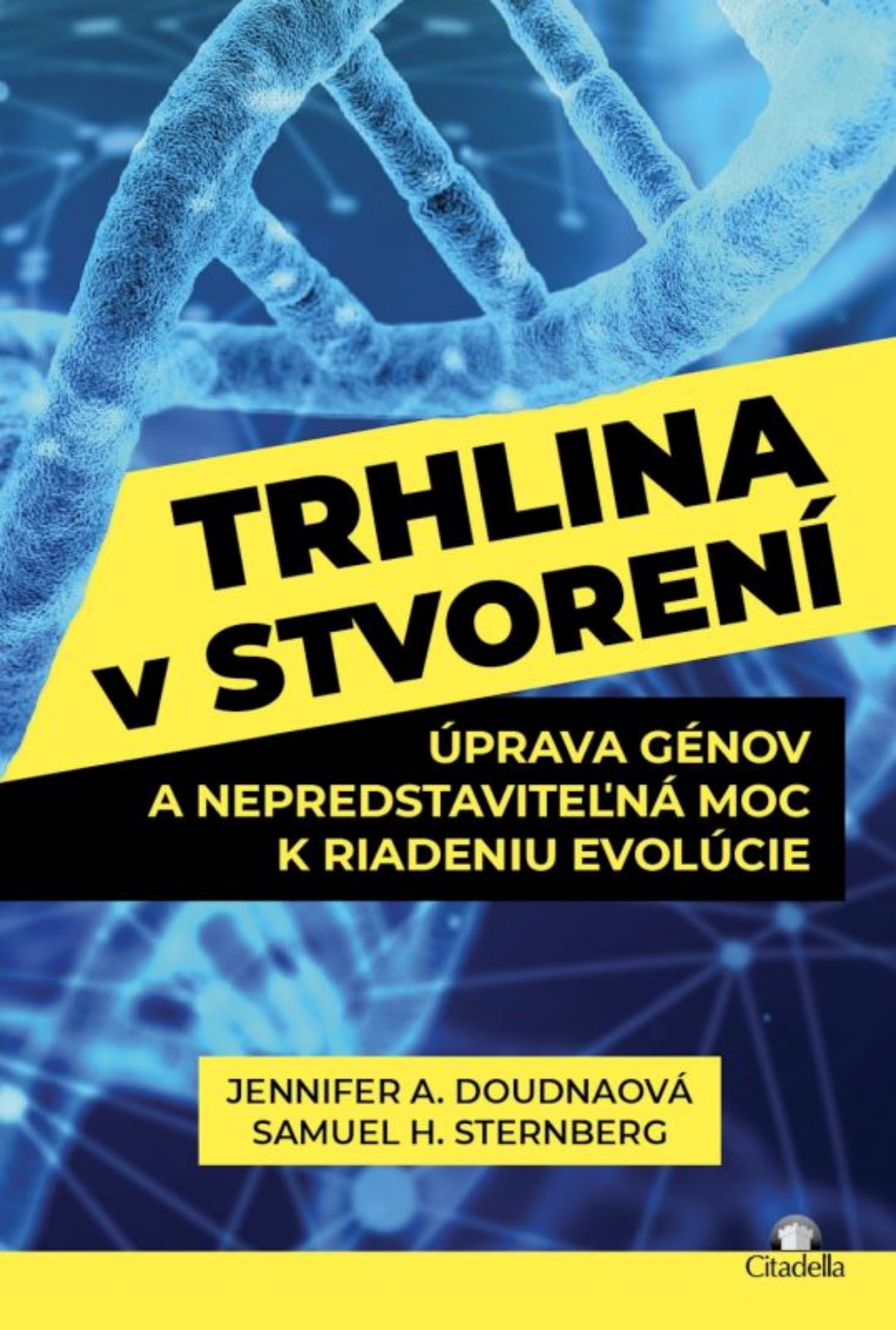




TRHLINA V STVORENÍ

**ÚPRAVA GÉNOV
A NEPREDSTAVITELNÁ MOC
K RIADENIU EVOLÚCIE**

**JENNIFER A. DOUDNAOVÁ
SAMUEL H. STERNBERG**



Citadella

TRHLINA V STVORENÍ

TRHLINA V STVORENÍ

ÚPRAVA GÉNOV
A NEPREDSTAVITELNÁ MOC
K RIADENIU EVOLÚCIE

JENNIFER A. DOUDNAOVÁ
SAMUEL H. STERNBERG

Jennifer A. Doudna, Samuel H. Sternberg
Trhlina v stvorení

Original title: A Crack in Creation: Gene Editing and the Unthinkable Power to Control Evolution

Copyright © 2017 by Jennifer A. Doudna and Samuel H. Sternberg.

All rights reserved.

Všetky práva vyhradené. Táto publikácia ani žiadna jej časť nesmie byť kopírovaná, rozmnožovaná ani inak šírená bez písomného súhlasu vlastníka autorských práv.

Slovak Edition © Citadella, 2018

Preklad © Ján Dulla

Odborná spolupráca: Prof. RNDr. Peter Račay, PhD.

Redakčná úprava a korektúry: Ľubomír Závada

Návrh obálky a grafická úprava: Mgr. art. Ján Hanušovský

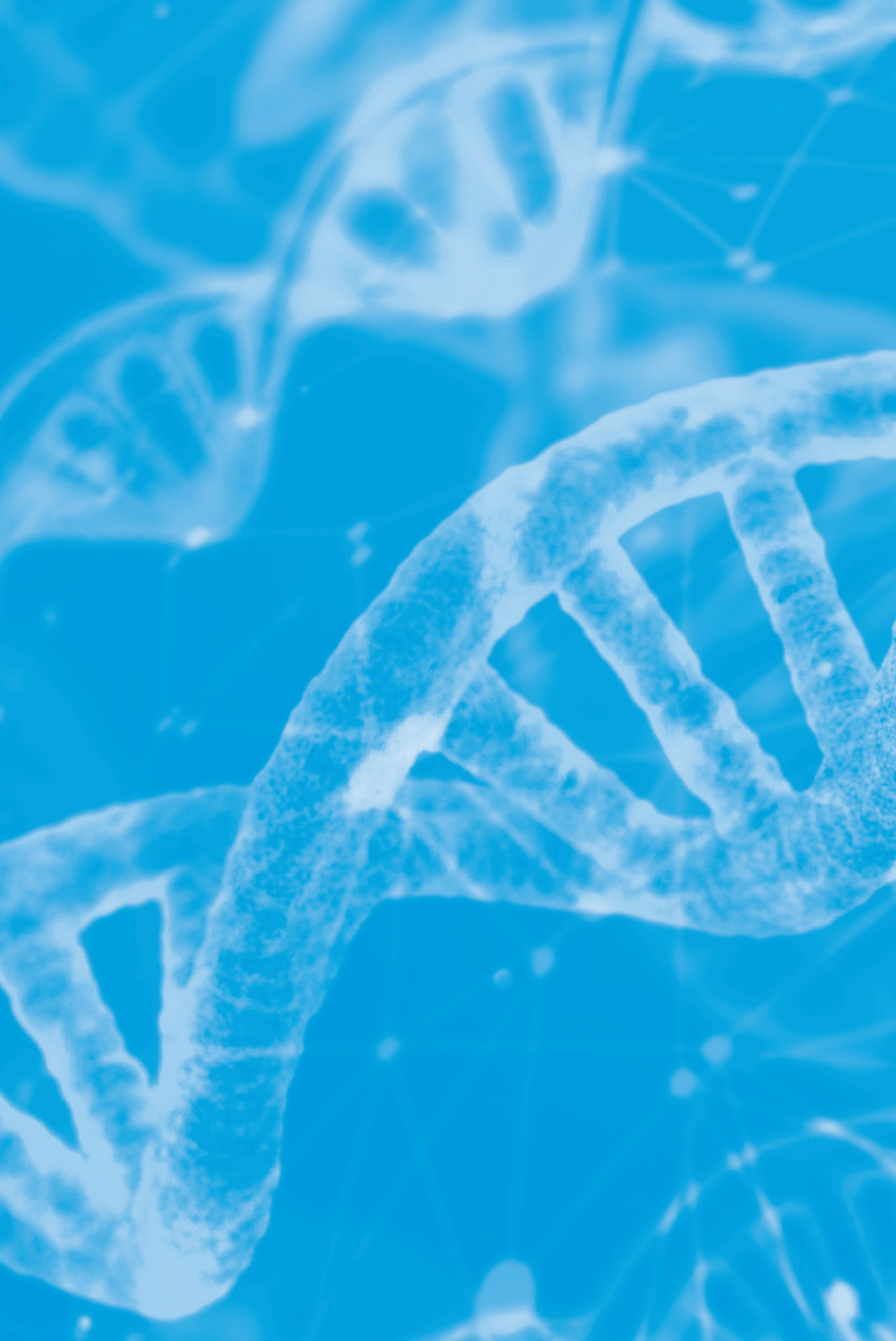
Vydalo vydavateľstvo Citadella v roku 2018

ISBN: 978-80-8182-116-5

*Venované našim rodičom Dorothy a Martinovi Doudnovým (J.A.D.)
a Susanne Nimmrichterovej a Robertovi Sternbergovi (S.H.S.)*

Veda nemá tušenia o tom, za koľko toho vďačí predstavivosti.

– Ralph Waldo Emerson



OBSAH

Úvod: Vlňa	11
------------------	----

1. ČASŤ **NÁSTROJ**

1. Hľadanie lieku.....	25
2. Nová obrana	61
3. Lámanie kódu	89
4. Velenie a kontrola	119

2. ČASŤ **ÚLOHA**

5. Zverinec CRISPR	153
6. Liečiť chorých	195
7. Účtovanie.....	229
8. Čo nás čaká	263

Záver: Začiatok.....	295
----------------------	-----

Pod'akovania	303
--------------------	-----

Odkazy	307
--------------	-----



ÚVOD: VLNA

VO SVOJOM SNE stojím na pláži.

Naľavo i napravo odo mňa sa popri vode tiahnu dlhé pásy sivo-bieleho piesku, ohraničujúce veľký záliv. Uvedomujem si, že je to pobrežie havajského ostrova, na ktorom som vyrastala: okraj zátoky Hilo, kde som kedysi trávila víkendy s priateľmi pozorovaním pretekov kanoí a hľadaním mušlí a sklenených guliek, ktoré občas vyplavilo na breh more z japonských lodí.

Dnes tu však nie sú na dohľad žiadni priatelia, kanoe ani rybárske lode. Pláž je prázdna, piesok a voda neprirodzene nehybné. Za vlnolamom sa svetlo jemne pohráva s hladinou oceánu, ako keby chcelo utíšiť strach, ktorý v sebe nosím od detstva – strach, ktorý máta každého obyvateľa Hilo, nech je akokoľvek mladý. Moja generácia vyrastala bez očakávania tsunami, všetci sme však videli tie fotky. Vieme, že naše mesto sa nachádza v záplavovej zóne.

Ako na pokyn som ju zahliadla v diaľke. Vlnu.

Sprvu je maličká, no s každou sekundou rastie, dvíhajúc sa predomnou ako stena do nesmiernej výšky, jej spenený hrebeň zakrýva oblohu. Za ňou sú ďalšie vlny a všetky sa valia k pobrežiu.

TRHLINA V STVORENÍ

Som paralyzovaná strachom – ako sa však tsunami približuje, moje zdesenie ustupuje odhodlaniu. Všímam si za sebou malú drevenú chatrč. Je to obydlie môjho priateľa Pua; pred ňou je pohádzaná kopa surfovacích dosiek. Jednu schmatnem a hádzem do vody, veslujem do zátoky okolo vlnolamu a mierim priamo k približujúcim sa vlnám. Skôr než ma zachytí prvá, dokážem ju podplávať a keď sa na druhej strane vynorím, surfujem dolu druhou. V tej chvíli mi dochádza ten výhľad. Je to úžasný pohľad – je tam Mauna Kea a za ňou sa ochranne dvíha nad zálivom a týči k oblohe Mauna Loa.

Prebúdzam sa vo svojej spálni v Berkeley v Kalifornii, tisícky kilometrov od domova svojho detstva.

Je júl 2015 a ja prežívam ten najvzrušujúcejší, najohromujúcejší rok svojho života. Podobné sny ako tento začínam mať pravidelne a pochopenie ich hlbšieho zmyslu mi teraz nerobí problém. Tá pláž je prelud, ale vlny a zmes emócií, ktoré vyvolávajú – strach, nádej a bázeň – sú skutočné až príliš.

Volám sa Jennifer Doudnaová. Som biochemička a väčšinu svojej kariéry som strávila v laboratóriu, venujúc sa výskumu v oblastiach, o ktorých ľudia mimo môjho odboru nikdy nepočuli. Za posledných päť rokov som však začala prichádzať do styku s priekopníckou oblasťou biologických vied, ktorej vývoj sa nedá uzavrieť medzi štyri steny môjho vedeckého výskumného centra. Spolu s mojimi kolegami som bola ťahaná neodolateľnou silou, veľmi podobnou vlne tsunami z môjho sna – len s tým rozdielom, že túto prílivovú vlnu som pomohla vyvolať ja.

V lete roku 2015 rástla biotechnológia, ktorú som len pred pár rokmi pomáhala zakladať, pre mňa nepredstaviteľným tempom. A jej dôsledky boli seizmické – nie iba pre biologické vedy, ale pre všetok život na Zemi.

Táto kniha je jej a mojím príbehom. A tiež vašim. Nepotrvá totiž dlho a dopady tejto technológie zaklopú na dvere aj vám.

Ľudstvo pretvára fyzický svet už celé tisícročia. Dôsledky však neboli nikdy také dramatické ako dnes. Industrializácia spôsobila klimatické zmeny, ohrozujúce ekosystémy na celej zemeguli, čo spolu s ďalšími ľudskými činnosťami urýchlilo úhyn druhov, ničiac rozmanité populácie stvorení, s ktorými spoločne obývame túto Zem. Tieto transformácie inšpirovali geológov k návrhu premenovať túto geologickú dobu na antropocén – epochu ľudstva.

Hlboké, ľudstvom vyvolané zmeny, zažíva aj biologický svet. Celé miliardy rokov postupoval svet podľa Darwinovej teórie evolúcie: organizmy sa vyvíjali prostredníctvom sérií náhodných genetických variácií, z ktorých niektoré priniesli výhody v prežití, súťaži a reprodukcií. Až doteraz sa týmto procesom utvárali aj naše druhy; vlastne, až nedávna sme boli do veľkej miery odkázaní na jeho milosť a nemilosť. Keď sa pred desiatimi tisícmi rokmi objavilo poľnohospodárstvo, začalo ľudstvo ovplyvňovať evolúciu selektívnym pestovaním rastlín a chovom zvierat, počiatočný materiál – náhodné mutácie DNA, vytvárajúce použiteľné genetické variácie – sa stále generovali spontánne a náhodne. V dôsledku toho sa snahy nášho druhu meniť prírodu oddaľovali a stretávali len s čiastočným úspechom.

Dnes je všetko úplne inak. Vedcom sa tento prapôvodný proces podarilo dostať plne pod ľudskú kontrolu. S využitím účinných nástrojov biotechnológie na fušovanie do DNA v živých bunkách dokážu teraz vedci pozmeňovať a racionálne modifikovať genetický kód, ktorý určuje všetky druhy na tejto planéte, vrátane nášho vlastného. A tým najnovším, a pravdepodobne najúčinnnejším, nástrojom genetického inžinierstva CRISPR-Cas9 (skrátene CRISPR) sa stal genóm – celý obsah

DNA organizmu, vrátane všetkých jeho génov – upravovateľný takmer rovnako ľahko ako jednoduchý kus textu.

Keďže je známy genetický kód konkrétnej vlastnosti, môžu vedci využívať CRISPR na vkladanie, úpravu alebo vymazanie príslušného génu v genóme doslova každej rastliny či živočícha. Tento proces je ďaleko jednoduchší a účinnejší než ktorákoľvek iná jestvujúca technológia úpravy génov. Prakticky za noc sme sa ocitli na vrchole novej doby genetického inžinierstva a vlády nad biológiou – revolučnej éry, v ktorej sú možnosti limitované len našou kolektívnou predstavivosťou.

Prvou, a zatiaľ najväčšou pokusnou oblasťou pre tento nový nástroj na úpravu génov, bola ríša zvierat. Vedci napríklad využili CRISPR na vytvorenie vylepšenej verzie plemena bígľ, vytvoriac psov so schwarzeneggerskou super svalnatou stavbou tela, zmenami jediného písmena génu DNA, ktorý riadi vytváranie svalstva. V inom prípade deaktiváciou génu v prasacom genóme, reagujúceho na rastový hormón, vytvorili vedci mikroošipané, prasiatka nie väčšie ako veľké mačky, ktoré je možné predávať ako domácich miláčikov. Niečo podobné spravili vedci s kašmírskymi kozami, upraviac pomocou CRISPR genóm zvierat tak, aby mali viac svalstva (a dávali tak viac mäsa) a dlhšiu srst' (čo znamená viac kašmírových vláken). Genetici používajú CRISPR dokonca aj na zmenu DNA slona indického na niečo, čo sa čoraz viac podobá na DNA mamuta srstnatého, v nádeji, že raz toto vyhynuté zviera znovu vzkriesia.

Medzitým sa technológia CRISPR vo veľkom rozšírila do sveta rastlín na úpravu genómov poľnohospodárskych plodín, dláždiac cestu pokroku v poľnohospodárstve, ktorý by mohol dramaticky zlepšiť stravovanie ľudí a zabezpečiť svetu potravinovú sebestačnosť. Experimenty s úpravou génov vytvorili ryžu, odolnú voči chorobám, pomalšie hnijúce paradajky, sóju s obsahom zdravšieho polynasýteného

tuku a zemiaky s nižšími hladinami silného neurotoxínu. Odborníci na výživu nedosahujú tieto zlepšenia technikami transgeniky – spojením DNA jedného druhu s genómom iného druhu – ale jemne nastavenými genetickými vylepšeniami, vyžadujúcich si zmenu len niekoľkých písmen vlastnej DNA organizmu.

Hoci sú využitia pre flóru a faunu planéty vzrušujúce, najväčší prísľub a zrejme aj hrozbu pre budúcnosť ľudstva predstavuje dosah úpravy génov na náš vlastný druh.

Paradoxne by z použitia CRISPR na zvieratách, či dokonca na hmyze mohli vyplynúť niektoré prínosy pre ľudské zdravie. CRISPR sa používa na „poľudštenie“ DNA ošípaných, vzbudzujúc tým nádeje, že by tieto zvieratá mohli raz slúžiť ako darcovia orgánov pre ľudí. CRISPR sa tiež vkladá do genómov nových rodov komárov, ako súčasť plánu rýchlo zaviesť do populácií divých komárov nové vlastnosti. Vedci dúfajú, že nakoniec vykorenia komármi prenášané choroby, ako sú malária a vírus Zika, či snád' dokonca vyhubia samotné komáre prenášajúce maláriu.

Nástroj CRISPR však ponúka potenciál úpravy a opravy zmutovaných génov pri liečbe mnohých chorôb priamo u ľudských pacientov. Zatiaľ sme dosiahli len záblesk jeho možností, no to, čo sme videli v uplynulých rokoch, je vzrušujúce. U laboratórne pestovaných ľudských buniek sa táto nová technológia úpravy génov, okrem mnohých iných porúch, využila na nápravu mutácií zodpovedných za cystickú fibrózu, kosáčikovitú anémiu, niektoré formy slepoty a ťažkú kombinovanú imunodeficienciu. Také hrdinské činy umožňuje CRISPR vedcom konať vďaka vyhľadávaniu a oprave nesprávnych písmen DNA spomedzi 3,2 miliárd písmen tvoriacimi ľudský genóm, dá sa však použiť aj na výkon ešte zložitejších modifikácií. Bádatelia opravili chyby DNA, spôsobujúce svalovú dystrofiu Ducheneovho typu tým, že vystrihli len

poškodenú oblasť zmutovaného génu a zvyšok ponechali bezo zmeny. V prípade hemofílie typu A využili vedci CRISPR na presné preskúpanie vyše pol milióna písmen DNA, ktoré sú menené v genómoch postihnutých pacientov. Technológia CRISPR by sa mohla využiť dokonca aj na liečbu HIV/AIDS, buď vystrihnutím vírusovej DNA z napadnutých buniek pacienta, alebo takou úpravou pacientovej DNA, aby sa bunky infekcii úplne vyhli.

Zoznam možných liečebných využití úpravy génov nemá konca. Keďže CRISPR umožňuje presnú a relatívne jednoduchú úpravu génov, mení všetky genetické ochorenia – alebo aspoň všetky ochorenia, u ktorých poznáme ich spúšťajúcu mutáciu – na potenciálne liečiteľný cieľ. Lekári už začali liečiť niektoré druhy rakoviny vylepšenými imunitnými bunkami, ktorých genómy boli posilnené upravenými génmi pre pomoc v boji s rakovinovými bunkami. Hoci nás čaká ešte dlhá cesta, kým bude liečba na základe CRISPR bežne dostupná ľudským pacientom, jej potenciál je zrejmý. Úprava génov prináša prísľub liečby, ktorá mení kvalitu života a v niektorých prípadoch aj prísľub lieku na jeho záchranu.

Technológia CRISPR však so sebou nesie aj iné závažné dôsledky: dá sa využiť nielen na liečbu chorôb u živých ľudí, ale aj na prechádzanie chorôb u ľudí, ktorí sa ešte nenarodili. Je taká jednoduchá a účinná, že by ju vedci mohli využiť na zmenu ľudskej zárodočnej línie - prúdu genetických informácií spájajúceho jednu generáciu s tou nasledujúcou. A táto technológia bude bezpochyby – raz, niekde – využitá na zmenu genómu nášho vlastného druhu spôsobmi, ktoré sú dedičné, navždy tak pozmeniac genetickú výbavu ľudstva.

Za predpokladu, že sa úprava génov u ľudí ukáže byť bezpečná a efektívna, mohlo by sa zdať logické, či dokonca výhodnejšie, naprávať choroby spôsobujúce mutácie v čo najranejšej etape života, *skôr*

ako začnú škodlivé gény spôsobovať škody. Len čo sa ale stane možné meniť zmutované gény embrya na „normálne“, vznikne určite aj pokúšenie vylepšovať normálne gény na domnelo kvalitnejšie verzie. Mali by sme začať upravovať gény u nenarodených detí, aby sme znížili ich celoživotné riziko srdcového ochorenia, Alzheimerovej choroby, cukrovky či rakoviny? A čo tak vybaviť nenarodené deti prospešnými vlastnosťami, napríklad väčšou silou a zlepšenými poznávacími schopnosťami, alebo zmeniť ich fyzické znaky, ako sú farba očí a vlasov? Hľadanie dokonalosti sa zdá byť takmer súčasťou ľudskej povahy, keď sa ale vydáme touto cestou do pekla, nemusí sa nám páčiť, kde skončíme.

Problém spočíva v tomto: za zhruba stotisíc rokov existencie súčasných ľudí sa genóm *Homo sapiens* utváral spoločnými silami náhodných mutácií a prirodzeného výberu. Teraz, po prvýkrát vôbec, máme schopnosť upravovať nielen DNA každej živej ľudskej bytosti, ale aj DNA budúcich generácií – v podstate riadiť evolúciu nášho vlastného druhu. V histórii života na Zemi ide o niečo bezprecedentné, niečo, čo presahuje naše chápanie. A núti nás to klásť si absurdnú, no zásadnú otázku: Čo sa my, svárlivý druh, ktorého príslušníci majú skoro na všetko odlišné názory, rozhodneme s touto úžasnou mocou urobiť?

Riadenie evolúcie ľudského druhu mi v roku 2012, kedy som spolu so svojimi kolegami uverejnili štúdiu, ktorá vytvorila základ pre technológiu úpravy génov CRISPR, ani nezišlo na um. Napokon, naša práca bola spočiatku motivovaná zvedavosťou o vonkoncom nesúvisiacu tému: spôsob, akým sa baktérie bránia pred vírusovou infekciou. Okamžite nám bola jasná aj užitočnosť tohto istého nástroja pre vykonávanie úprav DNA u iných druhov buniek, vrátane tých ľudských. A pri širokom zavádzaní a rýchlom vývoji technológie som sa už dlhšie nemohla vyhýbať boju s početnými dôsledkami našej práce.

V čase, keď vedci použili metódu CRISPR u embryí primátov na vytvorenie prvých opíc s upravenými génmi, kládla som si otázku, koľko potrvá, kým sa nejakí zblúdili vedci pokúsia o to isté u ľudí. Ako biochemička som nikdy nepracovala s pokusnými zvieratami, ľudskými tkanivami či ľudskými pacientmi; moja komfortná zóna končila okrajmi Petriho misiek a skúmaviek v mojom laboratóriu. Teraz som sa však prizerala tomu, ako sa technológia, ktorú som pomohla vytvoriť, využíva spôsobmi, ktoré by mohli radikálne zmeniť nielen náš druh, ale aj svet, v ktorom žijeme. Zväčší nechtiac sociálne či genetické nerovnosti alebo bude počiatkom nového eugenického hnutia? Na aké reakcie sa budeme musieť pripraviť?

Bola som v pokušení prenechať tieto diskusie ľuďom so skutočným vzdelaním v bioetike a znova sa vrátiť k vzrušujúcemu biochemickému výskumu, ktorý ma pôvodne ku CRISPR priviedol. Zároveň som však, ako priekopníčka v odbore, pociťovala záväzok pomôcť s vedením rozhovorov o tom, ako by sa tie technológie mohli a mali používať. Konkrétne som chcela zabezpečiť, aby sa diskusie nezúčastňovali len výskumníci a odborníci na bioetiku, ale aj celý rad ďalších osôb, vrátane sociológov, politikov, duchovných, zákonodarcov a zástupcov verejnosti. Keďže má tento vedecký vývoj vplyv na celé ľudstvo, zdalo sa mi dôležité zapojiť do diskusie čo najviac sektorov spoločnosti. Mala som pocit, že tie rozhovory by sa mali začať ihneď, skôr než sa akýmkoľvek pokusom o udržanie na uzde vymknú ďalšie použitia tejto technológie.

A tak som v roku 2015, naďalej vedúc svoje laboratórium v Berkeley a cestujúc po svete, aby som na seminároch a konferenciách prezentovala výsledky svojho výskumu, začala čoraz viac svojho času venovať témam, ktoré mi boli úplne cudzie. Odpovedala som na desiatky otázok novinárov, počnúc tými o geneticky upravených deťoch,

hybridoch medzi ľuďmi a ošípanými až po geneticky vytvorených nadľuďoch. O CRISPR som hovorila s kalifornským guvernérom, s členmi Úradu pre vedu a technológie Bieleho domu, s CIA a pred Kongresom USA. Organizovala som prvé stretnutie na rozhovory o etických otázkach, ktoré prinášajú technológie úpravy génov, a najmä CRISPR, v celom rade oblastí, ako sú reprodukčná biológia, ľudská genetika, poľnohospodárstvo, životné prostredie a zdravotná starostlivosť. A od toho prvého stretnutia som pomáhala zvyšovať dynamiku spoluorganizovaním ďaleko väčšieho medzinárodného samitu o úprave ľudských génov, ktorý dal dokopy vedcov a ďalších účastníkov z USA, Veľkej Británie, Číny a celého sveta.

V týchto rozhovoroch sme sa stále znova vracali k otázke, ako s touto novozískanou mocou narábať. K odpovedi sme zatiaľ nedospeli. Ale kúsok po kúsku sa k nej dostávame.

Úprava génov nás núti postaviť sa chúlостivému problému, kam stanoviť hranicu pri manipulácii s ľudskou genetikou. Niektorí ľudia pokladajú akúkoľvek formu genetickej manipulácie za odporné, zvrhlé porušenie posvätných zákonov prírody a dôstojnosti života. Iní vnímajú genóm len ako softvér – niečo, čo vieme opraviť, vymazať, aktualizovať a upgradovať – tvrdia, že nechať ľudské bytosti vydané na milosť a nemilosť chybnéj genetike je nielen iracionálne, ale aj nemorálne. Úvahy podobné týmto viedli niektorých k volaniu po úplnom zákaze úpravy genómu u nenarodených ľudí a ďalších k volaniu, aby v tom vedci mohli nerušene pokračovať.

Moje vlastné názory na túto tému sa stále vyvíjajú, zasiahla ma však jedna poznámka, vyslovená na stretnutí v januári 2015, ktoré som zorganizovala pre diskusiu o úprave ľudského zárodku v embryách. Sedemnásť ľudí, vrátane spoluautora tejto knihy (a môjho niekdajšieho doktoranda) Sama Sternberga, sedelo okolo konferenčného stola

v kalifornskom Napa Valley a viedlo vzrušenú debatu o tom, či a kedy by mohla byť povolená úprava zárodočnej línie. Náhle niekto zo skupiny veľmi tichým hlasom povedal: „Jedného dňa budeme možno považovať za neetické úpravu zárodočnej línie na zmiernenie ľudského utrpenia *nepoužiť*.“ Táto poznámka postavila na hlavu celú našu konverzáciu a mne stále prichádza na um pri každom stretnutí s rodičmi či nastávajúcimi rodičmi, čeliacimi ničivým účinkom genetických porúch.

Zatiaľ čo sa my radíme, výskum CRISPR ďalej pokračuje. Niekedy v polovici roka 2015 publikovali čínski vedci výsledky experimentu, v ktorom vložili CRISPR do ľudských embryí. Využili k tomu odložené embryá neschopné života, ich štúdia však napriek tomu predstavovala dôležitý míľnik: išlo o vôbec prvý pokus o presnú editáciu DNA ľudskej zárodočnej línie.

Zdesenie nad podobným vývojom je pochopiteľné. Napriek tomu však nemôžeme prehliadať fantastické liečebné možnosti, ktoré nám poskytuje úprava génov pre pomoc ľuďom, trpiacim oslabujúcimi genetickými chorobami. Predstavte si, čo by sa stalo, keby niekto, kto sa dozvedel, že v sebe nosí zmutovanú kópiu génu *HTT* (ktorý doslova garantuje skorý nástup demencie), mal prístup k lieku na báze CRISPR, ktorý by dokázal eliminovať mutácie DNA ešte skôr, než by sa prejavili akékoľvek príznaky. Nikdy predtým sa liečebné prostriedky nezдали byť tak blízko, a pri debate o úprave zárodočnej línie je dôležité zabezpečiť, aby sa verejná mienka neobrátila proti CRISPR alebo aby nebránila klinickým využitiam nededičných úprav génov.

Ohľadom prísľubu, ktorý úprava génov prináša, pociťujem neuveriteľné nadšenie. Výskum CRISPR rýchlo napreduje tak vo vedeckých laboratóriách, ako aj v start-upových biotechnologických spoločnostiach, pričom tie druhé sú podporované viac ako miliardou dolárov od investorov a firiem rizikového kapitálu. Ako hnacia sila odvetvia

poskytujú akademickí vedci a neziskové zoskupenia finančne nenáročné, s CRISPR súvisiace nástroje vedcom celého sveta, aby mohol výskum nerušene pokračovať.

Vedecký pokrok si však vyžaduje viac než len výskum, investície a inovácie; dôležité je tiež zapojenie verejnosti. Až doteraz sa revolúcia technológie CRISPR odohrávala hlavne za zatvorenými dverami laboratórií a biotechnologických start-upov. Dúfame, že ju za pomoci tejto knihy, ako aj ďalších snáh, dostaneme na svetlo. V prvej časti tejto knihy – „Nástroj“ – rozprávame so Samom o vzrušujúcom pozadí technológie CRISPR, vrátane toho, ako sa štúdiom imunitného systému baktérií začala a ako ťažila z desaťročí dlhej cesty k vývoju metód prepisovania DNA vnútri buniek. V druhej časti – „Úloha“ – skúmame nesmierne množstvá využítí CRISPR, tak súčasných, ako tých budúcich, u zvierat, rastlín a ľudí a rozprávame o vzrušujúcich možnostiach, ako aj dôležitých výzvach, ktoré na nás čakajú. Všimnete si, že všade znie môj hlas. Knihu sme ale písali obaja a väčšinu tu vyjadrených názorov máme spoločných. Tento rozprávačský prístup sme však zvolili v záujme zrozumiteľnosti a pre zachytenie rozsahu a podrobností mojich dlhoročných jedinečných skúseností.

Nie je cieľom tejto knihy byť úzkostlivo presnou históriou CRISPR, ani vyčerpávajúcou chronológiou počiatočného vývoja úpravy génov. Pokúsili sme sa skôr zdôrazniť niektoré z najnáročnejších pokrokov a poskytnúť náhľady toho, ako naša vlastná práca zapadala do výskumu iných. Na príslušných miestach sme pripojili odkazy a citátom, ktorých to zaujíma, odporúčame pre doplnenie preberaných tém nazrieť do ďalších publikácií. V závere pokorne ďakujeme nespočetným vedcom, ktorí zohrali v štúdiu o CRISPR a úprave génov veľmi dôležité a neoceniteľné roly a ospravedľňujeme sa mnohým kolegom, na spomenutie práce ktorých sme nemali priestor.

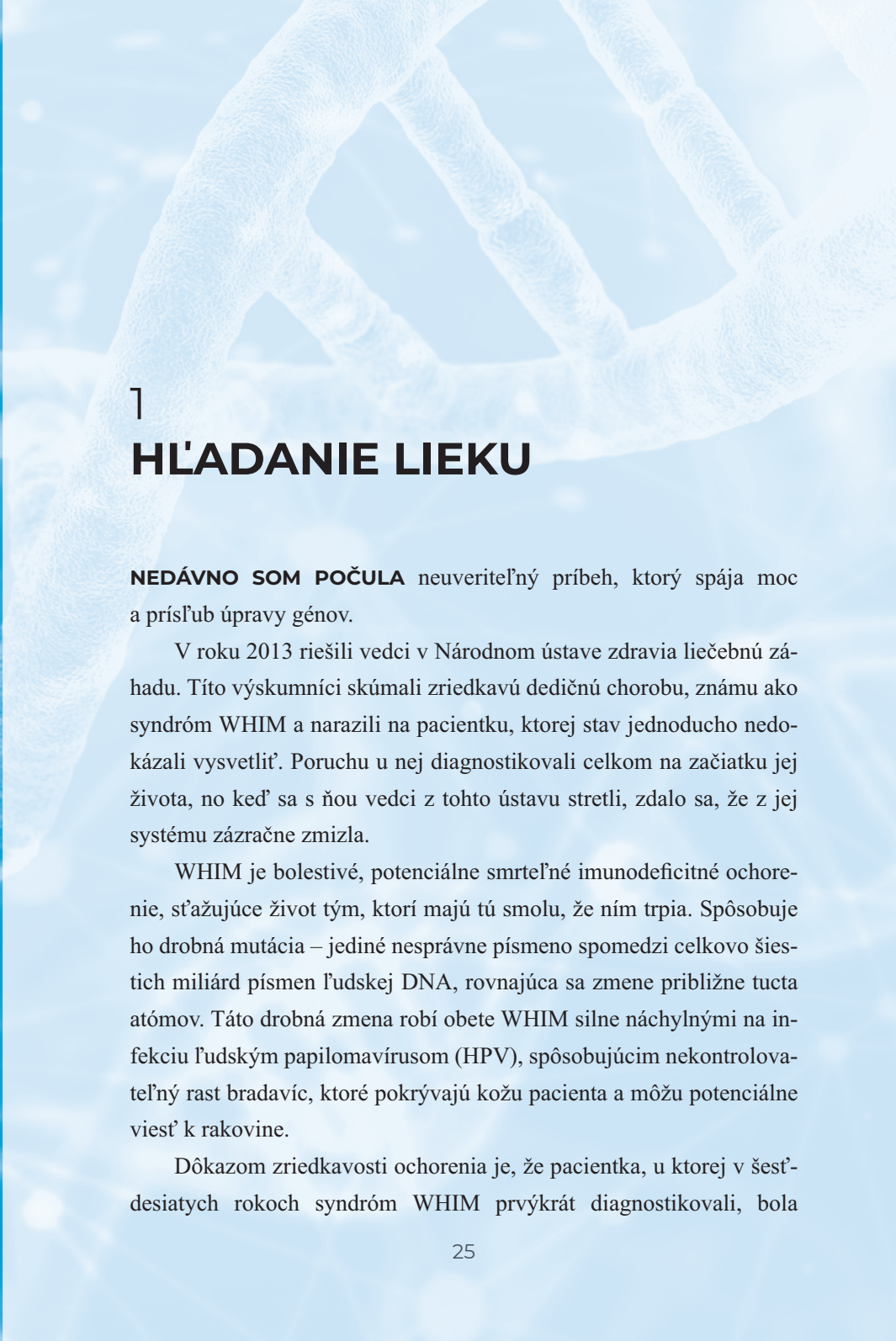
TRHLINA V STVORENÍ

Dúfame, že kniha demystifikuje túto vzrušujúcu oblasť vedy a podnikní vás zapojiť sa. Celosvetová diskusia o úprave génov sa už začala; ide o historickú debatu o ničom menšom, než je budúcnosť nášho sveta. Vlna prichádza. Začnime pádlovať a poďme sa na nej plaviť spolu.



1. část **NÁSTROJ**





1

HĽADANIE LIEKU

NEDÁVNO SOM POČULA neuveriteľný príbeh, ktorý spája moc a prísľub úpravy génov.

V roku 2013 riešili vedci v Národnom ústave zdravia liečebnú záhadu. Títo výskumníci skúmali zriedkavú dedičnú chorobu, známu ako syndróm WHIM a narazili na pacientku, ktorej stav jednoducho nedokázali vysvetliť. Poruchu u nej diagnostikovali celkom na začiatku jej života, no keď sa s ňou vedci z tohto ústavu stretli, zdalo sa, že z jej systému zázračne zmizla.

WHIM je bolestivé, potenciálne smrteľné imunodeficitné ochorenie, sťažujúce život tým, ktorí majú tú smolu, že ním trpia. Spôsobuje ho drobná mutácia – jediné nesprávne písmeno spomedzi celkovo šiestich miliárd písmen ľudskej DNA, rovnajúca sa zmene približne tucta atómov. Táto drobná zmena robí obeť WHIM silne náchylnými na infekciu ľudským papilomavírusom (HPV), spôsobujúcim nekontrolovateľný rast bradavíc, ktoré pokrývajú kožu pacienta a môžu potenciálne viesť k rakovine.

Dôkazom zriedkavosti ochorenia je, že pacientka, u ktorej v šesťdesiatych rokoch syndróm WHIM prvýkrát diagnostikovali, bola

rovnaká osoba, s ktorou sa výskumníci Národného ústavu zdravia po všetkých tých rokoch stretli. Vo vedeckej literatúre je známa jednoducho ako WHIM-09, ale ja ju budem volať Kim. Kim trpela ochorením WHIM od narodenia a v priebehu svojho života bola veľakrát hospitalizovaná so závažnými infekciami, prameniacimi z tohto ochorenia.

V roku 2013 sa Kim – vtedy mala päťdesiatosem rokov – spolu so svojimi dvoma dcérami, obe boli dvadsiatničky, predstavila personálu NÚZ. Mladšie ženy mali klasické príznaky ochorenia, vedcov však prekvapilo zistenie, že Kim sa zdala byť v poriadku. Vlastne tvrdila, že už vyše dvadsať rokov je bez príznakov. Kim sa šokujúco a bez akéhokoľvek lekárskeho zásahu uzdravila.

Pre pochopenie toho, ako sa Kim spontánne vyliečila zo svojho život ohrozujúceho ochorenia, vykonali vedci experimenty a prišli na niektoré výrečné stopy. Zmutovaný gén, zodpovedný za Kimin stav, bol v bunkách odobratých z jej tváre a kože stále prítomný, v krvných bunkách však mutácia nevysvetliteľne chýbala. Podrobnejšou analýzou DNA, odobratej z Kiminých krvných buniek, zistili vedci niečo ešte nezvyčajnejšie: v jednej kópii chromozómu 2 chýbalo obľudných tridsaťpäť miliónov písmen DNA, časť, ktorá obsahovala celý zmutovaný gén, zvaný *CXCR4* (názvy génov sa píše kurzívou; bielkoviny, ktoré predstavujú, sa píše bežným písmom. Napríklad gén *HTT* znamená proteín zvaný huntingtín; Huntingtonova choroba je spôsobená mutáciou v géne *HTT*.) Zhruba dvesto miliónov písmen DNA, ktoré z chromozómu 2 zostali, bolo poprehadzovaných; ako keby sa chromozómom prehnalo tornádo a zanechalo jeho zložky v totálnom neporiadku.

Tieto počiatkové zistenia vyvolali množstvo nových otázok. Ako je možné, že sa DNA v Kiminých krvných bunkách stala taká nezvyklá, keď všade inde v jej tele bola DNA normálna (odhliadnuc od mutácie *CXCR4*)? Ba čo viac, keď bol chromozóm prechovávajúci gén *CXCR4*

tak veľmi poškodený a chýbalo teraz aj 164 génov, ako je možné, že krvné bunky sú nielen stále nažive, ale aj normálne fungujú? Ľudský genóm – kompletná sada všetkých genetických informácií v našich bunkách – obsahuje tisíce génov potrebných pre vitálne funkcie, ako sú replikácia DNA a delenie buniek a zdalo sa byť takmer nemysliteľné, že by toľko génov mohlo jednoducho zmiznúť bez akýchkoľvek škodlivých dôsledkov.

Po vykonaní série testov si vedci z NÚZ pomaly poskladali vysvetlenie Kiminho neočakávaného uzdravenia. Dospeli k záveru, že jedna bunka v jej tele musela zažiť nezvyčajnú a zvyčajne katastrofickú udalosť, zvanú chromotripsis – nedávno objavený jav, pri ktorom sa chromozóm náhle rozpadne na fragmenty a potom opraví, čo vedie k masívnemu preskupeniu jeho génov. Účinky v tele sú vo všeobecnosti buď banálne (kedy poškodené bunky okamžite hynú) alebo hrozné (kedy preskupená DNA nechtiac aktivuje gény spôsobujúce rakovinu). Ukázalo sa však, že v Kiminom tele mala chromotripsis celkom iný účinok. Zmutovaná bunka nielenže normálne rástla, ale zbavila sa aj – pretože sa zbavila chorej kópie *CXCR4* – génu, spôsobujúceho syndróm WHIM.

Tým sa však Kimino náhodné šťastie nekončilo. Vedci z NÚZ stanovili, že tou šťastnou bunkou musela byť hematopoetická kmeňová bunka, typ kmeňovej bunky, z ktorej pochádzajú všetky druhy krvných buniek v tele a ktorá má takmer neobmedzený potenciál množenia a sebaobnovy. Tá bunka odovzdala svoj preskupený chromozóm do všetkých svojich sesterských buniek, osídliať nakoniec opätovne celý Kimin imunitný systém zdravými novými bielymi krvinkami bez mutácie *CXCR4*. Tento sled udalostí – taký nepravdepodobný, že som si to pri počúvaní vedeckej prezentácie ledva dokázala predstaviť – účinne zničil ochorenie, ktoré Kim sužovalo od detstva.

Ako napísali výskumníci, skúmajúci Kimin stav, v zhrnutí jej prípadu, Kim profitovala z „bezprecedentného experimentu prírody“. V ňom jediná kmeňová bunka prešla spontánnou zmenou, ktorá zbavila bunku, a všetkých jej potomkov, chorého génu. Jednoducho povedané, bola to šťastná náhoda – ktorá, keby sa vyvinula inak, mohla Kim zabiť. Miesto toho jej však zrejme zachránila život.

Pre pochopenie toho, aký náhodný bol tento výsledok, si predstavte ľudský genóm ako veľkú časť softvéru. V Kiminom prípade obsahoval softvér jedno písmeno chybného kódu z približne šiestich miliárd, ktoré program vytvárali. Pri odstraňovaní problému by ste sa určite nepustili len tak do náhodného vymazávania veľkých úsekov kódu a prehadzovania ostatných častí. Nielenže by to pôvodnú chybu takmer určite neopravilo, ale s najväčšou pravdepodobnosťou by ste do programu pri náhodných pokusoch chybu opraviť vložili aj ďalšie, väčšie problémy. Len keby ste mali neuveriteľné šťastie – keby sa vám podarilo vyhrať pri kurze milión ku jednej, či možno miliardu ku jednej – by sa vám podarilo vymazať časť, obsahujúcu nesprávne zapísaný kód *a* zároveň to urobiť tak, aby sa nezničilo zásadné fungovanie softvéru. Stručne povedané, práve to sa udialo v Kiminom genóme – až na to, že tým šťastným programátorom bola v tomto prípade sama príroda.

Akokoľvek neuveriteľný však je Kimin prípad, ešte prekvapujúcejšie je, že nie je sama. Zatiaľ čo jej prípad je jediným hláseným prípadom vyliečenie pacienta spontánnym rozpadom a opravou chromozómu, vedecká literatúra je plná ďalších príkladov pacientov, ktorí sa čiastočne alebo úplne vyliečili z genetickej choroby prostredníctvom náhodnej, spontánnej „úpravy“ genómu. V deväťdesiatych rokoch napríklad diagnostikovali dvom pacientom v New Yorku genetickú poruchu s názvom ťažká kombinovaná imunodeficiencia (SCID), známu aj ako ochorenie „chlapca z bubliny“, kvôli sterilnému prostrediu, v ktorom museli držať

niektoré deti, aby obmedzili ich vystavenie patogénom. Bez extrémnej izolácie či agresívnych foriem liečby pacienti so SCID zvyčajne zomierajú ešte pred dosiahnutím druhého roku. Dvaja pacienti so SCID z New Yorku však boli výnimkami z tohto hrozného pravidla; zostali prekvapujúco zdraví aj v puberte a dospelosti. Vedci zistili, že dôvodom v oboch prípadoch bolo, že bunky pacientov spontánne opravili chorobu spôsobujúcu mutáciu v géne zvanom *ADA* a že tak urobili bez narušenia zvyšku génu alebo chromozómu.

Podobné prípady prirodzenej úpravy génu vyliečili aj iné genetické poruchy, ako sú napríklad Wiskott-Aldrichov syndróm (porucha, z ktorej sa spontánnou genetickou opravou dostane ohromujúcich 10 až 20 percent pacientov) a ochorenie pečene zvané tyrozinémia. U niektorých kožných ochorení je prítomnosť génovo upravených buniek viditeľná voľným okom. Výstižne pomenovaný stav ichtyóza s konfetami napríklad vytvára u obetí fláky červenej, šupinovitej kože. Bunky v tejto oblasti sú nositeľkami genetickej mutácie, no bunkám v okolitých, zdravých častiach kože sa mutáciu podarilo opraviť.

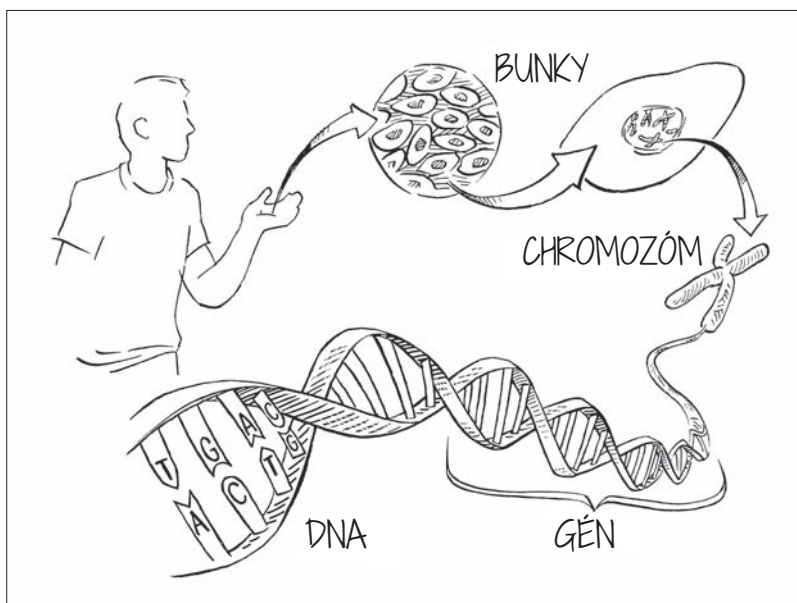
Celkovo sú však šance na spontánne vyliečenie z genetickej choroby nepatrné. Väčšina pacientov nikdy nezažije zázrak prírody, že by sa ich genómy zmenili presne tým správnym spôsobom, v správnych druhoch buniek a v tých správnych tkanivách. Prirodzená úprava buniek zostáva anomáliou – iba niekoľkými zaujímavými lekáorskymi prípadmi, týkajúcimi sa pár pacientov, ktorí vyhrali v genetickej lotérii. Čo ale keby úprava génu nebola len spontánnou udalosťou? Čo keby mali lekári spôsob na opravu škodlivých mutácií, spôsobujúcich syndróm WHIM, SCID, tyrozinémiu, či koniec koncov, akékoľvek ďalšie genetické ochorenia?

Pre mnohých vedcov, mňa nevynímajúc, boli podobné prípady ako Kimin vzrušujúce nielen preto, že odhaľovali liečivú moc prirodzenej

úpravy génov, ale tiež preto, že vrhli svetlo na možnú cestu liečebného zásahu: na cestu zvrátenia dôsledkov genetického ochorenia racionálnou a zámernou opravou pravopisných chýb v genóme. Tieto šťastné príbehy demonštrovali, že by zámerná úprava génov bola možná, keby mali vedci genetické know-how – a biotechnologické nástroje – na jej vykonanie.

Získať toto know-how a vyvinúť tieto nástroje sa usilovali ženy a muži z oblasti vied, zaoberajúcich sa živými organizmami, celé desaťročia, dávno predtým, než som do tohto odvetvia vstúpila ja. Vedci vlastne snívajú o liečivej úprave génov dávno predtým, ako si uvedomili, že im príroda poskytla návody na jej vytvorenie. Pre uskutočnenie tohto typu technológie však bádatelia potrebovali porozumieť samotnému genómu: z čoho je vytvorený, ako je vystavaný a – čo bolo najdôležitejšie – ako by sa dal modifikovať a upravovať. Iba s týmito zásadnými vedomosťami mohli oni a ich vedeckí nasledovníci urobiť prvé neisté kroky k pomoci ľuďom, ktorí sa na rozdiel od Kim neboli schopní vyliečiť sami.

Genóm – pojem vytvorený roku 1920 nemeckým botanikom Hansom Winklerom a pravdepodobne myslený ako zloženina slov *gén* a *chromozóm* -- sa vzťahuje k celému radu genetických pokynov, nachádzajúcich sa vnútri bunky. Genóm, zväčša identický v každej bunke daného organizmu --s výnimkou občasnej mutácie --, hovorí všetkému živému, ako má rásť, ako sa živiť a ako dovzdávať gény potomstvu. U jedného organizmu genóm zariadi, že mu majú narásť plutvy a žiabre, ktoré mu umožňujú pohybovať sa a dýchať pod vodou; ďalšiemu organizmu dáva genóm pokyn vytvárať listie a chlorofyl, aby mohol zbierať energiu zo slnečného svetla. Naše vrodené fyzické vlastnosti – zrak, výška, farba kože, predispozícia k ochoreniam a podobne – sú výsledkom informácií, zakódovaných v našich genómoch.



DNA: jazyk života

Genóm je tvorený molekulou nazývanou deoxyribonukleová kyselina, alebo DNA, ktorej štruktúra pozostáva len zo štyroch rozličných stavebných blokov, známych ako nukleotidy. Ide o známe písmená DNA: A, G, C a T, čo sú skratky pre chemické skupiny (známe tiež ako bázy) adenín, guanín, cytozín a tymín, ktoré tieto štyri zložky charakterizujú/rozlišujú. Písmená týchto molekúl sú spojené do dlhých jednotlivých reťazcov. Dva tieto reťazce spoločne vytvárajú slávnú dvojzávitnicovú štruktúru DNA.

Dvojité závitnice je trochu ako rebrík, skrútený do dlhého, špirálovitého závit. Pozdĺž dlhej stredovej osi sa okolo seba ovijajú dve vlákna DNA, pričom vonkajšok každého zaberá súvislá cukrovo-fosfátová chrbtica; obe spoločne vytvárajú dve bočné strany rebríka. Toto usporiadanie stavia do závitnice štyri rozličné bázy, vytŕčajúce