

# Geeniräätälin uudet sakset

■ Vuoden 2020 kemian Nobelin palkinnon saivat ranskalainen Emmanuelle Charpentier ja yhdysvaltalainen Jennifer Doudna. Kaksikon keksimät geenisakset voivat mullistaa monia aloja lääketieteestä maatalouteen.

JARI KOPONEN

Geenisaksien – virallisemmin crispr-cas9-entsyymien – avulla voidaan muokata minkä tahansa tumallisen solun sisältämää geenimateriaalia halutulla tavalla.

Muokkaus voidaan tehdä joko poistamalla jokin kohta dna:sta, jolloin geeni korjaa itsensä, tai liittämällä poistettuun kohtaan uutta geenimateriaalia.

Tie kohti Nobelia alkoi vuonna 2011, kun ranskalainen biokemisti ja mikrobiologi **Emmanuelle Charpentier** kol-

legoineen selvitti streptokokkibakteerista mekanismin, jolla bakteerit puolustautuvat niihin tunkeutuvia viruksia vastaan.

Virukset pääsevät lisääntymään, kun ne liittyvät oman dna:nsa osaksi bakteerien perimää. Bakteerien vastaisku perustuu siihen, että ne tuottavat cas-entsyymiä, joka pilkkoo hyökkäävän viruksen dna:n palasiksi.

Ikivanha mekanismi toimii mitä erilaisimmissa bakteereissa ja arkeoneissa. Niiden perimässä on samanlaisena toistuva crispr-alue (*clustered regular interspaced short palindromic repeats*), jonka sisältämän kahden merkkijakson väliin viruksen injisoima dna liittyy.

Näin lisätty crispr kopioituu pitkäksi rna-molekyyliksi. Seuraavaksi merkkijaksoihin kiinnittyy kaksi transaktivoivaa rna:ta (tracr-rna), ja näin muodostuneeseen kompleksiin liittyy cas9-entsyymi.

Sitten ribonukleaasi III (RNAasi III) -proteiini leikkaa virusjakson irti. Cas9

sisältää nyt viruksen perimän, joten se on muuttunut geneettiseksi saksiksi. Näin muuntunut cas9 tunnistaa ja poistaa saman viruksen uudet infektiot.

## Nopeaa menetelmäkehitystä

Löydöksensä jälkeen Emmanuelle Charpentier ryhtyi tutkimaan mekanismin laajempaa käyttökelpoisuutta yhdessä amerikkalaisen biokemistin **Jennifer Doudnan** kanssa.

Heidän ensimmäinen havaintonsa oli, että bakteerien puolustusmekanismi toimii myös aiotumallisissa soluisissa, kuten kasvi-, sieni- ja eläinsoluissa.

Jo vuonna 2012 kaksikko pystyi raportoimaan menetelmästä, jonka avulla cas9 yhdessä siihen liitetyn ohjainrna:n kanssa voidaan räätälöidä poistamaan mikä tahansa dna-jakso.

Menetelmässä luodaan ensiksi rna-ohjain, joka tunnistaa korjattavan kohdan kohde-dna:sta. Ohjain ja cas9-ent-

>>>

## Uusi ase taisteluun bakteereja vastaan?

Tutkija **Pilvi Ruotsalainen** selvitti Jyväskylän yliopistossa viime vuonna julkaistussa väitöskirjassaan muun muassa geenisaksien käyttöä bakteerien antibioottiresistenssin poistamiseen.

Jos bakteereilta saataisiin vastustuskyky pois, antibiootit tepsisivät niihin taas toivotulla tavalla.

Antibiooteille vastustuskykyisten bakteerien valtava lisääntyminen johtuu lääkkeiden laajasta, osin tarpeettomasta käytöstä sekä terveydenhuollossa että karjatalouudessa.

Vastustuskyky siirtyy bakteerista ja jopa bakteerilajista toiseen plasmidien välityksellä. Plasmidit ovat dna-renkaita, jotka ovat erillään bakteerin omasta dna:sta. Yksi plasmidi voi sisältää vastustuskyvyn useille eri antibiooteille, jolloin bakteeri on moniresistentti.

Terveiden, suolistossaan resistenttejä suolistobakteereja kantavien ihmisten lukumäärä on kasvussa, mikä puolestaan nopeuttaa antibioottivastustuskyvyn leviämistä muihin ihmisiin ja eläimiin. Ellei ilmiötä saada kuriin, edes-

sämme on paluu antibiootteja edeltävään aikaan.

Pilvi Ruotsalaisen laboratorikokeessa luovuttajasolussa oli siirtoplasmidi ja geenisaksien dna:n sisältävä plasmidi.

Siirtoplasmidin luoman yhteyden kautta molemmat plasmidit siirtyvät bakteerisoluuun, joka sisältää resistenssiplasmidin. Siirron jälkeen kohdesolut alkavat tuottaa geenisaksia, jotka kiinnittyvät resistenttiplasmidien ennalta ohjelmoituihin alueisiin.

Koska niistä on erilaisia muunnoksia, Ruotsalainen valitsi kohteeksi kaikille muunnoksille yhteisen alueen plasmidista. Nämä alueet leikattiin pois, jolloin resistenssiplasmidit hajosivat.

Menetelmällä ei ainoastaan poisteta jo infektoituneita bakteereja vaan estetään myös resistenssin leviämistä.

Ruotsalaisen kokeessa suurin osa kohdeplasmideista tuhoutui, ja bakteerien antibioottiresistenssi hävisi.

Menetelmä on vasta alkuvaiheissaan, mutta siitä saattaa tulla yksi käyttökelpoinen ase muiden joukossa taistelussa antibioottiresistenssin uhkaa vastaan.

**Moneen  
otteeseen jo aiemmin  
palkittu Jennifer Doudna  
toimii biokemian ja  
molekyylibiologian  
professorina Kalifornian  
yliopiston Berkeleyn  
kampuksella.**



syymi muodostavat kompleksin, jonka ohjain vie leikkavaan kohtaan geenissä. Sen jälkeen entsyymi avaa dna:n kaksoisjuostetta ja katkaisee sen.

Tämän jälkeen uusi geenipätkä liitetään dna:han erityisesti valmistetun pienen dna-templaatin avulla. Templaattia tarvitaan, sillä jos solun annetaan itse huolehtia liittämistä, seurauksena on useimmiten geenin toiminnan loppuminen.

Alkuperäistä tekniikkaa on sittemmin kehitetty edelleen. Yksi sen paljon käytetty muunnos on niin kutsuttu prime editing -menetelmä (PE).

PE-menetelmässä hyödynnetään kompleksia, jonka cas9-entsyymiä on muunneltu. Muunneltu cas9 katkaisee kohde-dna:n juosteista vain toisen yhden emäsparin kohdalta.

Myös rna-ohjainta on muokattu siten, että se sisältää ohjainosan jatkeena korvaavan osan koodin. Lisäksi mukaan on liitetty käänteinen transkriptaasientsyymi, joka lukee korvaavan osan koodin ja syntetisoi sen kopion.

Kopio liittyy katkaistuun juosteeseen ja eheyttää sen, mutta se ei olekaan enää yhteensopiva vastajuosteen kanssa. Tämä korjataan leikkaamalla vastajuoste poikki toisella rna-ohjaimella varustetuilla geenisaksilla.

Tällöin solu korjaa dna:n eheäksi käyttämällä muutettua juostetta templaattina, jolloin geenisiirto on toteutettu. Solun endosyytit tuhoavat vanhat juostepätkät.

## Ovi rajattomaan muokkaukseen

Prime editing edustaa tällä hetkellä alan edistyneintä ja monikäyttöisintä tekniikkaa. Syitä sen menestykseen on useita.

Tekniikka on ensinnäkin hyvin tarkka. Genomissa alle kymmenesosalla muunnettuja soluja on ei-toivotuja muutoksia.

Menetelmä on myös monipuolinen. Yhdellä ja samalla tekniikalla voidaan poistaa geenejä, lisätä uutta dna:ta ja muuttaa yksittäisiä emäspareja. Lisäksi leikkauksen kohdistaminen vain yhteen juosteeseen estää solun virheille alttiin korjauskoneiston aktivoitumisen.

Tekniikalla voidaan lisäksi korjata geneettisiä virheitä myös monissa sellaisissa soluissa, jotka eivät enää jakaudu, kuten esimerkiksi aivojen neuroneissa ja lihas-soluissa.

PE avaa näin ennennäkemättömiä mahdollisuuksia esimerkiksi lääketieteen, kasvinjalostuksen ja elintarviketuotannon aloilla.

Geenisaksien toimintaa on testattu mallisysteemeissä, solujen lisäksi myös hiirissä. Kokeissa on saatu korjattua muun muassa sirppisoluanemian, keuhkosyövän, epilepsian, hepatiitti B:n ja hivin sekä autismin takana olevia kohdegeenejä.

Juuri lääketieteessä geenisaksilla on valtavia mahdollisuuksia, sillä pelkästään geneettisesti periytyviä sairauksia tunnetaan yli 5 000.

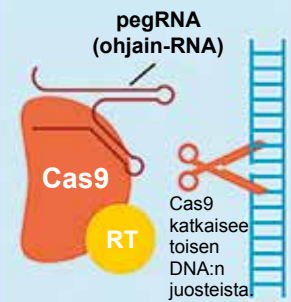
Lääketieteellisissä käytännön sovelluksissa ollaan kuitenkin vasta tutkimusvaiheessa ja kaukana tekniikan kliinisestä käytöstä.

Geenisaksien hyödyntämiseen potilaiden hoidossa

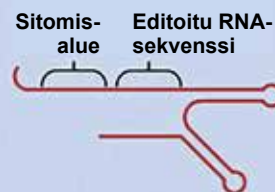
Prime Editor -kompleksi muodostuu modifioidusta Cas9-entsyymistä, joka katkaisee vain toisen DNA-juosteista ja käänteisestä transkriptaasientsyymistä (RT), joka voi muodostaa uutta DNA:ta kopsioimalla RNA-templaatin.



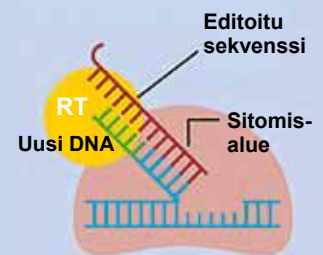
Ohjain-RNA vie Cas9:n leikkavalle kohdalle DNA:ssa.



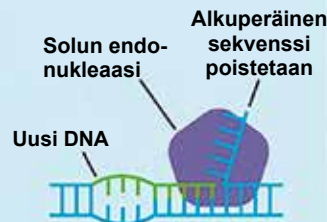
pegRNA sisältää kaksi täsmäaluetta: alueen joka sitoutuu katkaisukohtaan ja valmistaa lisäämään uusia nukleotideja katkaisukohtaan. Editoitu RNA-sekvenssi koodaa uuden DNA-järjestyksen.



Käänteinen transkriptaasientsyymi lukee RNA:ta ja lisää vastaavat DNA-vastikeosat aukkokohtaan päähän templaatin mukaisessa järjestyksessä.



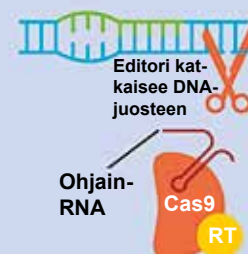
Solujen endonukleasit tuhoavat vanhan DNA-sekvenssin ja liittävät uuden sekvenssin genomiin.



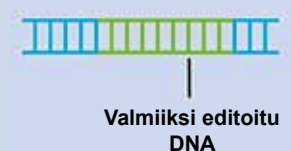
Kohdealueelle jäävät editoitu ja editoimaton juoste eivät sovi täysin yhteen.



Epäsovituksen korjaamiseksi vie toisentyypisellä ohjain-RNA:lla varustettu Prime Editor -kompleksin vastakkaisen juosteen kohtaan jossa leikkaus tapahtuu.



Leikkaus aktivoi solun korjaamaan leikatun juosteen niin, että editoitu juoste toimii templaattina. Genomin editointi on viety loppuun.



© Broad Institute of MIT and Harvard 2019

liittyy vielä suuria avoimia kysymyksiä. Selvitettävänä ovat muun muassa menetelmän teho, turvallisuus ja sivuvaikutukset.

Myös maatalous on alue, jolla voidaan saavuttaa huomattavia tuloksia geenisaksien avulla. Maapallon väestönkasvu ja ilmastomuutos aiheuttavat ruokahuollolle ongelmia, joiden torjunnassa geenisakset ovat merkittävä potentiaalinen työkalu.

Maaailman neljän tärkeimmän viljelykasvin eli riisin, maissin, vehnän ja kassavan saatavuus tulisi kyetä varmistamaan. Erityisesti pitkäaikainen kuivuus muodostaa uhan monille lajeille.

Maissin ”kuivuusgeeniä” on tutkimuksissa jo muokattu. Kokeelliset tulokset osoittivat, että käsitellyn maissin sato on kuivissa oloissa huomattavasti parempi kuin käsittelemättömillä kasveilla.

Geenisaksia voidaan käyttää myös kasvitautien torjunnassa. Kassava eli maniokki on etenkin Afrikassa ja Etelä-Amerikassa tärkeä ruokakasvi, joka on kuitenkin altis syötävän juuriosan tuhoavalle virukselle. Koeviljelyissä on käynyt ilmi, että geenisaksilla muokatuilla kasveilla virustuhot ovat merkittävästi pienempiä.

### Aarrearkku vai Pandoran lipas?

Geenisakset ovat kuitenkin niin uusi menetelmä, että niiden käytön turvallisuuteen ja jälkivaikutuksiin liittyvistä tekijöistä tiedetään vielä liian vähän. Asiasta tarvitaan laaja-alaista keskustelua ja sitovaa kansainvälistä lainsäädäntöä.

EU-alueella toimiin on jo ryhdytty. Vuonna 2018 linjattiin, että geenisaksien käyttö kuuluu unionin geenimanipulaatiota säätelevän gmo-direktiivin piiriin.

Direktiivin mukaan menetelmän kaikkien osien osalta täytyy tehdä oma riskianalysinsä. Vaatimus ulottuu



Hallbauer & Floretti

**Ranskalainen Emmanuelle Charpentier työskentelee tätä nykyä Berliinissä, jossa hän johtaa Max Planck -instituutin patogeneien yksikköä. Hän on vierailut myös Uumajan yliopiston professorina.**

koskemaan myös toimenpiteen mahdollisia myöhempiä vaikutuksia. Niitä voivat olla muun muassa geenimuunneltujen eliöiden jälkeläisten geneettinen vakaus ja vaikutukset ympäröivään ekosysteemiin.

Erityisesti ihmisalkioiden geenimuokkaus on jyrkästi kiellettyä. Kieltoa on kuitenkin jo rikottu.

Kiinalainen tutkija **He Jiankui** ryhmineen teki vuonna 2018 salaa ja ilman lupia kokeita, joissa ihmisalkiot tehtiin vastustuskykyisiksi hi-virukselle.

Kun näin muokatut kaksostytöt seuraavana vuonna syntyivät, asiasta nousi valtava kansainvälinen kohu. Tutkija tuomittiin kolmen vuoden vankeuteen ja kolmen miljoonan yuanin eli reilun 420 000 euron sakkoihin.

Kontrolloimaton ja laitton toiminta on vakava geenisaksiin liittyvä uhkatekijä. Kun tekniikat kehittyvät helpokäyttöisemmiksi ja tulevat saataville kaupallisesti, myös uhat yleistyvät. Tämä lisää laajemman väärinkäytön ja jopa rikollisuuden mahdollisuuksia.

Kokemus on osoittanut, että kaikkea, mitä voidaan käyttää sotilaallisesti, myös hyödynnetään sotilaskäytössä. Geenisakset olisivat oiva työväline bioaseiden kehittäjille. □

Kirjoittaja on tiedetoimittaja.

## Mammuttien paluu?

Siperian ikiroudassa on säilynyt meidän päiviimme asti mammuttien jäännöksiä, joista vuonna 2008 onnistuttiin sekvensoimaan nyt jo sukupuuttoon kuolleen villamammutin perimä.

Villamammutin lähin elossa oleva sukulainen on aasiannorsu (*Elephas maximus*), joka eriytyi mammutista noin 440 000 vuotta sitten.

Max Planck -instituutissa tehdyn arvion mukaan lajien genomit eroavat noin 1,4 miljoonan mutaation verran. Toisin ilmaistuna aasiannorsu on 99,96-prosenttisesti villamammutti.

Vuonna 2015 Harvardin yliopistossa luotiin keinotekoisesti muutamia mammutin perimästä löydettyjä geenejä, jotka siirrettiin onnistuneesti aasiannorsun ihosolulinjaan.

Alku on hyvin vaatimaton, sillä varovaisenkin arvion mukaan norsun genomin palauttaminen villamammutin perimäksi vaatisi vähintään muutaman sadantuhannen geenisegmentin siirtoa.

Geenisaksien ansiosta tutkimus harppoo kuitenkin eteenpäin, joten ehkäpä jälkeläisemme joskus tulevaisuudessa saavat nähdä mammuttien paluun.