

CRISPR genetske škare za popravak genoma

Prof. dr. sc. Vladimir Vukadinović

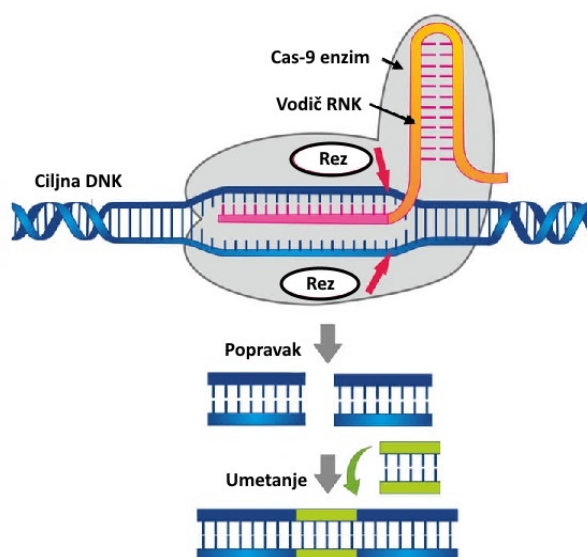
CRISPR uređivanje gena je tehnika genetskog inženjeringa u molekularnoj biologiji kojom se mogu modificirati genomi živih organizama, a temelji se na antivirusnom obrambenom sustavu bakterija. Enzim Cas9 (nukleaza) u kompleksu sa sintetskim vodičem gRNK (dio ribonukleinske kiseline koji ima ulogu vodiča za enzime koji s RNK ili DNK gradi kompleks) može rezati genom stanice na željenom mjestu (Slika 1.), uklanjati izrezani dio, dodavati nove dijelove ili premješati postojeće i to *in vivo* (unutar žive stanice). CRISPR je kratica za *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (Grupirana pravilno razmaknuta kratka palindromska ponavljanja), koji je dio obrambenog sistema *prokariota*, a pogodan je za editiranje genoma *eukariota* budući su geni linearno raspoređeni duž kromosoma pa se promjenom njihovog slijeda željena svojstva mogu odvojiti od neželjenih.

Cas9 enzim potječe iz bakterije *Streptococcus pyogenes* u kojoj ima ključnu ulogu u imunološkoj obrani, a pogodan je za pouzdanu ciljanu genomsku modifikaciju u eukariotskim stanicama (tzv. *genski inženjering*) stvarajući prekid DNK ili RNK (Slika 1.).

Lakoća korištenja *CRISPR-Cas9 tehnike* kojom se umeću geni na određenim lokusima pokazala se neprocjenjivom za brzo i učinkovito mapiranje genoma i bioloških procesa povezanih s različitim genima u raznim eukariotima. Razvijene su i nove varijante *nukleaze Cas9* koje značajno smanjuju aktivnost izvan zadatog cilja.

Potencijalna primjena *CRISPR-Cas9* su neslućene, ali i kontraverzne zbog mogućnosti primjene na ljudima. Međutim, modifikacija genoma može se obavljati i na *somatskim stanicama* odraslih ljudi (sve stanice u tijelu koje su diferencirane, osim embrionalnih stanica/ gameta) kada promjene nisu nasljedne, dok se izmjene genoma embrionalnih stanica mogu prenijeti na buduće naraštaje. Međutim, modifikacijama somatskih stanica moguće je inaktivirati npr. DNK HIV-a i ukloniti virusnu DNA iz kromosoma zaraženih stanica, te spriječiti daljnju zarazu i napredak infekcije HIV-om u organizmu. Također, CRISPR metodologija ima velik potencijal za uklanjanje različitih genetskih poremećaja, uključujući anemiju srpastih stanica i mišićnu distrofiju i dr., ali još uvijek ne djeluju na sve ljude zbog prirodnih genetskih varijacija među pojedincima.

U biljnoj proizvodnji ideal je usjev koji postiže visok i kvalitetan prinos u različitim agroekološkim uvjetima, a istovremeno je otporan na bolesti i štetnike. Međutim, ako su relevantni geni za poželjna svojstva udaljeni jedan od drugog na kromosomu takvih biljaka, njihovih kultivara ili hibrida, dobra svojstva se mogu izgubiti tijekom reprodukcije sjemena. Kako bi osigurali da se pozitivna svojstva mogu prenijeti na slijedeću generaciju biljaka, istraživači s Tehnološkog instituta Karlsruhe (KIT) upotrijebili su gore opisane CRISPR/Cas molekularne škare za genetsku manipulaciju pa geni na dijelu kromosoma postaju nevidljivi za genetsku razmjenu i stoga se mogu prenijeti nepromijenjeni.



Slika 1. CRISPR-Cas9 ciljno specifična tehnika za izbacivanje ili ubacivanje gena u RNK ili DNK.

Dosadašnje genske promjene rađene su pomoću ubacivanja i/ili izbacivanja stranih gena u željeni organizam (tzv. *genetički inženjering* za stvaranja [genetički modificiranih organizama ili GMO](#)). Naravno, editiranje genoma (izmjene, prekranje i prepravlanje; *genome editing*) primjenom molekularnih škara uveliko se prekrlapa s metodologijom dosadašnjeg genetskog inženjeringa, ali je puno sofisticiranije, brže i efikasnije s potencijalno ogromnim mogućnostima i za očekivati je da će se i dalje ubrzano razvijati. [Utjecaj CRISPR-a je veliko znanstveno otkriće u biologiji što dokazuje i Nobelova nagrada za kemiju 2020. god. za razvoj metode uređivanja genoma.](#)

U Osijeku, 25. listopada 2022. godine