

A GENETIKA SVÁJCIBICSKÁJA

A MIT molekuláris biológusa, David Baltimore így nyilatkozott az elmúlt évtizedek legnagyobb génebézészeti felfedezésének tartott CRISPR-Cas9 módszerről: „Ezek monumentális pillanatok az orvosi biológiai kutatás történetében. Ilyesmi nem történik minden nap.” A 2012-ben és 2013-ban számos tudós közös és egymástól független munkájából születő technika eredményeit különféle hangzatos, szenzációhajhász címek alatt mutatta be a sajtó.

De miről is szól a CRISPR-Cas9? A génebézészet eddigi módszerei nem tették lehetővé azt, hogy a célszervezet DNS-ébe bejuttatni kívánt DNS-darab pontosan az elvárt helyre épüljön be. Azonban az alig három éves CRISPR-Cas9 technika segítségével az extra DNS pontosan a megfelelő helyre kerülhet. A módszer lényege az, hogy a CRISPR-Cas9 molekula-komplex a „gazdaszervezet” sejt-magi DNS-ét a meghatározott részeknél elvágja, és a kivágott DNS-darab eltávolítása után a bejuttatni kívánt DNS darab a gazda DNS saját javítómechanizmusa segítségével beépül a vágás helyére, miközben a DNS-lánc újra „összeforr” és egésszé válik. De ezúttal úgy, hogy az eredeti DNS-lánc a hozzáadott DNS-t a kivágott szakasz helyén tartalmazza.

A módszer története 1980-ig, egy japán csoport *Escherichia coli* baktériumokat vizsgáló munkájához nyúlik vissza, akik különös, ismétlődő szekvenciákat konstataáltak a bakteriális DNS-ben, melyeket látszólag véletlen bázissorrendű szakaszok választanak el. A véletlen bázissorrendű szekvenciákat spacer-nek (térközartónak) nevezték el, míg a spacereket és az ismétlődő részeket együtt CRISPR-nek (*clustered regulary interspaced short palindromic repeats*). A kutatók úgy vélték, hogy a kérdéses területnek kiemelt szerepe lehet a baktérium életfolyamatainak helyes működésében. A CRISPR után más egysejtű organizmusokban kutatva kiderült, hogy a különös DNS-sza-



David Baltimore

kasz nem az *E. coli* baktériumok sajátossága: a baktériumok és archeák 90%-a rendelkezik vele. Ez a tény alátámasztja a kutatók feltételezését, miszerint az adott DNS-darabnak kulcsfontosságú funkciót kell betöltenie a vizsgált egysejtűek életfolyamataiban.

A felvetés után 2005-ben jött az igazoló felfedezés, miszerint a látszólag véletlen bázissorrendű DNS-részek olyan vírusok genetikai anyagaival egyeznek, amelyek képesek az adott baktériumot megtámadni. A kutatók következtetése az volt, hogy a CRISPR az egysejtű organizmusok „immunrendszereként” működhet oly módon, hogy a spacerok felismerik és elpusztítják a bejutó virális támadóelemeket. 2009-ben újabb eredmények láttak napvilágot, melyek létjogosultságot biztosítottak az elméletnek és kiderült az is, hogyan működik ez az „immunrendszer”. Első lépésként egy RNS-molekula készül a spacerrel és a szomszédos ismétlődő részekről, majd ehhez az RNS-hez egy fehérje, a Cas csatlakozik. Bolcsó Dániel úgy írja le a két molekula

együttműködését a legszemléletesebben, hogy az RNS a sofőr, a Cas pedig a bombaszakértő: Az RNS felismeri a bejutó virális DNS-darabokat a sejtben, melyekhez hozzákötődik, és a kötődés után a molekulakomplex másik tagja, a Cas feldarabolja azt. A feldarabolt virális DNS egyes darabjai mindezek után egy új spacer formájában beépülhet a sejt saját genomjának valamelyik CRISPR régiójába, amely lehetővé teszi a bakteriális immunrendszernek az új virális támadáskor való hatékony „emlékezést”, így kialakítva az egyetlen máig ismert bakteriális adaptív immunrendszert.

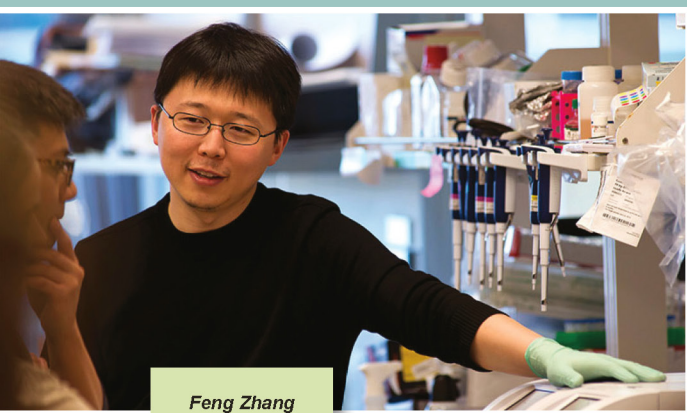
További érdekesség, hogy Eugene Koonin, a CRISPR-Cas rendszert az egysejtű immunrendszerének elsőként feltételező biológus szerint a CRISPR-Cas a lamarcki evolúció példája. Ugyanis Lamarck szerint – szemben Darwinnal – az egyedek a szerzett adaptív tulajdonságokat örökítik át utódaikra, mint ahogyan a baktériumok utódai is képesek örökölni a kibővült CRISPR-Cas rendszereket. Mindezek mellett a kutatókat az a tény is további vizsgálatokra ösztönözte, hogy a rendszer a kivágandó genetikai anyag azonosításához nem fehérjéket, hanem RNS-t használ. Főként azért, mert az ilyen rendszer utánzása meglehetősen olcsónak számítana, mivel meghatározott szerkezetű RNS-t sokkal könnyebb előállítani, mint ugyanilyen proteineket.

2011-ben és 2012-ben ismét releváns kutatási eredmények születtek a témában. Az egyik Emmanuelle Charpentiernek és munkatársainak köszönhető, akik rájöttek, hogy a humán patogén *Streptococcus pyogenes* másféle típusú CRISPR-Cas rendszerrel rendelkezik az eddig megismertekhez képest. A különbség a Cas-protein szerkezetében és az RNS molekulák számában található – ezekből kettővel rendelkezik: a Cas (mely a génedítálásban ma használatos Cas9) jóval egyszerűbb, kisebb szerkezetet mutat, RNS-ből pedig kettővel rendelkezik a *S. pyogenes*. A későbbiekben Charpentier és Jennifer

nika. Mindezek óta a CRISPR-Cas9 rendszerrel végzett kísérletek száma exponenciálisan növekszik, köszönhetően az egyszerű előállításnak és alkalmazásnak.

Az újféle génedítálás, mivel vírusok sokaságának megtámadása miatt fejlődött ki az egysejtű organizmusokban, egyszerre egynél több gén módosítására is felhasználható, ezért Feng Zhang szerint újféle távlatokat nyithat a gyógyászat területén: pár éven belül komplex genetikai hátterű betegségek, mint például a diabétesz, vagy szívbetegségek gyógyításában is hatékonyan alkalmazhatóvá válhat – az ilyen irányú kutatásoknak már

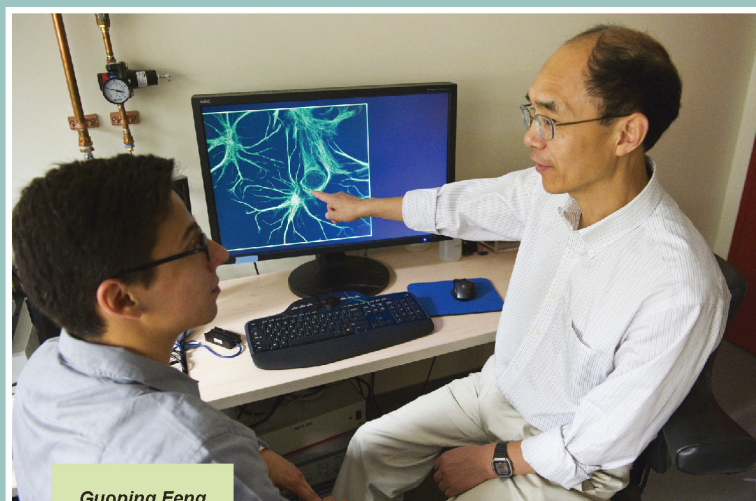
esetben, ha az eszköz rossz helyen vágja el a DNS-t. További nehézséget jelentene génterápiás eszközként a megfelelő célsejtbe juttatás. A legnagyobb problémákat azonban az etikai kérdések jelentik: vajon egy génterápiás lehetőség mennyire lenne hozzáférhető kevésbé tehető emberek számára, vagy mennyire lenne etikus már embrió korában genetikailag editált gyermekeket létrehozni azon túlmenően, hogy örökletes betegségektől szabadítják meg őket. Szülők kénye-kedve szerint előre determinálható lenne a születendő gyermek nemétől kezdve, a szeme színén át, az arcformáig bármi, elhozva



Feng Zhang

Doudna azt is kimutatták, hogy a két RNS molekulát képesek egyetlen egy mesterségesen előállított RNS-sé egyesíteni, amely azonban ugyanolyan hatékonysággal ismeri fel az eltávolítani kívánt genetikai anyagot, mint az eredetileg két darab RNS-szal.

Charpentier és Doudna elsősorban kémcsőben szabadon úszó DNS-eken tesztelték az általuk módosított CRISPR-Cas rendszert, melyben ezúttal már a Cas9 típusú protein volt a komplex fehérje tagja. Azonban felvetődött a kérdés, hogy működhet-e egy ilyen génedítáló rendszer ennél bonyolultabb struktúrájú szervezetek genomjánál is. Charpentierék a publikálásban azonban három héttel megelőzték az akkorra szintén ezzel a rendszerrel foglalkozó George Church, valamint Feng Zhang és munkatársai, akiknek eredményei bizonyították, hogy állati és növényi komplex sejtekben is működik a tech-



Guoping Feng

most sok konkrét eredménye van például az AIDS és az autoimmun betegségek gyógyításában.

Természetesen az újfajta génedítási módszer nemcsak a gyógyászatban alkalmazható eddig példátlan sikerrel. A mezőgazdaságban mindig fennálló probléma az invazív fajok, gombás fertőzések és más parazita-fajok jelenléte. Azonban a kísérlet, melyben a CRISPR-Cas9 módszer segítségével sikerült egyes kukoricafajtákat immunissá tenni a lisztharman nevű gombás fertőzéssel szemben rutineljárásá nőheti ki magát, amely megoldást jelenthet a kártevők ellen, és ezzel egyben növelheti a mezőgazdasági ipar hozamát.

A rendszernek jelenleg vannak kiszámíthatatlan, beláthatatlan hibái. Nem tudjuk, mi történne abban az

ezzel az ember egyediségének és megismételhetetlenségének végét, a „dizájnerbabák” korát.

A kezdeti sikerek mellett annyi bizonyos, hogy a rendszer számos hibát tartogathat még, és még több társadalmi, etikai, gazdasági kérdést vethet fel. Mindazonáltal már elkezdtek használni humán sejteken. Pár hónappal ezelőtt egy kínai csapat humán csírvonalon kísérletezett – eredményesen. A kutatásokat vezető, majomból származó neuronok DNS-editálásával foglalkozó Guoping Feng elmondta, hogy a génedítált emberek megjelenésére 10–20 éven belül számít, azt azonban ő maga sem tudja, hogy milyen következményei lehetnek a „század legnagyobb génebézési felfedezésének”.

BUKVA MÁTYÁS