

Narodziny CRISPR, czyli jak bakteria zrewolucjonizowała genetykę

Paulina MROZOWSKA-WAWRO*

* Uniwersytet Stanforda



Rozwiązanie zadania M 1618.

Odpowiedź: Wszystkie nieparzyste liczby n .

Z warunków zadania wynika, że każda świeczka wypala się po całkowitej liczbie godzin, powiedzmy m . Wówczas łączny czas (w godzinach) płonienia wszystkich świeczek to z jednej strony $m \cdot n$, a z drugiej

$$1 + 2 + \dots + n = \frac{n(n+1)}{2},$$

skąd $m = \frac{n+1}{2}$ i w konsekwencji, aby opisana sytuacja mogła mieć miejsce, n musi być liczbą nieparzystą.

Z drugiej strony dla każdej nieparzystej liczby n , powiedzmy $n = 2k + 1$, gdzie k jest liczbą całkowitą nieujemną, można tak zaplanować, które świeczki będą zapalane danego dnia, aby warunki zadania zostały spełnione. Przykładowo, jeśli ponumerujemy świeczki od 1 do $2k + 1$, to możemy

- dla $i \leq k$: i -tego dnia zapalić wszystkie świeczki o numerach od 1 do i ;
- dla $i \geq k + 1$: i -tego dnia zapalić wszystkie świeczki o numerach od $n - i + 1$ do n .

Uważny Czytelnik pamięta zapewne słynne powiedzenie przypisywane Albertowi Einsteinowi: „Szaleństwem jest robić wciąż to samo i oczekiwać różnych rezultatów”.

Mało jest dziedzin nauki tak poruszających wyobraźnię, jak inżynieria genetyczna. Modyfikacje genetyczne przewijały się w literaturze już w XIX wieku, na długo przed rozwojem współczesnej genetyki. Początkowo literackie mutacje wywoływane były przez tajemnicze chemikalia, zabiegi chirurgiczne lub radioaktywność. Wraz z rozwojem wiedzy na temat budowy DNA fikcyjne zmiany w genach stały się bardziej metodyczne, a spontaniczne mutacje zaczęła wypierać inżynieria genetyczna. Jednak z powodu braku faktycznych narzędzi pozwalających na wycinanie i precyzyjne wklejanie fragmentów DNA możliwość stworzenia współczesnego potwora Frankensteina pozostawała w bezpiecznej sferze wyobraźni. Do czasu, gdy kilka lat temu w ręce biologów wpadła nowa technologia rodem z filmów science fiction o tajemniczo brzmiącej nazwie – CRISPR.

CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), zanim została tajną bronią bioinżynierów, była prostym naturalnie występującym mechanizmem obrony bakterii przed patogenami. W dużym uproszczeniu: zaatakowana przez wirusa bakteria wbudowuje fragmenty jego DNA do swojego. Te wbudowane fragmenty służą jako baza informacji o wirusach, z którymi bakteria miała już styczność. Gdy do wnętrza bakteryjnej komórki ponownie wnika ten sam wirus, bakteria rozpoznaje go i niszczy poprzez rozcięcie jego nici DNA w miejscu zapisanym wcześniej w bazie. Proste, a śmiertelnie efektywne.

Odkąd w 2012 roku zespół badaczy z Uniwersytetu Technologicznego Massachusetts (MIT) pokazał, że CRISPR może być w prosty sposób wykorzystany do edycji ludzkiego DNA, w środowisku naukowym rozpętała się burza, która trwa do dzisiaj. Laboratoria na całym świecie zaczęły prześcigać się w wymyślaniu nowych zastosowań tej techniki. Publikacje i patenty pojawiały się jak grzyby po deszczu. Do końca 2018 roku ukazało się ich ponad 10 000 (przed 2012 była ich niespełna setka). Wybuchło zainteresowanie wykorzystaniem CRISPR w badaniach klinicznych i rolnictwie, ale pojawił się też niepokój wynikający z oferowanej przez nią potencjalnej możliwości tworzenia dzieci „na zamówienie”.

Mimo że rewolucja CRISPR wybuchła praktycznie z dnia na dzień, sama metoda ma za sobą ponad 25 lat żmudnych badań, obfitujących częściej w szczęśliwe zbiegi okoliczności niż skrupulatnie budowane hipotezy. Jej historia rozpoczyna się w małym hiszpańskim porcie Santa Pola, gdzie na słonych mokradłach mieszka mały kuzyn bakterii i pierwszy bohater CRISPR-owej rewolucji, archeon *Haloferox mediterranei*. Niezwykły wpływ soli na zachowanie tego organizmu skłonił młodego doktoranta Francisco Mojica do przeanalizowania jego materiału genetycznego. Mojica odkrył w nim intrygujące struktury – sekwencje regularnie oddalonych krótkich powtórzeń DNA (nazwane później przez niego CRISPR). Z wpływem soli nie miały one nic wspólnego, ale zafascynowały młodego Hiszpana na tyle, że poświęcił im kolejne dziesięć lat swoich badań. W tym czasie udało mu się odkryć podobne struktury u ponad dwudziestu różnych gatunków mikrobów, co jednoznacznie wskazywało, że mają one jakąś istotną, chociaż wciąż nieznaną funkcję. Olsnienie przyszło równie nieoczekiwanie, jak samo odkrycie. Pewnego popołudnia Mojica przeglądał bazy danych, porównując sekwencje jego „CRISPR-owych powtórzeń” z sekwencjami DNA innych organizmów, co oczywiście robił już wcześniej milion razy, bez rezultatu. Na szczęście słynne powiedzenie Einsteina tym razem się nie sprawdziło i wciąż rozszerzana baza danych wygenerowała nowy wynik. Fragment analizowanego przez Mojicę DNA pałeczki okrężnicy zgadzał się dokładnie z DNA jednego z bakteryjnych wirusów. Po długim tygodniu przekopywania baz danych i 4500 sekwencji później Mojica miał swoją odpowiedź – tajemnicze powtórzenia okazały się systemem obronnym bakterii, prokariotycznym układem odpornościowym.



Rozwiązanie zadania F 987.

Rozważmy staczenie walca (belki) po równi (pochylni), gdy nie występuje poślizg. W każdej chwili tworząca powierzchni walca stykająca się z równią jest (chwilową) osią obrotu. Obrót walca wokół tej osi opisuje równanie:

$$I\epsilon = mgR \sin(\alpha),$$

gdzie I oznacza moment bezwładności walca względem jednej z krawędzi bocznych walca (chwilowej osi obrotu), m jest masą walca, ϵ jego przyspieszeniem kątowym, zaś α kątem nachylenia równi. Zgodnie z twierdzeniem Steinera, dla walca o promieniu R , $I = I_0 + mR^2$, przy czym $I_0 = mR^2/2$. Gdy nie występuje poślizg, przyspieszenie a ruchu postępowego wzdłuż równi spełnia warunek:

$$a = \epsilon R.$$

Z drugiej strony, zgodnie z drugą zasadą dynamiki:

$$ma = mg \sin(\alpha) - T,$$

gdzie T oznacza siłę tarcia statycznego zapobiegającą brak poślizgu, a $mg \sin(\alpha)$ jest składową siły ciężkości wzdłuż równi. Możemy teraz wyznaczyć wartość siły tarcia statycznego:

$$T = \frac{I_0 mg \sin(\alpha)}{I_0 + mR^2} \leq f mg \cos(\alpha),$$

gdzie prawa strona nierówności określa maksymalną wartość siły tarcia statycznego zapobiegającego poślizgowi. Ostatecznie otrzymujemy, że staczenie walca bez poślizgu odbywa się, gdy:

$$\operatorname{tg}(\alpha) \leq 3f = 1,74,$$

co odpowiada ograniczeniu kąta do $60,1^\circ$.

Po opublikowaniu odkrycia przez Mojicę coraz więcej naukowców zaczęło interesować się tematem CRISPR, ale dokładne opisanie jego mechanizmu zajęło im kolejne siedem lat. W tym czasie odkryto nie tylko, które białko jest odpowiedzialne za rozcinanie wirusowego DNA w systemie CRISPR, ale też, że naturalny system można przeprogramować tak, aby jego celem było DNA ssaków. Powoli zaczęła docierać do badaczy, że przy odrobinie wysiłku i twórczej inwencji CRISPR może być zaadaptowany do edycji ludzkich genów.

Inwencji zdecydowanie nie brakowało Fengowi Zhangowi, młodemu bioinżynierowi z MIT. Zhang już od dawna badał dostępne ówczesnie metody manipulacji DNA. Kilka z nich z powodzeniem wykorzystywał w komórkach zwierzęcych, jednak wszystkie były bardzo pracochłonne i nieefektywne. Zhang po raz pierwszy usłyszał o CRISPR podczas seminarium wydziałowego i momentalnie uległ fascynacji. Następnego dnia poleciał na konferencję naukową do Miami, ale nie pojawił się na żadnym wykładzie. Zamiast tego siedział zamknięty w hotelowym pokoju i pochłaniał CRISPR-ową literaturę. Kiedy po tygodniu wrócił do swojego laboratorium w Bostonie, natychmiast zabrał się do pracy, a po roku skrupulatnych badań i optymalizacji stało się to, na co wszyscy czekali – powstała pierwsza ludzka komórka wyedytowana techniką CRISPR. Rewolucja się rozpoczęła.

Co takiego sprawia, że CRISPR bije na głowę wszystkie inne metody edycji DNA? Przede wszystkim jej koszt i łatwość użycia. CRISPR jest tak prosta, że nie potrzeba do niej nawet laboratorium. Nie żartuję; zestaw do domowego użytku jest już w sprzedaży. Za jedyne 159 dolarów dostajesz go prosto do domu, wkładasz do lodówki pomiędzy jajka i karton z mlekiem, a w wolnej chwili robisz bakterie mutanty na własnym stole kuchennym. Ponadto CRISPR, w przeciwieństwie do wcześniejszych technik, pozwala wziąć na cel niemal dowolny fragment DNA i przeciąć go z bardzo wysoką wydajnością, w kilku miejscach jednocześnie. W praktyce oznacza to, że można przeciąć nić DNA, usunąć z niej niechcianą sekwencję, a następnie zastąpić ją inną. To wszystko sprawia, że CRISPR jest potencjalnym kluczem do wyeliminowania chorób dziedzicznych, powstrzymania epidemii, stworzenia upraw zdolnych do przetrzymania najgorszych zmian klimatycznych, szykowanych dla nas przez globalne ocieplenie, i wiele więcej.

Jednak CRISPR ma też swoją ciemną stronę. Jennifer Doudna, jedna z pionierek badań nad CRISPR, opisuje w swojej książce „Edycja genów. Władza nad ewolucją” swój nawracający koszmar. W śnie jest proszona o wytłumaczenie metody działania CRISPR pewnej osobie czekającej na nią w pokoju obok. Gdy wchodzi do pokoju, zszokowana widzi siedzącego przy stole Adolfa Hitlera. Hitler wyciąga do niej rękę i mówi „Chciałbym lepiej zrozumieć zastosowania i implikacje tej fascynującej techniki, którą stworzyłaś...”. Sami twórcy zdają sobie sprawę, że ich dziecko w nieodpowiednich rękach może narobić dużych szkód. Największe kontrowersje wzbudza możliwość manipulacji genetycznych na ludzkich embrionach. Gdy w 2015 roku chińscy naukowcy po raz pierwszy użyli CRISPR do edycji DNA zapłodnionych komórek jajowych, to mimo że zmodyfikowane komórki nigdy nie zostały wszczepione do macicy, świat naukowy zgodził się, że zaczynamy stąpać niebezpiecznie blisko zakazanych granic etycznych. Na ich przekroczenie nie trzeba było długo czekać. Pod koniec 2018 roku Chiński bioinżynier He Jiankui ogłosił narodziny pierwszych dzieci zmodyfikowanych za pomocą CRISPR. Bliźniaczki, których ojciec jest nosicielem HIV, urodziły się z wyciętym genem odpowiedzialnym za wnikanie wirusa do organizmu, co ma im zapewnić odporność na chorobę. Eksperyment He spotkał się z gorącą krytyką międzynarodowej społeczności naukowej, a Chiński rząd wszczął dochodzenie w tej sprawie. Ponieważ modyfikacje genetyczne w Chinach nie są jasno regulowane, nie jest jeszcze jasne, jakie prawa złamał He, ale zarówno rząd, jak i uniwersytet, na którym pracował, zgadzają się, że dopuścił się poważnego naruszenia etyki i standardów akademickich. W odpowiedzi na niepokojące wieści z Chin Światowa Organizacja Zdrowia rozpoczęła prace nad skuteczną metodą patrzenia na ręce wszystkim badaczom prowadzącym jakiegokolwiek modyfikacje genetyczne na ludzkich komórkach rozrodczych.