

8.3 CRISPR-Cas: przykłady i zastosowania

Slajd 1.

Wykorzystanie CRISPR-Cas w biologii molekularnej wykracza poza inżynierię genomową. Dlatego też w tej prezentacji przedstawię już wprowadzone oraz potencjalne zastosowania tej inspirującej technologii.

Slajd 2.

Potencjał CRISPR-Cas w dziedzinie inżynierii genomowej ma zastosowanie w wielu domenach, od biologii podstawowej, po biotechnologię i medycynę.

Jedną z najlepiej znanych aplikacji są nowe modele laboratoryjne służące pozyskaniu pełniejszej wiedzy na temat chorób ludzi oraz znajdujące zastosowanie przy opracowywaniu nowych leków. CRISPR pozwala z powodzeniem naśladować określone fenotypy dzięki tworzeniu zmodyfikowanych genetycznie zwierząt, jak i nowych linii komórkowych.

W biotechnologii, dzięki manipulacji genetycznymi cegiełkami i szlakami metabolicznymi można stworzyć użyteczne systemy biologiczne. Na przykład, poprzez udoskonalenie produkcji etanolu u alg lub kukurydzy można uzyskać atrakcyjne źródło odnawialnej energii. Co więcej, dzięki modyfikacji określonych cykli biologicznych można wygenerować użyteczne materiały syntetyczne. Dodatkowo, precyzyjna inżynieria genetyczna ważnych roślin uprawnych może poprawić ich właściwości i wpływać na lepszy smak, wartości odżywcze, odporność na patogeny czy mniejszą wrażliwość na warunki środowiska.

CRISPR-Cas ma zastosowanie także w medycynie. Technologia ta może być na przykład wykorzystana w opracowywaniu nowych strategii przeciwwirusowych i przeciwbakteryjnych. Kolejną szeroko omawianą aplikacją CRISPR-Cas jest możliwość bezpośredniej korekcji wad genetycznych w ludzkim genomie i tym samym próba leczenia chorób genetycznych – takich jak mukowiscydoza – u samego ich źródła. W ostatnich latach naukowcy edytowali już genomy ludzkich zarodków, jednak to zastosowanie stwarza poważne wątpliwości natury etycznej.

CRISPR-Cas has also its applications in medicine. For example, the technology can be used to develop new antiviral or antibacterial strategies. Another widely discussed application is the direct correction of genetic defects in human genomes in order to address the root cause of genetic diseases, like cystic fibrosis. Nowadays, scientists has already successfully edit the genomes of human embryos. However, this raises some serious ethical concerns.

Slajd 3.

Poza inżynierią genomową, CRISPR-Cas jest również wykorzystywany w innych celach. Jednym z najwcześniejszych takich zastosowań jest typowanie szczepów bakteryjnych. Ta technika opiera się na wysokim stopniu polimorfizmu regionu CRISPR, wynikającym z włączania do niego z czasem nowych „spacer’ów”, pochodzących od elementów genetycznych dokonujących inwazji.

Tutaj zaprezentowany jest przykład molekularnego subtypowania izolatów *Salmonella*. Wcześniejsze badania wykazały występowanie u *Salmonella* dwóch loci CRISPR. Porównując zawartość „spacer’ów” w tych dwóch loci u pięciu subserotypów *Salmonella*, wszystkich oznaczonych innym kolorem, znaleziono podobne „spacer’y” i klastery. Wskazuje to, że badane subtypy miały wspólnego przodka.

Comentado [01]: IMPORTANT

In the lecture 8.2 we have this information: “first attempts to edit the genome in human embryos to eliminate genetic diseases were performed. However, the researchers were unable to effectively repair the genetic disorder and many off-target cleavages were observed.”

Also in this lecture (slajd 7) we have this:

“embargo on the use of CRISPR in human embryos. Ignoring this embargo, extra experiments in 2016 were performed. However, no successful results were obtained.”

I think we have an inconsistency here.
K.

Te dane są w zgodzie z wynikami innego eksperymentu typowania szczepów, który przedstawiony jest na rycinie A i potwierdza skuteczność stosowania CRISPR-Cas.

Slajd 4.

Przykład innego ciekawego zastosowania CRISPR-Cas można znaleźć w przemyśle mleczarskim. Od wielu lat producenci serów i jogurtów polegają na CRISPR w produkcji kultur starterowych, zdolnych do unikania infekcji bakteriofagami. Przekłada się to na wyższe zyski i mniejsze marnotrawstwo żywności. W przypadku tego zastosowania do komórek starterowych są wprowadzane „spacer’y”, odpowiadające specyficznym fragmentom genomów infekujących fagów – wzmacniając w ten sposób oporność kultur bakteryjnych na fagi.

Slajd 5.

Technologia CRISPR-Cas została niedawno z powodzeniem użyta do wyeliminowania infekcji HIV w „humanizowanym” modelu. W tym modelu dokonano transplantacji ludzkich komórek układu odpornościowego do myszy, a następnie zwierzęta zainfekowano wirusem. Zmodyfikowana nukleaza Cas9 razem z odpowiednio zaprojektowanym sgRNA były w stanie wyciąć DNA HIV z genomu, eliminując infekcję. Kolejnym krokiem będzie powtórzenie tych badań u naczelnych, a ostatecznie również u ludzi zakażonych wirusem.

Slajd 6.

CRISPR-Cas jest również szeroko stosowany do tworzenia nowych modeli komórkowych i zwierzęcych. Jednym z przełomowych eksperymentów była inżynieria genetyczna małych zarodków. Mały stanowią ważny organizm modelowy w badaniach nad chorobami ludzi i rozwojem nowych strategii terapeutycznych. Chińskim naukowcom udało się precyzyjne, celowe modyfikacje genów u makaków jawańskich poprzez jednoczesne wprowadzenie mRNA Cas9 i sgRNA do zarodków w stadium pojedynczej komórki. W tym doświadczeniu nie wykryto żadnych niespecyficjnych mutacji, co przemawia za efektywnością i niezawodnością tej techniki.

Slajd 7.

Teraz pozostaje pytanie: czy możemy użyć technologii CRISPR-Cas w celu stworzenia tak zwanych „dzieci na zamówienie”? Odpowiedź brzmi: tak, możemy. Jednak jeszcze nie jesteśmy na tym etapie – i prawdopodobnie nigdy nie będziemy, ponieważ większa część naukowej społeczności jest temu przeciwna ze względu na obawy natury etycznej. W 2015 roku chińscy naukowcy przeprowadzili pierwszy test na ludzkich zygocie, wykorzystując w tym celu nieżywotne zygoty zawierające dodatkowy zestaw chromosomów. Doprowadziło to do międzynarodowego embarga na próby użycia CRISPR u ludzkich zarodków. Pomimo embarga, w 2016 roku przeprowadzono kolejne eksperymenty, jednak nie uzyskano pomyślnych wyników. W najnowszych badaniach z 2017 roku chińscy naukowcy po raz pierwszy wykorzystali żywotne zarodki ludzkie. Choć skala badań była bardzo mała, ich wyniki sugerują, że CRISPR działa znacznie lepiej w normalnych embrionach w porównaniu do nieżywotnych zygot.

Inne grupy badawcze z całego świata również rozpoczęły edytowanie genomów normalnych ludzkich zarodków. Naukowcy z USA ogłosili niedawno, że zmienili pierwsze ludzkie embriony z wykorzystaniem technologii CRISPR-Cas. Można przypuszczać, że w nadchodzących latach prowadzonych będzie znacznie więcej badań nad stosowaniem CRISPR-Cas na normalnych ludzkich zarodkach. W przyszłości może to ostatecznie doprowadzić do wykorzystywania technologii CRISPR w leczeniu i eradykacji śmiertelnych chorób.