

La necesidad de prospectiva y evaluación de la tecnología para abordar la ingeniería genética en evolución

Eva Sirinathsinghji y Lim Li Ching

Introducción

La gobernanza y la regulación de las ciencias de la vida y la agricultura van a la zaga de las innovaciones técnicas y de nuestra comprensión de la ciencia que sustenta las tecnologías de ingeniería genética. Estas tecnologías, principalmente en forma de técnicas transgénicas, se comercializaron por primera vez hace casi tres décadas, pero aun son pocas las técnicas que han llegado al mercado. Con los avances de la ciencia y la tecnología, la industria está intentando explorar nuevas técnicas de ingeniería genética que puedan ampliar el alcance, la aplicabilidad y la profundidad de su intervención.

Las nuevas técnicas de ingeniería genética están evolucionando más allá del alcance actual de las definiciones legales, la gobernanza del riesgo y los mecanismos de consentimiento. Las intervenciones se dirigen cada vez más hacia proyectos que abarcan todo el ecosistema en materia de cultivos, salud humana, clima y conservación de la biodiversidad (Greiter et al., 2022; Heinemann, 2019; Sirinathsinghji, 2019). Estos avances a nivel técnico plantean nuevos riesgos de bioseguridad que urgentemente necesitan metodologías de evaluación y reglamentos actualizados para abordar las importantes lagunas de conocimiento en materia de bioseguridad y los crecientes niveles de incertidumbre sobre cómo estas tecnologías afectarán a la biodiversidad y a la salud humana.

Además, también es necesario un escrutinio exhaustivo de sus posibles limitaciones para aliviar los problemas sociales que supuestamente abordan, y que los organismos vivos modificados (OVM) ya existentes no han podido combatir. De hecho, muchas de las preocupaciones originales planteadas sobre la comercialización de OVM se han confirmado, incluidos los problemas de eficacia y los efectos agronómicos y ecológicos no deseados que resultan en repetidas pérdidas de cosechas y daños económicos, en particular para los pequeños agricultores (ver, por ejemplo, ENSSER, 2021; Kranthi & Stone, 2020; Luna & Dowd-Urbe, 2020; Wilson, 2021). Mientras se desarrollan nuevas tecnologías para abordar los problemas que los OVM de primera generación no pudieron resolver, sus defensores vuelven a exagerar los beneficios potenciales y a hacer afirmaciones genéricas sobre la seguridad.

La **Red del Tercer Mundo (Third World Network, TWN)** es una organización internacional independiente de investigación y cabildeo, sin ánimo de lucro, que se dedica a lograr una mejor expresión de las necesidades, aspiraciones y derechos de los pueblos del Sur y a promover un desarrollo justo, equitativo y ecológico.

Publicado por Third World Network Berhad (198701004592 (163262-P))

Dirección: 131 Jalan Macalister, 10400 Penang, MALASIA **Tel:** 60-4-2266728/2266159 **Fax:** 60-4-2264505

Email: twn@twnnetwork.org **Sitio web:** www.twn.my

El contenido de esta publicación puede ser republicado o reutilizado gratuitamente para fines no comerciales, salvo que se indique lo contrario. Esta publicación se distribuye bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0.

En este contexto, es imperativo que el análisis prospectivo y la evaluación de la tecnología sean plenamente operativos para proteger la biodiversidad y la salud humana de las nuevas tecnologías de ingeniería genética, incluida la biología sintética, que aún no se entienden del todo y que actualmente son difíciles, si no imposibles, de controlar, revertir o retirar del medio ambiente tras su liberación.

Debates en el marco del CDB

Las Partes en el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) ya tienen la obligación, en virtud del artículo 7, de identificar y vigilar los procesos y actividades que tengan o puedan tener efectos adversos significativos en la conservación y la utilización sostenible de la diversidad biológica, y de vigilar sus efectos. También tienen la obligación, en virtud del artículo 14, de evaluar los impactos de los proyectos, programas y políticas que puedan tener efectos adversos significativos sobre la diversidad biológica. Estas obligaciones de los tratados pueden ponerse en práctica a través de la prospectiva, el seguimiento, y la evaluación de la tecnología, respectivamente.

La prospectiva (*horizon scanning*, en inglés) se entiende como el relevamiento de la literatura y la investigación existentes, incluidas las propuestas en trámite para desarrollos futuros, de manera de identificar y rastrear los nuevos desarrollos, así como para anticipar los posibles efectos adversos. Esto también proporcionará la información necesaria para adaptar las metodologías de evaluación y gestión de riesgos que puedan ser necesarias a la luz de la naturaleza evolutiva de la ingeniería genética (Greiter et al., 2022).

La evaluación de la tecnología es un enfoque bien establecido que integra la evaluación del riesgo en una perspectiva social más amplia (Greiter et al., 2022). Esto es importante, ya que las tecnologías no sólo tienen repercusiones en el medio ambiente o la salud humana, sino también implicaciones socioeconómicas, culturales y éticas. En el contexto del CDB y su Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, en el que se reconoce explícitamente el papel de los pueblos indígenas y las comunidades locales en la custodia de la biodiversidad, así como el valor de la misma para ellos, estos aspectos revisten especial importancia.

En los debates sobre la biología sintética, las Partes del CDB ya acordaron en 2018 en la Decisión 14/19 que “se necesita una exploración del horizonte, una supervisión y una evaluación amplias y periódicas de los avances tecnológicos más recientes para examinar la nueva información relativa a los posibles impactos positivos y negativos de la biología sintética en relación con los tres objetivos del Convenio y los del Protocolo de Cartagena y el Protocolo de Nagoya”.

Las negociaciones actuales sobre el punto del orden del día relativo a la biología sintética versan sobre el establecimiento de un proceso de prospectiva, seguimiento y evaluación, incluida la creación o no de un grupo multidisciplinario de expertos para llevar a cabo las tareas. Todo ello está aún por acordar.

Al mismo tiempo, las Partes del CDB están negociando actualmente el Marco Global de Biodiversidad (MGB) posterior a 2020, que aborde la aplicación del CDB hasta 2030, tal y como reclaman los objetivos y metas. Las actuales metas 17 y 19.2 contienen propuestas para la prospectiva, el seguimiento y la evaluación, y éstas deben ser apoyadas para garantizar que el Marco se adapte a su propósito, permitiendo que se revisen los rápidos y acelerados desarrollos de las nuevas tecnologías de ingeniería genética, y que se anticipen, supervisen y evalúen sus potenciales efectos adversos.

Además, un texto reclamando acceso a la tecnología y su transferencia debería incluir la noción de prospectiva, seguimiento y evaluación del horizonte tecnológico, de modo que cualquier tecnología que se transfiera esté sujeta a este proceso. Esto contribuirá a garantizar que sólo las tecnologías adecuadas, socialmente aceptables y respetuosas con el medio ambiente sean accesibles y transferidas.

Este documento ofrece algunos ejemplos de los nuevos avances en ingeniería genética – motores genéticos, virus modificados genéticamente y ARN de interferencia – para demostrar por qué la prospectiva y la evaluación de la tecnología son urgentemente necesarias.

Tecnologías de impulso genético

Las tecnologías de impulsores genéticos son una forma de ingeniería genética diseñada para sesgar la herencia del rasgo manipulado de manera que la mayoría, si no toda, la descendencia herede el rasgo, con el objetivo de “impulsarlo” rápidamente en una población. Se han propuesto varias aplicaciones, siendo las más avanzadas y promovidas los mosquitos impulsores de genes que pretenden reducir la carga de enfermedades transmitidas por vectores, como la malaria o el dengue. El proyecto Target Malaria pretende utilizar los impulsores genéticos para eliminar las poblaciones de mosquitos (supresión de la población) mediante la propagación de rasgos de infertilidad o de género, mientras que otros proyectos pretenden alterar la transmisión (modificación de la población) de patógenos de enfermedades a los seres humanos. También se prevén aplicaciones agrícolas, como la eliminación de plagas, y de conservación, como la eliminación de especies invasoras (CSS et al., 2019).

Se están desplegando varios mecanismos moleculares para lograr la característica impulsora, siendo el más común el uso de tecnologías de edición del genoma, como los sistemas CRISPR. Estos se incorporan al organismo impulsor del gen para llevar a cabo la ingeniería genética “en vivo” dentro de los organismos silvestres, “cortando y pegando” el ADN transgénico en cada generación a perpetuidad. Descrito como la transferencia del laboratorio al campo (Simon et al., 2018), en lugar de que la ingeniería genética se lleve a cabo en el laboratorio donde, en teoría, puede ser evaluada por cuestiones de bioseguridad, el proceso de ingeniería continua significa que un efecto no deseado no puede ser descartado antes de la liberación.

Los efectos no deseados a nivel molecular de las técnicas de edición del genoma como las desplegadas para los impulsores genéticos han sido ampliamente documentados. Entre ellos se encuentran los efectos *on-target* y *off-target*, la producción de nuevas proteínas y los impactos celulares (por ejemplo, véase Agapito-Tenfen et al., 2018; Biswas et al., 2020; Brunner et al., 2019; GeneWatch UK, 2021; Ihry et al., 2018; Kawall, 2019; Norris et al., 2020; Ono et al., 2019; Skryabin et al., 2020; Tuladhar et al., 2019), con efectos de nueva generación (Zhang et al., 2018). Estos efectos no deseados pueden seguir produciéndose o acumularse tras la liberación, y propagarse con consecuencias desconocidas en lo que respecta a su interacción con el medio ambiente, los patógenos o los seres humanos que puedan estar expuestos a los organismos impulsores de genes y a cualquier patógeno que contengan. Los impactos evolutivos de estos efectos de nueva generación son completamente desconocidos y plantean nuevos retos a las metodologías de evaluación de riesgos, como concluyó el Grupo Especial de Expertos Técnicos (GEET) en Evaluación y Gestión de Riesgos del Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología (GEET, 2020).

A diferencia de los OVM existentes, los impulsores genéticos están diseñados para propagarse y persistir. Se desconocen las consecuencias ecológicas de esto, como por ejemplo, cualquier impacto potencial en las redes alimentarias más amplias del organismo objetivo, o en los organismos no objetivo que están conectados a través del flujo de genes con el propio organismo objetivo. Los efectos ecológicos pueden tardar décadas en hacerse visibles y son muy difíciles de estudiar. El uso de impulsores genéticos para eliminar especies invasoras puede tener efectos perjudiciales inesperados si se han incorporado roles funcionales dentro de los ecosistemas (Lim & Traavik, 2007; Sirinathsinghji, 2020). Tales intervenciones también introducen el riesgo de que se propaguen al organismo objetivo dentro de su área de distribución nativa, con un daño ecológico potencialmente grave.

En los debates sobre enfermedades tampoco se han tenido suficientemente en cuenta los posibles efectos negativos de las nuevas aplicaciones sobre la epidemiología de las enfermedades. Se desconoce cómo puede repercutir en la transmisión de enfermedades cualquier efecto no deseado o no previsto, y es difícil de evaluar antes de la liberación (Beisel y Boëte, 2013; Sirinathsinghji, 2020). Por ejemplo, la forma en que las modificaciones pueden alterar la transmisión de enfermedades o la patogenicidad del patógeno objetivo (o no objetivo), en particular con los impulsos de modificación de la población que ejercerán presión sobre los patógenos para evolucionar en torno al rasgo modificado. Lo más importante es que estos riesgos, tal y como reconocen parcialmente los desarrolladores (James et al., 2020), no pueden evaluarse exhaustivamente en el laboratorio. Además, la capacidad de los vectores para transmitir enfermedades está mediada por factores ambientales más amplios, por ejemplo, los simbiosis bacterianos en los mosquitos. El impacto del

proceso de ingeniería genética sobre estos factores es muy incierto. Además, sigue siendo cuestionable si los impulsores genéticos tendrán un impacto positivo en la epidemiología de la enfermedad, incluso si son capaces de reducir el número de mosquitos.

Por último, los impulsores genéticos son actualmente irreversibles, y no hay estrategias existentes para recuperar, revertir o mitigar la liberación de un impulsor genético. Aunque existen propuestas para liberar sistemas de accionamiento mitigadores en respuesta a un accionamiento genético que vaya mal, éstas sólo añaden incertidumbre y complejidad, con investigaciones que han demostrado recientemente efectos genéticos no deseados con algunas técnicas en moscas de laboratorio (Xu et al., 2020). La forma en que los diferentes elementos genéticos interactúan una vez que se liberan múltiples sistemas en el medio ambiente, con el desarrollo continuo de nuevos sistemas de accionamiento genético, añade aún más incertidumbre y complejidad que justifican la perspectiva para monitorear continuamente tales desarrollos. También se están produciendo nuevos avances en los sistemas bacterianos con aplicaciones para abordar la resistencia a los antibióticos y las infecciones bacterianas, aprovechando los procesos naturales de transferencia horizontal de genes en las bacterias. Hasta ahora, estos desarrollos han recibido poca atención, pero requieren un mayor seguimiento.

Se necesita una evaluación de la tecnología que incorpore no sólo la bioseguridad, sino también consideraciones de idoneidad, éticas y políticas. Las cuestiones relativas al consentimiento, en particular la obtención del consentimiento libre, previo e informado de los pueblos indígenas y comunidades locales potencialmente afectados, son fundamentales y forman parte de los debates más amplios sobre los impulsores genéticos. Los determinantes sociales, políticos y comerciales de la enfermedad deben tenerse en cuenta al sopesar los posibles costes y beneficios de las aplicaciones de impulsores genéticos. Centrarse exclusivamente en el control de vectores puede suponer el riesgo de marginar factores determinantes de la salud, como el fortalecimiento de los sistemas sanitarios, el acceso a los tratamientos, la mitigación de la pobreza y las intervenciones sanitarias más amplias, que deberían incorporarse a los debates sobre la evaluación de la tecnología.

Virus modificados genéticamente

Se están realizando esfuerzos para diseñar genéticamente virus para una amplia gama de aplicaciones agrícolas y sanitarias (Greiter et al., 2022; Lentzos et al., 2022; Reeves et al., 2018). El uso de virus representa algunas de las aplicaciones en desarrollo de ingeniería ambiental más recientes y agresivas. Los virus modificados genéticamente que son capaces de propagarse en el medio ambiente plantean una serie de retos para la evaluación de riesgos y los protocolos de consentimiento actuales.

Los virus pueden propagarse con rapidez, infectar a numerosas especies de huéspedes y evolucionar rápidamente para alterar sus características, como una mayor transmisibilidad, o para encontrar nuevas especies de huéspedes. Cómo realizar una evaluación precisa antes de la liberación, cuando se prevén estos efectos de nueva generación, es un reto fundamental. Las aplicaciones son amplias e incluyen el uso de virus para entregar maquinaria de edición del genoma a las especies de plantas, denominados “agentes de alteración genética ambiental horizontal” (HEGAA, por su sigla en inglés), el uso de virus como vacunas que se auto-difundan en la naturaleza y el uso de los propios virus para alterar rasgos de las plantas.

En el ámbito de la agricultura, la Agencia de Proyectos de Investigación Avanzada de Defensa (DARPA) de Estados Unidos está financiando el proyecto HEGAA denominado Insect Allies (Insectos Aliados). Este proyecto planea utilizar insectos como vectores para entregar virus genéticamente modificados directamente a los campos de cultivo, para modificar esos cultivos, potencialmente mediante maquinaria de edición del genoma (Sirinathsinghji, 2019). Los objetivos declarados son proteger los sistemas de cultivo estadounidenses de posibles amenazas naturales o manipuladas. Sin embargo, el proyecto parece ir más allá de la modificación del sistema alimentario estadounidense, ya que está trabajando también en cultivos que son básicos en los países en desarrollo, como la yuca y el frijol caupí. Aunque el proyecto afirma que el objetivo es crear alteraciones transitorias que no sean heredables, se ha demostrado que los virus utilizados infectan las células germinales y, por tanto, generan modificaciones heredables.

También se están financiando vacunas auto-propagables, como un proyecto de la DARPA destinado a desarrollar vacunas virales para su uso en roedores con el fin de evitar el contagio del virus de la fiebre de Lassa a las personas (Lentzos et al., 2022). Este tipo de aplicación plantea retos adicionales en torno al consentimiento y a quién toma la decisión de liberarlas, teniendo en cuenta el potencial de propagación, incluso transfronteriza. Los proyectos de investigación académica también están trabajando en el uso de mosquitos para difundir vacunas virales. Aunque estos “vacunadores voladores” se han previsto para las personas (Shinzawa et al., 2022), los problemas evidentes relacionados con la incapacidad de controlar la exposición pueden resultar en que una aplicación de este tipo se centre en el ganado.

Estos desarrollos ejemplifican la amplia gama de aplicaciones que se están desarrollando y la necesidad crítica de prospectiva y evaluación de la tecnología. Dado el alto grado de complejidad de los virus y la falta de conocimientos que los rodean, así como el potencial de propagación mundial, es necesario realizar una prospectiva y evaluación urgentes de la tecnología. Esto ayudará a garantizar que dichas aplicaciones no se cueelen a través de la red reguladora sin un análisis, una evaluación y un debate social exhaustivos.

Tecnologías de interferencia de ARN

Las tecnologías de interferencia de ARN (ARNi) se están desarrollando ahora como productos externos que pueden utilizarse en diversas aplicaciones, desde pulverizaciones de plaguicidas hasta aditivos para la alimentación animal, pasando por productos de conservación de alimentos después de la cosecha (Heinemann y Walker, 2019). A diferencia de los cultivos OVM ya comercializados que llevan transgenes que codifican para moléculas de ARNi, se están desarrollando moléculas sintéticas de ARNi para su aplicación directa en los organismos.

El ARNi es un proceso celular natural que funciona como un sistema regulador de genes para desactivarlos (y a veces activarlos) en las células. Secuestrando el proceso, los científicos pueden activar este proceso en los organismos utilizando moléculas sintéticas de ARN de interferencia que son específicas de la secuencia de un gen diana, que pasan a bloquear la traducción de un gen en una proteína, por ejemplo, una que es esencial para la supervivencia, y que por tanto ejerce una actividad insecticida, en el caso de los aerosoles de pesticidas.

El proceso de ARNi no se comprende del todo, ya que sus creadores afirman que los efectos de la ARNi y los rasgos ejercidos son transitorios y no se transmiten a la siguiente generación. Sin embargo, hay pruebas bien establecidas de que los efectos del ARNi pueden heredarse, a través de múltiples mecanismos, y los propios desarrolladores han presentado patentes para la descendencia de los organismos expuestos a los productos de ARNi. Por ello, la exposición de los organismos – tanto el objetivo como todos los otros organismos desconocidos que no son el objetivo – a las pulverizaciones foliares de ARN ha sido descrita como ingeniería ambiental que implica, más que la liberación de OVM, la liberación de un producto que puede producir OVM tras la exposición. Dicho proceso no está controlado, y puede potencialmente exponer a agroecosistemas enteros.

Existen importantes riesgos y lagunas de conocimiento sobre esta tecnología y sus posibles impactos en la biodiversidad. La RNAi está asociada a efectos no deseados, ya que puede silenciar genes distintos del objetivo, y también en organismos no objetivo, como ya se ha documentado en el caso de los cultivos OVM que expresan RNAi (Baum et al., 2007). Siguen existiendo importantes lagunas de conocimiento en nuestra capacidad para responder a cuestiones fundamentales como qué especies podrían estar expuestas, cuáles son sus secuencias genómicas o cuán similares son los genomas de los organismos no objetivo a los de los organismos objetivo. Si bien se sabe que algunas especies de ARN son inestables, se ha demostrado que los ARN de doble cadena (ARNd) sobreviven a la digestión por parte de los mamíferos y pueden ejercer efectos en los organismos, incluidas las personas, que los consumen. Además, se están desarrollando productos sintéticos de ARNi para que sean más estables y persistentes en el medio ambiente con, por ejemplo, el uso de nanopartículas, con el fin de mejorar la eficacia.

Su desarrollo está suscitando controversia sobre cómo pueden ser regulados, ya que los organismos modificados por tecnologías de ARNi podrían quedar excluidos de ser definidos como OVM. A pesar de la falta de reglamentación, parece que hay productos que se dirigen al mercado, como los pesticidas en aerosol, los productos que confieren un sesgo de género en los mariscos, los aditivos para piensos destinados a los mariscos y los patógenos de las abejas. Por lo tanto, se necesita urgentemente una prospectiva y una evaluación de la tecnología para estar al día con una tecnología cuyo desarrollo comercial ha superado cualquier evaluación del riesgo potencial.

Conclusión

Las tecnologías de ingeniería genética y sus aplicaciones están evolucionando rápidamente. Sin embargo, sus defensores las enmarcan como seguras, necesarias o incluso como si estuvieran fuera de las definiciones de OVM, en varios intentos de evitar el escrutinio requerido para proteger contra los riesgos potenciales para la biodiversidad. Las técnicas emergentes, como la edición del genoma que se está aplicando a los cultivos, las tecnologías de impulso genético, los virus modificados genéticamente, los HEGAA y otras, plantean una plétora de riesgos y efectos no deseados, que ya se reconocen notablemente en los campos biomédicos (Burgio & Teboul, 2020; Ledford, 2020; National Academy of Medicine (U.S.) et al., 2020).

No obstante, los proponentes pretenden liberar estas tecnologías en el medio ambiente, con la intención explícita de aumentar la escala y los niveles de intervención más allá de los agroecosistemas, directamente en las especies y ecosistemas silvestres. La reducción de la diversidad genética, incluso a nivel de un solo gen, puede afectar a las redes alimentarias y a los ecosistemas, de modo que, incluso sin los efectos no deseados del propio proceso de ingeniería genética, las repercusiones de la alteración de los genes en entornos abiertos son imprevisibles, con posibles efectos adversos (Barbour et al., 2022). Los cambios genéticos realizados por la actividad humana pueden eludir los procesos de evolución para su establecimiento y propagación en la naturaleza (Heinemann et al., 2021), lo que plantea nuevos niveles de incertidumbre y riesgo. Además, esto se producirá en un contexto de lagunas de conocimiento fundamentales en torno a la forma en que dichas intervenciones interactuarán con los complejos ecosistemas silvestres.

Los impulsores genéticos, el ARNi y los virus modificados genéticamente son sólo algunos ejemplos de algunas tecnologías que están en el horizonte o que ya han llegado al mercado. Hay más aplicaciones, incluidas las de la biología sintética, y nuevas tecnologías genéticas en preparación.

Es imprescindible:

- (1) la prospectiva para que los reguladores y los responsables políticos puedan estar al día con la ciencia, disponer de información relevante para la evaluación y la gestión de riesgos y, por tanto, estar adecuadamente preparados para cualquier tecnología que se aproxime; y
- (2) la evaluación de la tecnología para que estas nuevas tecnologías puedan ser evaluadas con solidez, no sólo por sus impactos en el medio ambiente y la salud humana, sino también por sus implicaciones sociales, culturales y éticas.

El CDB, como tratado jurídicamente vinculante casi universal que rige la biodiversidad, debe, por tanto, incluir y hacer operativa la prospectiva y la evaluación de la tecnología, incluso en su Marco Global de Biodiversidad posterior a 2020.

Eva Sirinathsinghji es doctora en neurogenética e investigadora de bioseguridad con formación en ciencias biomédicas. Trabaja en campañas de la sociedad civil sobre los riesgos de las tecnologías de ingeniería genética, incluidas las nuevas tecnologías de ingeniería genética. **Lim Li Ching** es investigadora senior de la Red del Tercer Mundo.

Referencias

- Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Risk Assessment. (2020). *Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Risk Assessment. 'Report of the Ad Hoc Technical Expert Group on Synthetic Biology'.* CBD/CP/RA/AHTEG/2020/1/5 (CBD/CP/RA/AHTEG/2020/1/4; p. 61).
- Agapito-Tenfen, S. Z., Okoli, A. S., Bernstein, M. J., Wikmark, O.-G., & Myhr, A. I. (2018). Revisiting Risk Governance of GM Plants: The Need to Consider New and Emerging Gene-Editing Techniques. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1874. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01874>
- Barbour, M. A., Kliebenstein, D. J., & Bascombe, J. (2022). A keystone gene underlies the persistence of an experimental food web. *Science*, 376(6588), 70-73. <https://doi.org/10.1126/science.abf2232>
- Baum, J. A., Bogaert, T., Clinton, W., Heck, G. R., Feldmann, P., Ilagan, O., Johnson, S., Plaetinck, G., Munyikwa, T., Pleau, M., Vaughn, T., & Roberts, J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat Biotechnol.*, 25(11), 1322-1326. doi: 10.1038/nbt1359. Epub 2007 Nov 4. PMID: 17982443.
- Beisel, U., & Boëte, C. (2013). The Flying Public Health Tool: Genetically Modified Mosquitoes and Malaria Control. *Science as Culture*, 22(1), 38-60. <https://doi.org/10.1080/09505431.2013.776364>
- Biswas, S., Tian, J., Li, R., Chen, X., Luo, Z., Chen, M., Zhao, X., Zhang, D., Persson, S., Yuan, Z., & Shi, J. (2020). Investigation of CRISPR/Cas9-induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. *Journal of Genetics and Genomics*, S1673852720300916. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.04.004>
- Brunner, E., Yagi, R., Debrunner, M., Beck-Schneider, D., Burger, A., Escher, E., Mosimann, C., Hausmann, G., & Basler, K. (2019). CRISPR-induced double-strand breaks trigger recombination between homologous chromosome arms. *Life Science Alliance*, 2(3). <https://doi.org/10.26508/lsa.201800267>
- Burgio, G., & Teboul, L. (2020). Anticipating and Identifying Collateral Damage in Genome Editing. *Trends in Genetics: TIG*, 36(12), 905-914. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.09.011>
- CSS, ENSSER, & VDW. (2019). *Gene Drives. A report on their science, applications, social aspects, ethics and regulations.* CSS, ENSSER, VDW. <https://ensser.org/publications/2019-publications/gene-drives-a-report-on-their-science-applications-social-aspects-ethics-and-regulations/>
- ENSSER. (2021). *Scientific Critique of Leopoldina and EASAC Statements on Genome Edited Plants in the EU.* <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>
- GeneWatch UK. (2021). *On-target effects of genome editing techniques: (Un)repaired DNA damage, a hindrance to safety and development?* GeneWatch UK. <http://genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/genome-editing-techniques-fin.pdf>
- Greiter, A., Eckerstorfer, M. F., Miklau, M., Heissenberger, A., Engelhard, M., & Simon, S. (2022). *Synthetic Biology. Scan the Horizon for Impacts on Biodiversity.*
- Heinemann, J. A. (2019). Should dsRNA treatments applied in outdoor environments be regulated? *Environment International*, 132, 104856. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.050>
- Heinemann, J. A., Paull, D. J., Walker, S., & Kurenbach, B. (2021). Differentiated impacts of human interventions on nature: Scaling the conversation on regulation of gene technologies. *Elementa Science of the Anthropocene*, 9(1). <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00086>
- Heinemann, J. A., & Walker, S. (2019). Environmentally applied nucleic acids and proteins for purposes of engineering changes to genes and other genetic material. *Biosafety and Health*, 1(3), 113-123. <https://doi.org/10.1016/j.bsheat.2019.09.003>
- Ihry, R. J., Worringer, K. A., Salick, M. R., Frias, E., Ho, D., Theriault, K., Kommineni, S., Chen, J., Sondey, M., Ye, C., Randhawa, R., Kulkarni, T., Yang, Z., McAllister, G., Russ, C., Reece-Hoyes, J., Forrester, W., Hoffman, G. R., Dolmetsch, R., & Kaykas, A. (2018). P53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. *Nature Medicine*, 24(7), 939-946. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0050-6>
- James, S. L., Marshall, J. M., Christophides, G. K., Okumu, F. O., & Nolan, T. (2020). Toward the Definition of Efficacy and Safety Criteria for Advancing Gene Drive-Modified Mosquitoes to Field Testing. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(4), 237-251. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2606>
- Kawall, K. (2019). New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes. *Frontiers in Plant Science*, 10, 525. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00525>
- Kranthi, K. R., & Stone, G. D. (2020). Long-term impacts of Bt cotton in India. *Nature Plants*, 6(3), 188-196. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0615-5>
- Ledford, H. (2020). CRISPR gene editing in human embryos wreaks chromosomal mayhem. *Nature*, 583(7814), 17-18. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01906-4>
- Lentzos, F., Rybicki, E. P., Engelhard, M., Paterson, P., Sandholtz, W. A., & Reeves, R. G. (2022). Eroding norms over release of self-spreading viruses. *Science*, 375(6576), 31-33. <https://doi.org/10.1126/science.abj5593>
- Lim, L. C., & Traavik, T. (Eds.). (2007). *Biosafety first: Holistic approaches to risk and uncertainty in genetic engineering and genetically modified organisms.* Tapir Academic Press.
- Luna, J. K., & Dowd-Urube, B. (2020). Knowledge politics and the Bt cotton success narrative in Burkina Faso. *World Development*, 136, 105127. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2020.105127>

- National Academy of Medicine (U.S.), National Academy of Sciences (U.S.), & Royal Society (Great Britain) (Eds.). (2020). *Heritable human genome editing*. The National Academies Press.
- Norris, A. L., Lee, S. S., Greenlees, K. J., Tadesse, D. A., Miller, M. F., & Lombardi, H. A. (2020). Template plasmid integration in germline genome-edited cattle. *Nature Biotechnology*, 38(2), 163-164. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0394-6>
- Ono, R., Yasuhiko, Y., Aisaki, K., Kitajima, S., Kanno, J., & Hirabayashi, Y. (2019). Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. *Communications Biology*, 2(1), 57. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0300-2>
- Reeves, R. G., Voeneky, S., Caetano-Anollés, D., Beck, F., & Boëte, C. (2018). Agricultural research, or a new bioweapon system? *Science*, 362(6410), 35-37. <https://doi.org/10.1126/science.aat7664>
- Shinzawa, N., Kashima, C., Aonuma, H., Takahashi, K., Shimojima, M., Fukumoto, S., Saiki, E., Yamamoto, D. S., Yoshida, S., Matsuoka, H., Kawaoka, Y., & Kanuka, H. (2022). Generation of Transgenic Mosquitoes Harboring a Replication-Restricted Virus. *Frontiers in Tropical Diseases*, 3, 850111. <https://doi.org/10.3389/fitd.2022.850111>
- Simon, S., Otto, M., & Engelhard, M. (2018). Synthetic gene drive: Between continuity and novelty: Crucial differences between gene drive and genetically modified organisms require an adapted risk assessment for their use. *EMBO Reports*, 19(5). <https://doi.org/10.15252/embr.201845760>
- Sirinathsinghji, E. (2019). *Transferring the laboratory to the wild: An emerging era of environmental genetic engineering*. Third World Network. https://biosafety-info.net/wp-content/uploads/2019/11/Biosafety-briefing_From-lab-to-wild.pdf
- Sirinathsinghji, E. (2020). *Risk Assessment Challenges of Synthetic Gene Drive Organisms*. <https://biosafety-info.net/articles/assessment-impacts/risk-assessment/risk-assessment-challenges-of-synthetic-gene-drive-organisms/>
- Skryabin, B. V., Kummerfeld, D.-M., Gubar, L., Seeger, B., Kaiser, H., Stegemann, A., Roth, J., Meuth, S. G., Pavenstädt, H., Sherwood, J., Pap, T., Wedlich-Söldner, R., Sunderkötter, C., Schwartz, Y. B., Brosius, J., & Rozhdestvensky, T. S. (2020). Pervasive head-to-tail insertions of DNA templates mask desired CRISPR-Cas9-mediated genome editing events. *Science Advances*, 6(7), eaax2941. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax2941>
- Tuladhar, R., Yeu, Y., Tyler Piazza, J., Tan, Z., Clemenceau, J. R., Wu, X., Barrett, Q., Herbert, J., Mathews, D. H., Kim, J., Hwang, T. H., & Lum, L. (2019). CRISPR-Cas9-based mutagenesis frequently provokes on-target mRNA misregulation. *Nature Communications*, 10(1), 4056. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12028-5>
- Wilson, A. K. (2021). Will gene-edited and other GM crops fail sustainable food systems? In *Rethinking Food and Agriculture* (pp. 247-284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816410-5.00013-X>
- Xu, X.-R. S., Bulger, E. A., Gantz, V. M., Klanseck, C., Heimler, S. R., Auradkar, A., Bennett, J. B., Miller, L. A., Leahy, S., Juste, S. S., Buchman, A., Akbari, O. S., Marshall, J. M., & Bier, E. (2020). Active Genetic Neutralizing Elements for Halting or Deleting Gene Drives. *Molecular Cell*, 80(2), 246-262.e4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.09.003>
- Zhang, Q., Xing, H.-L., Wang, Z.-P., Zhang, H.-Y., Yang, F., Wang, X.-C., & Chen, Q.-J. (2018). Potential high-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR/Cas9 in *Arabidopsis* and its prevention. *Plant Molecular Biology*, 96(4-5), 445-456. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0709-x>