

Mohou být nově objevené technologie využity při léčbě Huntingtonovy choroby?



V médiích se poslední dobou hodně hovoří o CRISPR - technologii umožňující editaci DNA. Přehnané tvrzení nebo naděje?

Autor Dr Jeff Carroll 25. Srpen 2014

Přeložil Monika Baxa; Editor Dr Ed Wild

Poprvé publikováno 13. Listopad 2013

Přeložila Mgr. & Mgr. Adriana Fico

V médiích se poslední dobou hodně hovoří o zázračné technologii CRISPR, díky které je možné provádět korekci DNA. Jeto jen mediální bublina, nebo skutečná naděje? V nedávné době se objevily vášnivé diskuse o nové technologii, které se říká CRISPR. Údajně je možné tuto technologii využít jako potenciální léčbu Huntingtonovy choroby. Je tato technologie skutečně tak zázračná? Možná ano, ale jak už tomu bývá, pravda je poněkud složitější.

HD gen a jeho “tlumení”

Huntingtonova choroba je genetické onemocnění a to znamená, že každý pacient s tímto onemocněním zdědil “zmutovanou” kopii specifického genu od jednoho z rodičů. Tomuto genu, v němž došlo k mutaci, se říká gen Huntingtonovy choroby nebo také HD gen (z angl. Huntington disease gen).

Dvě kopie HD genu má ve svém těle každý, u většiny lidí však Huntingtonova nemoc nevznikne. Příznaky tohoto onemocnění se objeví, pouze pokud dojde ke specifické změně v DNA sekvenci HD genu. Tato specifická mutace, která je příčinou všech případů rozvinuté Huntingtonovy choroby, spočívá ve zmnožení tří-písmenného kódu DNA, při němž dojde k tomu, že sekvence genetických písmen (nukleotidů) CAG – cytosin, adenin, guanin, je v blízkosti jednoho z konců HD genu několikrát zopakována.

Geny zpravidla slouží buňkám jako předpis, podle kterého sestavují bílkoviny. Tak je tomu též s HD genem. Bílkovina, která je podle HD genu sestavena, se nazývá huntingtin a právě tato bílkovina podle vědců způsobuje buněčné selhání a buněčnou smrtí pacientů s Huntingtonovou chorobou.



CRISPR je nová, precizní metoda “editace” DNA. Tohle je fotografie křupavého salátu.

Tak vědci, kteří se Huntingtonovou chorobou zabývají, tak pacienti s jejich rodinami s nadšením přivítali terapeutický přístup zvaný **gene silencing** (tlumení genu). Metoda gene silencing vychází ze skutečnosti, že buňky podle DNA nevytváří přímo bílkoviny, ale jakousi pracovní kopii, která je tvořena látkou zvanou RNA. Metoda tlumení genu se zaměřuje právě na informaci, kterou nese RNA: naseká ji na menší části a tím buňce znemožní, aby vytvářela další huntingtin.

To zní dobře, že? Je to skvělý nápad a HDBuzz nadšení z této metody sdílí. Klinické testy se budou provádět co nejdříve. Ale pozorní čtenáři si mohli všimnout jednoho zádrhelu. I kdyby metoda tlumení genu fungovala, DNA zůstane nezměněna a to znamená, že každá buňka v těle nositele této mutace má v sobě stále HD gen a podařilo se pouze zamezit, aby vytvářela nové zmutované proteiny.

Tlumení vs. korekce

A co kdybychom mohli jednoduše upravit **DNA** pacientů s Huntingtonovou chorobou? Provést korekci tak, abychom mutaci zcela odstranili? Ještě nedávno by něco takového znělo jako šílený nápad. Vědci vždy považovali soubor genů jedince, tzv. “genom”, zadaný jednou provždy, tedy od začátku do konce života jedince. Samozřejmě, v průběhu života může docházet k mutacím – kvůli mutaci vzniká rakovina – ale tyto mutace jsou pro organismus zpravidla škodlivé, a proto naše buňky mají účinné mechanismy k tomu, aby DNA opravily.

Až zcela nedávno vědci začali tyto genetické triky “opisovat”, a to od mikroskopických bakterií. Tyto bakterie spolu neustále válčí a jako zbraň využívají právě triky k tomu, aby si vzájemně poškodily DNA. Vědci přišli na to, že je možné si tyto zbraně od bakterií “vypůjčit” k tomu, aby jakoukoliv sekvenci DNA v laboratoři rozbili na menší díly.

Pro tyto postupy existuje úctyhodný počet různých názvů, jako “nukleázy se zinkovým prstem” (ZFN, z anglického zinc finger nucleases), “TALENy” (z angl. transcription activator-like effector nucleases) nebo “CRISPR” (z angl. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). To hlavní však je, že všechny tyto nástroje mohou být použity k přestřížení DNA ve specifickém úseku.

Ve své podstatě to znamená, že díky nástrojům jako jsou TALENy a CRISPR vědci mohou upravit DNA, a to tím, že odříznou nežádoucí úseky a nahradí je jinými, podobně jako když v textovém editoru upravujete nepovedený odstavec pomocí “Vyjmout” a “Vložit”. Vědci již po nějakou dobu věděli, jak “vložit” DNA do porušeného řetězce, ale doposud neměli nástroje k tomu, aby mohli “vyjmout” úsek DNA tam, kde je potřeba. Teď již tyto nástroje mají.

Přirozeně se tedy nabízí v případě Huntingtonovy choroby vyříznout přebytečné kopie opakujícího se tripletu CAG, které nemoc zapříčiňují. Jiná možnost je použít tyto nástroje k vyříznutí části zmutovaného HD genu a učinit jej nečitelným, aby nebylo možné z něj udělat bílkovinu.

Nejnovější z těchto technologií pro korekci DNA je metoda

” Tím největším problémem využití CRISPR a jiných technologií korekce genomu při léčbě je

CRISPR, o které se také nejvíce mluví. Díky této metodě mohou vědci na DNA provést přesný a cílený řez.

jejich **doručení** všude tam, kam je potřeba.



Pokud vám to zní povědomě, pak je to asi proto, že se tato technologie velmi podobá metodě **nukleázy se zinkovým prstem** (ZFN), o které se již HDBuzz zmiňovalo (<http://en.hdbuzz.net/103>). Rozdíl mezi ZFN a CRISPR spočívá v tom, že část, kterou se provádí zacílení, je u ZFN velmi velká a je vytvořena uměle v laboratoři, zatímco v případě CRISPR se zacílení provádí pomocí malých kousků RNA, díky kterým by mělo být zacílení přesnější.

Záchrance jménem CRISPR?

Technologie CRISPR se nedávno dostala do titulků novin, když britský deník Independent požádal o názor genetika Craiga Mella, který obdržel Nobelovu cenu a který začal využívat tuto metodu ve své laboratoři (<http://www.independent.co.uk/voices/comment/this-is-a-triumph-of-basic-science-with-huge-implications-!crispr>)(systém editace DNA precizním způsobem 'CRISPR')-technique-breaks-the-mould-8925323.html). Vědci se zabývali CRISPR nejméně od roku 2007. V posledních dvou letech se však tento nástroj k manipulaci genů v laboratoři stává stále sofistikovanější.

Existují různé způsoby využití technologie CRISPR a obdobných přístupů ke **korekci genomů**. Je možné si například představit provádět korekci ve velmi brzkých stádiích vývoje embrya nebo dokonce oplodněného vajíčka, které se vyvíjí ve zkumavce ve středisku umělého oplodnění. S tímto přístupem je technicky možné, aby se narodilo dítě bez zmutovaného HD genu a tedy bez Huntingtonovy choroby.

Něco takového je již možné díky jednodušším metodám jako je preimplantační genetická diagnostika, která je založena na jednoduchém genetickém screeningu, díky kterému je možné zjistit, zda je embryo nositelem zmutovaného HD genu. Korekce genomu by umožnila postoupit o krok vpřed a místo pouhého zjištění by mohla mutaci odstranit.

Dalším mimořádně zajímavým způsobem využití podobné technologie by mohla být cílená korekce genu HD prováděná přímo v mozku dospělých pacientů. Právě tento způsob využití rozpoutal tak velké debaty v tisku – je opravdu možné využít nástroje pro genetickou korekci k odstranění příčin vzniku genetických onemocnění, jako je Huntingtonova choroba?

Jaký je aktuální vývoj?

Již v r. 2012 jsme na HDBuzz (<http://en.hdbuzz.net/103>) psali o tom, že se provádějí testy genetické korekce při Huntingtonově chorobě. Od té doby testy značně pokročily. Společnost Sangamo Biosciences (<http://www.sangamo.com/pipeline/huntingtons-disease.html>) spolupracuje s nadací CHDI Foundaton, Inc. (<http://www.chdifoundation.org/>), na vývoji nukleázy se zinkovým prstem, která by se dala při léčbě Huntingtonovy choroby využít. Již vyvinuli ZFN metodu, díky které lze odstříhnou úsek opakovaného tripletu CAG v HD genu, čímž se zabrání tomu, aby se HD gen nadále projevoval.

Na setkání Asociace pro neurovědu, které se konalo v listopadu 2013 v kalifornském San Diegu, společnost Sangamo představila své výsledky bádání o cíleném zásahu do HD genu pomocí ZFN.

Konkrétně se společnost zabývá tlumením genu spíše než korekcí. Poprvé tak máme k dispozici zprávu, podle které se podařilo ZFN úspěšně použít na myších s HD genem. V tiskové zprávě společnosti Sangamo se píše, že “v oblastech mozku myší, na které byly proteiny s motivem zinkového prstu zacíleny, byl zjištěn úbytek agregátů zmutovaných huntingtinů”. Dále společnost uvedla, že myši, na kterých byla metoda vyzkoušena, vykazovaly zlepšení též po stránce behaviorálních příznaků nemoci.

Čemu věřit a čemu ne

Technologie umožňující korekci genomu, jako je CRISPR a ZFN, patří k nejfantastičtějším pokrokům laboratorního výzkumu posledních let. Jejich potenciální laboratorní klinické využití bude mít pravděpodobně ohromný význam, ovšem nesmíme zapomínat na některá omezení jejich využití při Huntingtonově nemoci.

Tím největším problémem využití CRISPR a jiných technologií korekce genomu při léčbě je jejich **doručení** všude tam, kam je potřeba. Tyto způsoby léčby jsou založeny na velkých molekulách bílkovin a nelze je jednoduše podávat jako pilulku. Musely by se dodávat do mozku injekčně, prostřednictvím virů nebo jinou metodou.

Když se například vrátíme k tiskové zprávě společnosti Sangamo o působení ZFN na myších s Huntingtonovou chorobou, všimneme si, jak opatrně je řečeno, že úbytek agregátů zmutovaných huntingtinů byl zjištěn “v oblastech mozku myší, na které byly proteiny s motivem zinkového prstu zacíleny”. Pravděpodobně se jedná o velmi malou část mozku myší a v případě lidského mozku by to byla ještě menší část, pokud se nepodaří metodu aplikace zásadně zlepšit.

Tento typ léčby, která spočívá v dodávání genu do tkání, se nazývá **genová terapie**. Jakákoliv forma genové terapie by v případě léčby Huntingtonovy choroby vyžadovala operaci mozku, aby bylo možné do mozku dodat patřičný virus, ovšem ten se s využitím stávající technologie může rozšířit pouze do malé části mozkové tkáně.

Ačkoliv nové metody využití CRISPR mohou být aplikovány poněkud snadněji a přesněji, stále tento problém zdaleka neřeší.

Kvůli problému s aplikací bude se zavedením genové terapie pro léčbu neurodegenerativních onemocnění ještě spousta práce. U Huntingtonovy choroby je navíc potíž v tom, že lék bude muset být dopraven nikoliv do jednotlivých oblastí, ale do celého mozku, aby se podařilo odstranit všechny symptomy nemoci. Toto může být relativně snadné v mozku myši, který váží méně než půl gramu, lidský mozek však váží přibližně 1300 gramů.



Technologie nukleáz se zinkovým prstem - podobně jako novější CRISPR technologie - se již u Huntingtonovy choroby studuje.

Pro pacienty s Huntingtonovou chorobou tyto nové technologie doposud představují spíše zajímavou laboratorní technologii, která by bezesporu měla být zkoumána, ovšem dokud se nepodaří prokázat, že je skutečně možné pokrýt dostatečnou část moku k tomu, aby to mělo výsledek, budou pro léčbu člověka nepoužitelné. V každém případě se však korekce genomu lidí, kteří trpí genetickým onemocněním, může stát v budoucnu standardní léčbou a být svědky jejich počátků je velmi vzrušující.

U autorů nedochází k žádnému střetu zájmů. Pro více informací o našich zásadách pro zpřístupnění informací nahlédněte na FAQ...

Slovník

preimplantační genetická diagnostika metoda zabránění přenosu Huntingtonovy choroby na dítě. Vajíčka jsou oplodněna spermiemi v laboratoři a na embryích se pak provádí genetické testy za účelem zjištění mutace. Pouze embryo bez mutace je implantováno do dělohy matky.

terapie ošetřování

embryo nejčasnější vývojové stadium novorozence, když pozůstává pouze z několika buněk

CRISPR systém editace DNA precizním způsobem

genom označení pro všechny geny, které obsahují instrukce pro vytvoření člověka, nebo jiného organismu

RNA chemická sloučenina podobná DNA, z které jsou tvořené "molekuly se správou", které buňky využívají jako pracovní kopie genů když vytvářejí protein

© HDBuzz 2011-2018. Obsah HDBuzz je sdílen zdarma, v rámci Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.

HDBuzz má informační charakter, nenahrazuje odbornou péči. Pro více informací navštivte

hdbuzz.net

Vytvořeno dne 19. Leden 2018 — Staženo z: <https://cs.hdbuzz.net/149>