ბაქტერიის მარტივი სისტემა გენიალური შედეგებით ადამიანში

„აღმოჩენებში მოგზაურობა შედგება არა ახალი ლანდშაპტების ძებნისგან, არამედ ახალი თვალების შეძენისაგან.“ - მარსელ პრუსტი

ქალაქ ნოვოსიბირსკში მდებარე ციტოლოგიისა და გენეტიკის ინსტიტუტს 183 სანტიმეტრის ვირთაგვის ქანდაკაება ამშვენებს, თავად ქანდაკებას კი - სათვალე და საქსოვი ჩხირები, რომლითაც ორჯაჭვიან დნმ-ს ქსოვს. ქანდაკება გამოხატავს მწუხარებას და სოლიდარობას, თუ როგორ უმოწყალოდ ეწირებიან ლაბორატორიული ცხოველები ადამიანების ჯანმრთელობას. მისი შემქმნელი მოქანდაკე ამბობს: „თუ მას თვალებში ჩახედავთ, დაინახავთ, რომ ვირთაგვამ რაღაც ჩაიფიქრა, მაგრამ მეცნიერული აღმოჩენის მთელი სიმფონია, ეს სიხახრული და „ევრიკა“, ჯერ კიდევ არ თქმულა“.

არქიმედეს დროიდან მოყოლებული სამეცნიერო ოთახების კედლები მრავალჯერ მოიცვა „ევრიკა“-ს შეძახილის ექომ, ეს ხმა დღემდე გრძელდება, სწორედ მისი გამოძახილი იყო CRISPR/Cas9 სისტემის აღმოჩენის შემდეგ თქმული „ევრიკა“, რომელმაც ჯენიფერ დუდნას და ემანუელ შერპენტიეს ნოებელის პრემია მოუტანა.

CRISPR პროკარიოტული დნმ-ს სეგმენტებია, რომელიც შეიცავს მოკლე პალინდრომულ თანმიმდევრობებს. ყოველ განმეორებას მოჰყვება სპეისერი, დნმ-ს მოკლე სეგმენტი წინა უცხო დნმ-ს ექსპოზიციიდან, რომელიც ვირუსის ან პლაზმიდის გზით მოხვდა ბაქტერიაში. CAS (CRISPR ასოცირებული სისტემა) გენის მცირე კლასტერი კი განლაგებულია CRISPR-s შემდეგ. [9]

ამის საილუსტრაციოდ: თუ პალინდრომული განმეორებების მაგალითად, გალაკტიონ ტაბიძის პალინდრომულ ლექსს გამოვიყენებთ, ხოლო სპეისერებად კი ვაჟა-ფშაველას სტრიქონს, მივიღებთ მსგავს წინადადებას:

> აი რა მზის სიზმარია [ნისლი] აირევი ივერია [ფიქრია] აი დროშა აშორდია [მთების] აერების სიბერეა.

CRISPR-ს თამამად შეიძლება ეწოდოს ბაქტერიის იმუნური სისტემა. სწორედ ამ სისტემით იცავს ბაქტერია თავს. შემოჭრილი გენეტიკური მასალა იჭრება პატარა ფრაგმენტებად და ჩაერთვება CRISPR ლოკუსში მოკლე 20 ფუძიანი პალინდრომული

განმეორებების შუაში. ლოკუსები ტრანსკრიბირდებიან და ტრანსკრიპტები ქმნიან მცირე ზომის რნმ-ს (crRNA), რომელიც სპეციფიურობას სძენს ეფექტორულ ენდონუკლეაზებს შემოჭრილი დნმ-ის მიმართ. შემდეგ პროცესში ერთვება Cas 9 ცილა. იგი მონაწილეობს crRNAs ს დამუშავებასა და სამიზნე დნმ-ს დაშლაში[6]. Cas 9-ს ფუნქციას ამ ორ ნაბიჯზე განაპირობებს ორი ნუკლეაზის დომენის არსებობა. RuvC-მსგავსი ნუკლეაზას დომენი და HNH-მსგავსი ნუკლეაზას დომენი, რომელიც იმყოფება ცილის შუა რეგიონში. [14] სპეციფიური დნმ-ის შეცნობის და სეგმენტაციისთვის Cas9-ს უნდა შეუერთდეს crRNA-ს და tracrRNA-ს[6]. tracrRNA საჭიროა crRNA-ს მომწიფებისთვის პირველადი ტრანსკრიპტიდან, რომელიც კოდირებს მრავალ crRNA-ს წინამორბედ რნმ-ს[2]. სამიზნე დნმ-ს დაშლის დროს HNH და RuvC--ს მსგავსი ნუკლეაზას დომეინები ჭრიან crRNA -ტრანსკრიპთთან ასოცირებულს ორმაგ სპირალურ განშტოებებს (20 ნუკლეოტიდიან სამიზნე თანმიმდევრობებს)[6,10].

CRISPR/Cas სისტემის მარტივი ვერსია CRISPR/Cas9 მოდიფიცირებულ იქნა გენომის შესაცვლელად. უჯრედის გენომი სასურველ ლოკაციაზე შეიძლება მოიჭრას, რის შედეგადაც არსებული გენების ამოჭრა და სასურველის ჩამატება გახდა შესაძლებელი. [7]

CRISPR ნუკლეაზას სიმარტივე მდგომარეობს იმაში, რომ მისი სტრუქტურა მხოლოდ სამ კომპონენტიანიაბ (cas9, crRNA და trRNA). მოგვიანებით, ხელოვნურად შეიქმნა ორკომპონენტიანი სისტემა, რომელშიც trRNAს და crRNA -ს გაერთიანდა სინთეზურ „single guide“ RNA-ში.

დღესდღეობით Cas ცილის რამდენიმე ვარანტია ცნობილი, რომლებიც გენომის შეცვლისთვის გამოიყენება. პირველია ბუნებრივი Cas9, რომელსაც შეუძლია ზუსტად გაჭრას ორმაგჯაჭვიანი დნმ. შედეგად აქტიურდება დარღვეული ორმაგჯაჭვიანი ბმის აღმდგენი მექანიზმები. ორმაგი ჯაჭვი შეიძლება აღდგეს უჯრედული არაჰომოლოგური ბოლოების შეერთებით (NHEJ). შედეგად მიღებული ინდელები ანგრევს სამიზნე ლოკუსს. [11]

მეორე ვარიანტია მუტანტური Cas9D10A, რომელიც მხოლოდ დნმ-ს ჭრის, არ ააქტიურებს NHEJ გზას, რეპარაცია კი ჰომოლოგიური გზით ხდება. შედეგად უფრო იშვიათად წარმოიქმნება ინდელების მუტაცია. [1,5]

მესამე ვარიანტი არის ნუკლეაზა-დეფიციტური Cas9 (dCAS9). Cas9-ს HNH-დომენის მუტაცია და RuvC-ს ინაქტივაცია საშუალებას იძლევა, ძალიან ზუსტად მოინიშნოს

ნებისმიერი უბანი წაშლის გარეშე და რამდენიმე ეფექტორული დომეინის შერწყმით dCAS9 შეიძლება გამოყენებული იქნას გენის გაჩუმების ან გააქტიურებისთვის. [2,6]

CRISPR/CAS9 სისტემა, როგორც ვნახეთ, საშუალებას იძლება გაჩუმებულ ან გააქტიურებულ იქნას სასურველი გენები. აი მაგალითად, თუ ცნობილია, რომ ადამიანს წინასწარგანწყობა აქვს რომელიმე დაავადების მიმართ, სისტემა ამ გენს გააჩუმებს. ამასთან მისი შესაძლებლობები არ შემოიფარგლება დაავადებათა ერთი ჯგუფით.

CRISPR იმდენად მძლავრია, რომ შეუძლია წარუშლელი კვალი დატოვოს ადამიანის შთამომავლობაზეც, მისი საკმარისად განვითარების შემთხვევაში გენომის შეცვლა მარტივი გახდება. მალე კაცობრიობა მივა ეტაპამდე, როცა მოუწევს წავიდეს რისკზე. ამასთან, არსებობს ყველა ექსპერიმენტის ეთიკური ზღვარი, რომელიც უდანაშაულო მსხვერპლზე გადის. ერთ შემთხვევაში უდანაშაულო მსხვერპლი ექსპერიმენტის ზრდასრული მონაწილეები და მათი შთამომავლობა იქნება, ხოლო მეორე შემთხვევაში კი უამრავი ემბრიონი რომელიც „ახალი“, გაცილებით, გამძლე, ჯანმრთელი და ჭკვიანი ადამიანის შესაქმნელად იქნება გამოყენებული. ამრიგად გვაქვს სასწორის ორი მხარე: ერთზე მედიცინის უდიდესი პრობლემების ერთხელ და სამუდამოდ გადაჭრა დგას, მეორეზე კი უცნობი შედეგით გამოწვეული შესაძლო წარუშლელი ნეგატიური კვალი ექსპერიმენტების მსხვერპლებზე. ისიც საყურადღებოა, რომ შესაძლებელია CRISPR სისტემა ბოროტი გონების ხელში ჩავარდეს, ასეთ შემთხვევაში ის კაცობრიობის ყველაზე მძლავრ იარაღად იქცევა. იმ მარტივი მიზეზის გამო, რომ მისი საშუალებით შესაძლებელია შეიქმნას უძლეველი რასა, რომელსაც წინ არაფერი აღუდგება, ადამიანი კი თავისი ბუნებით დომინანტობისკენაა მიდრეკილი. ამ უკანასკნელის დასამოწმებლად მხოლოდ მონათმფლობელობაც კმარა, რომელიც ბოლომდე დღესაც არ აღმოფხვრილა.
ვინ იცის, იქნებ მომავალში სუპერ-სახელმწიფოები ერთმანეთს არა ურანის გამდიდრებაში ან ახალი ბიოლოგიური იარაღის სინთეზში, არამედ გენომის მოდიფიცირებაში შეეჯიბრონ, იმ არც თუ ისე უსაფუძვლო იმედით რომ ახალი სამყაროს ყველაზე შემაძრწუნებელ იარაღს შექმნიან. მის ამოქმედებას მართალია ხმაური და „ატომური ზამთარი“ არ მოჰყვება, მაგრამ ადამიანთა ახალი რასა უხმოდ ნამდვილად არ ჩაივლის არც ფიზიკური და არც ინტელექტუალური კუთხით.

მაშინ, როცა CRISPR სისტემა განვითარების გზაზე დგას, ნოვოსიბირსკის ვირთაგვის ქანდაკებას კიდევ გამოუჩნდებიან მსოფლიოს სხვადასხვა ქალაქში მოძმე სკულპტურები. ისინი კვლავაც დაამშვენებენ მათ უკან მდებარე უნივერსიტეტებსა და ლაბორატორიებს, საინტერესოა, მოუტანს თუ არა CRISPR სისტემა კაცობრიობას ასეთივე სარგებელს. ამის გარკვევა მხოლოდ დროის საკითხია.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1 Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., … Zhang, F. (2013). Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. Science (New York, N.Y.), 339(6121), 819–823.

2 Deltcheva, E., Chylinski, K., Sharma, C. M., Gonzales, K., Chao, Y., Pirzada, Z. A., … Charpentier, E. (2011). CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. Nature, 471(7340), 602–607.

3 Gilbert, L. A., Larson, M. H., Morsut, L., Liu, Z., Brar, G. A., Torres, S. E., … Qi, L. S. (2013). CRISPR-Mediated Modular RNA-Guided Regulation of Transcription in Eukaryotes. Cell, 154(2), 442–451.

4 Hu, J., Lei, Y., Wong, W.-K., Liu, S., Lee, K.-C., He, X., … Feng, B. (2014). Direct activation of human and mouse Oct4 genes using engineered TALE and Cas9 transcription factors. Nucleic Acids Research, 42(7), 4375–4390.

5 Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., Amemura, M., & Nakata, A. (1987). Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in Escherichia coli, and identification of the gene product. Journal of Bacteriology, 169(12), 5429–5433.

6 Jinek M1, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. Science, 337, 816–821.

7 Ledford, Heidi (3 June 2015). "CRISPR, the disruptor". News Feature. Nature. 522 (7554).

8 Maeder, M. L., Linder, S. J., Cascio, V. M., Fu, Y., Ho, Q. H., & Joung, J. K. (2013). CRISPR RNA-guided activation of endogenous human genes. Nature Methods, 10(10), 977–979.

9 Marraffini, L. A., & Sontheimer, E. J. (2010). CRISPR interference: RNA-directed adaptive immunity in bacteria and archaea. Nature Reviews. Genetics, 11(3), 181–190.

10 Nishimasu, H., Ran, F. A., Hsu, P. D., Konermann, S., Shehata, S., Dohmae, N., … Nureki, O. (2014). Crystal Structure of Cas9 in Complex with Guide RNA and Target DNA. Cell, 156(5), 935–949.

11 Søren Overballe-Petersena , Klaus Harmsb, Ludovic A. A. Orlandoa, J. Victor Moreno Mayara, Simon Rasmussenc, Tais W. Dahld, Minik T. Rosingd, Anthony M. Poolee, Thomas Sicheritz-Pontenc,f, Søren Brunakc,f, Sabrina Inselmanng, Johann de Vriesg, Wilfried Wackernagelg, Oliver G. Pybush,

Rasmus Nielseni,j,k, Pål Jarle Johnsenb, Kaare Magne Nielsenb,l, and Eske Willersleva. (2013). Bacterial natural transformation by highly fragmented and damaged DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110,19860–19865.

12 Perez-Pinera, P., Kocak, D. D., Vockley, C. M., Adler, A. F., Kabadi, A. M., Polstein, L. R., … Gersbach, C. A. (2013). RNA-guided gene activation by CRISPR-Cas9-based transcription factors. Nature Methods, 10(10), 973–976.

13 Qi, L. S., Larson, M. H., Gilbert, L. A., Doudna, J. A., Weissman, J. S., Arkin, A. P., & Lim, W. A. (2013). Repurposing CRISPR as an RNA-Guided Platform for Sequence-Specific Control of Gene Expression. Cell, 152(5), 1173–1183.

14 Sapranauskas, R., Gasiunas, G., Fremaux, C., Barrangou, R., Horvath, P., & Siksnys, V. (2011). The Streptococcus thermophilus CRISPR/Cas system provides immunity in Escherichia coli. Nucleic Acids Research, 39(21), 9275–9282.