

## Open Schools Journal for Open Science

Vol 2, No 1 (2019)

Special Issue Articles from the 1st Greek Student Conference on Research and Science



### Η γενετική μέθοδος CRISPR

Παναγιώτης Κωσταρίδης, Ισμήνη Φιλδισάκου

doi: [10.12681/osj.19540](https://doi.org/10.12681/osj.19540)

#### To cite this article:

Κωσταρίδης Π., & Φιλδισάκου Ι. (2019). Η γενετική μέθοδος CRISPR. *Open Schools Journal for Open Science*, 2(1), 383–388. <https://doi.org/10.12681/osj.19540>

# Η γενετική μέθοδος CRISPR

Ισμήνη Φιλιδισάκου<sup>1</sup>, Παναγιώτης Κωσταρίδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Πειραματικό Γενικό Λυκείο Αθηνών "Γεννάδειος"

## Περίληψη

Η εργασία πραγματεύεται την αναλυτική παρουσίαση της γενετικής μεθόδου CRISPR, την εφαρμογή της για τη θεραπεία γενετικών ασθενειών, καρκίνου κ.ά., το ιστορικό της ανακάλυψής της, τις μελλοντικές βλέψεις σχετικά με τη χρήση της, καθώς και το τι επιφυλάσσει στην επιστήμη της Ιατρικής και τον άνθρωπο. Τα ερευνητικά ερωτήματα που τίθενται είναι πώς μπορεί η CRISPR να βελτιώσει τη ζωή του μέσου ανθρώπου και πώς οι κοινωνικές αλλαγές που θα επέλθουν μέσω αυτής της καινοτομίας θα επηρεάσουν την ανθρώπινη υπόσταση, αλλά και τον κόσμο όπως τον ξέρουμε. Η εργασία χωρίζεται σε τέσσερις θεματικές υποενότητες: η πρώτη έχει περιγραφικό χαρακτήρα, η δεύτερη λειτουργεί ως ιστορική αναδρομή, η τρίτη αφορά στα μελλοντικά σχέδια γύρω από την CRISPR, ενώ η τέταρτη και τελευταία εξετάζει τις μακροπρόθεσμες συνέπειες που θα επέλθουν στην ανθρωπότητα μέσω της ευρείας χρήσης της εν λόγω γενετικής μεθόδου. Τέλος παρουσιάζονται και οι αρνητικές συνέπειες της μη σωστής χρήσης και εφαρμογής της.

## Λέξεις κλειδιά

γενετική μηχανική, μέθοδος CRISPR, βιοηθική, ιατρική, γονίδια

## Εισαγωγή

Η γενετική μέθοδος CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) είναι μια σύγχρονη τεχνολογία γενετικής τροποποίησης που επιτρέπει την άμεση επέμβαση στον γονότυπο ενός οργανισμού με σκοπό την ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων (Barrangou et al, 2007, Deltcheva et al, 2011, Jinek et al., 2012, ). Η μέθοδος αυτή καθώς και η καινοτόμος εφαρμογή της σε ποικίλους έμβιους οργανισμούς (όπως οι αρουραίοι και οι άνθρωποι) είναι, ως επί το πλείστον, εμπνευσμένη από τον κόσμο της μοριακής βιολογίας και συγκεκριμένα από την αλληλεπίδραση βακτηρίων και ιών.

Ειδικότερα, το CRISPR λειτουργεί ως εξής: όταν κάποιος ιός επιτίθεται σε ένα βακτήριο, εκείνο τον εντοπίζει και, για να αμυνθεί, παράγει δύο ειδών RNA, το ένα εκ των οποίων διαθέτει μια αλληλουχία παρόμοια με αυτή του ιού. Στη συνέχεια, τα RNA δημιουργούν ένα σύμπλεγμα με μία πρωτεΐνη την cas9 (είδος νουκλεάσης, δηλαδή ενζύμου που καταλύει την υδρόλυση των νουκλεϊκών οξέων σε νουκλεοτίδια). Όταν το σύμπλεγμα αυτό έρθει αντιμέτωπο με το ιικό γονιδίωμα, επέρχεται η δράση της cas9, η οποία αποκόπτει το τμήμα του ιικού DNA που έχει προηγουμένως εντοπισθεί από το RNA, καθιστώντας ουσιαστικά ανίκανο τον ιό (Deltcheva et al., 2011).

Η μέθοδος CRISPR και η γενετική τροποποίηση

Η CRISPR όμως έχει βρει εφαρμογές και στη γενετική τροποποίηση. Η τεχνική είναι περίπλοκη και, ενώ γνωρίζουμε την πρακτική πλευρά της διαδικασίας, δεν είμαστε ακόμα σε θέση να προβλέψουμε τι αντίκτυπο μπορεί να έχει σε βάθος χρόνου και πώς μπορεί να επηρεάσει το ανθρώπινο είδος. Πρακτικά, για να τροποποιηθεί γενετικά ένας οργανισμός με τη χρήση της CRISPR συμβαίνουν τα εξής: η cas9 αποκόπτει την επιθυμητή αλληλουχία DNA με τη βοήθεια του gRNA (Guide RNA) το οποίο την κατευθύνει ώστε να αποκοπεί μόνον η αλληλουχία την οποία επιθυμούμε να τροποποιήσουμε. Εφόσον εκείνη αποκοπεί και το κύτταρο του οργανισμού στο οποίο πραγματοποιείται η τροποποίηση αρχίζει τη διαδικασία "επισκευής" του γενετικού του κώδικα, οι επιστήμονες εισάγουν στο κύτταρο την αλληλουχία που έχουν προεπιλέξει βάσει του σκοπού που επιθυμούν να επιτύχουν (Your genome, 2016). Ο προαναφερθείς "σκοπός", όσο η γενετική τεχνολογία προχωρά, περιορίζεται μονάχα από την ανθρώπινη φαντασία και μπορεί να αφορά πολλά διαφορετικά πεδία, από τις κληρονομικές ασθένειες μέχρι τον μεταβολισμό ή ακόμα και το χρώμα των ματιών.

Σύντομη ιστορική αναδρομή- η ανακάλυψη της CRISPR

Η CRISPR, όπως κάθε άλλο επιστημονικό επίτευγμα παρόμοιας φύσεως, δεν είναι ξεκάθαρο αν εφευρέθηκε ή ανακαλύφθηκε. Αδιαμφισβήτητα, ένα μεγάλο μέρος της ανάπτυξης της οφείλεται σε μακροχρόνια μελέτη και επιστημονική παρατήρηση καθώς, όπως προαναφέρθηκε, η ευρεία χρήση της είναι εμπνευσμένη από τη λειτουργία μικροοργανισμών. Ωστόσο η ανακάλυψη αυτή θα είχε παραμείνει αναξιοποίητη εάν σε αυτή δεν είχαν επέμβει μια σειρά επιστημόνων με σκοπό να την τροποποιήσουν κατάλληλα για να εξυπηρετήσει ανθρώπινες ανάγκες. Επομένως, δεν είναι άτοπο να αναφερόμαστε στην CRISPR (και) ως μία εφεύρεση.

Οι πρώτες μελέτες σχετικά με την CRISPR πραγματοποιήθηκαν μεταξύ των ετών 1993-2005 από τον Ισπανό μικροβιολόγο Francisco Mojica, ο οποίος εξήγαγε ορισμένα σημαντικά

συμπεράσματα σχετικά με τη δομή της και το πώς συνδέεται με τη βακτηριοφαγία (Mojica et al., 2005).

Ακολούθησε μια σειρά από αποκαλυπτικές διαπιστώσεις οι οποίες φέρουν τη σφραγίδα διακεκριμένων επιστημόνων από ολόκληρο τον κόσμο και χάρη σε αυτές δημιουργήθηκε μια πιο συνολική αντίληψη της μεθόδου. Η σημαντικότερη, ενδεχομένως, διαπίστωση που άλλαξε τον τρόπο με τον οποίον αντιλαμβανόμασταν την CRISPR, ήταν εκείνη του Λιθουανού βιοχημικού Virginijus Siksnys. Εκείνος και η ομάδα του ανακάλυψαν ότι η CRISPR μπορεί να λειτουργήσει ως αυτόνομη μονάδα και να αναπρογραμματίσει οποιαδήποτε αλληλουχία DNA, εφόσον τεθεί σε λειτουργία (Sapranauskas et al., 2011). Ακολούθησαν παρόμοιες διαπιστώσεις από τους Emmanuelle Charpentier και Jennifer Doudna τον Ιούνιο του 2012 (Jinek et al., 2012). Δεν χωράει καμία αμφιβολία ότι έκτοτε ο τρόπος με τον οποίο αντιλαμβανόμαστε τη γενετική πληροφορία έχει αλλάξει ριζικά, καθώς η τροποποίησή της μπορεί πλέον να πραγματοποιηθεί πολύ πιο εύκολα.

### Ερευνητικό ερώτημα – Μεθοδολογία Έρευνας

Το ερώτημα που θέσαμε στην έρευνά μας ήταν: Πώς μπορεί να αξιοποιηθεί η μέθοδος CRISPR για τη βελτίωση της ποιότητας ζωής μας και ποια βιοηθικά ζητήματα ενδέχεται να προκύψουν με την ευρεία χρήση της στον άνθρωπο;

Η μεθοδολογία που ακολουθήσαμε για να απαντήσουμε στο παραπάνω ερώτημα ήταν η βιβλιογραφική έρευνα. Δηλαδή να δώσουμε απαντήσεις μέσα από ήδη δημοσιευμένες εργασίες συνοψίζοντας, ταξινομώντας, συγκρίνοντας και συνθέτοντας το ήδη υπάρχων έγκυρο υλικό.

### Αποτέλεσμα Έρευνας

#### Αξιοποίηση-μελλοντικές χρήσεις

Οι προτάσεις για τη μελλοντική αξιοποίηση της CRISPR ποικίλλουν και πολλές από αυτές ανήκουν, με τα σημερινά πάντα δεδομένα, στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Εξάλειψη κληρονομικών ασθενειών, αντιμετώπιση του καρκίνου και επιβράδυνση της διαδικασίας του γήρατος είναι μόνο η αρχή. Θεωρητικά, μια μέθοδος σαν την CRISPR μπορεί να αλλάξει τον κόσμο όπως τον ξέρουμε: αρκεί να φανταστεί κανείς πως, εφόσον η γενετική αυτή τεχνολογία θα εξελίσσεται όσο περνά ο χρόνος, είναι πολύ πιθανό σε μερικές δεκαετίες ο καθένας από εμάς να είναι σε θέση να προαποφασίσει εξ' ολοκλήρου όλα τα χαρακτηριστικά του φαινοτύπου του παιδιού του ή ακόμα και να τροποποιήσει τα δικά του.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η απόπειρα Κινέζων επιστημόνων να εισαγάγουν ζωντανά κύτταρα τα οποία είχαν επεξεργαστεί γενετικά στους πνεύμονες ενός καρκινοπαθούς

ασθενούς. Τα κύτταρα αυτά ανήκαν αρχικά στον ασθενή, αφαιρέθηκαν μέσω αιμοληψίας και σε αυτά, μέσω της CRISPR απενεργοποιήθηκε ένα συγκεκριμένο γονίδιο που περιείχε την πρωτεΐνη PD-1, η οποία εκφυλίζει τις ανοσοποιητικές λειτουργίες του κυττάρου και συμβάλλει έτσι στην εξάπλωση του καρκίνου. Αφού ολοκληρώθηκε αυτή η διαδικασία, τα κύτταρα εισήχθησαν ξανά στο αίμα του ασθενούς και, όπως ελπίζουν οι επιστήμονες, είναι πολύ πιθανό μετά την αφαίρεση της PD-1 να εξουδετερωθεί ο καρκίνος (Cyranoski, 2016). Αρκεί να λάβουμε υπόψη μας ότι αυτό είναι μονάχα ένα από τα πολλά ελπιδοφόρα παραδείγματα που θα αποδείξουν την αξία της χρήσης της γενετικής τροποποίησης στην ιατρική.

Συζήτηση προβληματισμοί από τη χρήση της CRISPR

Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν έντονες ανησυχίες (Rodriguez, 2016). Ο κυριότερος φόβος που μπορεί να αποδειχθεί τεράστια απειλή είναι: τι γίνεται αν η γενετική τροποποίηση βγει εκτός ελέγχου; Τι θα συμβεί εάν η CRISPR και παρόμοιες μέθοδοι μετεξελιχθούν σε ένα εργαλείο μοντέρνας ευγονικής; Δεν απαιτείται καλπάζουσα φαντασία για να αναλογιστεί κανείς πόσο αφιλόξενη θα ήταν μια κοινωνία όπου τα πρότυπα υγείας και ομορφιάς είναι συγκεκριμένα και προκαθορισμένα και το δικαίωμα στη ζωή δίνεται μονάχα σε αυτούς που τα πληρούν με μηδαμινές αποκλίσεις. Είναι πολύ πιθανό τέτοιες πρακτικές να εφαρμοσθούν μαζικά σε ελάχιστο χρονικό διάστημα από τη στιγμή που θα γίνουν αποδεκτές από το ευρύ κοινό και κάτι τέτοιο είναι αδιαμφισβήτητα τρομακτικό. Γνωρίζουμε, άλλωστε, τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα που αποφέρουν τα άπιαστα πρότυπα ομορφιάς και πόσο οι σημερινές συνθήκες μπορούν να επιδεινωθούν εάν αυτά υποστηριχθούν από τη γενετική μηχανική.

Καταλήγουμε επομένως στο εξής κομβικό ερώτημα: πρέπει να οριστούν όρια σε ό,τι αφορά την ευρεία χρήση της CRISPR; Για ποιους σκοπούς είναι συνετό να τη χρησιμοποιούμε; (Vyas et al., 2015). Προφανώς η απάντηση δεν είναι καθόλου απλή και αποτελεί την αφορμή για έναν εκτενή διάλογο. Πολλοί έχουν την τάση να υποστηρίζουν πως οποιαδήποτε επέμβαση στην ανθρώπινη υπόσταση όπως υφίσταται από τη φυσική πραγματικότητα είναι ανορθολογική, καθώς ο άνθρωπος δεν έχει τη σοφία και τη σύνεση να διαχειριστεί μια τέτοια συνθήκη. Είναι επιφυλακτικοί ως προς την εγκράτεια που μπορεί να τηρήσει μια κοινωνία στην οποία ο άνθρωπος "παίζει τον Θεό" και τρέμουν τις μακροχρόνιες συνέπειες (Lanphier et al, 2015) Ταυτοχρόνως, μια άλλη μερίδα καλωσορίζει θερμά την ευρεία χρήση της γενετικής μηχανικής, θεωρώντας τη σωτήρια και την αποδέχεται ως μια λογική εξέλιξη των πραγμάτων σε έναν κόσμο όπου ο άνθρωπος, ως κυρίαρχος της μοίρας του, βρίσκει τα μέσα για να διαμορφώσει τον εαυτό του και τον κόσμο που τον περιβάλλει. Τείνουν, μάλιστα, να πιστεύουν πως η επιστήμη, για τους προαναφερθέντες λόγους, δεν πρέπει να υπόκειται σε όρια και κανόνες, καθώς μόνο δίχως ηθικούς φραγμούς μπορεί να εξελιχθεί και να ακμάσει (Hicklin, 2014, Zhang, 2014, Perkel, 2014). Κατά την προσωπική μας κρίση και αντίληψη των πραγμάτων και οι δύο θέσεις είναι εξίσου ακραίες και είναι αναγκαίο να βρεθεί η καλύτερη δυνατή ισορροπία μεταξύ τους. Από τη στιγμή που η ανθρωπότητα διαθέτει ένα τόσο χρήσιμο και επαναστατικό εργαλείο είναι μάλλον οξύμωρο να μην το αξιοποιήσει για τη βελτίωση του τρόπου ζωής της. Αν μάλιστα εξετάσουμε

ηθικά το ζήτημα είναι μάλλον εγκληματικό μια τέτοια τεχνολογία να μην τεθεί σε ευρεία εφαρμογή: αρκεί να αναλογιστούμε πόσοι άνθρωποι πεθαίνουν κάθε χρόνο χάνοντας την τελευταία τους μάχη ενάντια σε θανατηφόρες ασθένειες που, μέσω μεθόδων όπως η CRISPR, θα μπορούσαν μακροπρόθεσμα να εξαλειφθούν. Είναι άδικο να δημιουργείται η ανισότητα ανάμεσα σε υγιείς και ασθενείς και αποτελεί χρέος της επιστήμης να γεφυρώσει το χάσμα μεταξύ τους. Ωστόσο, η γενετική μηχανική πρέπει να χρησιμοποιηθεί με φειδώ. Κάθε φορά που τίθεται σε εφαρμογή από την επιστημονική κοινότητα, εκείνη οφείλει να διερωτάται αν η εφαρμογή αυτή θα ωφελήσει την ανθρωπότητα ή θα φθείρει τους ηθικούς τις πυλώνες, όπως η διαφορετικότητα και η ατομική ελευθερία. Κοινώς, κανείς δεν πρέπει να αποκτήσει την εξουσιοδότηση να μετατρέψει τη γενετική μηχανική σε ένα εργαλείο επιβολής της προσωπικής του ματαιόδοξης αισθητικής, καθιστώντας τη μια μοντέρνα ευγονική. Το πού θα τραβήξουμε την αδιαπέραστη διαχωριστική γραμμή πρέπει να συζητηθεί εκτενώς, λαμβάνοντας υπόψη όλα τα πιθανά αποτελέσματα και βάζοντας ως άξονα τον σεβασμό προς τον άνθρωπο και τα θεμελιώδη δικαιώματά του.

## Βιβλιογραφία

- [1] Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D.A., and Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science* 315, 1709–1712.
- [2] Cyranoski D., (2016). CRISPR gene editing tested in a person. *Nature* 539, p. 479
- [3] Deltcheva, E., Chylinski, K., Sharma, C.M., Gonzales, K., Chao, Y., Pirzada, Z.A., Eckert, M.R., Vogel, J., and Charpentier, E. (2011). CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. *Nature* 471, 602–607.
- [4] Hicklin T., 2014, The start of a new genomic era, in *Science* 26 Sep 2014: Vol. 345, Issue 6204, pp. 1638 DOI: 10.1126/science.345.6204.1638-d .(Διαθέσιμο on line: <http://science.sciencemag.org/content/345/6204/1638.4>, προσπελάστηκε στις 27/02/2017).
- [5] Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A., and Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337, 816–821.
- [6] Lanphier, E., Urnov, F., Haecker, S. E., Werner, M. & Smolenski, J. Don't edit the human germ line. *Nature*.519, 410-411 (2015).
- [7] Mojica, F.J.M., De la Torre, C.S., Garcia-Martinez, J.S., and Soria, E. (2005). Intervening Sequences of Regularly Spaced Prokaryotic Repeats Derive from Foreign Genetic Elements. *J MolEvol* 60, 174–182.
- [8] Perkel J. M., 2014, in *Science* 26 Sep 2014: Vol. 345, Issue 6204, pp. 1638 DOI: 10.1126/science.345.6204.1638-d (Διαθέσιμο on line: <http://science.sciencemag.org/content/345/6204/1638.4>, προσπελάστηκε στις 27/02/2017).

RodriguezE., (2016).Ethical Issues in Genome Editing using Crispr/Cas9 System. J Clin Res Bioeth7:2 .(Διαθέσιμοonline: <https://www.omicsonline.org/open-access/ethical-issues-in-genome-editing-using-crispcas9-system-2155-9627-1000266.pdf>προσπελάστηκε στις 27/02/2017).

[8] Sapranauskas, R., Gasiunas, G., Fremaux, C., Barrangou, R., Horvath, P., and Siksnys, V. (2011). The *Streptococcus thermophilus* CRISPR/Cas system provides immunity in *Escherichia coli*. Nucl. Acids Res. 39, p.9275-9282.

[9] Yourgenome, 2016.(Διαθέσιμο on line: <http://www.yourgenome.org/facts/what-is-crispr-cas9>προσπελάστηκε στις 27/02/2017).

[10] Vyas, V. K., Barrasa, M. I. & Fink, G. R.(2015).A *Candida albicans* CRISPR system permits genetic engineering of essential genes and gene families. Science Advances, 1.

ZhangF., 2014, in Science26 Sep 2014:Vol. 345, Issue 6204, pp. 1638, DOI: 10.1126/science.345.6204.1638-d . (Διαθέσιμο on line: <http://science.sciencemag.org/content/345/6204/1638.4>, προσπελάστηκε στις 27/02/2017).