

### [Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



**[Laboratoria](#)**  
**[.net](#)**  
**[Innowacje](#)**  
**[Nauka](#)**  
**[Technologie](#)**

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Felieton](#)

## Redagowanie genomu



**Chociaż od wielu lat potrafimy zmieniać sekwencję nukleotydów w genach różnych organizmów, dopiero niedawno odkryto wyjątkowo precyzyjne narzędzia, które przedefiniowały to, co jest możliwe w inżynierii genetycznej.**

Redagowanie genomu - czyli możliwość dowolnej modyfikacji sekwencji nukleotydów, ich kolejności i liczby, w dowolnym żywym organizmie w dowolny sposób - jest Świętym Graalem biologii molekularnej. Na początku modyfikacje DNA były losowe. Wtedy, nie wiedząc jeszcze nawet, czym są geny, hodowcy zmieniali ich strukturę w procesie sztucznej selekcji - na potrzeby rolnictwa tworzyli nowe odmiany roślin i zwierząt. Odkrycie w połowie ubiegłego stulecia enzymów restrykcyjnych, czyli białek tnących DNA o ściśle określonej sekwencji, dostarczyło biologom narzędzi pozwalających wprowadzać do organizmów nowe geny. Początkowo stosowanie tych enzymów było ograniczone do badań na mikroorganizmach; dzisiaj wykorzystuje się je m.in. do tworzenia zwierząt transgenicznych - takich jak np. słynne kozy, z których mleka pozyskiwane są białka pajęczej nici.

Niemalą rolę enzymy restrykcyjne pełnią też w terapiach genowych. Ten rodzaj terapii polega na dostarczeniu do komórek pacjenta działającej wersji genu, która u pacjenta jest wadliwa i prowadzi do niedoborów białek niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu (więcej na ten temat: „Człowiek genetycznie zmodyfikowany”, „WiŻ” 6/2014). Opisane terapie mają swoje wady i zalety. Największym ograniczeniem enzymów restrykcyjnych jako narzędzi biologii molekularnej jest to, że każdy z nich tnie DNA tylko w ściśle zdefiniowanym miejscu, a ich liczba jest skończona, co znacząco zawęża możliwości wprowadzania zmian w DNA. Oczywiście nie możemy modyfikować DNA dowolnie - zazwyczaj tego typu interwencje polegają na wprowadzeniu do organizmu nowego genu (usunięcie wadliwej wersji genu jest już znacznie trudniejsze).

Jeśli więc chcielibyśmy zastosować terapię genową wykorzystującą enzymy restrykcyjne do leczenia chorób powodowanych nie przez brak jakiegoś białka, ale przez nadmiar jego patologicznej wersji (tak jak to się dzieje w wielu chorobach neurodegeneracyjnych), nasze możliwości są raczej niewielkie.

I tu z odsieczą przybywają nowe narzędzia biologii molekularnej, które na scenie pojawiły się w ciągu ostatniej dekady. Samo wprowadzenie nowej sekwencji DNA do genomu organizmu nie stanowi już problemu - problemem jest wprowadzenie jej dokładnie tam, gdzie chcemy. I właśnie to umożliwiają dwa nowe biologiczne systemy: pierwszym jest pewien rodzaj enzymów z grupy tzw. nukleaz (tnących, jak nazwa wskazuje, kwasy nukleinowe). Drugim jest bakteryjny system CRISPR/Cas, będący odpowiednikiem naszego układu odpornościowego. I choć zarówno nowe nukleazy, jak i system CRISPR/Cas znamy od jakiegoś czasu, ich przydatność do redagowania genomu zademonstrowano dopiero niedawno. Jednak już pierwsze próby ich praktycznego zastosowania zmieniły całkowicie sposób prowadzenia niektórych badań biomedycznych.

## Nukleazy „mix and match”

Na początku lat 90. świeżo upieczony docent Johns Hopkins University, Srinivasan Chandrasegaran, zastanawiał się, jaki projekt byłby odpowiedni dla jego nowo powstałej grupy badawczej. Po radę udał się do swojego mentora, prof. Hamiltona Smitha. Smith zaś, który zjadł zęby na enzymach restrykcyjnych (za odkrycie jednego ich rodzaju został nagrodzony Nagrodą Nobla), zaproponował stworzenie enzymów restrykcyjnych mogących ciąć DNA w miejscach, w których dotychczas nie było to możliwe.

Chandrasegaran rozpoczął badania od poszukiwania takiego typu nukleaz, w których domena odpowiedzialna za rozpoznawanie sekwencji DNA byłaby niezależna od domeny odpowiedzialnej za cięcie kwasu nukleinowego. Słusznie bowiem zakładał, że to pozwoliłoby mu modyfikować jedną część enzymu, bez wpływania na inne jego funkcje. Wybór ostatecznie padł na tzw. nukleazy z motywem palca cynkowego (ZFN - Zinc-finger nucleases; ZFN-y). U ssaków występują setki tego typu nukleaz; ich cechą charakterystyczną jest to, że wiążą się z różnymi sekwencjami DNA w sposób zależny od liczby oraz budowy domen z motywem palca cynkowego. Każdy taki „palec” rozpoznaje sekwencję trzech nukleotydów. Ponieważ jedna nukleaza może mieć wiele takich motywów, ich kombinacja pozwala enzymowi na rozpoznawanie dłuższych sekwencji nukleotydowych.

Pierwszy specjalnie zaprojektowany enzym tnący wybraną przez badacza sekwencję nukleotydów grupa Chandrasegarana opisała w 1996 r. Przez kolejne 15 lat zarówno on, jak i wielu innych badaczy tworzyło kolejne nukleazy ZFN i stosowało je z powodzeniem do manipulowania genami roślin (np. tytoniu i kukurydzy) oraz zwierząt (muszki owocówki, szczurów, myszy, żab, królików, a nawet bydła). Pokazano też ich działanie na komórkach ludzkich i chociaż nie stały się jeszcze standardem w terapii genowej, to etap ten jest już naprawdę nieodległy.

W międzyczasie jednak odkryto inny rodzaj białek wiążących kwasy nukleinowe. Były to tzw. efekторы TAL. Ich szczególną cechą jest domena istniejąca w kilku wersjach, potrafiących rozpoznawać poszczególne nukleotydy. Rozumowanie badaczy, zamierzających wykorzystać tę właściwość do zaprojektowania nowej klasy enzymów restrykcyjnych, było podobne jak w przypadku nukleaz ZFN: gdyby stworzyć białko mające domenę tnącą DNA oraz domenę, w której dowolnie można podmieniać efekторы TAL - w zależności od tego, jaką sekwencję chcemy rozpoznawać - wówczas uzyskalibyśmy niemal uniwersalny enzym restrykcyjny. Taki nowy rodzaj nukleaz - nukleazy TALE, lub TALEN-y - opisano po raz pierwszy w 2011 r.

Zasady działania nukleaz ZFN i TALEN-ów są bardzo podobne. Istnieją jednak pomiędzy nimi ważne różnice. W ZFN-ach każda domena rozpoznaje trójkę nukleotydów, w TALEN-ach - pojedynczy nukleotyd. Co jednak ważniejsze, TALEN-y działają bardziej precyzyjnie (mylą się dużo rzadziej) niż nukleazy ZFN. TALEN-y są też nieco łatwiejsze do zaprojektowania i syntezy. Trzeba jednak podkreślić, że obie klasy enzymów wciąż mają jedną podstawową wadę: chcąc uzyskać enzym tnący ściśle określoną sekwencję nukleotydów, za każdym razem trzeba zaprojektować i zsyntetyzować całkiem nowe białko. Jest to proces kosztowny i czasochłonny, i to właśnie jedno z największych ograniczeń powszechnego stosowania tych białek w laboratoriach.

Badania nad opisanymi tu nukleazami były jednak przełomem w myśleniu o tym, jak zabrać się za redagowanie DNA. Najważniejsze było udowodnienie, że za funkcją tnącą oraz za rozpoznawanie określonej sekwencji mogą być odpowiedzialne dwie zupełnie niezależne części enzymu. A co by było, gdybyśmy do rozpoznawania sekwencji DNA wykorzystali komplementarność nukleotydów? Czyli gdyby zamiast białkowej domeny zastosować w tym celu odcinek DNA? Jeśli wziąć pod uwagę, że w porównaniu z syntezą białek synteza kwasów nukleinowych to bułka z masłem, takie narzędzie zmieniłoby oblicze biologii molekularnej.

## **Bakteryjny „układ immunologiczny”**

Organizmy prokariotyczne - bakterie i archebakterie - są bardzo wrażliwe na atak wirusów wbudowujących się w ich materiał genetyczny. Obecność „nadmiarowego” DNA jest oczywiście bakteriom zbędna - to w końcu dodatkowy fragment kwasu nukleinowego, który bakteria w trakcie swojego podziału musi powielić, zużywając energię i budulce, które mogłaby lepiej zagospodarować. Nic więc dziwnego, że mikroorganizmy próbują bronić się przed takimi atakami. Robią to zaś za pomocą systemu będącego bakteryjnym odpowiednikiem naszego układu odpornościowego. U bakterii na ten system składa się rodzina białek kodowanych przez geny Cas oraz fragment kwasu nukleinowego o charakterystycznej sekwencji nazywany CRISPR.

Gdy wirusy zaatakują bakterię, jedno z białek Cas tnie wirusowe DNA na krótkie fragmenty długości około 30 nukleotydów, a kolejne białko wbudowuje te fragmenty w sekwencję CRISPR. (Jeden CRISPR przechowuje wiele takich wirusowych fragmentów). Gdy bakteria jest atakowana po raz kolejny, CRISPR tworzy kompleks z kolejnym białkiem Cas - kwas nukleinowy rozpoznaje wirusowe DNA odpowiadające temu zakodowanemu w odpowiednim odcinku CRISPR, białko Cas zaś tnie wirusowy kwas nukleinowy na kawałki, unieszkodliwiając intruza.

Blisko pięć lat temu dwie grupy badaczy niezależnie opisały wykorzystanie tego systemu do redagowania genomu.

**Autor: Rafał Marszałek**

**Więcej w miesięczniku „Wiedza i Życie” nr 05/2015 »**

<http://laboratoria.net/felieton/23525.html>

**Informacje dnia:** [PCI Days 2025 - Targi dla Przemysłu Farmaceutycznego i Kosmetycznego](#) [Nie tylko szczepienia przeciw HPV ważne w prewencji raka szyjki macicy](#) [Jak skutecznie poradzić sobie z bezsennością](#) [Naukowcy stworzyli beton z dodatkiem wody słonej zamiast słodkiej](#) [Nie trzymajmy dzieci pod kloszem z tematem śmierci](#) [Dużo światła w nocy może prowadzić do przedwczesnej śmierci](#) [PCI Days 2025 - Targi dla Przemysłu Farmaceutycznego i Kosmetycznego](#) [Nie tylko szczepienia przeciw HPV ważne w prewencji raka szyjki macicy](#) [Jak skutecznie poradzić sobie z bezsennością](#) [Naukowcy stworzyli beton z dodatkiem wody słonej zamiast słodkiej](#) [Nie trzymajmy dzieci pod kloszem z tematem śmierci](#) [Dużo światła w nocy może prowadzić do przedwczesnej śmierci](#)

**Partnerzy**