

Редактиране на човешкия геном

Драгомира Николова

Това не означава, че усилията по разработването на методи за въздействие и редактиране на генома трябва да бъдат поставени под абсолютна забрана. Днес генните технологии се използват широко за създаване

на генно модифицирани животни и растения, а при хората чрез тях могат да бъдат премахнати опасни болести. Една от перспективните техники за „редактиране на генома“ е **CRISPR/Cas9 генната технология**.

Става дума за РНК – насочен метод за редактиране на човешкия геном (РНК – рибонуклеинова киселина, състояща се от единична верига от ковалентно свързани нуклеотиди в клетката). Тя дава възможност за генен нокаут (изключване от функция на определени

Генетиката напоследък отбелязва забележителни успехи не само в опознаването на тайните на генома, но и в разработване на методи за неговото редактиране. Това обаче поставя пред учените, а и не само пред тях, изключително сложни морални и юридически проблеми, които човечеството трябва да разреши. В противен случай научните открития вместо да отворят вратата към знания и благоденствие могат да отворят една истинска „кутия на Пандора“.

гени), включване на SNP (единични варианти на определени места в ДНК), инсерции и делеции („вмъкване“ и „изтриване“ – типове мутации) в човешки или животински клетъчни линии.

Тази система се състои от два задължителни компонента – ендонуклеаза Cas9 (ензим), която реже ДНК на определено място и насочваща РНК (sgRNA), която „посочва“ локацията на геномната секвенция, която следва да бъде отрязана. Cas9 има секвенция, наречена ПАМ (PAM), чиято функция е да развива двойната спирала на ДНК и да разрязва двете вериги след разпознаване на таргетната секвенция от водещата (sgRNA) РНК.

Засега CRISPR/Cas системата е **най-бързият, евтин и точен метод** за реда-

ктиране на генома от всички досега съществуващи. Това дава много надежди за неговото приложение за лечение на ред заболявания. Системата е заимствана от бактериите. Тя им помага да се защитават от „вирусите“. При навлизането на вируса в бактерията, в нея остават части от вирусната ДНК. Тя помага на бактерията да „разпознае“ вируса при следващото му навлизане и тя произвежда РНК, която го атакува. Бактерията използва Cas9 или подобен ензим, който да среже генетичния материал на вируса и да го дезактивира.

По подобен начин работи CRISPR-Cas9 системата в лабораторни условия. Учените създават „изкуствена“ РНК с насочваща секвенция, която е свързана и с Cas9 ензима. Така, когато РНК

разпознае прицелната секвенция в генома, ензимът я разрязва. Освен Cas9, могат да се използват и други ензими, като например Cpf1.

След разрязването, учените оставят естествените възстановителни системи на клетката да поправят ДНК, като прибавят или отнемат части от генетичния материал. Друг начин е липсващият сегмент да се замени с „нарочно“ синтезирана ДНК секвенция.

Геномното редактиране е с голям потенциал за превенция и терапия на човешките болести. Все още то се прави с научна цел, за да се разберат по-добре механизмите на болестта и се прилага на животински модели с цел да се осигури



Схема на CRISPR/Cas9 геномно редактиране на ДНК



Ввеждане на нова база в молекулата на ДНК

зури максимална безопасност при прилагането му при хора. Има съобщения за прилагането му при голям брой човешки заболявания като муковисцидоза, хемофилия, сърповидноклетъчна анемия. Методът е обещаващ и при по-комплексни заболявания, като рака, сърдечно-съдовите болести, психиатричните болести и ХИВ инфекцията.

Етичните въпроси, свързани с геномното редактиране, касаят герминативните клетки, т.е. сперматозоидите или яйцеклетките. Геномното редактиране на соматичните клетки не е въпрос на дебати, тъй като индуцираните промени не се предават от поколение на поколение. От друга страна,

промените в герминативните клетки или в гените на ембриона (ембрионалните клетки) могат да се предават в поколението. Учените се притесняват, че редактирането на генома може да „обърне“ естествения ход на нещата и да наруши природните закони, ако използваме тази технология за „насочване“ на определени, желани човешки черти и избягване на нежелани такива (например раждане на деца с определени желани черти, ръст, интелигентност). Ето защо повечето държави смятат приложението на тази технология върху герминативни или ембрионални клетки за недопустима и класифицират това деяние като „противозаконно“.

Този морален проблем вече реду първите си скандали и създаде юридически казус. Хе Джанкуей (He Jiankui) е китайски биофизик, изследовател, доцент към Катедрата по биология в Университета по Науки и Технологии в Шенжен, Китай. Той овладява CRISPR/Cas технологията за редактиране на генома като постдокторант в Станфордския университет в Калифорния. Става известен на света през месец ноември 2018, когато изнася информация, че е създад първите в света генно редактирани бебета – близначетата от женски пол с псевдонимите Лулу и Нана. Близначетата са родени месец по-рано, през октомври 2018 г. Първоначално новината е посрещната с възхита, но по-късно експериментът е осъден от световната общност, а китайските власти прекратяват научната дейност на Хе. През месец май 2019г става ясно, че всеки, който се е осмелил да манипулира човешкия геном чрез технологии за генно редактиране като CRISPR-Cas9, ще бъде държан отговорен за всички странични ефекти и последствия от своите действия.



Драгомира Николова е молекулярен биолог, магистър-генетик със защитена докторантура в областта на онкогенетиката и специалност по „Лабораторна имунология“, преподавател по „Медицинска генетика“ към Медицински университет – София. Специализирала е в Лаборатория по молекулярна медицина в Токио, Япония, както и в Лаборатория за анализ на геномни данни в институт Сан Рафаеле, Милано, Италия. Професионалните ѝ интереси са свързани с диагностични тестове и таргетна терапия на онкологични заболявания, нови изследователски методи на анализ на гени, молекулни маркери на социалнозначими заболявания и имуногенетика.

Според доклад на Хе в университета в Хонг Конг, близначетата са родени от генетично модифицирани ембриони, които са резистентни на ХИВ. Бащата е ХИВ позитивен, а майката – ХИВ негативна. По време на *in vitro* оплождането, сперматозоидите стават резистентни към ХИВ вируса, като се въвежда мутация в гена *CCR5* (*CCR5 Δ32*). Някои вестници определят новината като „исторически пробив“ във въвеждането на технологията за генно редактиране за превенция на заболяването. Има форми на ХИВ вируса, които при навлизането си в клетката, използват друг рецептор (не *CCR5*), така че мутацията, която Хе въвежда, не осигурява

защита срещу други форми на ХИВ.

Хе използва преимплантационна генетична диагностика на ембрионите, като дава на родителите право на избор дали да използва за имплантиране редактирани или нередактирани ембриони. Големият проблем в експеримента е, че не е ясно дали ще има и какви ще бъдат дългосрочните ефекти от генното редактиране върху здравето на децата.

Много хора коментират, че Хе не е селектирал гена за ХИВ правилно, защото, освен чрез CCR5 рецептора, има много други начини хората да избегнат зараза с ХИВ вируса – например чрез раждане с цезарово сечение на бебета от ХИВ заразени майки. Джордж Дейли от Харвардското медицинско училище в Бостън, Масачузетс, отбелязва, че болести като Хънтингтън или болестта на Теј-Сахс биха били по-добър обект на техниката за генно редактиране.

В края на краищата, Хе казва, че един от генетично модифицираните близнаци ще бъде резистентен към ХИВ, тъй като генното редактиране е отстранило и двете копия на CCR5 гена. Другият близнак е все още податлив на инфекция, тъй като процесът на генно редактиране е оставил едното копие на гена CCR5 интактно.

Защо Хе решава да имплантира податливия ембрион? Защо избира него? По време на речта си, Хе обяснява, че така са решили родителите.

През април, 2019, генетични експерти от Китайската академия на науките



Хе Джанкуей в неговата лаборатория



Двете близначета Лулу и Нана

излизат със становище, че „няма научна причина да се извършва генетично редактиране върху човешки герминативни клетки и че поведението на Хе и неговия екип е грубо нарушение на китайските регулации и консенсуса на международното научно гружество. “Ние силно осъждаме неговите действия и ги определяме като безотговорни, както от научна, така и от етична гледна точка“. На 21 януари 2019г Хе е уволнен.

На 30 декември 2019, Окръжният съд в Шенжен осъжда Хе Джанкуей на 3 години затвор и глоба от 430 000 долара. Не-



Денис Ребриков планира скоро да публикува своите експерименти за поправка на гени в човешки яйцеклетки

говите сътрудници получават присъди от 2 години и 18 месеца.

В кратките анали на генното редактиране вече има и „пуска следа“. Биологът Денис Ребриков прави генно редактиране на яйцеклетки, дарени от жени с цел да помогнат на глухи двойки да имат деца без генетичната мутация, която предизвиква глухота. Според Ребриков експериментите имат за цел да се променят определени мутации с новата технология на CRISPR–Cas9 за редактиране на ембриони.

В негов имейл до списание Nature през септември 2019г, Ребриков признава, че използва редактиращата технология за поправка на гена GJB2, свързан с глухота, в клетки, взети от хора с тази мутация. Хората с две мутирани копия на гена не

могат да чуват без хирургична интервенция или кохлеарни импланти. Ребриков казва, че е получил разрешение за своите експерименти да поправя гени в яйцеклетките от местната комисия по етика без разрешение да връща поправените ембриони в матката и да реализира бременност.

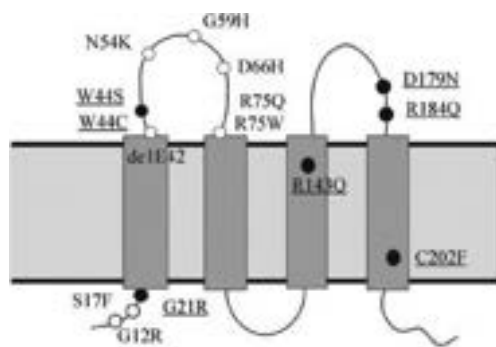
През юни Ребриков огласява своите планове да направи

ХИВ резистентни бебета. Новините шокират международната научна общност, тъй като всички се страхуват да не се повтори историята с Хе Джанкуей. Неговата цел е да модифицира същия ген CCR5, който помага на ХИВ вируса да влезе в клетките, а хората с мутирало копие на този ген са много по-трудно податливи към ХИВ вируса.

В края на миналата година СЗО стартира изработване на нормативни документи за мониторинг и управление на клиничното използване на генното редактиране. Американската академия на науките, Националната академия по медицина и Кралското дружество на Обединеното кралство също подготвят рамка за насочване на клиничните експерименти на генното редактиране, която се очаква да бъде издадена през пролетта на 2020 г.

Робин Бадж, биолог на развитието в Института на Франсис Крик в Лондон и член на СЗО, казва, че Ребриков трябва да изчака създаването на рамката. По неговите думи, „това не е лесно и е глупаво да се смята, че можем да излезем с глобално решение по този много труден научен и потенциално клиничен въпрос само за няколко месеца“.

CRISPR-Cas9 технологията обещава да стане **основна бъдеща генна технология за елиминирание на генетичните**



Доминантни мутации в протеина конексин 21, кодиран от гена GJB

болести. За приложението ѝ в клиниката все още трябва да се преодоляват много пречки, като наличието на допълнителни нежелани таргети (off-target effects), ниска ефикасност и специфичност на действие, имуногенност (активиране на имунната система) на Cas9 генерираните пептиди, оцеляването на редактираните клетки и други. С развитието на CRISPR технологията, можем оптимистично да очакваме тези трудности да бъдат преодоляни в обозримо бъдеще с цел техниката да се прилага за терапия на заболявания при човека.

Трябва обаче да се създадат общовалидни регулаторни механизми за пре-

венция на всякакъв род злоупотреби с човешкия вид, които биха могли да произтекат от редактиране на определени гени за създаване или избягване на дадени мутации. В противен случай, едно замислено благородно дело би взело драматичен обрат и би нарушило естествените биологични закони на природата.

Можем да наречем CRISPR-Cas9 технологията „революционна“, начин за подобряване на гените, но при неправилно използване тя би могла да се превърне и в опасно оръжие за създаване на подобрена човешка раса и ограничаване на естественото биологично разнообразие. Бъдещето е в ръцете на настоящето. ■