امیرحسن فرضعلیزاده؛ پژوهشگر تحقیقاتی زیست فناوری پزشکی و سیستم بیولوژی سرطان
دکتر طاهره ناجی؛ دانشیار گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین

سیر تکاملی ابزارهای ویرایش ژنوم و جایگاه تکنیک CRISPR در ژن درمانی —بخش نخست

در سال های گذشته در سایه ی راهکارهای نوین پزشکی در درمان بیماری های سخت درمان بشری، پیشرفت چشم گیر در شمار و گسترش ابزار های مهندسی ژنوم، دریچه های نوینی در راهکارهای درمانی مبتنی بر ژنوم، پیش روی دانشمندان گشود. تاریخ مهیج و پر تلاطم ژن درمانی از سال ۱۹٦٦ میلادی تا الان، گواه بر این است که سیر تکاملی ابزارهای ویرایش ژنومی هم زمان با سایر تکنیک‌های ژن درمانی برای درمان و بهبود بیماری های مختلف ژنتیکی و سرطان، گام های بزرگی برداشته هست. با اینکه بیش از سه دهه از شناخت فناوری های ویرایش ژنوم می گذرد، اما پایین بودن کارایی و عدم اختصاصیت لازم، کاربرد آنها را برای اهداف ژن درمانی محدود کرده است. امروزه با توسعه DNA اندونوکلئازهای اختصاصی (NgAgo ،Meganucleases، ZFNs، TALENs، CRISPR/Cas9) که فرآیند نوترکیبی هدایت شده همسان (HDR) را تا چندین برابر افزایش داده و امکان ایجاد جهش های هدفمند را فراهم آورده اند، ژن درمانی وارد عصر طلایی خود شد. در عصر جدید ژن درمانی با بهره گیری از سیستم نوین ویرایش ژنومی CRISPR قدمی بزرگ در تغییر معماری حیات و شیوه های اطمینان بخش درمانی، ایجاد نمود. ولی با توجه به محدودیت های اخلاقی در ویرایش ژنومی انسان، چالش های بزرگ و بحث برانگیزی در اهداف بلند مدت این سیستم ژن درمانی نهفته است. با توجه به موفقیت محدود ژن درمانی، سیستم کریسپر برای محققان بیولوژی به عنوان امید بزرگ درمانی تبدیل شده است.

نگاه اجمالی بر تاریخ ژن درمانی (Gene Therapy)

دنیای ژن درمانی دنیای اسرارآمیزی را در عرصه تحقیقات پزشکی_مولکولی به خودش اختصاص داده است. از همان ابتدای شروع ژن درمانی با ساده ترین آزمایشات، همچون بهره گیری از ویروس های نوترکیب و بکارگیری فناوری DNA نوترکیب توسط چندین دانشمند در دهه های بین ۱۹٦٦ تا ۱۹۸۰، گام های موثری در پیشبرد و زمینه سازی تحقیقات ژن درمانی در مراکز درمانی و دانشگاهی دنیا برداشته شد و قدرت تخلیل ذهن بشر را فراتر از زمان خود به تصویر کشید. تا اینکه در دهه های بین ۸۳ تا ۹۹ میلادی ژن درمانی به عنوان یک شیوه درمانی کارآمد با بهره گیری از حامل های نوترکیب رتروویروسی، آدنوویروس، ویروس وابسته به آدنو(AAV)، ویروس هرپس سیمپلکس (HSV-۱) و نسل اول حامل های لیپوزومی در درمان بیماری های نقص ژنتیکی و متابولیکی ظهور پیدا کرد؛ و سرانجام از سال ۲۰۰۰میلادی به بعد، ژن درمانی با کوله باری از تجربه و محدودیت های بیشماری که سد راهش بود، وارد فاز جدیدی از تحقیقات فرامولکولی با بهره گیری از تکنیک های نوین انتقال سازه های ژنی به درون سلول، شد. در این عرصه، ظهور حامل های نوترکیب غیرویروسی نظیر پلاسمیدهای سنتتیک(کروموزوم های مصنوعی مخمری(YAC)، باکتریایی(BAC)، پستانداران(MAC) و انسانی(HAC)) و عوامل بیوشیمایی نظیر لیپیدهای کاتیونی و پلیمرهای کاتیونی انتقال دهنده ژن، استفاده از پپتیدهای نفوذ کننده به سلول(CPPs)، بهره گیری از توالی های الیگونوکلئوتیدی برای ژن درمانی نظیر(ریبوزیم های دارویی، عوامل مداخله گری RNA (RNAi)، آنتیسنس ها، آپتامرها و نانوذره های دندروزومی). نگرشی نوین و حرکت شتابدار بر حوزه تحقیقات ژن درمانی افزود و باعث شد افق تازه‌ای از درمان های مولکولی در عرصه پزشکی و سلول درمانی پیش روی دانشمندان قرار گیرد. شاید تصور کودک مبتلا به بیماری هموفیلی که دیگر نیازی به تزریق فاکتور هشت انعقاد خون نداشته باشد، شخصی با بیماری آنمی خونی داسی شکل که از دردهای مزمن و بحران های متناوب خلاص شود، دختر بچه‌ای که با وجود نابینائی مادرزادی در سن ۵ سالگی قادر به دیدن باشد و یا کودکی که از مرگ ناشی از یک بیماری موروثی تحلیل برنده سیستم عصبی

نجات یافته باشد زمانی برای علم پزشکی غیر قابل امکان بود. پس از چندین تلاش ناموفق و سال‌ها مطالعه و تحقیق روی طراحی حامل‌های کاراتر و ایمن تر، امروزه نتایج برجسته‌ای در زمینه ژن‌درمانی بیماری‌هایی مانند بیماری‌های نقص سیستم ایمنی، هموفیلی B، نوعی نابینائی مادرزادی، بتا تالاسمی و چندین بیماری دیگر به‌دست آمده است. در حال حاضر در اروپا دو محصول ژن درمانی به نام (Glybera) که یک ویروس نوترکیب همراه آدنو (rAAV) است و برای درمان نقص آنزیمی لیپوپروتئین لیپاز به‌کار می‌رود و نیز (Strimvelis) که لنتی ویروس طراحی شده برای درمان نقص مختلط شدید سیستم ایمنی (SCID) است، مجوز بالینی دریافت کرده‌اند. در آمریکا هم یک (rAAV) که برای درمان نوعی کوری مادرزادی کاربرد دارد و نیز تعدادی دیگر از محصولات ژن‌درمانی تحت مطالعه جهت اخذ مجوز استفاده بالینی هستند. اما با وجود این استفاده از هر دو گروه حامل‌های نوترکیب ویروسی و غیرویروسی، مشکل عمده‌ای وجود داشت و آن عدم وجود هدفگیری مناسب یا به عبارتی عدم انتقال ژن به سلول مناسب و اختصاصی، باعث بیان ژن در سلول‌های دیگر می شد که این رویداد باعث ایجاد اثرات سمی بواسطه تحریک زیاد ایمنی و تولید عوامل زیستی نابجا مثل سایتوکاین‌های التهابی برای سلول و بدن خواهد شد. یکی از مهمترین روش‌های کم کردن این‌گونه مشکلات، هدفمندسازی حامل‌هاست. ژن‌درمانی ده‌ها سال است برای رسیدن به چنین اهداف مهمی دانشمندان را به خود مشغول کرده و در سال‌های اخیر، رسیدن به این اهداف در کانون توجه قرار گرفته که در آینده‌ای نزدیک پیامدهای آن لمس خواهد شد.

پیشرفت در زمینه طراحی و تعیین خصوصیات حامل‌ها منجر به ساخت حامل‌هایی با پتانسیل بالاتر و درجه خلوص بیشتر شده است که روند انتقال سلول‌های هدف را ساده‌تر کرده‌اند و اثرات مضر کمتری را در مقایسه با حامل‌های اولیه دارند. همچنین درک بهتر فرآیندهای زیستی انواع سلول‌ها منجر به بهبود روش‌های کشت سلول در شرایط برون تن شده(In vitro) و مدیریت بهتر بیماران را در پی داشته است.

با وجود این پیشرفت‌ها، اما همچنان ژن‌درمانی با چالش‌هایی بزرگ دست و پنجه نرم می‌کند. یکی از این موارد هزینه‌های بالای ژن‌درمانی است. در حال حاضر هزینه ژن‌درمانی با استفاده از ویروس (Glybera) حدود ۱/۱ میلیون دلار برای هر بیمار پیش‌بینی شده است. البته باید به این نکته توجه کرد که ژن‌درمانی، یک روش درمانی مانند جراحی است که اغلب بیماران در طول عمر خود تنها یک بار از آن بهره خواهند برد. در حالی که استفاده از درمان‌های جایگزینی(Replacement therapies) مانند تزریق منظم پروتئین‌های نوترکیب مثلا در بیماری (ADA–SCID) یا هموفیلی، باید در طول دوره زندگی فرد بیمار به طور دائم انجام شود و چه بسا قیمت تمام شده ژن‌درمانی و درمان جایگزینی یکسان شود. یکی دیگر از موانع موجود بر سر راه ژن‌درمانی، نحوه انتقال ژن است. بهترین روش انتقال ژن از حیث مشخص بودن ترکیب و نیز تکرارپذیری فرآیند ساخت، استفاده از ذرات سنتز شده مانند لیپیدها و پلیمرها است. اما این روش‌ها تاکنون موفقیت چندانی در انتقال و بیان موثر ژن در شرایط درون تن(In vivo) کسب نکرده‌اند.

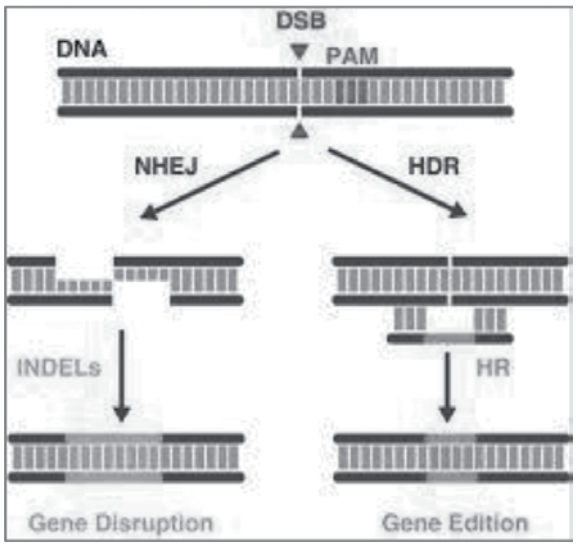
اگر چه استفاده بیشتر از این فناوری هنوز محدود به کشورهای پیشرفته صنعتی اروپایی(فرانسه، آلمان، ایتالیا، انگلستان و...) و آمریکا است، بیش از ۵۰ درصد از موارد ژن درمانی‌های انجام شده تنها در ایالات متحده آمریکا صورت گرفته، اما این موضوع مانع گسترش جهانی این فناوری در سایر کشورهای دنیا بخصوص چین، ژاپن و کره جنوبی نشد و سهم خوبی را در عرصه ژن درمانی بخود اختصاص داده‌اند. دامنه فناوری ژن درمانی تا به آنجا کشیده شده که حتی در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران گام‌های بزرگی پای به پای کشورهای دیگر برداشته شده و هر روز شاهد پیشرفت‌های چشمگیر دانشمندان عزیزمان ایران در عرصه تحقیقات ژن–سلول درمانی هستیم. در خصوص موفقیت‌های اخیری که در زمینه ژن‌درمانی بیماری‌های ژنتیک به دست آمده است، دلایل مختلفی را می‌توان ذکر کرد. نظیر سرمایه‌گذاری‌های هنگفت که در سالیان اخیر با ورود شرکت‌های بزرگ دارویی به این عرصه انجام شده است، و نیز پیشرفت‌های چشمگیر در زمینه تکنیک‌های ژن‌درمانی که هر روز شاهد تحولات عظیمی در طراحی حامل‌های نوترکیب ویروسی و غیر ویروسی هستیم.

جدای از بحث ژن‌درمانی، پایدار با کمک ژن‌های سالم که از گذشته دور مورد توجه قرار داشته است، اخیرا

روش های مختلفی برای ویرایش ژنوم با استفاده از روش های برش ژن های ناسالم معرفی شده است. برای درمان آن دسته از بیماری های ژنتیکی که مسبب آنها جهش های غالب هستند؛ نظیر بیماری هانتیگتون، این روش ها امکان تخریب آلل جهش یافته را که باعث ایجاد فنوتیپ بیماریزا می‌شود را فراهم می آورد. در ادامه به تفصیل در خصوص روش ها و ابزارهای ویرایش ژنومی صحبت خواهیم کرد.

ژن درمانی به روش ابزارهای ویرایش ژنوم
(Genome Editing)

اگر چه بیش از سه دهه از شناخت فناوری های ویرایش ژنوم می گذرد، اما پایین بودن کارایی و عدم اختصاصیت لازم، کاربرد آنها را برای اهداف ژن درمانی محدود کرده است. امروزه با توسعهDNA نوکلئازهای اختصاصی که نوترکیبی هدایت شده همسان(HDR) را تا هزاران برابر افزایش داده و امکان ایجاد جهش های اختصاصی را فراهم آورده اند. دریچه ای جدید در استفاده از این روش های نوین ویرایش ژنوم در ژندرمانی گشوده شده است. این نوکلئازها می توانند شکست های دو رشته ای (DSBs) را در محل های مورد نظر در ژنوم ایجاد کنند. شکست های زنجیره DNA سپس به وسیله مکانیسم های ترمیم داخل سلولی مانند HDR که یک فرآیند با دقت بالا است و یا اتصال پایانه های غیرهمسان (NHEJ) که یک فرآیند مستعد خطا است، تعمیر می شوند (شکل ۱).



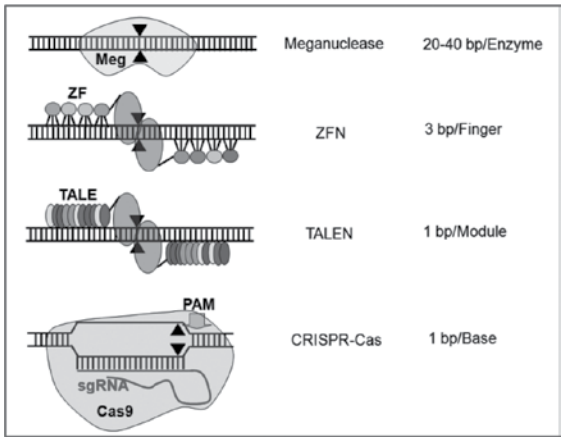
شکل ۱- مکانیسم های ترمیم شکست های دو رشته ای DNA

HDR بر پایه حمله رشته شکسته شده DNA به داخل یک توالی همولوگ آغاز می شود که پیامد آن ترمیم شکست به روش وابسته به الگو است. در سلول های پستانداران، کارایی هدفگیری ژن ها از طریق نوترکیبی همولوگ با استفاده از القای DBS در محل ژن هدف تا چندین برابر میتواند افزایش یابد. اما روش NHEJ یک روش ترمیم تصادفی بوده که در آن DBS در غیاب توالی الگو و تنها از طریق اتصال مجدد پایانه های برش خورده ترمیم میشود. چنانچه در بالا اشاره شد، این روش ترمیمی از دقت چندانی برخوردار نیست و طی آن حذف و یا اضافه شدن های تصادفی نوکلئوتیدها در محل برش اتفاق می افتد. بسته به مکانیسمی که به وسیله آن سلول محل برش DNA را ترمیم می کند. می توان قطعات DNA را در ژنوم سلول هدف ترمیم، اضافه و یا حذف کرد.

DNA اندونوکلئازهای اختصاصی توالی هدف

DNA اندونوکلئازهای اختصاصی توالی، برای اولین بار در دهه ۱۹۶۰ به عنوان آنزیم هایی شناخته شدند که از تکثیر باکتریوفاژها در گونه های خاصی از باکتری‌ها ممانعت می کردند.

اما سالیان زیادی طول کشید تا فناوری ویرایش DNA به منظور اعمال تغییرات دلخواه در ژنوم سلول ها توسعه پیدا کند. تاکنون ۵خانواده عمده از این نوکلئازها استفاده شده اند که عبارتند از: مگانوکلئازها (Meganucleases)، نوکلئازهای انگشت روی (ZFNs)، نوکلئازهای اثرکننده شبه فعال کننده رونویسی(TALENs)، تکرارهای پالیندرومی کوتاه فاصله دار منظم خوشه ای (CRISPR) یا به اختصار نوکلئازهای هدایتگر RNA (RGNs) و سیستم (NgAgo) (شکل-۲).



شکل ۲- انواع DNA اندونوکلئازهای اختصاصی توالی هدف، جهت ویرایش ژنوم

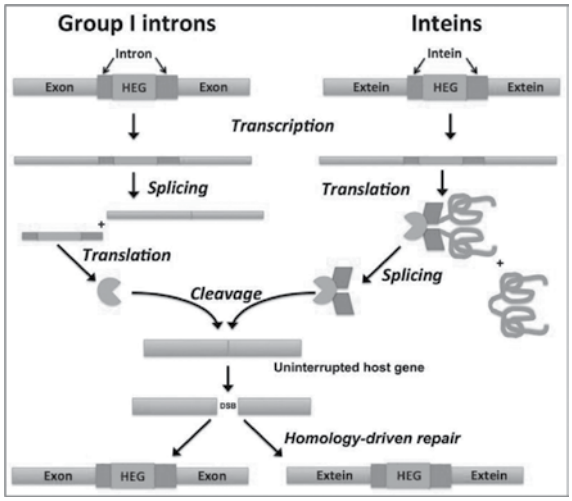
این آنزیم‌ها ابتدا به‌عنوان اندونوکلئازهای محدودالاثر ساختگی به منظور جایگزین کردن یا تکمیل آنزیم‌های محدودالاثر(Restriction endonucleases) موجود ساخته شدند تا بتوانند بهعنوان یک ابزار همه‌کاره و اجتناب‌ناپذیر در خدمت تحقیقات و زیست‌فناوری قرار گیرند که در ادامه به آنها پرداخته خواهد شد.

مگانوکلئازها (Meganucleases)

مگانوکلئازها یا اندونوکلئازهای خانگی(Homing endonucleases) یا «هدفیاب» برای اولین بار در مخمر شناسایی شدند که بیش از ۱۵ سال برای تحریک هدفگیری ژنی استفاده شده است. پیشرفت‌های اخیر در مهندسی عملکردی مگانوکلئازها، دامنه کاربرد آن‌ها را نیز افزایش داده است. در حال حاضر ۵ خانواده از این آنزیم‌ها شناسایی شده‌اند که بیشترین مطالعه بر روی خانواده LAGIDADG است که در تمام سلسله حیات موجودات یافت می‌شوند و عموما توسط عناصر متحرک ژنومی که درون اینترون‌ها و اینتئین‌ها (Inteins) هستند، رمز می‌شوند. شناخته شده‌ترین مگانوکلئازهای این خانواده I–CreI و I–SceI است. مگانوکلئازهای خانواده LAGIDADG توالی‌های DNA به طول ١٤ الی ٤٠ جفت بازی را شناسایی می‌کنند. طول نسبتا بزرگ محل شناسایی، این آنزیم‌ها را تبدیل به ابزار مناسب و اختصاصی برای مهندسی ژنوم کرده است، به طوری که میزان اختصاصیت آنها بسیار بالا و سمیت آنها کم است. تعداد مگانوکلئازهای طبیعی محدود بوده و این مشکل امکان هدفگیری جایگاه‌های مختلف ژنومی را چالش برانگیز می‌کند. بنابراین نیاز مبرم برای مهندسی ساختاری و عملکردی آنها جهت برش توالی‌های جدید احساس می‌شود. تا به امروز، یک نقش هدفمند در میزبان برای این پروتئین‌ها شناخته نشده است و تمایل دارند در گروه «عناصر ژنتیکی خودخواه» طبقه‌بندی شوند. با وجود چند استثنا، پروتئین‌های LAGLIDADG یک یا دو فعالیت اصلی را نمایش می‌دهند:

۱. آن‌ها به عنوان یک RNA maturase در تسهیل اتصال اینترون خود عمل می‌کنند.

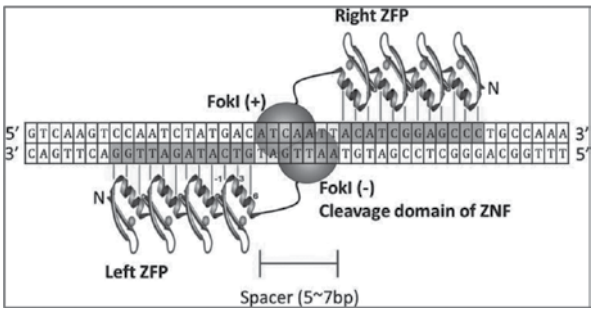
۲. هم چنین به عنوان اندونوکلئاز بسیار ویژه، توانایی تشخیص و شکافتن اتصال توالی اگزون–اگزون درحالیکه اینترون آن ثابت باشد را دارد. بدین ترتیب لقب «اندونوکلئاز هدفیاب» می‌گیرند.



شکل ۳- مکانیسم کلی عملکرد مگانوکلئازها در اینترونهای گروه ۱ و اینتئینها

نوکلئازهای انگشت روی (ZFNs)

نوکلئازهای انگشت روی (ZFNs) اولین قدم در جهت نوکلئازهای موثر و هدفمند را نشان دادند و فراوان‌ترین رده از فاکتورهای رونویسی در ژنوم یوکاریوت‌ها هستند. این پروتئین‌ها یکی از عمومی‌ترین دومین‌های متصل شونده به DNA به نام دومین انگشت روی(Zinc Finger) را دارند. که هر دومین متشکل از ۳۰ اسیدآمینه است که از طریق اسیدآمینه‌های محافظت شده Cys2His2 به یک اتم روی متصل می‌شود و ساختاری متراکم و متشکل از یک مارپیچ آلفا (α-helix) و دو صفحه بتا (β-sheet) را شکل میهد و از طریق همین ساختارهای مارپیچ آلفا خود را وارد شکاف بزرگ DNA کرده و از طریق اسیدآمینه‌های کلیدی خود که در موقعیت‌های ۱- تا ٦+ واقع شده‌اند با ۳ الی ٤ جفت باز DNA برهمکنش اختصاصی می‌دهد. تا اکنون اغلب ZFهایی که قادر به تشخیص توالی‌های سه تایی ٥‹–GNN، ٥‹–ANN و ٥‹–CNN هستند به روش نمایش در سطح فاژ (Phage display) شناسایی شدند. آنزیم FokI یک اندونوکلئاز محدودگر نوع IIS است که توالی غیرپالیندرومی ٥‹–GGATG–٣‹ را در مارپیچ دو رشته‌ای DNA شناسایی کرده و برشی را در ۹ الی ۱۳ نوکلئوتید پایینیدست انجام می‌دهد. FokI از دو موتیف پروتئینی تشکیل شده است که یکی توالی DNA را در به طور اختصاصی شناسایی کرده و به آن متصل می‌شود و دیگری واقع در انتهای کربوکسیل فعالیت اندونوکلئازی را بر عهده دارد. (شکل–٤)



شکل ٤- ساختمان ZFN : هر ZFN در برگیرنده چندین پروتئین انگشت روی در بخش آمینی و یک موتیف نوکلئازی FokI در بخش کربوکسیلی است. توالی های هدف هر جفت ZFN ۱۸ الی ۳۶ جفت باز بدون در نظر گرفتن توالی های فاصله انداز هستند.

اما محدویت هایی در راه استفاده از ZFNها وجود دارد، از جمله آن که در آرایه های ZF طراحی شده، هر واحد نمی تواند به صورت دقیق به سه جفت بازی که برای آن طراحی شده است متصل شود و نیز اینکه برای شناسایی تمامی سه جفت بازهای احتمالی نیاز به ٦٤ جفت موتیف ZF اختصاصی است که تاکنون چنین مجموعه کاملی از آنها موجود نیست. به خاطر وجود این محدویت ها نیاز به طراحی ZFNهای جدید بود که از روش های مبتنی بر Oligomerization Pooled Engineering (OPEN) و Modular Assembly در راستای طراحی ZFNهای جدید با کارایی و اختصاصیت بالاتر انجام گرفت. اگر چه ابزارهای کامپیوتری به بهبود هدفگیری این نوکلئازها در طراحی های جدید کمک می کنند ولی طراحی جفتهای ZFN برای تمامی لوکوس های ژنی امکانپذیر نیست.

نوکلئازهای اثرکننده شبه فعال کننده رونویسی (TALENs)

اولین گزارش ازTALENs در سال ۲۰۱۱ نشاندهنده یک گام بزرگ در حوزه مهندسی ژنوم بود. که از باکتری های بیماریزای گیاهی نظیر جنس Xanthomonas spp مشتق شده اند. این پروتئین ها که به اثرگرهای شبه فعال کننده رونویسی(Transcripion Activator-Like Effectors Nucleases) معروف اند، نقش فعال کننده های رونویسی را ایفا می کنند. ساختار کریستالی تکرارهای TALE در حالت اتصال به DNA شکلی شبیه به ابر مارپیچ راستگرد(Right-handed super-helix) را دارد. زمانی که TALE توالی هدف را روی DNA تشخیص می دهد، شکل فضایی آن تغییر کرده و فشرده تر می شود. هر TALE از سه موتیف تشکیل شده است: موتیف ترانس لوکاسیون واقع در انتهای آمین که یک T-۵ را تشخیص می دهد، موتیف تکراری مرکزی برای اتصال به DNA و توالی انتهای کربوکسیل. موتیف تکراری مرکزی شامل ۱۵/۵ تا ۱۹/۵ واحد تکراری است. (شکل-۵) هر تکرار TALE تنها به یک باز متصل می شود و این مزیتی است که امکان هدفگیری توالی های بیشتر را توسط آرایه های TALE فراهم می آورد. اما از سوی دیگر طبیعت بسیار تکراری TALE چالش های تکنیکی بر سرراه ساخت سازه های ژنی رمزکننده آنها ایجاد می کند. روش های مختلفی برای ساخت سازه های ژنی رمزکننده TALE توسعه یافته است که ساده ترین روش بر مبنای کلونینگ استاندارد به روش Golden Gate از آنزیم های اندونوکلئازهای نوع II برای برش کتابخانه های پلاسمیدی TALE استفاده شد که به دنبال آن طی یک مرحله اتصال مولکولی، چندین قطعه TALE به یکدیگر وصل می شوند. با توجه به محدودیت هایی که در ساخت و هدف گیری توالی های ژنومی با استفاده از ZFNها وجود داشت، TALEها برای رفع آن محدودیت ها ابداع شدهاند. همانند ZFN، می توان با متصل کردن TALE به موتیف برش دهنده اندونوکلئاز FokI از آن در حالت هترودیمر برای برش توالی های دلخواه استفاده کرد. با این اوصاف تکنولوژی TALEN به سرعت توسط جامعه تحقیقاتی پذیرفته شد و کیت Golden Gate TALEN به محبوبترین کیت شرکت Addgene تبدیل شد. خاصیت قابل تنظیم بودن اتصال به DNA در سیستم TALEN، امکان طراحی فاکتورهای رونویسی سفارشی جهت تنظیم بیان ژن را نیز فراهم می کند.

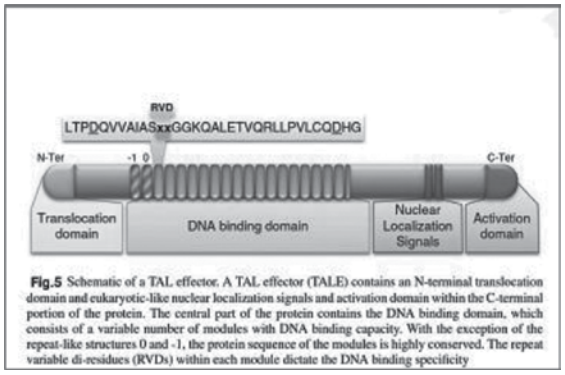


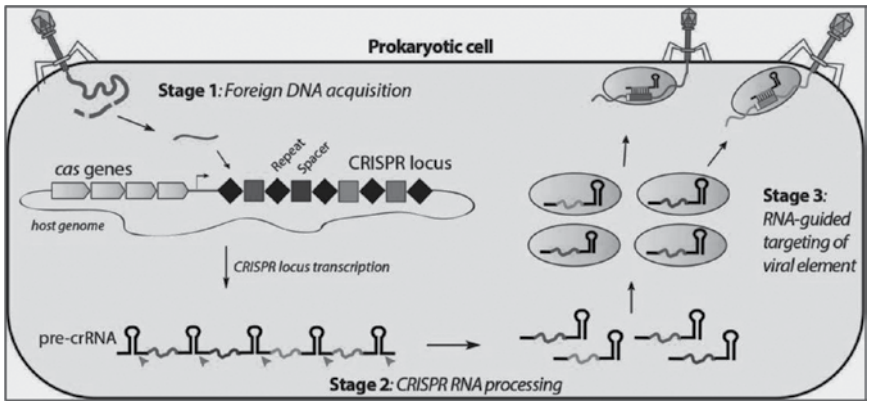
Fig.5 Schematic of a TAL effector. A TAL effector (TALE) contains an N-terminal translocation domain and eukaryotic-like nuclear localization signals and activation domain within the C-terminal portion of the protein. The central part of the protein contains the DNA binding domain, which consists of a variable number of modules with DNA binding capacity. With the exception of the repeat-like structures 0 and -1, the protein sequence of the modules is highly conserved. The repeat variable di-residues (RVDs) within each module dictate the DNA binding specificity

شکل ۵- ساختار TALEN. پروتئین در انتهای آمین دارای موتیف ترانس لوکاسیون و در انتهای کربوکسیل دارای سیگنال استقرار در هسته و موتیف فعالسازی است. در بخش مرکزی موتیف اتصال به DNA وجود دارد که از واحدهای تکراری تشکیل شده است. و هر واحد توانایی اتصال به یک نوکلئوتید را دارد.

بدون تردید چنین دستاوردهایی می تواند نویدبخش حضور جدی ترین فناوری ها در عرصه درمان بیماری های بدون درمان ژنتیکی و اکتسابی مختلف باشد. کمک به حذف یا کاهش اثرات بیماری های بدون درمان از جمله توانایی های منحصر به فرد فناوری ژن درمانی است که در هیچ نوع روش درمانی دیگری امکانپذیر نیست. انتقال ژن و ژن درمانی، افق درمانی جدیدی را جهت حذف بیماریهای مهم و کشنده مختلف در دنیا ایجاد نموده است. در همین دوره، زمانی که همه نگاه ها به نتایج این روشهای ویرایش ژنومی دوخته شده بود. مهندسی ژنوم با استفاده از ابزار ویرایش ژنوم بنام «CRISPR» شروع مجددی بر دستورزی آسان تر و اطمینان بخشی بیشتر بر درمان ژنتیکی بیماران گشت. این فناوری، تمام نواقص موجود در سیستم های ویرایش ژنی را برطرف کرد و امکان حذف یک ژن معیوب و جایگزینی آن را با یک ژن سالم (بزرگترین هدف ترسیم شده برای ژن درمانی) را محقق ساخت.

سیستم نوین ویرایش ژنوم: CRISPR/Cas۹

کریسپر (CRISPR) مخفف عبارت Clustered Regularly Interspaced short Palindromic Repeats است این سیستم که در سال ۱۹۸۷توسط دانشمندان ژاپنی کشف شد، مشابه سیستم ایمنی در باکتریها و آرکئیها عمل میکند و با تشکیل حافظه بیولوژیک، آنها را در برابر پاتوژنها (فاژها و پلازمیدها) ایمن میسازد (شکل-٦). اینتوالیهای کوتاه تکراری برای اولین بار با بررسی خصوصیات آنزیم iap در باکتری E.Coli کشف شد ولی عمکردشان تا سال ۲۰۰۷ مشخص نبود. تا اینکه در این سال آقای رودولف بارانگو (Rodolphe Barrangou) و همکارانش توانستند نشان دهند که باکتری Streptococcus thermophilus میتواند این مقاومت را بر علیه باکتریوفاژ داشته باشد. این سیستم که یک ابزار کلیدی در سیستم ایمنی اکتسابی پروکاریوتی است، برای استفاده در مهندسی ژنوم سازگار شده است. انعطاف پذیری، قابل انجام در مقیاس های بزرگ تر و چند منظوره بودن این سیستم، بسیار فراتر از سیستم های قبلی است و در برنامه های کاربردی ویرایش ژنومی جانداران از بالین تا درمان بسیار مفید واقع شده است.



شکل ۶- مرور کلی بر عملکرد سیستم CRISPR/Cas به عنوان سیستم ایمنی اکتسابی سلولهای پروکاریوتی- مرحله اول: ورود DNA خارجی به داخل سلول- مرحله دوم: پردازش CRISPR RNA- مرحله سوم: هدفگیری عوامل ویروسی با gRNA

از هم اکنون به کانال تلگرامی و اینستاگرام ماهنامه تشخیص آزمایشگاهی بپیوندید

@Tashkhis_Magazine

Tashkhis_Magazine