

ABSTRACT

”Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats” (CRISPR)-Cas systemet blev først opdaget og beskrevet som adaptiv immunitet i prokaryote organismer. CRISPR-Cas giver beskyttelse mod bakteriofager, plasmider og transposoner ved, at korte DNA-sekvenser, som tidligere inficerede, bliver inkorporeret i de prokaryote organismers genom. Bakteriofager genkendes og bliver ødelagt med nukleaser ved reinfektion. Teknologien blev videreudviklet til et effektivt redskab til genredigering af eukaryote organismer. Og nu, kun få år efter opdagelsen, anvendes dette redskab i mange forskellige sammenhænge. Genterapi, regenerativ medicin, cancer, infektionssygdomme, diagnostik og vaccineudvikling er aktuelle medicinske områder. Alle biomedicinske discipliner har taget disse redskaber i brug. Der er dog stadig mange uløste opgaver, som kræver, at redskaberne bliver yderligere forbedret, og at de kan leveres på en sikker måde til de celler og væv, som CRISPR-Cas skal anvendes i.

EMNEORD CRISPR-Cas systems | genome editing | genetic therapy | applications | odontology



Korrespondanceansvarlig forfatter:

VIDAR BAKKEN
vidar.bakken@uib.no

CRISPR-Cas: Aktuelle og mulige anvendelser i odontologi

VIDAR BAKKEN, professor emeritus, dr.odont., Klinisk institutt 2, Det medisinske fakultet, Universitetet i Bergen, Norge

► Accepteret til publikation den 15. april 2021

Tandlægebladet 2022;126:328-34

LIGE SIDEN OPDAGELSEN AF, AT GENOMET BESTÅR AF EN DNA-DOBBELTSPIRAL, har udvikling af metoder til manipulation af DNA fascineret mange forskere. Resultater fra denne forskning har på det medicinske område givet os værktøj til at forbedre diagnostik, behandling og forståelse af patogenese for en række sygdomme.

Jennifer A. Doudna, Emmanuelle Charpentier og medarbejdere publicerede i 2012 et nøglestudie, hvori de beskrev en forbedret udgave af ”gensaksen” CRISPR/Cas9 (1). Med denne gensaks kan arvematerialet i dyr, planter og mikroorganismer relativt let forandres eller redigeres. Doudna og Charpentier fik i 2020 Nobelprisen i kemi for dette arbejde. I løbet af få år er forskningen på CRISPR-Cas ekspanderet, og videreudvikling af genredigering giver nye muligheder. Selv om der stadig er et stykke vej til klinisk anvendelse, ser udviklingen ud til at gå så stærkt, at meget af dette kan nå klinikken i løbet af få år.

De nye genredigeringsmetoder er kraftfulde og effektive, og det er derfor vigtigt også at inddrage etiske vurderinger af dem. Nobelprisvinderne resumerede i 2014 historien bag CRISPR-Cas og deres egne vigtige bidrag (2). På mindre end 10 år efter dette er der blevet publiceret tusindvis af videnskabelige artikler. I det følgende vil vi forsøge at give en oversigt over aktuell forskning og mulige anvendelser af CRISPR-Cas-teknologi inden for de medicinske/odontologiske fagområder.

GENREDIGERINGSVÆRKTØJ

Redskaber til modifikation af gener har været tilgængelige i flere årtier. Restriktionsenzym blev beskrevet og taget i brug for ca. 50 år siden. Restriktionsenzym med forskellige specificiteter blev isoleret fra bakterier. Senere konstruerede man genredigeringsværktøjerne ”Zinc Finger Nucleases” (ZFNs) og

FAKTABOKS

Forkortelsesliste

AMR:	antimikrobiel resistens
CAR T:	kimær antigen receptor på T-lymfocytter. Genredigerede receptorer på T-lymfocytter fra en patient, som gør, at disse celler kan genkende og ødelægge kræftceller, når de føres tilbage til patienten. Dette kaldes adoptiv CAR T-cellebehandling.
Cas:	CRISPR-associeret protein
CRISPR:	clustered regularly interspaced short palindromic repeats
DMD:	Duchennes muskeldystrofi
ESCs:	embryonale stamceller
EPS:	ekstracellulære polysakkarider
iPSCs:	inducerede pluripotente stamceller
p53:	gen som koder for tumorsuppressor protein
TALEN:	transcription activator-like effector nuclease
ZNF:	zinc finger nuclease

“Transcription Activator-Like Effector Nucleases” (TALENs), der tillod forskerne selv at bestemme, hvor i DNA’et der skulle klippes (3). For mindre end 10 år siden blev CRISPR-Cas-systemet taget i brug til genredigering. CRISPR-Cas-systemer findes i domænerne *Bacteria* og *Archaea* og giver disse mikroorganismer adaptiv immunitet mod bakteriofager, plasmider og transposoner (4,5). Undersøgelser har vist, at ca. 50 % af alle bakterier og ca. 90 % af alle arkæer har CRISPR-Cas (6). CRISPR-Cas-systemet inddeles i to hovedklasser med flere typer og subtyper. Mest anvendt og bedst beskrevet er CRISPR-Cas9, men i nogle sammenhænge er der behov for redigeringsværktøj med andre egenskaber.

Mere detaljeret beskrivelse findes i temaets første artikel ”CRISPR – en metode til anvendelse som næste generations gen-terapi”.

HVORDAN BRUGES GENREDIGERINGSVÆRKTØJERNE?

Redigeringsværktøjerne skal finde vej ind til generne i de celler, som skal redigeres. Leverancen er afhængig af, hvilke organismer (dyr, planter, bakterier), væv eller celler der skal redigeres, og om dette sker *in vitro*, *ex vivo* eller *in vivo*. *In vitro*-studier i laboratorier med celle- og vævskulturer og dyremodeller danner grundlaget for senere kliniske anvendelser. Metoder må standardiseres og optimeres. Leverance af genredigeringsværktøj kan ske på forskellige måder (7,8). Overføring af arvemateriale (DNA og RNA) til animalske celler kaldes transfektion og kræver, at cellemembranerne åbnes eller penetreres, for at

arvemateriale skal nå målet. Virus og bakterier har deres egne elegante måder at gøre dette på, når de inficerer celler, og anvendelse af virus er en af de måder, som vi også kan benytte. Metoderne til leverance inddeles i hovedkategorierne non-virale og virale. Non-virale metoder kan underinddeles i kemisk baserede, ikke-kemisk baserede og partikelbaserede metoder. I virale metoder benyttes forskellige virusser til transfektion.

CRISPR-Cas-teknologien har på kort tid fundet anvendelse til påvisning og behandling af genetiske sygdomme, kræft og infektionssygdomme (7,9). I det følgende gives nogle eksempler på dette.

GENETISKE SYGDOMME OG MISDANNELSER

Arvelige sygdomme kan være komplekse, men nogle af de almindeligste genetiske sygdomme skyldes mutationer i et enkelt gen. Fx Huntingtons sygdom, cystisk fibrose, seglcelleanæmi og Duchennes muskeldystrofi (DMD). DMD er en af de hyppigst forekommende arvelige muskelsygdomme. Genredigering med CRISPR-Cas kan udføres på forskellige måder. Seglcelleanæmi kan behandles ved at genredigere hæmatopoietiske eller progenitorceller *ex vivo*, mens man ved DMD behandler de myogene celler direkte, *in vivo* (10). Dette er eksempler på terapeutisk genregulering af somatiske celler (Fig. 1). Kønsceller kan også redigeres, så der opstår arvelige ændringer i ægceller, spermier og fostre. Dette gør man i dag med dyr og planter, mens anvendelse af denne genredigeringsteknologi hos mennesket er genstand for omfattende diskussion af de etiske aspekter, som endnu ikke er afklaret.

REGENERATION AF VÆV OG ORGANER

CRISPR-Cas kan benyttes til at studere gener, som fx kan være involveret i kraniofacial udvikling, herunder studier af, hvordan defekter opstår. Indtil nu er der stort set kun tale om prækliniske studier, hvor forskellige dyremodeller er taget i brug (11). I denne forskning tænker man også på muligheden for terapi med dannelse af nyt væv, så kraniofaciale defekter kan korrigeres med stamcellebehandling. Flere typer stamceller benyttes: pluripotente embryonale stamceller (ESCs) eller inducerede pluripotente stamceller (iPSCs). Vævsspecifikke mezenkymale stamceller (MSCs), som er påvist i alveoleknogle, parodontalligament og pulpa, har fået særlig opmærksomhed (Fig. 2). Genredigering af MSCs med CRISPR-Cas kan blive nyttige redskaber i behandling af kraniofaciale, orale/dentale og parodontale defekter (12,13).

CANCER

De fleste former for cancer er komplekse sygdomme, hvor flere gener er involveret i patogenesen. Der kan være flere mutationer, som fører til aktivering af onkogener og inaktivering eller ændring af tumorsuppressorgener. Et eksempel er mutationer i tumorsuppressorgen *p53*, som medfører, at cancerceller overlever og deler sig. Genet *p53* er et af de vigtigste cancergener og ses muteret ved omkring halvdelen af alle kræfttilfælde hos mennesket. Det er involveret i kontrol af cellecycelus, apoptose og opretholdelse af genetisk stabilitet. Små mængder *p53* protein (TP53 = TumorProtein *p53*) er til stede i celler under ▶

Terapeutisk genredigering med CRISPR-Cas

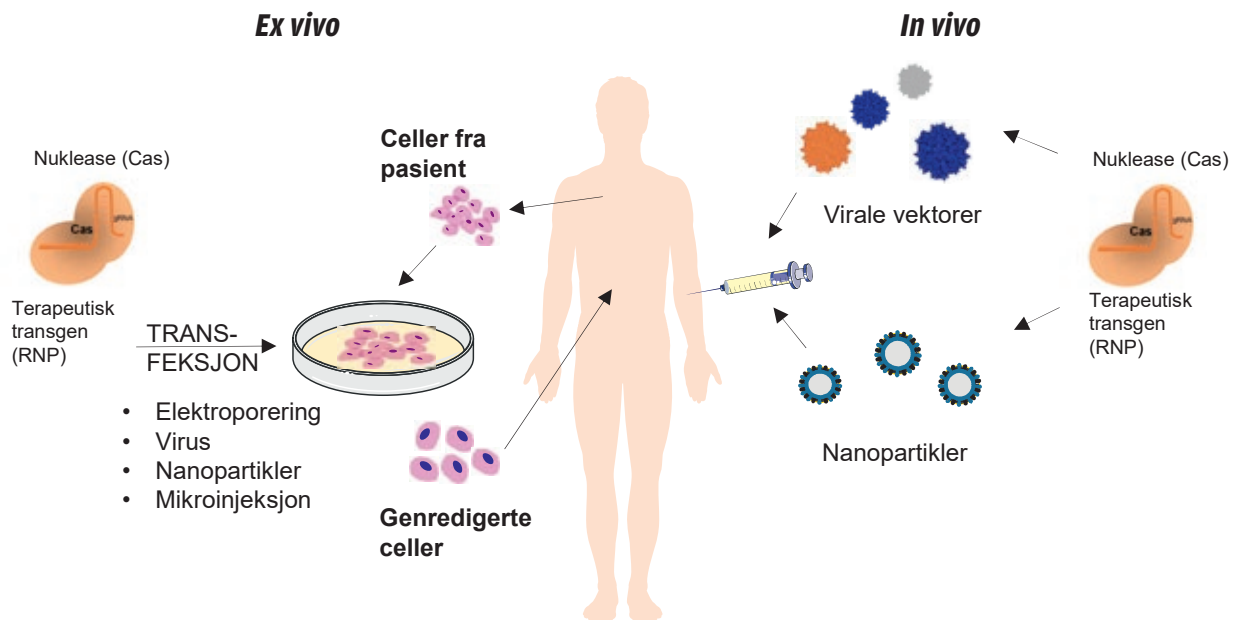


Fig. 1. Genredigering kan ske *ex vivo* eller *in vivo*. Celler isoleres fra patienten og bliver transficeret *ex vivo* med redigeringsværktøjet (gensaksen). Transfektion sker på forskellige måder, og genredigerede celler kan gives tilbage til patienten. Blodceller er typiske celler, som redigeres *ex vivo*, mens muskelceller kan behandles direkte *in vivo* ved hjælp af virus eller nanopartikler som leverancemetode.

Fig. 1. Therapeutic genome editing with CRISPR-Cas. Genome editing can take place *ex vivo* or *in vivo*. Cells are isolated from the patient and transfected *ex vivo* with the editing tool («gene scissors»). Transfection occurs in different ways and gene-edited cells can be returned to the patient. Blood cells are typical cells that are edited *ex vivo*, while muscle cells can be treated directly *in vivo* using viruses or nanoparticles as the delivery method.

normale forhold og bidrager til at begrænse de skader, som sker i cellerne. Forsøg med CRISPR-Cas9 har vist, at onkogener kan inaktiveres, og mutationer i tumorsuppressorgener kan repareres, så vækst af tumorceller standser. Terapeutisk genredigering er udfordrende (14-16).

Et af de klassiske kendetegn ved cancer ("hallmarks of cancer") er, at tumorceller på forskellig vis undgår at blive genkendt og angrebet af immunsystemet. Immunterapi med forøget T-cellerespons kan udføres ved, at T-lymfocytter isoleres fra blodet og genredigeres *ex vivo* til at udtrykke rekombinante kimære antigenreceptorer (chimeric antigen receptors = CAR). Cellerne, som føres tilbage til patienten, kaldes CAR T-celler; de vil binde sig til kræftceller og aktivere T-celler hos patienten. Dette kaldes CAR T-cellebehandling og har vist sig særlig vellykket til behandling af leukæmier og lymfomer; men der arbejdes videre med at etablere CAR T-cellebehandling af faste tumorer (16).

INFEKTIONER/INFLAMMATIONER – CARIES OG PARODONTITIS

Caries og parodontitis er blandt de hyppigst forekommende biofilmassocierede infektionssygdomme hos mennesket. Parodontitis er kompleks med inflammatoriske/immunologiske værtresponser, som også kan være associeret med systemiske lidelser.

Behandlingen kan være rettet mod bakterier, som er udløsende faktorer, og/eller direkte mod det inflammatoriske respons, som kan give vævsskade.

En række forskellige CRISPR-Cas-systemer er blevet identificeret i det orale mikrobiom (17). Hvis ligevægten (homeostasen) i det orale mikrobiom bliver forstyrret (dysbiose), kan uønskede mikroorganismer gøre skade, så sygdomme som fx caries og parodontitis opstår (18). Elimination af nøglebakteriearter som *Porphyromonas gingivalis* i en dysbiotisk oral biofilm kan give et bakteriesamfund i dynamisk ligevægt (Fig. 3A) og reducere eller hindre inflammation. Dette lyder måske enkelt; men flere typer af mikroorganismer og værtsrespons er aktuelle i patogenesen og gør komplekse sygdomme som parodontitis vanskelige at behandle.

Det vil nok være nødvendigt at inddrage flere strategier i behandlingen af parodontitis.

CRISPR-Cas i det orale mikrobiom

Det orale mikrobiom består af et stort antal forskellige bakteriearter. Det nøjagtige antal kendes ikke helt klart; men i litteraturen nævnes typisk 700-1.000 arter.

CRISPR-Cas-systemer er udbredt i orale mikrobiota (19,20). Bakterier, som associeres med caries og parodontitis, er særligt interessante. *Streptococcus mutans* danner syrer og ekstracellu-

lære polysakkarider (EPS), som er vigtige virulensfaktorer ved udvikling af caries. Genet *gtf* koder for enzymet glukosyltransferase, som laver EPS. Gong et al. (2018) genredigerede *gtf*, så syntesen af EPS blev nedsat. Dette kan være en metode til at påvirke (fjerne, reducere) *S. mutans* biofilm (21).

P. gingivalis er en anaerob Gram-negativ bakterie i subgingival biofilm og betegnes som et såkaldt "nøglepatogen" i udviklingen af parodontitis. Denne bakterie bidrager som nævnt til dysbiose. *P. gingivalis* associeres også med flere systemiske sygdomme. Disse relationer er komplekse; men inflammation er vigtig i denne sammenhæng. Der er påvist forskellige klasser og typer af CRISPR-Cas-systemer i *P. gingivalis* (22,23). CRISPR-Cas ser ud til at forøges ved parodontitis; men det er endnu uklart, hvilken betydning dette har for sygdomsudviklingen (se nedenfor). Genredigering med henblik på at fjerne *P. gingivalis*

Klinisk relevans

Anvendelse af CRISPR-Cas-teknologi vil direkte og indirekte få stor betydning for fremtidens prækliniske og kliniske odontologi. CRISPR-Cas vil være redskaber i studier af sygdomme, give hurtigere og bedre diagnostik og indgå i udvikling af effektive medikamenter til behandling af sygdom. Eksempelvis er behandling af forskellige kræftformer og infektioner under udvikling. Regeneration af væv og organer og fremstilling af nye biomaterialer vil også nyde godt af den nye teknologi. CRISPR-Cas-teknologi vil sammen med andre molekylærbioologiske indsigter og applikationer, der muliggør hurtig og præcis helgenom-sekventering, gøre præcisionsmedicin til en realitet om få år.

Anvendelse af CRISPR-Cas i regeneration af væv og organer

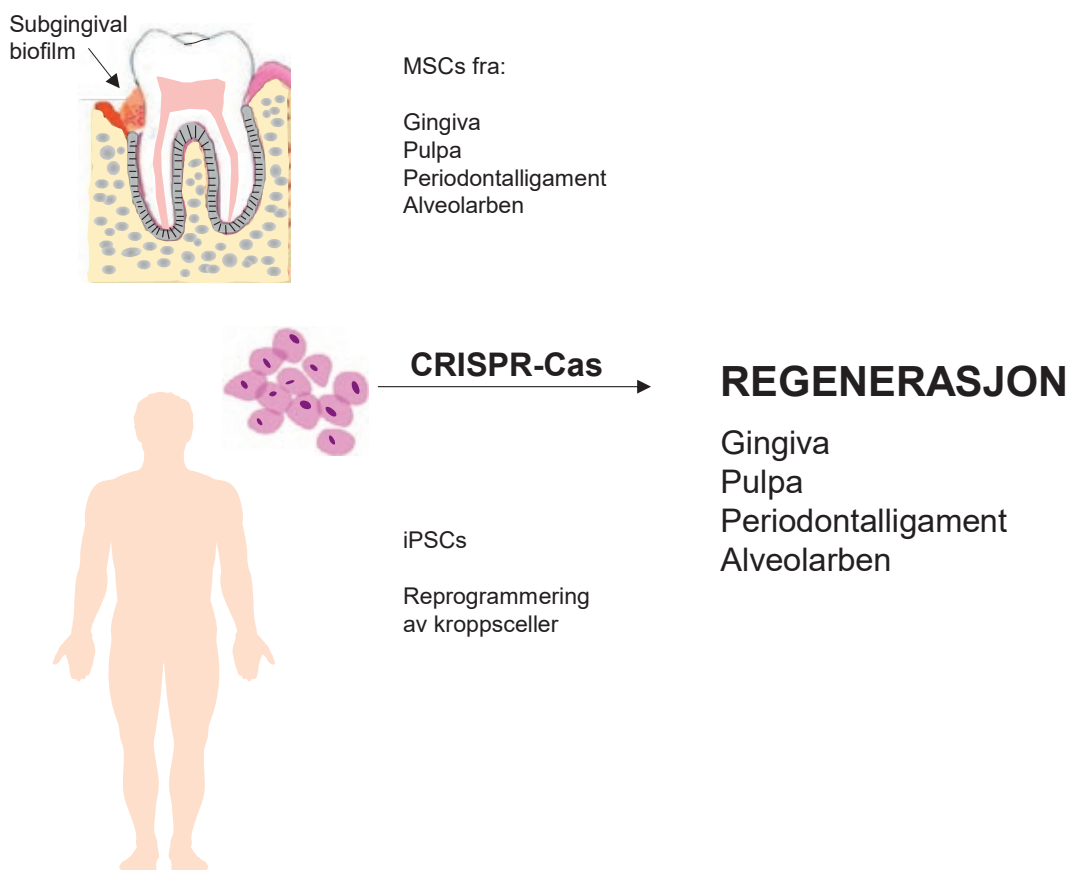


Fig. 2. Vævsspecifikke mesenkymale stamceller (MSCs) kan isoleres fra oralt væv og genredigeres. Andre kroppsceller kan reprogrammeres, så de bliver inducerede pluripotente stamceller (iPSCs), der også kan genredigeres og benyttes til regeneration. Denne forskning er i en tidlig fase, hvor CRISPR-Cas er vigtige redskaber. Man anvender dyremodeller for at forstå, hvordan væv og organer udvikles og differentieres. På sigt kan denne viden benyttes i behandling af fx kraniofaciale defekter og i regeneration af forskellige orale væv og strukturer.

Fig. 2. Use of CRISPR-Cas in tissue and organ regeneration. Tissue-specific mesenchymal stem cells (MSCs) can be isolated from oral tissue and genetically modified. Other body cells can be reprogrammed to induce pluripotent stem cells (iPSCs) that can also be genetically modified and used for regeneration. This research is at an early stage where CRISPR-Cas is an important tool. Animal models are used to understand how tissues and organs are developed and differentiated. In the long run, this knowledge can be used in the treatment of e.g. craniofacial defects and in the regeneration of various oral tissues and structures.

kan blive en del af terapien mod parodontitis og andre associerede sygdomme i fremtiden (Fig. 3A og B).

CRISPR-Cas som redskab i immunmodulering

CRISPR-Cas9 er et af de redskaber, man har benyttet til at afmontere eller fjerne gener i modelorganismer (fx dyremodeller med mus). Flere typer af CRISPR-Cas kan påvirke molekyler/signalstoffer i de reaktionsveje i kropsceller, som er knyttet til inflammation. Dette kan være molekyler, som øger eller hæmmer inflammation eller kan have andre effekter i patogenesen. Detaljeret viden om dette kan danne grundlag for målrettet og persontilpasset behandling (præcisionsmedicin) af sygdomme som parodontitis, på engelsk kaldet "precision periodontics" (24,25).

ANTIMIKROBIELLE MIDLER

Antimikrobiel resistens (AMR) er et stigende problem globalt. Selv almindelige bakterieinfektioner, som hidtil har været enkle

at behandle, kan blive umulige at kurere, hvis der udvikles AMR mod de midler, vi har til rådighed i dag. Behovet for nye og effektive antimikrobielle midler er uhyre stort.

Der bliver brugt forskellige strategier til udvikling af nye antimikrobielle midler (26,27). Eksempler på næste generation af antimikrobielle midler kan være peptider (syntetiske og naturlige), bakteriofagterapi, bakteriociner (giftstoffer lavet af bakterier) og antistoffer; men særligt lovende er nukleinsyrebaseerede antimikrobielle midler, som udvikles på baggrund af CRISPR-Cas-teknologien. CRISPR-Cas er yderst interessant og vigtig, fordi bakterier med AMR kan fjernes selektivt. En udfordring er at finde ud af, hvordan CRISPR-Cas bedst kan fragtes ind til målet, dvs. ind i bakterien. Bakteriofager kan benyttes (Fig. 3B); men der stilles også store forventninger til anvendelse af nanopartikler til transport af andre specifikke lægemidler (28).

CRISPR-Cas-systemer kan også konstrueres, så specifikke patogene genotyper eller epidemiologiske isolater bliver elimi-

Elimination af patogene bakterier og bekæmpelse af antimikrobiel resistens

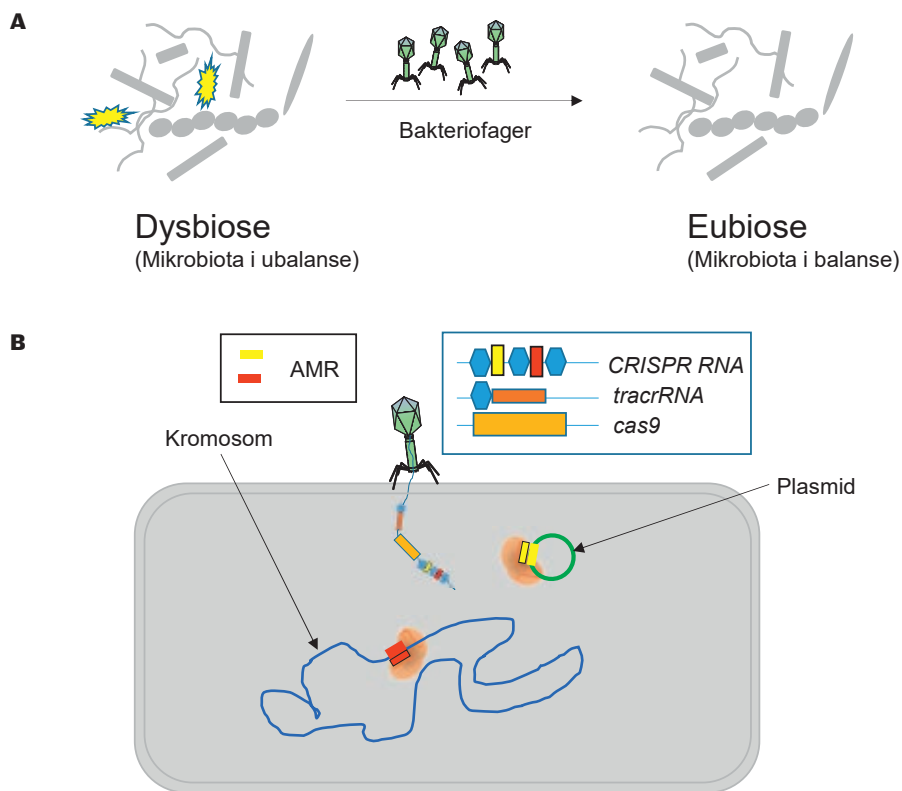


Fig. 3. A. Ved orale lidelser som caries og parodontitis vil der være ubalance (dysbiose) i bakteriesammensætningen i biofilmen. For at oprette balance (eubiose) kan aktuelle patogene mikroorganismer (gule) fjernes selektivt med CRISPR-Cas-redigerede bakteriofager. **B.** Bakteriofager kan også redigeres med CRISPR-Cas, så andre uønskede bakterier fjernes. Dette kan især benyttes mod bakterier med antimikrobiel resistens (AMR). AMR kan være kodet fra bakteriekromosomet (blåt) eller på et plasmid (grønt).

Fig. 3. A. In the case of oral disorders such as caries and periodontitis, there will be an imbalance (dysbiosis) in the bacterial composition of the biofilm. To establish balance (eubiosis), relevant pathogenic microorganisms (yellow) can be selectively removed with CRISPR-Cas edited bacteriophages. **B.** Bacteriophages can also be edited with CRISPR-Cas to remove other unwanted bacteria. This can be used especially against bacteria with antimicrobial resistance (AMR). AMR may be encoded from the bacterial chromosome (blue) or on a plasmid (green).

neret med programmeret bakteriedød (29). Dermed kan man undgå at bruge bredspektrede antibiotika og opretholde en beskyttende kommensal mikroflora (eubiose) (30,31).

ETISKE ASPEKTER

Værktøjerne til genredigering er blevet så kraftige og effektive, at etiske forskrifter er nødvendige. Bekymringerne er særligt store, når det gælder ændringer i arvematerialet i fostre og kønsceller, fordi sådanne ændringer nedarves. "Designer babies", hvor forældrene kan vælge egenskaber på det barn, der skal fødes, er absolut mulige. Det kan dreje sig om køn, farve på øjne, hår og hud, intelligens, højde m.m. Eksperter og ansvarlige myndigheder og organisationer globalt (International Summit on Human Genome Editing) fraråder og fordømmer, at genredigering bruges på denne måde. Genredigering på fostre og kønsceller kan alligevel forekomme i forskningsojemed, beskrevet som en "translational pathway" (32).

Vi ser allerede nu, hvilken betydning terapeutisk genredigering har og vil få for kliniske anvendelser. Værktøj og metoder bliver stadig bedre og sikrere. Genredigering af somatiske cel-

ler *ex vivo* eller *in vivo* ved behandling af forskellige sygdomme vil få stor betydning.

KONKLUSIONER

Det er næsten utroligt, at udviklingen af nye værktøjer til genredigering er sket så hurtigt og har fundet anvendelse i så mange sammenhænge. Nye og mere præcise CRISPR-Cas-værktøjer bliver udviklet. Ud over redigering af gener ved at klippe i dobbeltrådet DNA kan nye værktøjer ændre byggekodserne, baserne i DNA, og regulere gener, så de kan skrues af/undertrykkes eller skrues på/aktiveres eller tilføje nye egenskaber med stor præcision.

Vi kan forvente, at det høje tempo i CRISPR-Cas-forskningen vil give ny viden om patogenese, diagnostik og behandling af en række sygdomme i de kommende år. ♦

Illustrationer er delvis udformet med Servier Medical Art templates, som er på licens under Creative Commons Attribution 3.0 Unported License; <https://smart.servier.com>.

ABSTRACT (ENGLISH)

CRISPR-CAS: ACTUAL AND POSSIBLE APPLICATIONS IN ODONTOLOGY

The Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)-Cas system was first discovered and described as adaptive immunity in prokaryotic organisms. CRISPR-Cas provides protection against bacteriophages, plasmids and transposons by incorporating short DNA sequences that previously infected, into the genome of the prokaryotic organisms. Bacteriophages are recognized and destroyed by nucleases upon reinfection. The technology was

further developed into an effective tool for genome editing of eukaryotic organisms. And now, just a few years after the discovery, this tool is suitable to be used in many applications. Therapeutic genome editing, regenerative medicine, cancers, infectious diseases, diagnostics and vaccine development are relevant medical areas. All disciplines in the life sciences will use these tools. However, there are many unsolved problems that require the tools to be further improved so that they can be delivered in a safe way to the cells and tissues for which CRISPR-Cas will be used.

LITTERATUR

1. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012;337:816-21.
2. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 2014;346:1258096.
3. Gaj T, Gersbach CA, Barbas III CF. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol* 2013;31:397-405.
4. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 2007;315:1709-12.
5. Makarova KS, Wolf YI, Iranzo J et al. Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: A burst of class 2 and derived variants. *Nat Rev Microbiol* 2020;18:67-83.
6. Hille F, Richter H, Wong SP et al. The biology of CRISPR-Cas: Backward and forward. *Cell* 2018;72:1239-59.
7. Haasteren van J, Li J, Scheideler OJ et al. The delivery challenge: Fulfilling the promise of therapeutic genome editing. *Nat Biotechnol* 2020;38:845-55.
8. Yip BH. Recent advances in CRISPR/Cas9 delivery strategies. *Biomolecules* 2020;10:839.
9. Araldi RP, Khalil C, Grignet PH et al. Medical applications of clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR/Cas) tools: A comprehensive overview. *Gene* 2020;745:144636.
10. Doudna JA. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature* 2020;578:229-36.
11. Yu N, Yang J, Mishina Y et al. Genome editing: A new horizon for oral and craniofacial research. *J Dent Res* 2019;98:36-45.
12. Buduru SD, Gulei D, Zimta A-A et al. The potential of different origin stem cells in modulating oral bone regeneration processes. *Cells* 2019;8:29.
13. Zheng C, Chen J, Liu S et al. Stem cell-based bone and dental regeneration: A view of microenvi- ▶

- ronmental modulation. *Int J Oral Science* 2019;11:23.
14. Zeballos MA, Gaj T. Next-generation CRISPR technologies and their applications in gene and cell therapy. *Trends Biotechnol.* (Set 2021 april). Tilgængelig fra: URL: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.10.010>.
 15. Cox DBT, Platt JP, Zhang F. Therapeutic genome editing: Prospects and challenges. *Nat Med* 2015;21:121-31.
 16. Azangou-Khyavy M, Ghasemi M, Khanali J et al. CRISPR/Cas: From tumour gene editing to T cell-based immunotherapy of cancer. *Frontier Immunol* 2020;11:2062.
 17. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: Dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol* 2018;16:745-59.
 18. Gong T, Zeng J, Tang B et al. CRISPR-Cas systems in oral microbiome: From immune defense to physiological regulation. *Mol Oral Microbiol* 2020;35:41-8.
 19. Rho M, Wu Y-W, Tang H et al. Diverse CRISPRs evolving in human microbiomes. *PLoS Genet* 2012;8:e1002441.
 20. Münch PC, Franzosa EA, Stecher B et al. Identification of natural CRISPR systems and targets in the human microbiome. *Cell Host Microbe* 2021;29:94-106.
 21. Gong T, Tang B, Zhou X et al. Genome editing in *Streptococcus mutans* through self-targeting CRISPR arrays. *Mol Oral Microbiol* 2018;33:440-9.
 22. Burmistrz M, Dudek B, Staniec D et al. Functional analysis of *Porphyromonas gingivalis* W83 CRISPR-Cas systems. *J Bacteriol* 2015;197:2631-41.
 23. Chen T, Olsen I. *Porphyromonas gingivalis* and its CRISPR-Cas system. *J Oral Microbiol* 2019;11:1638196.
 24. Barbour A, Glogauer J, Grinfeld L et al. The role of CRISPR-Cas in advancing precision periodontics. *J Periodont Res* 2021;00:1-8. (Set 2021 april). Tilgængelig fra: URL: <https://doi.org/10.1111/jre.12846>
 25. Moghadam F, LeGraw R, Velazquez JJ et al. Synthetic immunomodulation with CRISPR super-repressor in vivo. *Nat Cell Biol* 2020;22:1143-54.
 26. de la Fuente-Nunez C, Torres MDT, Mojica FJM et al. Next-generation precision antimicrobials: towards personalized treatment of infectious diseases. *Curr Opin Microbiol* 2017;37:95-102.
 27. Porteus MH. A new class of medicines through DNA editing. *N Engl J Med* 2019;380:947-59.
 28. Verma R, Sahu R, Sing DD et al. A CRISPR/Cas9 based polymeric nanoparticles to treat/inhibit microbial infections. *Semin Cell Dev Biol* 2019;96:44-52.
 29. Beisel CI, Gomaa AA, Barrangou R. A CRISPR design for next-generation antimicrobials. *Genome Biol.* 2014;15:516.
 30. Kiga K, Tan X-E, Ibarra-Chávez R et al. Development of CRISPR-Cas13a-based antimicrobials capable of sequence-specific killing of target bacteria. *Nature Communications* 2020;11:2934.
 31. Pursey E, Sünderhauf D, Gaze WH et al. CRISPR-Cas antimicrobials: Challenges and future prospects. *PLoS Pathogens* 2018;14:e1006990
 32. NATIONAL ACADEMICS OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, 2nd ed. International Summit on Human Genome Editing: Continuing the Global Discussion – in Brief. Washington, DC: The National Academies Press, 2019. (Set 2021 april) Tilgængelig fra: URL: doi: <https://doi.org/10.17226/25343>