



PATROCINI RICHIESTI:



XVII Giornate Pediatriche Salernitane

17-18 GIUGNO 2016 SALERNO

Istituto Santa Caterina Amendola - Via Luigi Lazzarelli, 12

Direttore Scientifico: Pio Vicinanza, Carlo Montinaro

Le malattie genetiche: come e quando prevenirle

Generoso Andria

Università Federico II
Centro di Coordinamento Regionale
Malattie Rare
Napoli

18 giugno 2016



PATROCINI RICHIESTI:



XVII Giornate Pediatriche Salernitane

17-18 GIUGNO 2016 SALERNO

Istituto Santa Caterina Amendola - Via Luigi Lazzarelli, 12

Direttore Scientifico: Pio Vicinanza, Carlo Montinaro

I difetti congeniti: come e quando prevenirli

Generoso Andria

Università Federico II
Centro di Coordinamento Regionale
Malattie Rare
Napoli

18 giugno 2016

Tre livelli di prevenzione dei difetti congeniti

Concepimento



PRIMARIA

SECONDARIA

TERZIARIA

Previene la
malattia

Previene le
manifestazioni

Previene le
complicanze

**DIFETTI
CONGENITI**

**BAMBINO
AFFETTO**

**BAMBINO
MALATO**

Strategie per la prevenzione primaria dei difetti congeniti

Vaccinazione anti-rosolia

Non assunzione di alcool

Astinenza dal fumo

Supplementazione con acido folico

Strategie per la prevenzione primaria dei difetti congeniti

Vaccinazione anti-rosolia

Non assunzione di alcool

Astinenza dal fumo

Supplementazione con acido folico

Tre livelli di prevenzione dei difetti congeniti

Concepimento



PRIMARIA

SECONDARIA

TERZIARIA

Previene la
malattia

Previene le
manifestazioni

Previene le
complicanze

**DIFETTI
CONGENITI**

**BAMBINO
AFFETTO**

**BAMBINO
MALATO**

Modello di prevenzione secondaria

Screening neonatale di massa

Modello di prevenzione secondaria

Screening neonatale di massa



TMS

Genetics
IN
Medicine®
Official Journal of the American College of Medical Genetics

May 2006
volume 8
supplement 1
ISSN 1098-3600
www.geneticsinmedicine.org
Now publishing 12 issues/year

Online Manuscript
Submission, Tracking, and
Reporting is Now Available!
See journal Web site for details...



Newborn Screening: Toward a Uniform
Screening Panel and System

ACMG Panel: Final Score



Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System

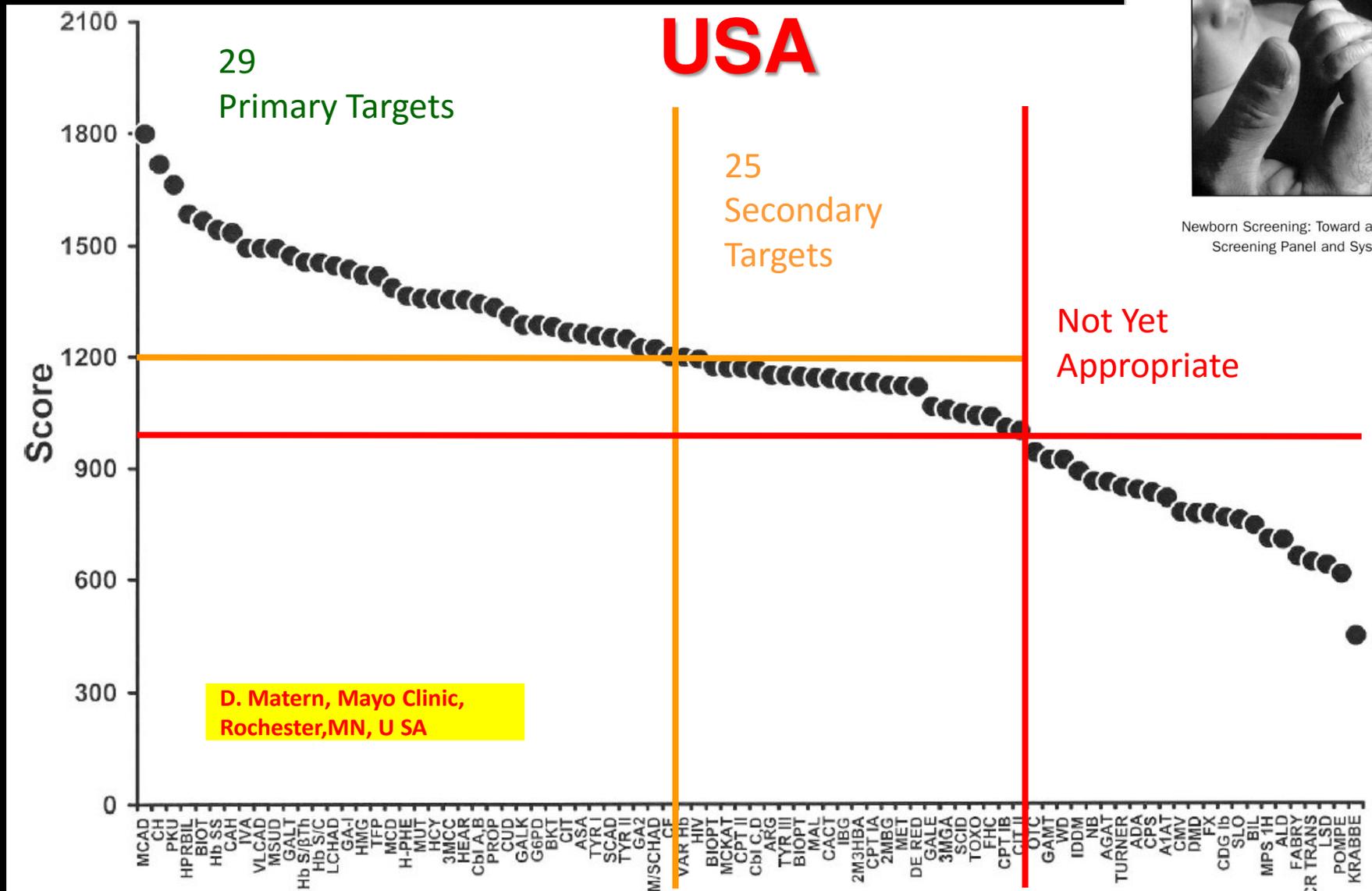


Fig. 1. Scoring by test availability (separates out those conditions that have an acceptable, validated, population-based screening test from those that do not). (cortesia di C. Corbetta, 2009)

ACMG Panel: Final Score



Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System

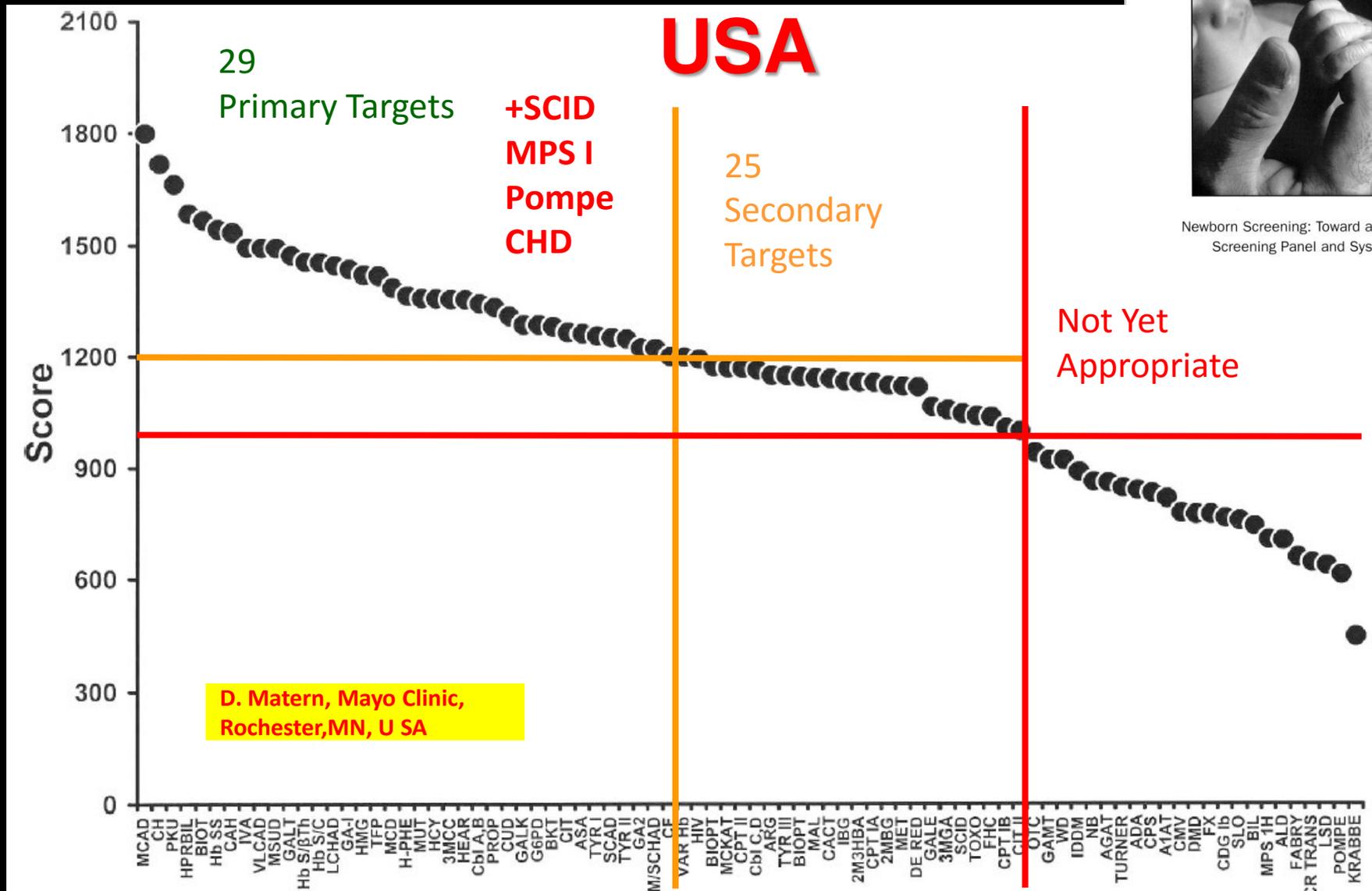


Fig. 1. Scoring by test availability (separates out those conditions that have an acceptable, validated, population-based screening test from those that do not). (cortesia di G. Corbetta, 2009)



[Www.iss.it](http://www.iss.it)

Centro Nazionale Malattie Rare



ISS : CNMR : Progetti europei : EU TENDER ON EU NEWBORN SCREENING PRACTICES

EU TENDER ON
EU NEWBORN SCREENING
PRACTICES



Domenica Taruscio

Istituto Superiore di Sanità
Via Giano della Bella, 34
00161 - Roma (I)

Telefono:  06 4990 4017 

Fax: 06 4990 4370
taruscio@iss.it

EU TENDER ON EU NEWBORN SCREENING PRACTICES

NBS -- Number of conditions per countries

EUROPE

- **1-2: 13 countries**
- **3-10: 12 countries**
- **11-20: 3 countries**
- **> 20: 6 countries**

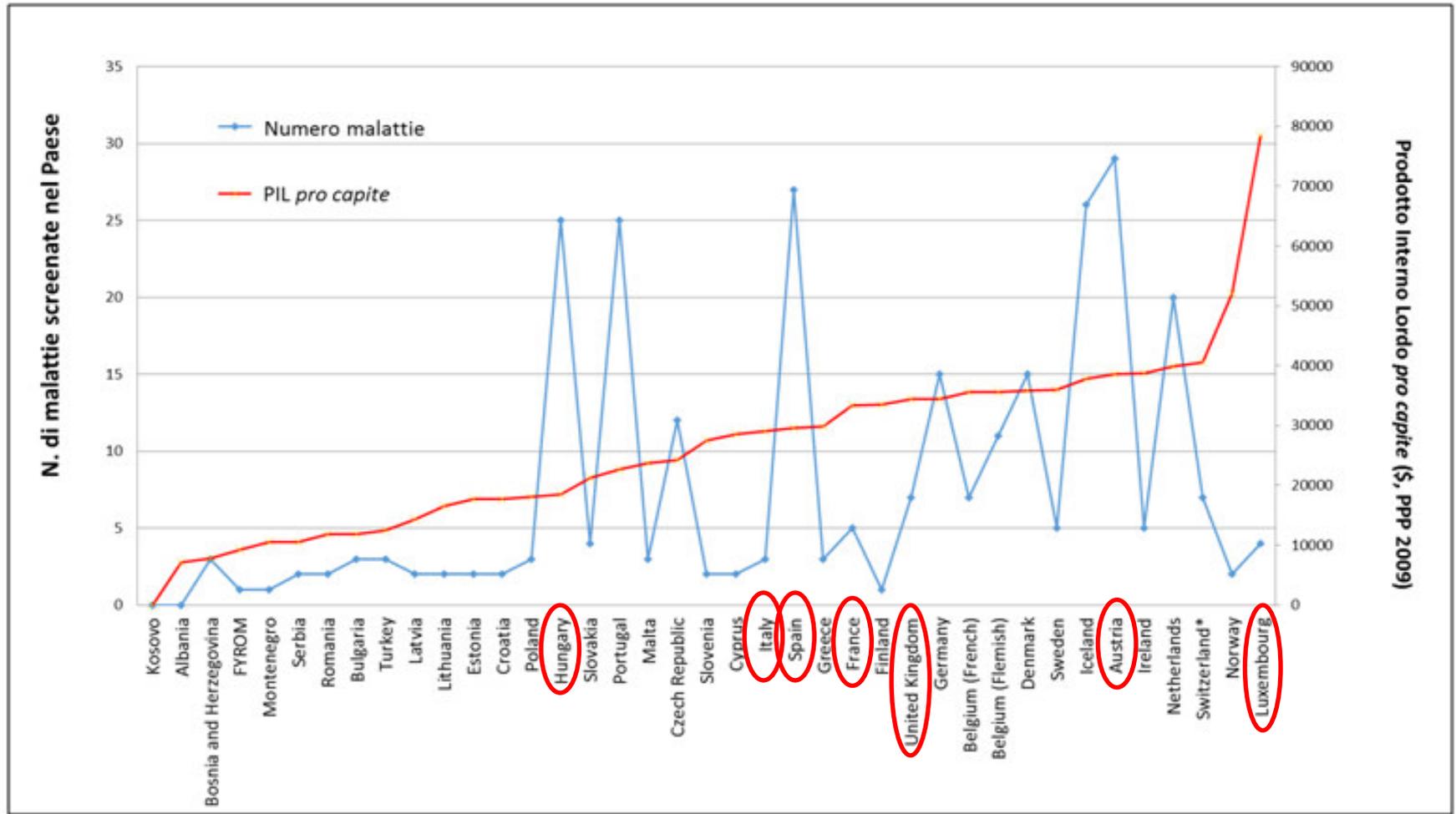


Figura 1. Numero di malattie metaboliche presenti nei programmi di screening neonatale e Prodotto Interno Lordo in Paesi europei.







Need to define criteria to include diseases in the panel

Solve ethical problems

Define outcome parameters



Ensure screening procedures
and follow-up

Economic planning



Include all disorders
for which there is a
therapeutic option



Tavola Rotonda

Programmi di screening per malattie metaboliche

Napoli, 23 gennaio 2015

Moderatori:

Generoso Andria
Università di Napoli Federico II, Centro di Coordinamento
Malattie Rare Regione Campania, Napoli

Fabio Sereni
Professore Emerito di Pediatria, Università di Milano

I programmi in atto in Europa e in Italia
Domenica Taruscio
Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore
di Sanità, Roma

Le evidenze scientifiche per le scelte politiche
Carlo Dionisi Vici
Presidente SIMMESN, Ospedale Pediatrico Bambino
Gesù, Roma

I provvedimenti legislativi italiani
Serena Battilomo
Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria,
Ministero della Salute, Roma

**Il punto di vista della sanità pubblica
e delle regioni**
Paola Facchin
Coordinatore del Tavolo Tecnico Interregionale per
le Malattie Rare presso la Commissione Salute,
Università degli Studi di Padova

Il follow-up e la presa in carico dei pazienti
Maria Alice Donati
Sezione Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie,
Dipartimento di Neuroscienze, A.O.U. Anna Meyer, Firenze

**Il punto di vista delle Associazioni
e dell'opinione pubblica**
Manuela Vaccarotto
Associazione Italiana Sostegno Malattie Metaboliche
Ereditarie, Padova

Aspetti etici
Sara Casati
Presidente del Comitato Etico di Ateneo, Università
di Milano-Bicocca

I programmi in atto in Europa e in Italia

Domenica Taruscio
Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore
di Sanità, Roma

Le evidenze scientifiche per le scelte politiche

Carlo Dionisi Vici
Presidente SIMMESN, Ospedale Pediatrico Bambino
Gesù, Roma

I provvedimenti legislativi italiani

Serena Battilomo
Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria,
Ministero della Salute, Roma

Il punto di vista della sanità pubblica e delle regioni

Paola Facchin
Coordinatore del Tavolo Tecnico Interregionale per
le Malattie Rare presso la Commissione Salute,
Università degli Studi di Padova

Il follow-up e la presa in carico dei pazienti

Maria Alice Donati
Sezione Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie,
Dipartimento di Neuroscienze, A.O.U. Anna Meyer, Firenze

Il punto di vista delle Associazioni e dell'opinione pubblica

Manuela Vaccarotto
Associazione Italiana Sostegno Malattie Metaboliche
Ereditarie, Padova

Aspetti etici

Sara Casati
Presidente del Comitato Etico di Ateneo, Università
di Milano-Bicocca

PROGRAMMI DI SCREENING NEONATALE ATTIVI IN ITALIA

Anno 2014

502.596 nati (fonte ISTAT)

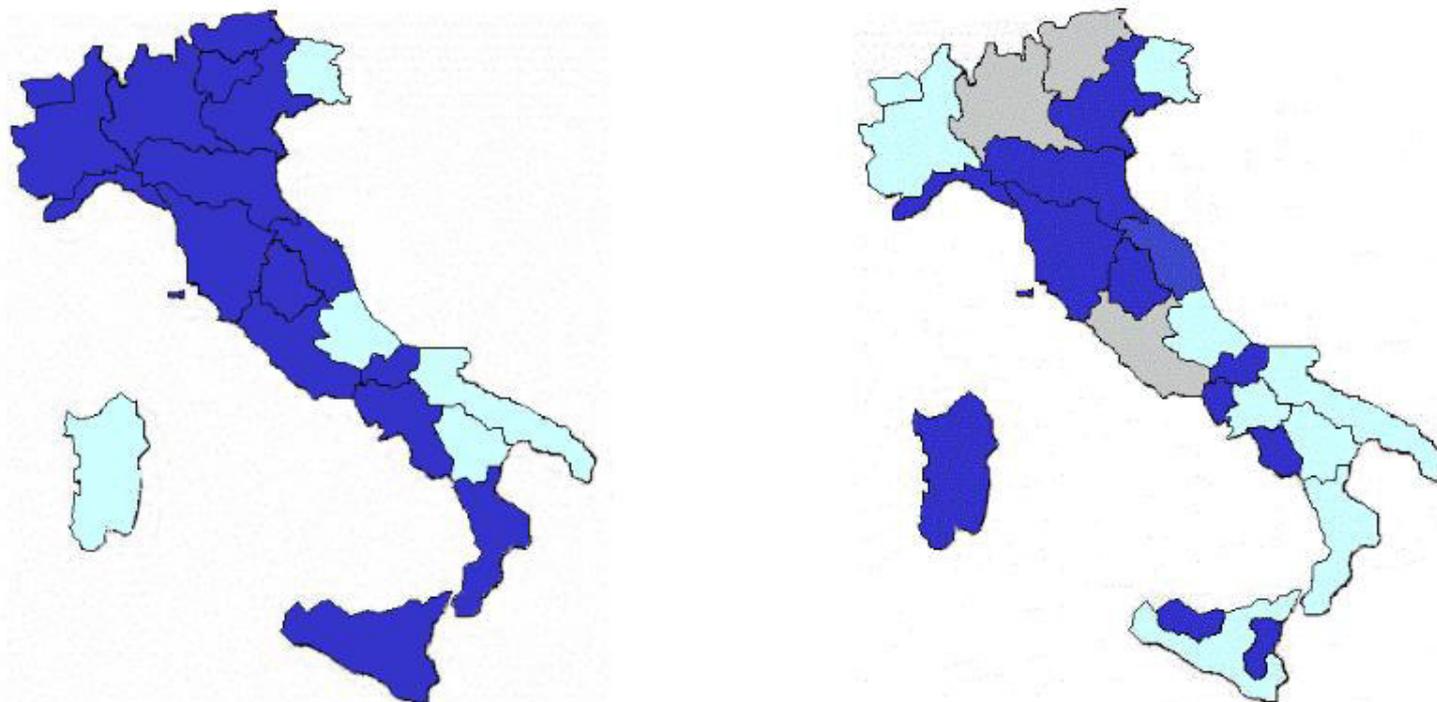


Figura 2. Copertura territoriale al 31 dicembre 2014 per lo screening per FC (a sinistra) e per lo screening esteso (a destra). In grigio le Regioni a copertura parziale.

PROGRAMMI DI SCREENING NEONATALE ATTIVI IN ITALIA

Anno 2014

502.596 nati (fonte ISTAT)

PROGRAMMA	N. LABOR.	ESAMINATI	COPERTURA %	DIAGNOSI
Iper Phe – PKU	20	518.841	100	182
Ipotiroidismo cong.	25	515.174	100	461
Fibrosi cistica	15	455.091	90.5	138
MME	12	216.809	43.1	71*
S. Adreno-genitale	4	208.576	41.5	8
Galattosemia	5	180.272	35.9	2
Def. Biotinidasi	3	124.376	24.7	15
MSUD	2	34.564	6.9	--
Iper- Met	1	30.445	6.1	1
Def. G6PD	1	45.705	9.1	169
Tirosinemia	1	90.635	18.0	--

(*) + 31 patologie materne

Provvedimenti legislativi in corso di approvazione in Italia per lo screening neonatale esteso (SNE)

DECRETO MINISTERIALE 2014

DISEGNO DI LEGGE 2015

DECRETO MINISTERIALE 2014	DISEGNO DI LEGGE 2015
Fase sperimentale	
Non inserimento nei LEA	
Ridotto stanziamento fondi	
Panel ridotto di patologie	

Provvedimenti legislativi in corso di approvazione in Italia per lo screening neonatale esteso (SNE)

DECRETO MINISTERIALE 2014	DISEGNO DI LEGGE 2015
Fase sperimentale	Obbligatorietà dello SNE
Non inserimento nei LEA	Inserimento nei LEA
Ridotto stanziamento fondi	Stanziamento 25,7 mln Euro
Panel ridotto di patologie	Panel fino a 54 patologie

Provvedimenti legislativi in corso di approvazione in Italia per lo screening neonatale esteso (SNE)

DECRETO MINISTERIALE 2014	DISEGNO DI LEGGE 2015
Fase sperimentale	Obbligatorietà dello SNE
Non inserimento nei LEA	Inserimento nei LEA
Ridotto stanziamento fondi	Stanziamento 25,7 mln Euro
Panel ridotto di patologie	Panel fino a 54 patologie
Rischio di perdita del finanziamento, se si ritarda	Impossibilità di utilizzare i fondi del DM, se si anticipa

Provvedimenti legislativi in corso di approvazione in Italia per lo screening neonatale esteso (SNE)

DECRETO MINISTERIALE 2014	DISEGNO DI LEGGE 2015
Fase sperimentale	Obbligatorietà dello SNE
Non inserimento nei LEA	Inserimento nei LEA
Ridotto stanziamento fondi	Stanziamento 25,7 mln Euro
Panel ridotto di patologie	Panel fino a 54 patologie
Rischio di perdita del finanziamento, se si ritarda	Impossibilità di utilizzare i fondi del DM, se si anticipa
DM come decreto attuativo della legge, se si anticipa	Tempi lunghi per decreti attuativi, se si anticipa

Articolo 4

Sistema di screening neonatale

Il sistema di screening neonatale è un'organizzazione a carattere multidisciplinare deputata a garantire l'intero percorso dello screening neonatale.

Essa pertanto è basata sui seguenti elementi:

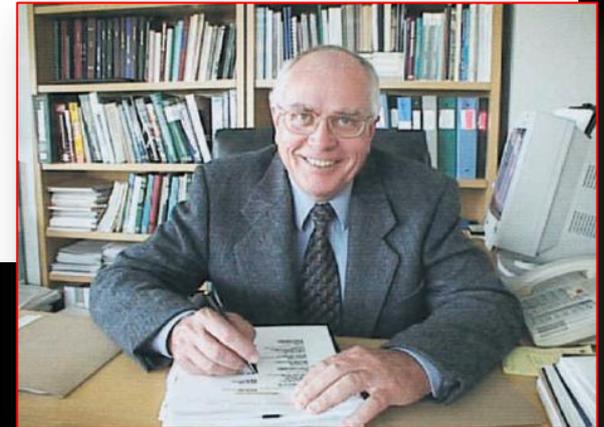
- A. Uno o più laboratori di screening neonatale.**
- B. Uno o più centri clinici per le malattie metaboliche ereditarie oggetto di screening, parte della rete di assistenza per le malattie rare.**
- C. Uno o più laboratori di riferimento per i test di conferma diagnostica.**
- D. Un livello di coordinamento regionale/provinciale del sistema screening.**

La prevenzione “primaria” delle malattie genetiche

Am. J. Hum. Genet. 68:819–825, 2001

2000 ASHG PRESIDENTIAL ADDRESS On Discovery, Genomes, The Society, and Society*

Ronald G. Worton



ASHG Annual Meeting
Philadelphia
October 3-7, 2000



Developments in the next 10-25 years

The main difficulty in predicting the future is that predictions are based on linear projections of

- current knowledge
- current technologies
- current thinking

(RG Worton, 2000)



Auguri!!!



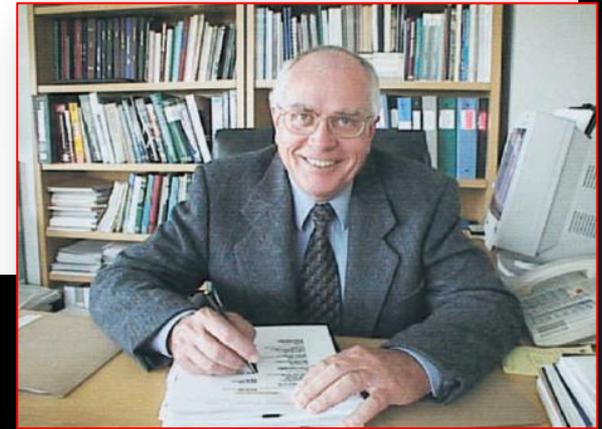
The main difficulty in predicting the future is that predictions are based on linear projections of
current knowledge,
current technologies
current thinking.

Developments in the next 10-25 years:

- molecular pharming
- pharmacogenomics
- proteomics
- disease genes
- genes involved in the common complex diseases
- selection of children

2000 ASHG PRESIDENTIAL ADDRESS On Discovery, Genomes, The Society, and Society*

Ronald G. Worton



One area where I predict intense public interest is in

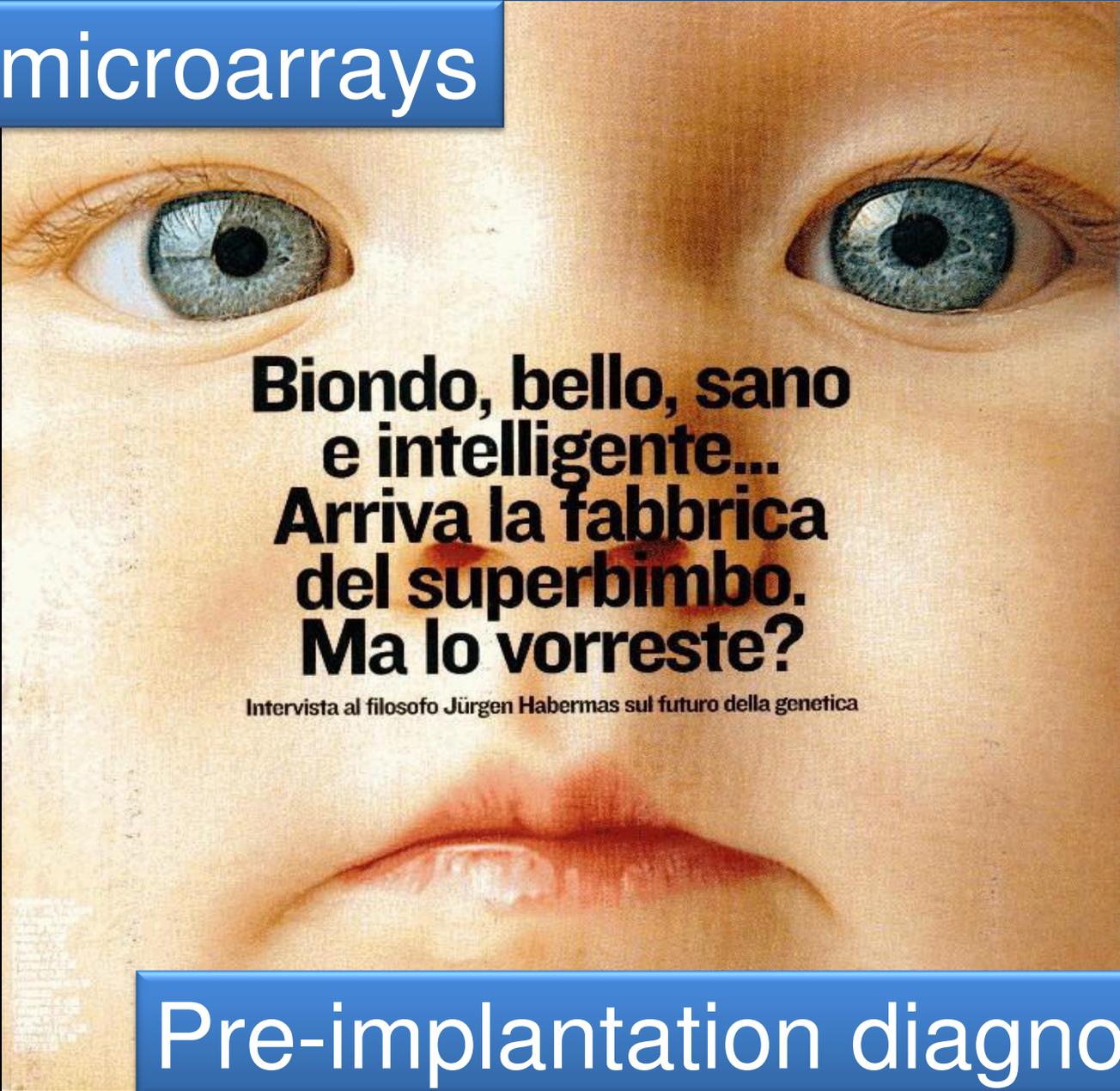
selection of children.

Pre-implantation diagnosis for single- gene diseases is now feasible, involving in vitro fertilization with removal of a single cell from the eight cell embryo, for genetic testing. With **new gene-chip technologies**, one can imagine that it will be possible to examine each embryo for several hundred genetic characteristics.

This would allow parents to select children with a particular combination of genetic assets and risks while rejecting others with fewer assets or greater risks. Since people are generally more concerned about the attributes of their children than they are about themselves, it is not unreasonable to suggest that couples with the necessary knowledge and resources will seek to optimize their chances for having children with superior attributes.

DNA microarrays

2000



**Biondo, bello, sano
e intelligente...
Arriva la fabbrica
del superbimbo.
Ma lo vorreste?**

Intervista al filosofo Jürgen Habermas sul futuro della genetica

Pre-implantation diagnosis

Three acronyms

Three acronyms

NGS

NIPD

CRISPR-Cas9

Three acronyms

NGS

Next Generation Sequencing

NIPD

Non-Invasive Prenatal Diagnosis

CRISPR-Cas9

Genome Editing

Next generation sequencing

- **Whole genome sequencing**
- **Whole exome sequencing**
- **Targeted exome sequencing**

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Targeted exome sequencing for mitochondrial disorders reveals high genetic heterogeneity

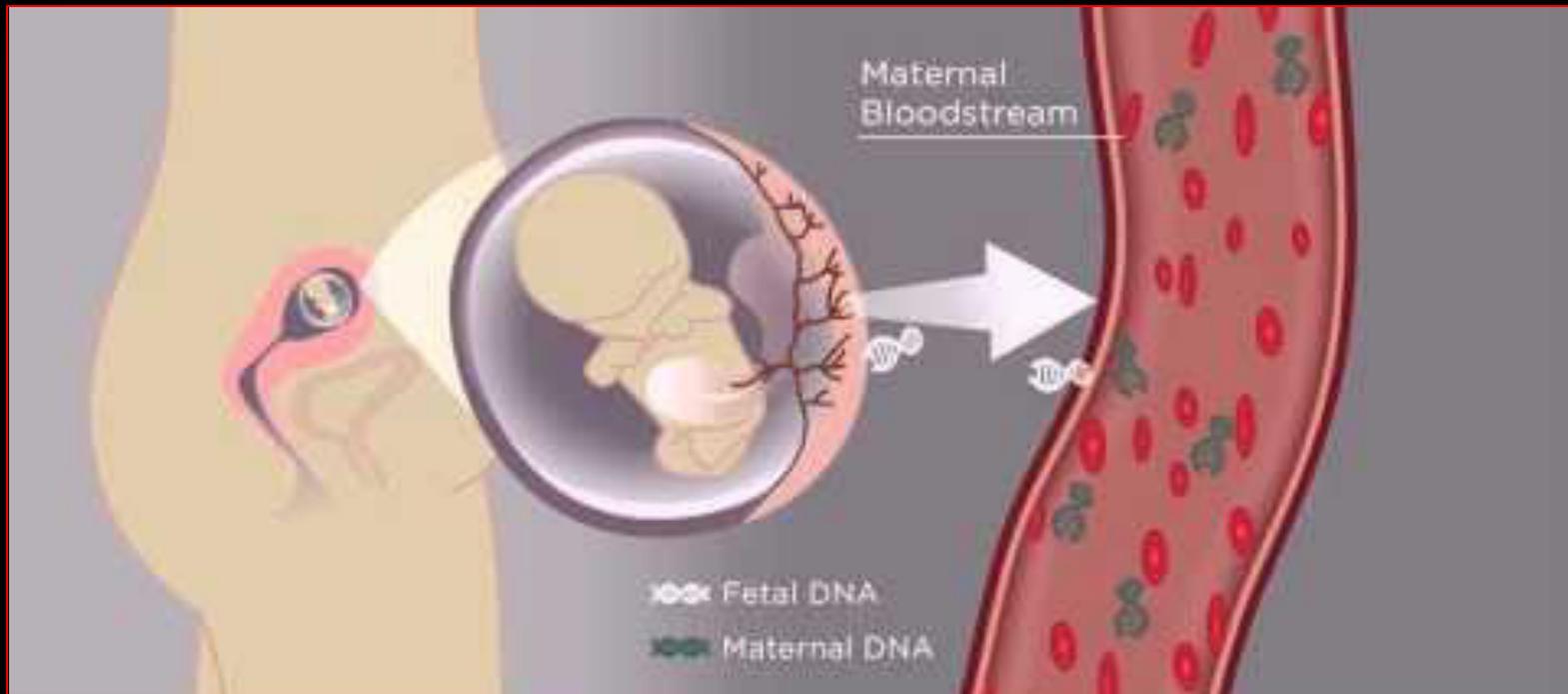
OPEN ACCESS Freely available online



Increasing the Yield in Targeted Next-Generation Sequencing by Implicating CNV Analysis, Non-Coding Exons and the Overall Variant Load: The Example of Retinal Dystrophies

Tobias Eisenberger¹, Christine Neuhaus¹, Arif O. Khan², Christian Decker¹, Markus N. Preising³, Christoph Friedburg³, Anika Bieg¹, Martin Gliem⁴, Peter Charbel Issa⁴, Frank G. Holz⁴, Shahid M. Baig⁵, Yorck Hellenbroich⁶, Alberto Galvez², Konrad Platzer⁶, Bernd Wollnik^{7,8,9}, Nadja Laddach¹⁰, Saeed Reza Ghaffari¹¹, Maryam Rafati¹², Elke Botzenhart¹³, Sigrid Tinschert^{14,15}, Doris Börger¹⁶, Axel Bohring¹⁷, Julia Schreml^{7,8}, Stefani Körtge-Jung¹⁸, Chayim Schell-Apacik¹⁹, Khadijah Bakur²⁰, Jumana Y. Al-Aama²⁰, Teresa Neuhann²¹, Peter Herkenrath²², Gudrun Nürnberg^{8,23}, Peter Nürnberg^{8,23}, John S. Davis²⁴, Andreas Gal²⁵, Carsten Bergmann^{1,26}, Birgit Lorenz³, Hanno J. Bolz^{1,7*}

Non Invasive Prenatal Diagnosis





BMJ

RESEARCH

Rossa W K Chiu et al.

**January 11,
2011**

Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study

BMJ

RESEARCH

Rossa W K Chiu et al.

January 11,
2011

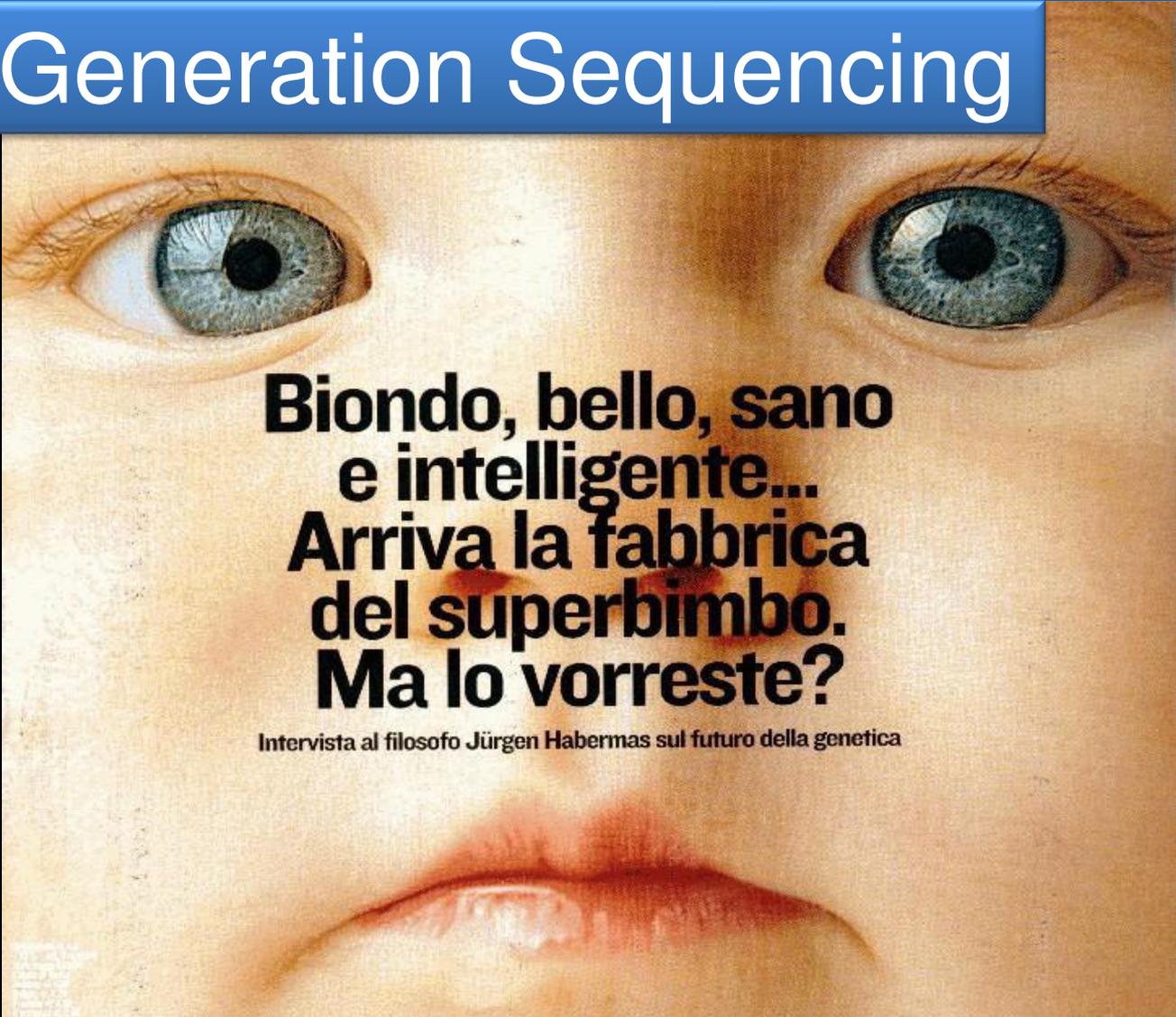
Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study

When more sophisticated sequencing protocols and bioinformatics algorithms are applied to the analysis of maternal plasma DNA, **it may be possible to perform a genetic and mutational scan across the whole genome of the fetus in a non-invasive manner.**

Thus, it is likely that maternal plasma DNA sequencing will play an increasingly important role in the **future developments of prenatal screening and diagnosis.**

Next Generation Sequencing

2011



**Biondo, bello, sano
e intelligente...
Arriva la fabbrica
del superbimbo.
Ma lo vorreste?**

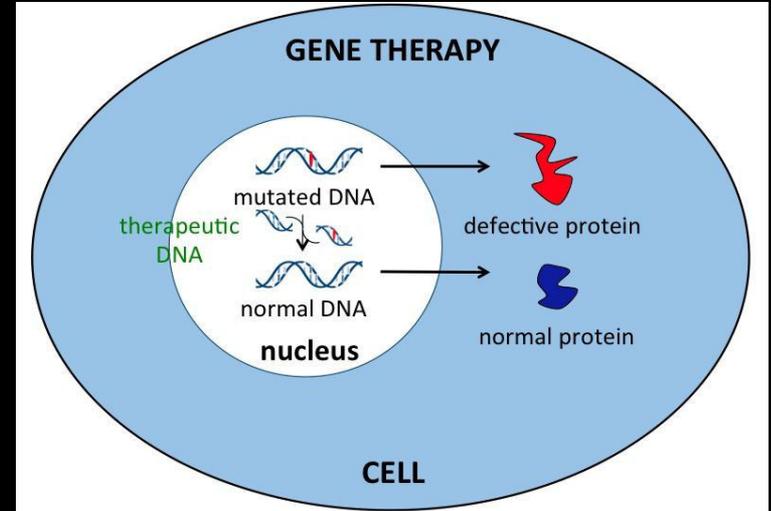
Intervista al filosofo Jürgen Habermas sul futuro della genetica

Fetal DNA from maternal blood

Gene therapy

Gene therapy

- Gene replacement



- Gene repair (editing)



Genome editing

Editing Options

1

Zinc finger nucleases

2

TALENs

3

CRISPR

What is it?

A protein consisting of a DNA-cutting enzyme and a DNA-grabbing region that can be tailored to recognize different genes.

Also a protein containing a DNA-cutting enzyme and a DNA-grabbing region that can be programmed to recognize different genes, but it is easier to design than zinc finger nucleases.

A DNA-cutting protein guided by an RNA molecule that is able to find the specific gene of interest.

Pros and cons

It was the first programmable genome-editing tool, but it relies on proteins that can be difficult to engineer for new gene targets. Potentially dangerous off-target cuts are also possible.

Though simpler and cheaper to design than zinc finger nucleases, TALEN proteins can still be difficult to produce and deliver. Off-target cuts are a problem.

This technique is affordable and easy to use, and it works for high-throughput, multi-gene experiments. Like the other tools, it can make off-target cuts.



EVERYWHERE

Illustration by Chris Labrooy ©nature

scienze
APPRENDISTI STREGONI?

LA POSSIBILITÀ DI **manipolare** LE CELLULE EMBRIONALI ALIMENTA IL SOGNO DI BATTERE LE MALATTIE GENETICHE. E RISVEGLIA UN INCUBO. QUELLO DELL'EUGENETICA

Il mito del Dna perfetto

Crispr-Cas9

È il nome di una **tecnica**, perfezionata nel 2012 dalle biochimiche Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier, per rimuovere e sostituire geni con una semplicità mai vista prima. Crispr-Cas9 è un **complesso molecolare** costituito da un filamento di Rna, acido simile al Dna, e da una proteina. Il primo fornisce una copia della sequenza da cercare nel Dna, l'altra la taglia via

Sopra, l'illustrazione di un tratto di **Dna umano**. Sotto, la locandina del film *Gattaca* di Andrew Niccol (1997), in cui embrioni umani erano manipolati per eliminare ogni difetto



di **Alex Saragosa**

Una società divisa fra persone «valide» e «non valide»: le prime, nate da fecondazione artificiale dopo la rimozione di ogni difetto dal Dna embrionale, sono destinate alle carriere più prestigiose; le seconde, frutto di normali rapporti sessuali e quindi con Dna «imperfetto», devono accontentarsi delle attività più umili. È il mondo futuro descritto da *Gattaca*, un film di fantascienza uscito nel 1997. Adesso però, a seguire le discussioni in corso fra i genetisti sulle nuove possibilità di manipolazione genetica degli embrioni, viene da temere che lo «scenario Gattaca» non sia più solo un incubo fantascientifico.

La caccia alla materia oscura sotto il Gran Sasso

Le Scienze

Aprile 2016

€ 4,50

www.lescienze.it

edizione italiana di Scientific American

Genomi su misura

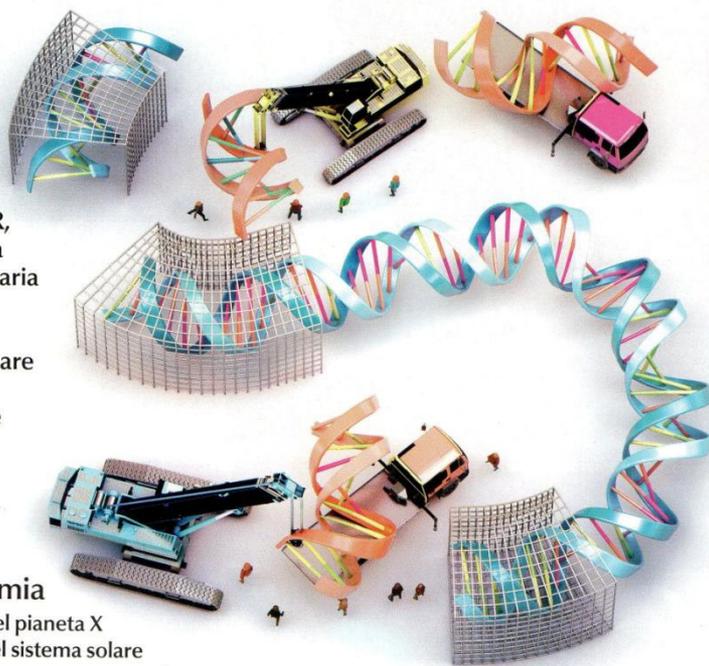
La CRISPR, una nuova rivoluzionaria tecnica, permette di modificare i geni con precisione e facilità

Astronomia

Il mistero del pianeta X ai confini del sistema solare

Etologia

Gli animali sanno come nascono i bambini?



POSTALMARKET SPED. IN A.P. - D.L. 3502005 CON L. 4620064, ART. 1, C. 1, COB - ROMA - INDIRIZZO PER LA SPEDIZIONE - NUMERO 072

NEWS FEATURE



RIDING THE CRISPR WAVE

Biologists are embracing the power of gene-editing tools to explore genomes.

BY HEIDI LEFORD

Whenever a paper about CRISPR-Cas9 hits the press, the staff at Addgene quickly find out. The non-profit company is where study authors often deposit molecular tools that they used in their work, and where other scientists immediately turn to get them. "We get calls within minutes of a hot paper publishing," says Joanne Karnezis, an executive director of the company in Cambridge, Massachusetts.

Addgene's phones have been ringing a lot since early 2013, when researchers first reported^{1,2} that they had used the CRISPR-Cas9 system to slice the genome in human cells at sites of their choosing. "It was all hands on deck," Karnezis says. Since then, molecular biologists have rushed to adopt the technique,



154 | NATURE | VOL 532 | 10 MAR 2016

© 2016 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved.

Genome editing

Genome editing

- **Una tecnica di biologia molecolare che permette di modificare in modo permanente il DNA di una cellula creando sostituzioni, inserzioni o delezioni.**

Genome editing

- Una tecnica di biologia molecolare che permette di modificare in modo permanente il DNA di una cellula creando sostituzioni, inserzioni o delezioni.
- Richiede il taglio della doppia elica del DNA in punti specifici del genoma ad opera di proteine chiamate nucleasi (una sorta di “forbici molecolari”).

Genome editing

- **Una tecnica di biologia molecolare che permette di modificare in modo permanente il DNA di una cellula creando sostituzioni, inserzioni o delezioni.**
- **Richiede il taglio della doppia elica del DNA in punti specifici del genoma ad opera di proteine chiamate nucleasi (una sorta di “forbici molecolari”).**
- **Il taglio e' seguito da un processo naturale di riparazione del DNA che puo' portare o alla inattivazione del gene bersaglio oppure alla correzione di mutazioni specifiche, a seconda della metodica utilizzata.**

Genome editing

- Una tecnica di biologia molecolare che permette di modificare in modo permanente il DNA di una cellula creando sostituzioni, inserzioni o delezioni.
- Richiede il taglio della doppia elica del DNA in punti specifici del genoma ad opera di proteine chiamate nucleasi (una sorta di “forbici molecolari”).
- Il taglio e' seguito da un processo naturale di riparazione del DNA che puo' portare o alla inattivazione del gene bersaglio oppure alla correzione di mutazioni specifiche, a seconda della metodica utilizzata.
- Tramite il sistema CRISPR/CAS9, alla portata anche di laboratori piccoli e relativamente poco attrezzati, e' possibile effettuare studi della funzione genica sia in modelli cellulari che animali.

Genome editing

- Una tecnica di biologia molecolare che permette di modificare in modo permanente il DNA di una cellula creando sostituzioni, inserzioni o delezioni.
- Richiede il taglio della doppia elica del DNA in punti specifici del genoma ad opera di proteine chiamate nucleasi (una sorta di “forbici molecolari”).
- Il taglio e' seguito da un processo naturale di riparazione del DNA che puo' portare o alla inattivazione del gene bersaglio oppure alla correzione di mutazioni specifiche, a seconda della metodica utilizzata.
- Tramite il sistema CRISPR/CAS9, alla portata anche di laboratori piccoli e relativamente poco attrezzati, e' possibile effettuare studi della funzione genica sia in modelli cellulari che animali.
- Inoltre, diventa piu' semplice disegnare approcci di terapia genica per malattie umane (genetiche e non genetiche).

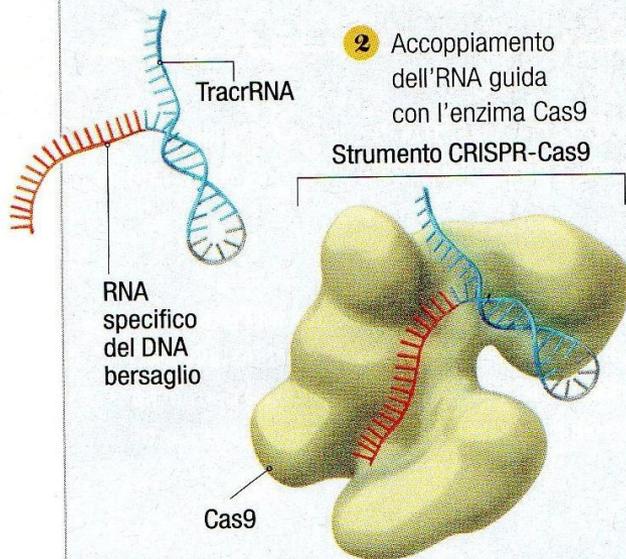
L'enzima che rivoluziona la genetica

Il sistema immunitario di difesa dei batteri CRISPR-Cas9
è uno strumento preciso, semplice e universale
per modificare a piacere i geni in qualsiasi tipo di cellula

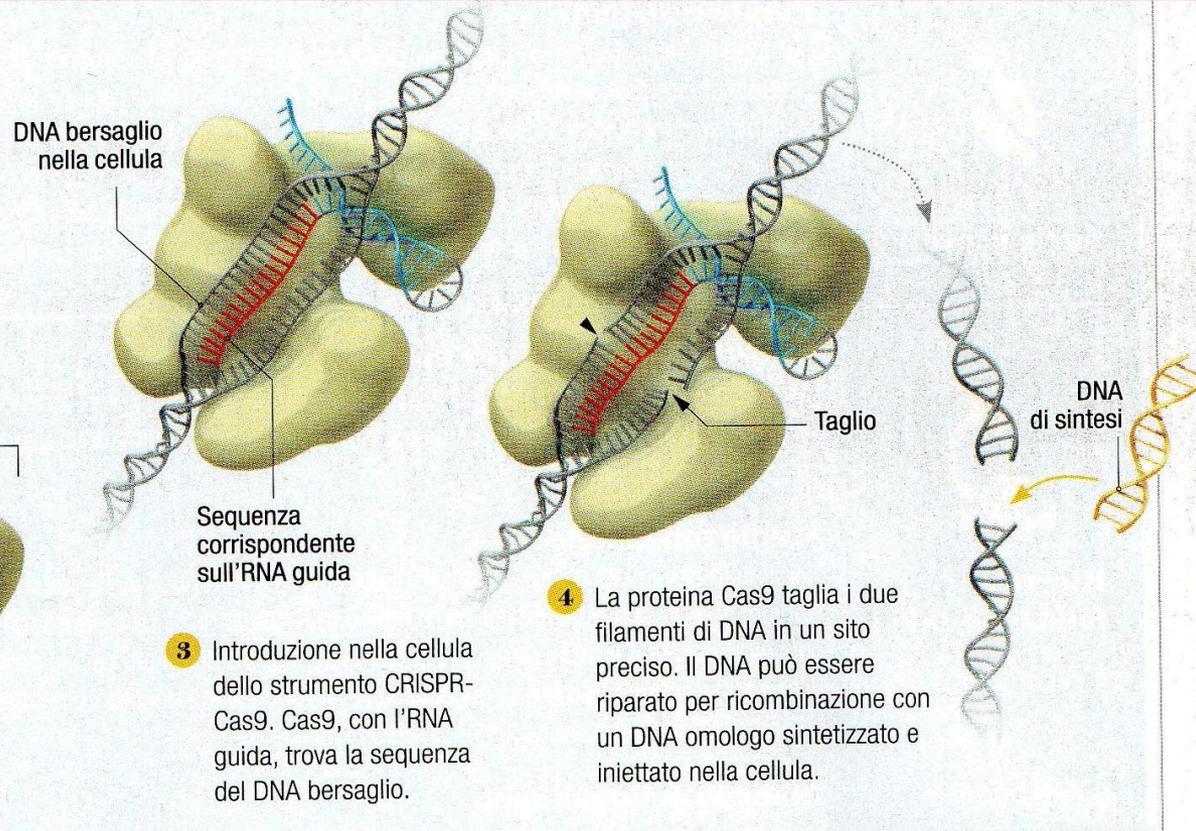
di Emmanuelle Charpentier e Pierre Kaldy

Il funzionamento di CRISPR-Cas9

- 1** Costruzione di un RNA guida per fusione delle sequenze di un RNA batterico (tracrRNA) e di un RNA specifico (complementare) della sequenza del DNA bersaglio.



- 2** Accoppiamento dell'RNA guida con l'enzima Cas9

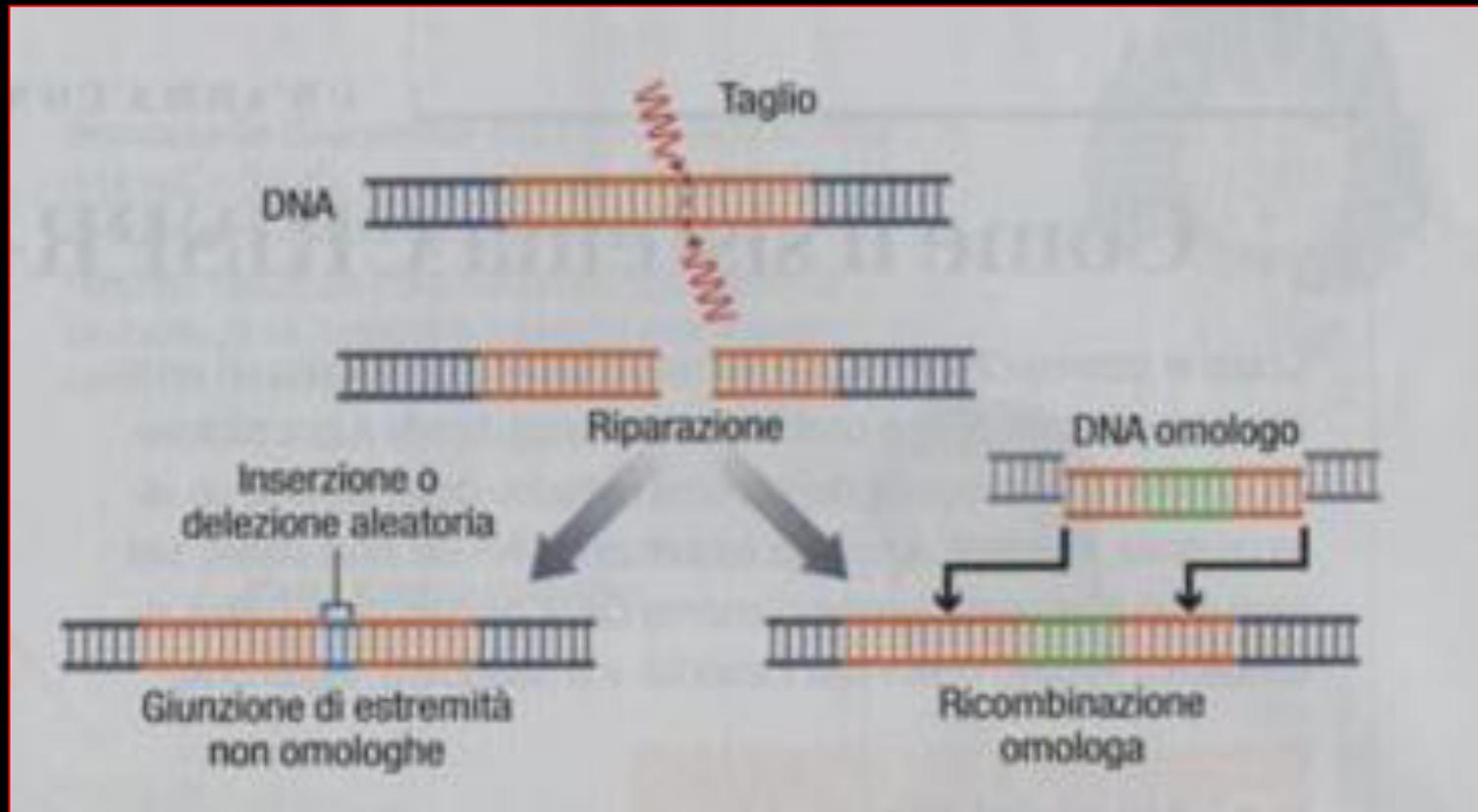


L'enzima che rivoluziona la genetica

Il sistema immunitario di difesa dei batteri CRISPR-Cas9
è uno strumento preciso, semplice e universale
per modificare a piacere i geni in qualsiasi tipo di cellula

di Emmanuelle Charpentier e Pierre Kaldy

Sistemi di riparazione del DNA



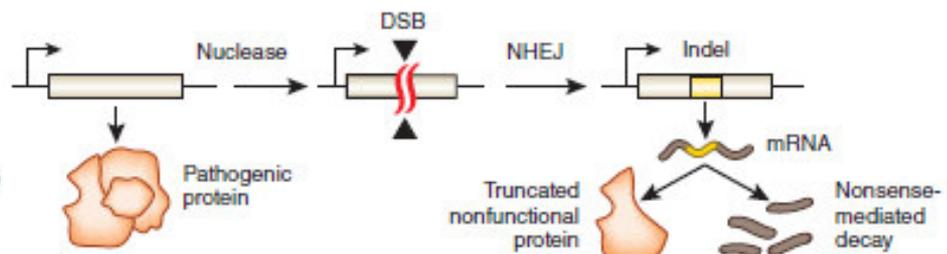
Therapeutic and challenge

David Benjamin Turitz, Corey S. Morimoto

Recent advances in the development of CRISPR-Cas9 nucleases have substantially improved our ability to edit genomes, already broadening our ability to study disease. More accurate cellular and animal models of disease, and the potential to correct refractory to traditional therapies as well as future personalized medicine.

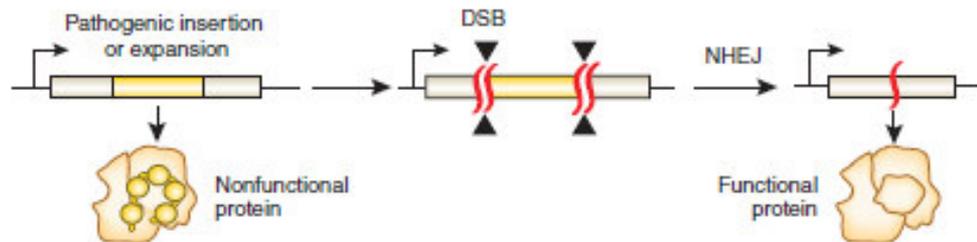
a

Gene disruption: silence a pathogenic gene



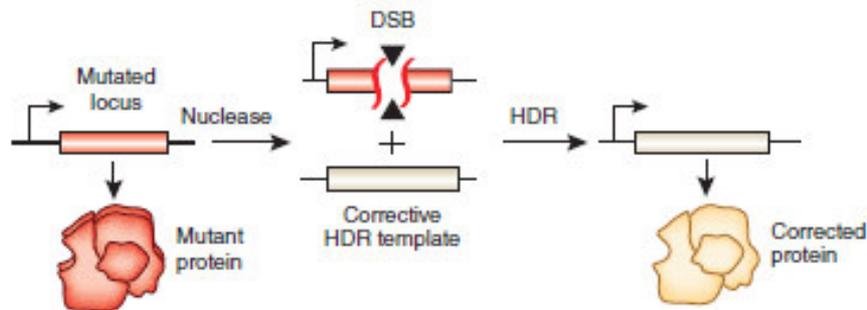
b

NHEJ gene correction: deletion of a pathogenic insertion



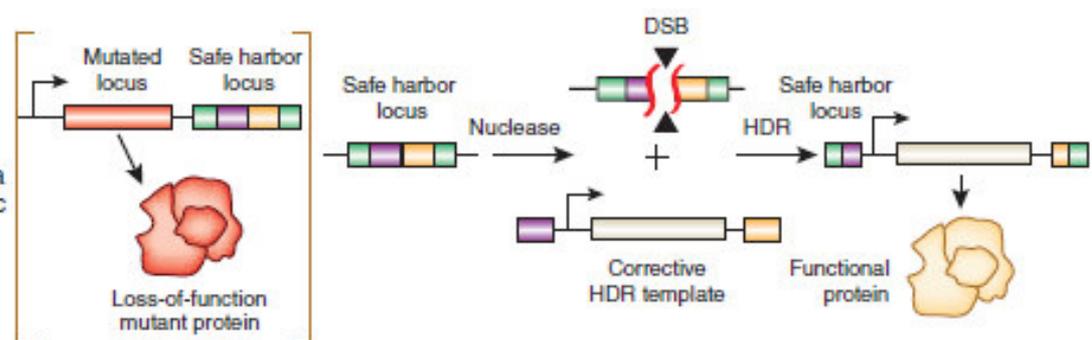
c

HDR gene correction: correct a deleterious mutation



d

HDR gene addition: introduce a therapeutic gene



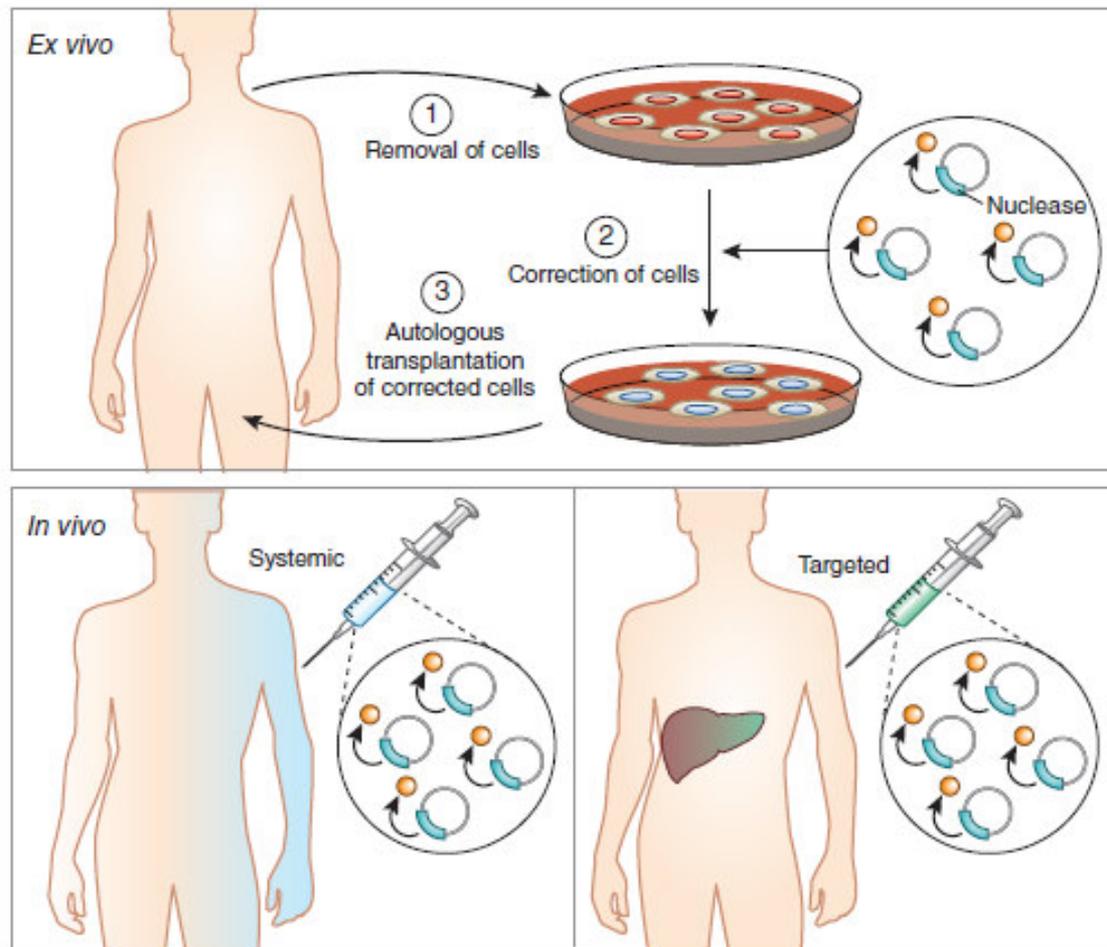


Figure 3 *Ex vivo* versus *in vivo* editing therapy. Top: in *ex vivo* editing therapy, cells are removed from a patient being treated, edited and then re-engrafted. For this mode of therapy to be successful, the target cells must be capable of surviving outside the body and homing back to target tissues after transplantation. Bottom: *in vivo* therapy involves genome editing of cells *in situ*. For *in vivo* systemic therapy (left), delivery agents that are relatively agnostic to cell identity or state would be used to effect editing in a wide range of tissue types. Alternatively, targeted *in vivo* therapy may also be achieved through targeted local injection (right) of viral vectors to the affected tissue or through the systemic injection of viral vectors with inherent tropism for specific diseased tissues, such as the eye brain, or muscle.

Genome editing



**MIT
Technology
Review**

VOL. 118 NO. 3 MAY/JUNE 2015 \$6.99

Feature p. 48

**HP Tries to Reinvent
the Computer**

Business Report p. 63

Persuasion

Review p. 72

**The Problem with
Fake Meat**

**WE CAN
NOW
ENGINEER
THE
HUMAN
RACE**

p26



Genome editing

Protein Cell

DOI 10.1007/s13238-015-0153-5



Protein & Cell

RESEARCH ARTICLE

CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes

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

Genome editing

NATURE | COMMENT



Don't edit the human germ line

Edward Lanphier, Fyodor Urnov, Sarah Ehlen Haecker, Michael Werner
& Joanna Smolen

NATURE | NEWS



NATURE | BREAKING NEWS



NIH reiterates ban on editing human embryo DNA

Agency issues statement after researchers alter gene in non-viable zygotes.

Sara Reardon

29 April 2015 | Corrected: [29 April 2015](#)

Research community also split over how close the method is to being an option for preventing disease.

Sara Reardon

24 April 2015

Even if gene editing were safe, effective and everyone opted to use it, it would not eliminate genetic diseases, because researchers still have a long way to go to understand the genes involved. Even Huntington's, which is fairly well characterized, is no easy target. The glitch that causes it is a repeat of a particular genetic sequence; the more repeats, the more severe the symptoms, and repeats are added with each successive generation. New families are diagnosed with Huntington's all the time, either because the disease is misdiagnosed in older generations or because symptoms worsen, and become recognizable, in subsequent generations. Although he is working on genetic techniques to treat Huntington's, Wild doesn't hold out high hopes for a future free of the disease. "Although it's nice to think about, it's little more than a dream," he says.

Human biology can complicate things in other ways. Padden notes, for instance, that some mutations that predispose to genetic disease, such as the sickle-cell mutation, confer population-level benefits, such

DISABILITY RIGHTS

People without disabilities consistently underestimate the life satisfaction of those with them. Although people with disabilities report a slightly lower overall quality of life than those without, the difference is small. One study³ found that half of people with serious disabilities ranked their quality of life as 'good' or 'excellent'.

People also overestimate how severely health affects their happiness compared with other factors, such as economic or social support. One 1978 study⁴, for instance, compared people who had recently become paralysed as a result of accidents with people who had recently won between US\$50,000 and \$1 million in a state lottery. Although people who had

had accidents ranked their happiness lower than lottery winners, both groups predicted that their future happiness would be roughly equal, and people who had accidents derived more pleasure from everyday

"Prediction: my grandchildren will be embryo-screened, germline-edited. Won't 'change what it means to be human'. It'll be like vaccination."

Tomorrow's children

What would genome editing really mean for future generations?

Ruthie Wind's basketball team seemed to be minutes away from its fourth straight loss. But even as she stood on the sidelines for a brief rest, the nine-year-old had not given up. She convinced the coach to put her back in the game. Then, she charged out onto the court, caught a pass from a teammate and drove straight to the basket. Swish! Ruthie scored a quick two points, putting her team in the lead. As the game clock wound down, she scored again, clinching the victory. The team had earned its first win of the season, and celebrated

BY ERIKA CHECK HAYDEN

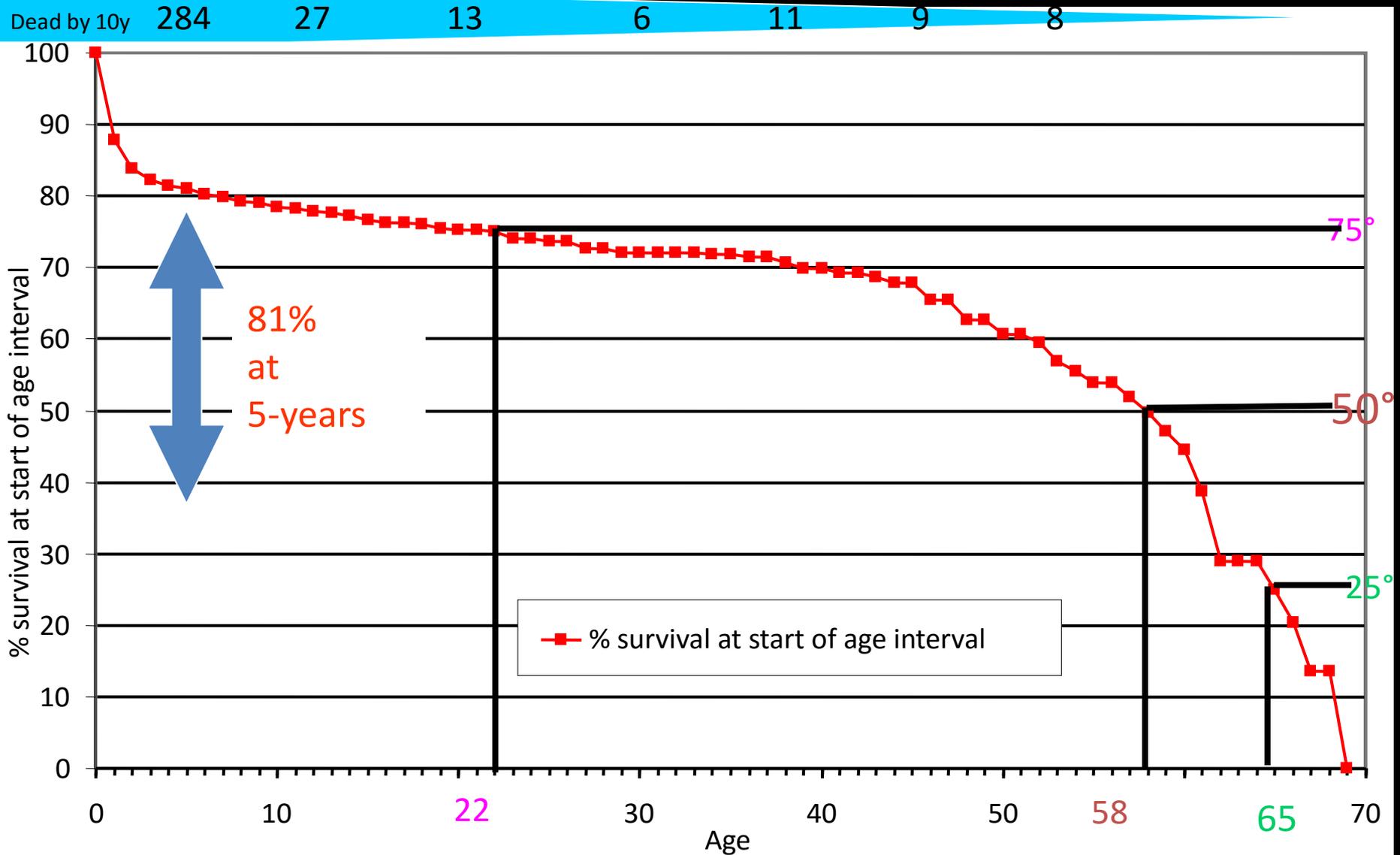
as if it had just taken the national championship. A couple of parents from the opposing team even stopped by to congratulate Ruthie, who had scored all of her team's 13 points. "Wow, she's unbelievable!" they told her mom and dad.

What makes Ruthie's performance even more extraordinary is her DNA. Because of a misspelling in one of her genes, she has albinism: her body produces very little of the pigment melanin, which means that her skin and hair are fair, and that she is legally blind. Her visual acuity is ten times worse than average. She is still learning to read



Survival curve for DS

(Baird and Sadovnick Hum Genet 82: 291; 1989)



SARÒ VECCHIO.

D blu



SARÒ VECCHIO. E FELICE?

D blu



Domande finali

La **selezione dei bambini** è definibile come EU-GENETICA?

L'obiettivo è la "eliminazione" di feti affetti da malattie genetiche non curabili, malformazioni, etc?

Oppure la "eliminazione" di caratteri non graditi (sesso, caratteristiche somatiche, etc.)?

Oppure la selezione di caratteri 'superiori', fisici e mentali?

La prevenzione per "non nascita" è una strategia di prevenzione "primaria"?





Giulio Einaudi editore

Francesco Cassata
Eugenetica senza tabù

Usi e abusi di un concetto



L'uso del concetto di «eugenetica» nel dibattito pubblico non è che un guscio vuoto. La sua adozione non chiama in causa un preciso oggetto storico, ma semplicemente proietta i nostri orientamenti, i nostri obiettivi e le nostre paure.

Grazie



20 MAG 2016 18:03

PROGRAMMI DI SCREENING NEONATALE ATTIVI IN ITALIA

Anno 2014

502.596 nati (fonte ISTAT)

Screening per HPA - 2014



Screening per HPA - 2014	
Esaminati	518841
Richiamati	2740
	%
Tipo I	31
Tipo II	30
Tipo III	114
BH4 responsiva	4
Dif. Cofattore BH4	1
Non classificate	2
Totale	182
Incidenza 1:x	2851

● Metodi 'tradizionali':	9
● Spettrom. di massa Tandem:	9
● BIA:	2

Roma ISS - 11-4-2016

PROGRAMMI DI SCREENING NEONATALE ATTIVI IN ITALIA

Anno 2014

502.596 nati (fonte ISTAT)

Screening per MME - 2014



- Copertura totale: 8 regioni
- Copertura parziale: 5 regioni
- Nessuna copertura: 7 regioni

Screening per MME - 2014	
Esaminati	212291
riesaminati	2143
	% 1.01
AA	8
OA	21
FAO	42
Totale	71
Incidenza 1:x	2990
Patolog. materna	31

- 3 Laboratori effettuano screening per altre Regioni

Roma ISS - 11-4-2016



Tabella III. Risultato dello screening esteso per malattie metaboliche ereditarie in alcune regioni italiane (dati SIMMESN, 2013).

Anno 2013	Firenze	Genova	Roma Sapienza	Napoli CEINGE	Bologna	Catania	Palermo	Cagliari	TOTALE
Totale nati regione	36854	10992	52187	52785	38057	44494		11872	194456
N. Esaminati	37785	10803	23330	6948	41000	9717	17472	11838	158893
% Esaminati SNE/ nati	102,5	98,3	44,7	13,2	107,7	61,1		99,7	81,7
Aminoacidopatie (N.)	3	3	2	0	1	0	1	1	11
Organicoacidurie (N.)	5	2	2	1	2	1	2	1	16
Difetti della β -ossidazione (N.)	8	2	5	2	13	0	0	1	31
TOTALE DIAGNOSI	16	7	9	3	16	1	3	3	58
Incidenza	1:2361	1:1545	1:2592	1:2316	1:2562	1:9717	1:5824	1:3946	1:2739

NBS - Number of countries per condition

Hypothyroidism	All
Phenylketonuria	All except Finland, Malta
Congenital Adrenal Hyperplasia	15
Cystic Fibrosis	10
Biotinidase Deficiency	10
Galactosemia	10
MCADD	13
Amino Acidemias	6 (many), 6 (some)
Fatty Acid Oxidation Deficiencies	8 (many), 3 (some)
Organic acidurias	8 (many), 3 (some)
Gluc. 6-Phosph. Deh. Def.	2

ALLEGATO

Elenco di patologie metaboliche ereditarie da sottoporre a screening neonatale esteso (LEGGE 27 dicembre 2013, n. 147, comma 229).

Il seguente elenco è stato individuato da una commissione di esperti componenti del gruppo di lavoro per “l’Elaborazione di linee guida cliniche per l’individuazione di protocolli applicativi per lo screening neonatale esteso” istituito presso Age.n.a.s. secondo i seguenti criteri di selezione:

Sono stati adottati i seguenti criteri di selezione:

- gravità della malattia;
- esistenza di un test di laboratorio efficace selezionato sulla base dell’accuratezza diagnostica nel discriminare soggetti potenzialmente affetti dalla popolazione normale;
- disponibilità di un trattamento efficace in grado di modificare sostanzialmente la storia naturale della malattia se adottato precocemente;
- raffronto con le raccomandazioni riportate nelle “Linee guida per lo screening neonatale esteso e la conferma diagnostica”, pubblicate nel 2008 dalla Società Italiana per gli Screening Neonatali (SISN) e la Società Italiana per lo Studio delle Malattie Metaboliche Ereditarie (SISMME);
- raffronto con l’esperienza internazionale.

DM - LEGGE DI STABILITA' 2014

Su questa base sono stati individuati 3 pannelli di condizioni, riportati nella Tabella 1, identificabili con un unico test di laboratorio mediante spettrometria di massa tandem:

- il pannello primario, di colore verde, comprende patologie per le quali sono rispettati tutti i criteri sopra elencati;
- il pannello secondario, di colore giallo, comprende condizioni per le quali non sono rispettati tutti i criteri di cui sopra e/o condividono biomarcatori con alcune delle condizioni elencate nel pannello primario;
- il pannello terziario, di colore azzurro, comprende condizioni occasionalmente identificabili in corso di screening neonatale per malattie metaboliche.

Sono state, inoltre, individuate due ulteriori patologie, riportate nella Tabella 2, con caratteristiche analoghe a quelle del pannello primario e identificabili con tecnologie diverse dalla spettrometria di massa tandem.

Si segnala che tali patologie sono già oggetto di screening neonatale in alcuni Centri Screening Italiani (SIMMESN: Rapporto tecnico su programmi di screening neonatale in Italia, anno 2012 - http://www.simmesn.it/it/documents/rt_screening/rt_screening_2012.pdf).

MME da sottoporre a SNE

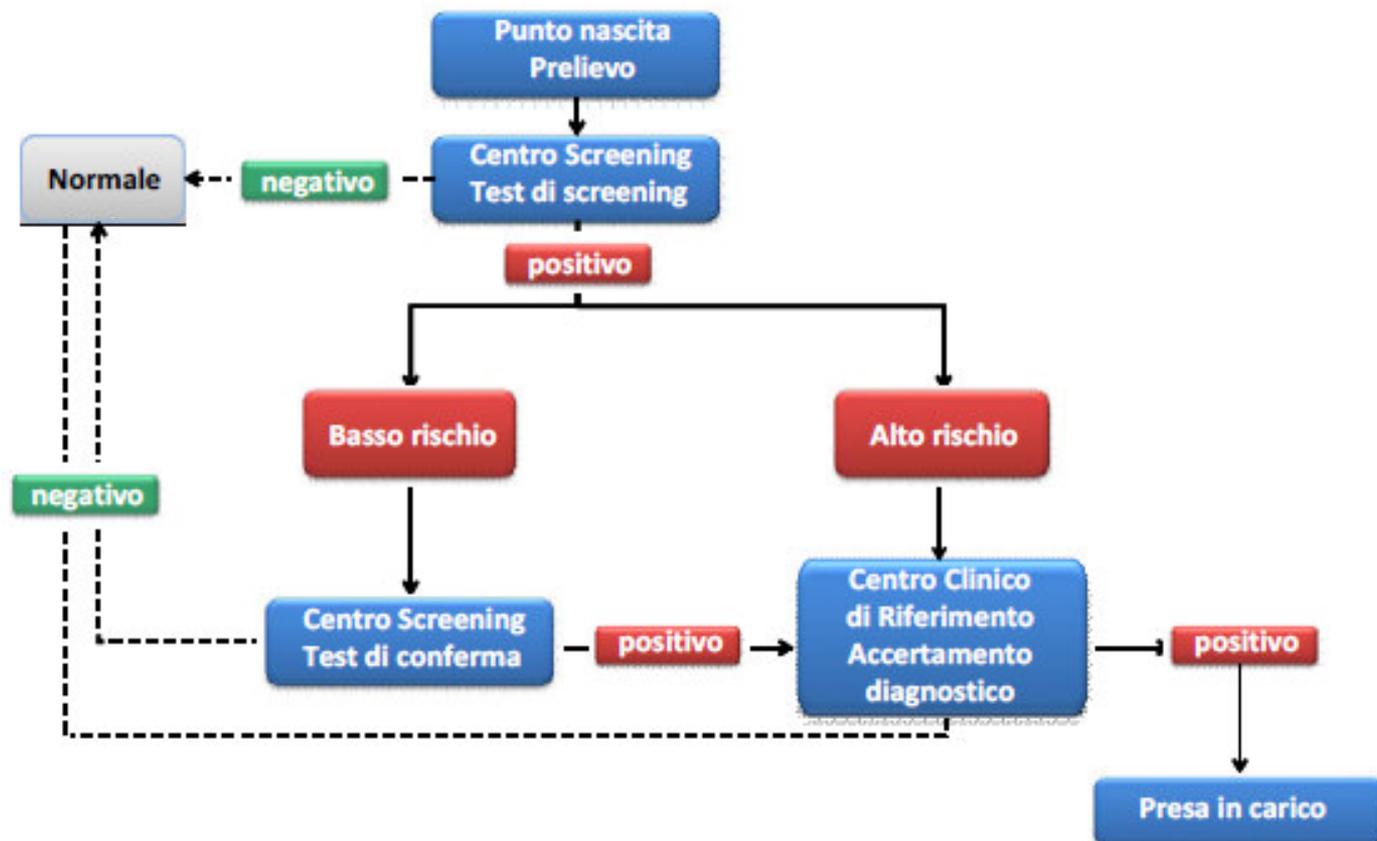
Tabella 1

Primario	Malattia	Acronimo	Fenotipo MME	Gruppo	Denominazione del Gruppo Patologica (O.M. 27/8/2001 All. N.1)	Marker primari (vedi legenda)	Rischio di acropenso metabolico / Raccomandazioni per richiamo		
PRIMARIO	Fenilchetonuria	PKU	261600	AA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	Phe	Basso rischio richiamo non immediato		
	iperfenilalaninemia benigna	HPA	261600			Phe	Basso rischio richiamo non immediato		
	Deficit della biosintesi del cofattore biotinico	BIOPT (BS)	261640			Phe	Basso rischio richiamo non immediato		
	Deficit della rigenerazione del cofattore biotinico	BIOPT (REG)	261630			Phe	Basso rischio richiamo non immediato		
	Tirosinemia tipo I	TYR I	276700			SUAC	Alto rischio Richiamo immediato		
	Tirosinemia tipo II	TYR II	276600			Tyr	Basso rischio richiamo non immediato		
	Malattia delle urine allo sciroppo d'acero	MSUD	248600			Val Xeu	Alto rischio Richiamo immediato		
	Omocistinuria (deficit di CBS)	HCY	236200			Met	Alto rischio Richiamo immediato		
	Deficit del trasporto della carnitina	CUD	212140			FAO	ALTERAZIONI CONGENITE DEL METABOLISMO DELLE LIPOPROTEINE	CO bassa	Alto rischio Richiamo immediato
	Deficit di Carnitina palmitil-transferasi II	CPT II	606950					C16 C18.2 C18.1 C18	Alto rischio Richiamo immediato
	Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a catena molto lunga	VLCAD	606675	C14.2 C14.1 C14	Alto rischio Richiamo immediato				
	Deficit della proteina bifunzionale	TFP	606015	C18:1-OH C16-OH C18:1-OH C18-OH	Alto rischio Richiamo immediato				
	Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a catena lunga	LCHAD	606016	C18:1-OH C16-OH C18:1-OH C18-OH	Alto rischio Richiamo immediato				
	Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a catena media	MCAD	261490	C8 C8 C10.1 C10	Alto rischio Richiamo immediato				
	Acidemia glutamica tipo I	GA I	231670	OA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI			CSDC	Alto rischio Richiamo immediato
	Acidemia isovalerica	IVA	243800					C5	Alto rischio Richiamo immediato
	Deficit di Beta-chetotilasi	BKT	263750					C5:1 CSOH	Alto rischio Richiamo immediato
	3-idrossi 3-metil glutarico acidiemia	HMG	246490					C5-OH CSDC	Alto rischio Richiamo immediato
	Acidemia Propionica	PA	232000			C3	Alto rischio Richiamo immediato		
	Acidemia Metilmalonica (Mut)	MUT	261000			C3	Alto rischio Richiamo immediato		
Acidemia Metilmalonica (Cbl-A)	Cbl A	261100	C3			Alto rischio Richiamo immediato			
Acidemia Metilmalonica (Cbl-B)	Cbl B	261110	C3			Alto rischio Richiamo immediato			
Acidemia Metilmalonica (Cbl C)	Cbl C	277400	C3 alta Met bassa			Alto rischio Richiamo immediato			
Deficit Multiplo delle carbossilasi	MCD	253270	CSOH			Alto rischio Richiamo immediato			
Citullinemia tipo I	CIT	215700	UCD	DISTURBI DEL CICLO DELL'UREA	Cit	Alto rischio Richiamo immediato			
Acidemia Argininosuccinica	ASA	207900			ASA	Alto rischio Richiamo immediato			

Secondario	Malattia	Acronimo	Fenotipo MME	Gruppo	Denominazione del Gruppo Patologica (O.M. 27/8/2001 All. N.1)	Marker primari (vedi legenda)	Rischio di acropenso metabolico / Raccomandazioni per richiamo		
SECONDARIO	Tirosinemia tipo II	TYR II	276710	AA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	Tyr	Basso rischio richiamo non immediato		
	Citullinemia tipo II	CIT II	606614			Cit	Alto rischio Richiamo immediato		
	Glycine N-methyltransferase deficiency	GNMT	606654			Met	Basso rischio richiamo non immediato		
	Met adenosyltransferase	MAT 1A	250650			Met	Basso rischio richiamo non immediato		
	S-adenosylhomocysteine hydrolase	-	613752			Met	Basso rischio richiamo non immediato		
	Deficit di Carnitina palmitil-transferasi (L)	CPT Ia	256120	FAO	ALTERAZIONI CONGENITE DEL METABOLISMO DELLE LIPOPROTEINE	CO alta C16 bassa C18 bassa	Alto rischio Richiamo immediato		
	Deficit Carnitina/carnitina trimalato	CACT	212138			C16 C18.2 C18.1 C18	Alto rischio Richiamo immediato		
	Deficit del 3-OH acyl-CoA deidrogenasi a catena mediana/corta	MSCHAD	231530			C4-OH	Alto rischio Richiamo immediato		
	Acidemia glutamica tipo II	GA2/ MADD	231680			C4-C18 nature e nature	Alto rischio Richiamo immediato		
	Acidemia Metilmalonica (Cbl D)	Cbl D	277410			C3 alta Met bassa	Basso rischio richiamo non immediato		
TERZIARIO	Aciduria 3-Metil glutarica tipo I	MGCA1	250950	OA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Aciduria 3-Metil glutarica tipo II - Sintrome di Bath	MGCA2-	302060			C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Aciduria 3-Metil glutarica tipo III	MGCA3	258901			C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Aciduria 3-Metil glutarica tipo IV	MGCA4	250951			C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Aciduria 3-Metil glutarica tipo V	MGCA5	610198			C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Deficit del 2-Metil butiril-CoA deidrogenasi	2MBG	610006			C5 (condizionale con IVA)	Alto rischio Richiamo immediato		
	Aciduria Malonica	MAL	606761			C3DC	Alto rischio Richiamo immediato		
	Deficit del 3-Metil crotonil-CoA carbossilasi	3MCC	210200			C5-OH (condizionale)	Basso rischio richiamo non immediato		
	Arginemia	ARG	267600			UCD	DISTURBI DEL CICLO DELL'UREA	Arg	Alto rischio Richiamo immediato
	TERZIARIO	Deficit di metilene-tetraidrotiato riduttasi	MTHFR			236250	AA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	Met bassa
Intolleranza alle proteine con leucina		LPI	222700	Cit	Alto rischio Richiamo immediato				
perossidemia con atrofia gliale della corteccia		GAT	256670	Om	Basso rischio richiamo non immediato				
Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a catena corta		SCAD	606685	FAO	ALTERAZIONI CONGENITE DEL METABOLISMO DELLE LIPOPROTEINE	C4	Basso rischio richiamo non immediato		
Deficit di Decil reduttasi		DE-RED	222745			C10.2	Basso rischio richiamo non immediato		
Deficit di Isobutil-CoA deidrogenasi		IBG	271960	OA	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	C4	Basso rischio richiamo non immediato		
perossidemia-perossidemia-proctofibrinuria		HHH	236970	UCD	DISTURBI DEL CICLO DELL'UREA	Om Pro-OH	Alto rischio Richiamo immediato		

Deficit di biotinidasi	BTD	253260	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEGLI AMMINOACIDI	Alto rischio Richiamo immediato
Galattosemia	GALT	230400	DISTURBI DEL METABOLISMO E DEL TRASPORTO DEI CARBOIDRATI	Alto rischio Richiamo immediato

Fig. 1 – Raccomandazioni per il richiamo in base al rischio di scompenso.



Basso rischio / richiamo non immediato: richiesta al punto nascita di un nuovo campione di sangue da inviare al centro screening per un ulteriore test.

Alto rischio / richiamo immediato: convocazione immediata del neonato presso il Centro Clinico di riferimento per l'accertamento diagnostico.

