

# Proč nespí Jennifer Doudnaová?

**Britští vědci jdou ve stopách čínských kolegů, kteří v loňském roce cíleně pozměnili dědičnou informaci lidských embryí a zvedli tak vlnu kritiky a odporu.**

text **JAROSLAV PETR**

„**ASI TAK** před dvaceti měsíci jsem začala mít problémy se spaním,“ přiznala koncem roku 2015 na stránkách vědeckého časopisu Nature americká biochemička Jennifer Doudnaová. Jednu z největších hvězd současného vědeckého nebe pronásleduje otázka: K čemu všemu využijí vědci techniku CRISPR-Cas9 (Vesmír 94, 288, 2015/5 a 94,

**„Už brzy nemusíme stát před otázkou, zda dokážeme dědičnou informaci lidských embryí spolehlivě upravovat, ale zda takové úpravy chceme.“**

394, 2015/7), umožňující cílené úpravy dědičné informace, u jejíhož zrodu sama stála? Doudnaová nepochybuje o tom, že technika odvede práci příslovečného „dobrého sluhu“ v řadě oborů. Může například zvýšit výnosy zemědělských plodin nebo zajistit výrobu nových léků. Co když se ale CRISPR-Cas9 ukáže i jako „zlý pán“ třeba při nezodpovědných pokusech o vylepšení člověka?

**ZÁSAHY DO LIDSKÝCH EMBRYÍ** Nejméně čtyři týmy čínských vědců už s pomocí CRISPR-Cas9 zasáhly do dědičné informace lidských embryí starých nejvýše několik málo dní a tvořených jen několika buňkami. Výsledky zatím zveřejnil jen tým ze Sunjatsenovy university v Kantonu, který použil embrya neschopná zdárného vývoje. Studie publikovaná v dubnu loňského roku ve vědeckém časopise Protein and Cell ukázala,<sup>1</sup> že technika je při zásazích do dědičné informace lidského embrya překvapivě málo účinná a navíc i hodně nespolehlivá.

Zamýšlenou změnu Číňané úspěšně navodili jen u poloviny embryí a u těch proběhla zamýšlená změna nejen v cílovém místě DNA zárodku, ale zároveň na desítkách až tisících dalších nežádoucích míst.

„Pokud byste chtěli tenhle postup využívat v klinické praxi, musíte garantovat stoprocentní účinnost a spolehlivost. Proto

jsme další experimenty ukončili,“ ohlásili autoři kontroverzní studie.

Sdělovací prostředky prezentovaly čínský experiment často jako malý kamínek uvolňující obří lavinu riskantních a nezodpovědných experimentů. Vědecká veřejnost vnímala studii jako výstražné oranžové světlo na semaforu řídicím cestu CRISPR-Cas9 k praktickému využití na lidských embryích.<sup>2</sup> Na několika mezinárodních konferencích se vědci včetně Číňanů celkem bez problémů shodli, že základní výzkum na zásazích do dědičné informace lidských embryí musí pokračovat, protože slibuje řešení řady závažných zdravotních problémů. Musí však být pod mezinárodním dohledem a jeho výsledky zatím nesmí být použity k zásahům do dědičné informace embryí, z nichž by se měly rodit děti.<sup>3</sup>

**HLEDÁNÍ PŘÍČIN NEPLODNOSTI** Začátkem února 2016 získal tým bioložky Kathy Niakanové z londýnského Ústavu

Francise Cricka povolení příslušné britské komise k experimentům, při kterých budou pomocí CRISPR-Cas9 upraveny dědičné informace více než stovky lidských embryí. Poprvé bude lidským embryím „přepisována“ jejich DNA mimo území Číny a navíc na půdě Evropské unie. Chystá se snad Evropa k překročení Rubikonu na cestě ke genetickému vylepšování lidstva?

Projekt Kathy Niakanové se drží linie vytyčené mezinárodní vědeckou komunitou. Nemíří na kliniky a jeho cíle nemají nic společného s genetickým vylepšováním dětí. Vědci chtějí pomocí techniky CRISPR-Cas9 studovat mechanismy řídicí nejranější vývoj lidského embrya a odhalit některé příčiny neplodnosti. V ekonomicky rozvinutých zemích se potýká s problémy při početí dítěte zhruba každý pátý či šestý pár. Navzdory pokroku moderní medicíny nedokážou lékaři pomoci všem, kteří marně touží po dítěti.

Niakanová chce zjistit, jakou roli hraje pět vybraných genů během prvního týdne vývoje zárodku po oplození vajíčka spermií. Během této doby se lidské embryo rozroste z jedné na několik desítek buněk a vytvoří se v něm jak buňky schopné zajistit vznik budoucího dítěte, tak buňky předurčené k proměně v placentu a plodové obaly. Jakákoli odchylka od normálu v tomto období může mít pro vývoj zárodku fatální následky. Vědci už důkladně prostudovali regulační mechanismy raného embryonálního vývoje u myši. Člověk a hlodavec se ale zjevně v mnoha ohledech řízení vývoje po oplození liší. Kathy Niakanová proto plánuje s pomocí CRISPR-Cas9 vyblokovat v oplozeném lidském vajíčku vybrané geny a pak sledovat, jaké mají tyto „genové havárie“ následky.

Praktické využití výsledků pokusů vědců z Ústavu Francise Cricka není na programu

## CRISPR-Cas9

**Technika umožňuje cílit zásahy do DNA mnohem spolehlivěji (a levněji) než starší metody. CRISPR-Cas9 vyhledá v DNA přesně zvolenou kombinaci písmen genetického kódu a tam dvojitou šroubovici přeruší. Lze tak vyřadit z činnosti vybraný gen, ale do „díry“ lze také vsunout připravený úsek DNA, a tím vnést nový gen na přesně určené místo. K vyhledání vybraného místa na DNA využívá CRISPR-Cas9 speciálně konstruovaný krátký řetězec RNA. Přerušení DNA pak zajistí na RNA napojený enzym Cas9. Buňka začne zlom opravovat. Pokud je do buňky vpraven úsek cizí DNA, může ho buňka vložit do opravovaného zlomu.**



**KRÁTKÝ ŘETĚZEC RNA (červeně) komplementární k cílovému místu DNA navádí enzym nukleázu Cas9 (naznačena obrysem), který dvojitou šroubovici DNA přeruší a umožní vložení cizorodé DNA.**

Ilustrace Steve Dixon, Feng Zhang/MIT

dne. Nelze ale vyloučit, že se na klinikách nakonec přece jen uplatní. Pokud se například ukáže, že pro vývoj lidského embrya je klíčová role nějakého genu a že embrya vzniklá oplozením ve zkumavce nemají dost proteinu, který embryo podle instrukce tohoto genu vyrábí, mohl by se protein přidávat do živného roztoku, v kterém se embrya před přenosem do těla nastávající matky kultivují.

Ředitel britského Nuffieldova výboru pro bioetiku Hugh Hall v této souvislosti prohlásil: „Pokud by výsledky tohoto výzkumu vyústily ve vývoj nových postupů, které by vedly k narození dítěte, postavilo by nás to před dlouhou řadu etických otázek. Ty je nutné vyřešit dřív, než bude vlastní výzkum zahájen.“

## ŘETĚZOVÉ MUTACE

Ani v laboratoři Kathy Niakanové se neschyluje k ničemu, co by mělo Jennifer Doudnaovou strašit se sna. Na klidu jí ale možná nepřidává jiná oblast výzkumu využívající CRISPR-Cas9. Vědci ji označují jako „gene drive“. V roce 2015 vnesli Američané Valentino Gantz a Ethan Bier do dědičné informace octomilek geny pro CRISPR-Cas9 takovým způsobem, že se nástroj pro přepisování dědičné informace dědí a šíří se mezi potomstvem „řetězovou reakcí“.<sup>4</sup> Při laboratorních pokusech stačilo do populace „divokých“ octomilek pustit 1 % „mutantů“ a po deseti generacích už se „divoké“ mušky v populaci prakticky nevyskytovaly. Gantz a Bier si

uvědomovali, co by znamenal únik jedné jediné mutované mušky do volné přírody. Ta by mohla „přepsat“ celou divokou populaci octomilek. Proto prováděli pokusy za nejvyšších bezpečnostních opatření. Když pak publikovali postup v časopise Science, upozornili na riziko všechny, kdo by chtěli kráčet v jejich stopách.

Gene drive by bylo možné využít například k rozšíření odolnosti proti nákaze původcem malárie mezi tropickými komáry. Komáři by pak tuto chorobu nepřenesli na lidi. Několik takových komárů už vědci za přísných bezpečnostních opatření v laboratorních vytvořili.<sup>5</sup> Nad ekologickými dopady jejich vypuštění do přírody ale visí velké otázky. Rychlost, s jakou by se mutace šířila, bere dech. Deset generací se u tropických komárů vystřídá během jediného roku.

V laboratoři George Churcha na Harvardově universitě už se zrodil systém, který rizika nekontrolovaného šíření mutací významně snižuje.<sup>6</sup> Vědci tu dokonce na kvasinkách odkoušeli nápravu „gene driveové havárie“. Nechali populaci kvasinek „přepsat“ mutací a pak do ní pustili kvasinky schopné přepisovat mutaci zpátky do původního stavu DNA. Vymazání mutace se jim podařilo. Nakolik by byl postup úspěšný například při likvidaci následků úniku zmutovaných komárů do tropického pralesa, není jasné.

**PATENTY A NOBELOVA CENA** Jennifer Doudnaové možná ruší klidný spánek i spory o patenty na techniku

CRISPR-Cas9. První patent získal konkurenční tým z Massachusettského technologického institutu. Kalifornská universita v Berkeley, kde pracuje tým Jennifer Doudnaové, ale nyní tento patent právně napadla. Ve hře jsou obrovské peníze. Na massachusettském patentu stojí firma Editas, která nedávno uvedla na trh své akcie a utržila za ně 100 milionů dolarů. Pokud patent neobstojí, firma padne. A s ní i peníze investorů. Experti vidí šance berkeleyjské univerzity na úspěch jako reálné. (Slyšení u Patentového a známkového úřadu Spojených států začala po uzávěrci tohoto čísla Vesmíru.)

Šušká se, že výbor nadace Alfreda Nobela čeká s udělením své ceny za CRISPR-Cas9 právě na rozhodnutí patentového sporu, aby se nestalo, že toto prestižní vědecké ocenění získá tým, jehož nároky na prioritu neobstály před patentovým úřadem. Alternativní „nobelovku“ – Cenu za průlom v oblasti přírodních věd,<sup>7</sup> dotovanou třemi miliony dolarů, už si za techniku CRISPR-Cas9 loni odnesla Jennifer Doudnaová se svou kolegyní Emmanuelle Charpentierovou.

Vývoj na poli „krisprů“, jak se technice pro „přepisování“ dědičné informace říká v laboratorní hantýrce, nabral dech beroucí tempo. Pokusy na myších naznačují, že by technika CRISPR-Cas9 mohla léčit řadu závažných chorob, od dědičné slepoty po svalovou dystrofii. Otevírají se nové možnosti boje s virovými infekcemi včetně HIV nebo s rakovinou. Díky „krisprům“ se podařilo u prasat najednou přepsat DNA na 62 místech a odstranit tak jednu z překážek prožití prasečích orgánů k transplantaci lidem.

Nově vyvinuté varianty „krisprů“ jsou přinejmenším stonásobně spolehlivější než technika, která zklamala vědce z kantonské Sunjatsenovy univerzity. Znamená to, že technická bariéra pro zásahy do dědičné informace lidských embryí padá? Kdybychom i toto vylepšení odmítli jako nedostatečné a stanovili mnohem vyšší metu pro bezpečnost zásahů do genomu lidských embryí, je vysoce pravděpodobné, že vědci této mety v dohledné době dosáhnou. Už brzy nemusíme stát před otázkou, zda dokážeme dědičnou informaci lidských embryí spolehlivě upravovat, ale zda takové bezpečné úpravy chceme a dáme jim zelenou. Jako bumerang se nám tak znovu a znovu vrací otázka provázející lidstvo odnepaměti: Smíme dělat vše, co dělat umíme? ●

1) <http://dx.doi.org/10.1007/s13238-015-0153-5>

2) <http://dx.doi.org/10.1038/519410a>

3) <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaa1028>

4) <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaa5945>

5) <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1521077112>

6) <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.3412>

7) <https://breakthroughprize.org>