Úprava lidského genomu v žijícím pacientovi

13. listopadu, poprvé v historii, vědci upravili genom žijícího člověka, 44-letého Briana Madeuxe, za účelem léčby Hunterovi choroby. Ta se dodnes léčí týdenními infuzemi chybějícího enzymu. Tento druh léčby je většinou u pacientů dobře snášen, bohužel však neřeší příčinu onemocnění samotného. Navíc je časově (infuze trvá cca 3 hodiny) a finančně náročný (léčba dítěte o hmotnosti 24kg stojí ročně cca 7,5 mil. Kč) a neposkytuje stoprocentní výsledky.

Co je to Hunterova choroba?

Hunterův syndrom je druhý nejčastější typ mukopolysacaridózy (= porucha metabolismu mukopolysacharidů), konkrétně jde o II. typ. Jde o onemocnění (vázané na chromosom X, recesivně), při kterém pacientu vzniká deficit L-iduronosulfátsulfatázy, která má nastarosti degradaci heparansulfátu, který se proto v těle hromadí. Heparansulfát je látka odpovědná za filtraci látek v glykokalyxu díky svému zápornému náboji. Jeho další funkcí je inhibice antitrombinu, glykoproteinu vznikajícího taktéž v játrech, který inaktivuje některé koagulační faktory. Příčina nemoci tedy spočívá v chybějícím nebo nefunkčním genu produkujícím enzym iduronosulfátsulfatáza.

CRISPR/Cas9 vs. Zinc-finger nukleázy

Systém CRISPR-Cas9 se skládá ze 2 molekul, které provádí změnu v cílové DNA. 1. z nich je enzym zvaný Cas9. Jde o restrikční endonukleázu naváděnou guide RNA, což je 2. zmiňovaná molekula systému. Ta se skládá ze sekvence cca 20ti bází (předem navržených), které navedou Cas9 díky komplementaritě bází na správné místo, kde pak tento enzym provede „střih“ přes obě vlákna DNA. Na toto místo se poté naváže požadovaný gen.

Zinc finger nukleázy jsou umělé restrikční enzymy, které stejně jako Cas9 provádí střih přes obě vlákna DNA. ZFN se skládají ze dvou funkčních domén. První je DNA-binding domain (DBD), skládající se z řetězců dvoumodulových „prstů“, který každý rozeznává 6 po sobě jdoucích bází. Tyto dvoumodulové „prsty“ jsou spojeny dohromady a tvoří Zinc Finger Protein (ZFP), každý rozpoznávající specifickou sekvenci DNA o více než 24 párů bází. Druhá doména, DNA-cleaving domain, tvořená enzymem FokI, má na starosti samotný střih DNA.

Proces léčby

Jelikož je úprava DNA v živé osobě mnohem složitější a rizikovější než mimo tělo, rozhodli se vědci ze Sangamo Therapeutics pro ZFN metodu, která je sice mnohem nákladnější, je však přesnější. Pro přenos DNA kódující ZFN a nový gen do buněk jater pacienta využili vědci adeno-associated virus (AAV), který je v genovém inženýrství obvykle využíván a který je považován jako bezpečný (může vyvolat pouze potenciálně nebezpečnou imunitní reakci v některých pacientech, ale nepřenáší žádné nemoci). Jeden z největších risků úpravy DNA v těle živé osoby je šance, že ZFN udělá „střih“ v DNA na špatných místech, a potenciálně může „nastartovat“ rakovinné bujení. Navíc buňky, které teď obsahují DNA kódující ZFN budou vytvářet tyto látky nejspíše dalších pár let, i přes to, že je již nový gen na svém místě v genomu. Vědci ze Sangamo Therapeutics jsou však seběvědomí, že „střihy“ DNA na špatných místech se nestanou, a pokud ano, hlavně v úsecích nekódující DNA. I data týkající se bezpečí tohoto pokusu jsou podle National Institutes of Health přesvědčivá, jehož rada tuto strategii léčby odsouhlasila. Zdali se tato metoda léčby prokáže jako úspěšná je však stále pouze otázka času. Přesto se jedná o vzrušující průlom v genovém inženýrství a lehce napovídá, jak by mohly vypadat možnosti medicíny v blízké budoucnosti.

Zdroje :

1. https://www.sciencemag.org/news/2017/11/human-has-been-injected-gene-editing-tools-cure-his-disabling-disease-here-s-what-you
2. MUDr. Věra Malinová a MUDr. Tomáš Honzík Ph.D. *Lysosomální onemocnění – současné možnosti diagnostiky a terapie* [online].
3. http://svp-vzacnaonemocneni.cz/mukopoly/?page_id=206
4. http://www.wikiskripta.eu/w/Mukopolysacharid%C3%B3zy
7. F Ann Ran, Patrick D Hsu, Jason Wright, Vineeta Agarwala, David A Scott & Feng Zhang
   Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system
   Nature Protocols 8, 2281–2308 (2013)
   doi:10.1038/nprot.2013.143

8. https://www.sigmaaldrich.com/life-science/zinc-finger-nuclease-technology/learning-center/what-is-zfn.html