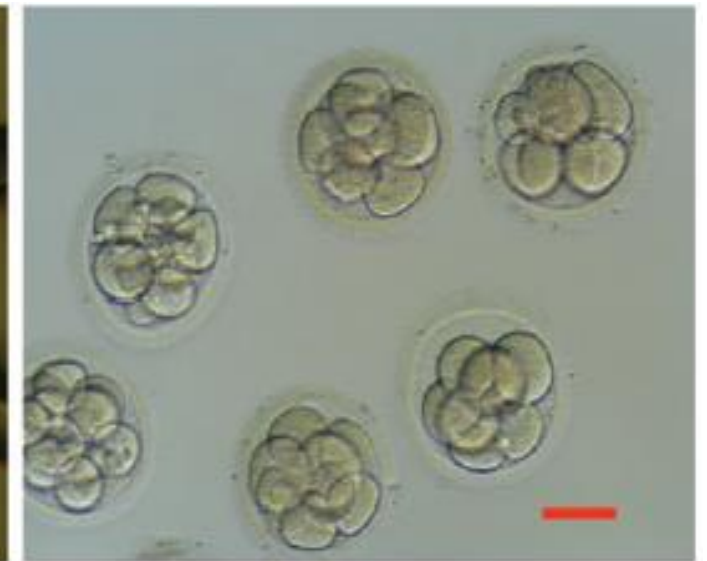
Xiangjin Kang¹ • Wenyin He¹ • Yuling Huang¹ • Qian Yu¹ • Yaoyong Chen¹ •
Xingcheng Gao¹ • Xiaofang Sun¹ • Yong Fan¹

Received: 7 January 2016 / Accepted: 28 March 2016
© Springer Science+Business Media New York 2016

velice nízká účinnost



3PN Zygote Injection



8-16 Cell Stage

Únor 2016

Velká Británie schválila úpravu lidských embryí

Tým vedený Kathy Niakanovou z Ústavu Francise Cricka v Londýně

Cíl:

Vypínáním genů **zjistit, které geny jsou pro vývoj embrya důležité a kdy**, a tak odpovědět na otázku, jak a proč se vývoj vajíčka nedaří

Omezení:

Pokus na embryu může trvat **maximálně 14 dnů** a pak musí být ukončen

Nepřípustné:

Vkládat upravená embrya do dělohy, a nechat dále vyvíjet v těle matky

Zdravotnická legislativa České republiky

Úmluva o lidských právech a biomedicíně

Přijata sdělením MZV č. 96/2001 Sb.m.s.

Vyhlášená mezinárodní smlouva ratifikována parlamentem

→ musejí s ní být v souladu všechny další právní předpisy,

a to na základě článku 10 Ústavy České republiky.

Článek 12: Prediktivní genetická vyšetření lze provést pouze pro zdravotní účely nebo pro vědecký výzkum spojený se zdravotními účely a v návaznosti na odpovídající genetické poradenství.

Článek 13: Zásahy do lidského genomu lze provádět pouze pro preventivní, diagnostické nebo léčebné účely, a to pouze tehdy, pokud není jeho cílem jakákoliv změna genomu některého z potomků.

Zdravotnická legislativa České republiky

Zákon č. 372/2011 Sb. o zdravotních službách

Zákon č. 373/2011 Sb. o specifických zdravotních službách

§ 30 - Genová terapie

odst. 1 Zásah směřující ke změně lidského zárodečného genomu lze provádět u pacientů pouze pro preventivní nebo léčebné účely u závažných geneticky podmíněných nemocí za podmínky zachování jeho přirozené biologické integrity v zárodečných buňkách. Tyto zásahy se nesmějí provádět, pokud by mohly vést ke změnám v genetické výbavě zárodečných buněk.

odst. 2 Výslovně zakazuje klonování, když stanoví, že každý postup, jehož účelem je vytvořit lidskou bytost, která má shodný lidský genom s jinou lidskou bytostí, a to živou nebo mrtvou, je zakázán.

Zakázáno je také přenášet celý lidský genom do buněk jiného živočišného druhu a naopak a lidské embryo do pohlavních orgánů jiného živočišného druhu.

Zdravotnická legislativa České republiky

Zákon č. 296/2008 Sb. o lidských tkáních a buňkách

při jejich darování, opatřování, vyšetřování, zpracování, skladování a distribuci

Poskytovatelé zdravotních služeb

- jsou povinni zajistit sledování závažných nežádoucích událostí, závažných nežádoucích reakcí nebo podezření na ně.
- jsou odpovědní za vedení a uchování záznamů o tkáních a buňkách a zacházení s nimi, včetně vedení a uchování záznamů, které umožňují sledovatelnost při jimi zajišťovaných činnostech, a to způsobem, kterým není porušena ochrana údajů. Sledovatelnost je nutno zajistit po dobu nejméně 30 let od použití buněk.
- jsou povinni neprodleně oznámit zjištění rizika přenosu nemoci tkáněmi a buňkami nebo pochybnosti o tom, zda některé laboratorní vyšetření bylo řádně provedeno.

Zdravotnická legislativa České republiky

Zákon č. 227/2006 Sb. o výzkumu

na lidských embryonálních kmenových buňkách

- Správa výzkumu – MŠMT: vydává povolení, provádí kontrolu, vede registr linií
- Lze provádět pouze na liniích a) dovezených nebo b) získaných z nadbytečných lidských embryí v centrech asistované reprodukce
- Povolení výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách se vydává na dobu 6 let, a to pouze **na konkrétní a v žádosti podrobně popsanou výzkumnou činnost**. Povolení lze prodloužit nejvýše jednou, a to o 4 roky.
- Lze použít jen taková nadbytečná lidská embrya, která nejsou starší než 7 dnů
- Písemný souhlas ženy a muže, od nichž bylo nadbytečné embryo získáno, a dárce zárodečných buněk

Děkuji za pozornost

