
Nye CRISPR-metoder og mer presis presisjonsmedisin

LEDER

EIVIND VALEN

eivind.valen@uib.no

Eivind Valen er professor i bioinformatikk ved Computational Biology Unit ved Universitetet i Bergen. Han har utviklet noen av verdens mest brukte verktøy for CRISPR-redigering og er en av Norges representanter i styringskomiteen til COST-nettverket *Genome Editing to Treat Human Diseases*.

Forfatteren har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

Ti år etter at CRISPR revolusjonerte genetisk forskning, er vi på vei mot å kunne kurere arvelige sykdommer.

CRISPR-redigering ble utviklet for å gjøre endringer i arvematerialet og overgikk tidligere metoder ved å være både langt enklere og mer presis. Fram til nylig har likevel mange anvendelser av CRISPR-redigering vært mindre sofistikerte og litt som å dunke i TV-en for å få den til å fungere. Man kan gi et treffsikkert dunk, men det er likevel usikkert om ting faller riktig på plass. Nyere CRISPR-baserte metoder åpner for mer presis og tryggere genredigering, slik at man i kommende år trolig vil kunne kurere flere genetiske sykdommer.

Tradisjonell CRISPR-redigering kan oppsummeres som en metode som målrettet finner, kutter og reparerer biter i arvematerialet. Man ødelegger med andre ord DNA-et, for så å sette inn nytt arvemateriale som kan bestå av lange sekvenser eller til og med hele gener. Imidlertid består de fleste kjente patogene genvarianter av kun korte feil (1), slik at lange sekvensendringer ofte ikke er nødvendig eller ønskelig. Dessuten er det ofte begrensninger i reparasjonseffektiviteten som kan føre til at kun et fåtall celler tar opp det nye, korrigerte arvematerialet.

«Innovasjonen bestod i en inaktivert CRISPR-variant som ikke kuttet DNA, men som var bundet til et protein som kjemisk endret DNA på nukleotidnivå»

Det var mot dette bakteppet at baseredigering ble utviklet (2). Innovasjonen bestod i en inaktivert CRISPR-variant som ikke kuttet DNA, men som var bundet til et protein som kjemisk endret DNA på nukleotidnivå, fra henholdsvis C (cytosin) til T (tymin) og A (adenin) til G (guanin). Siden DNA består av to komplementære tråder, får man også de komplementære endringene G til A og T til C på den andre tråden. Med dette nye verktøyet oppnådde man fire mulige baseendringer, noe som i teorien vil være tilstrekkelig for genterapi for over halvparten av de patogene enkeltbasefeilene vi kjenner (3).

Foruten å øke presisjonen ved hjelp av redigering på nukleotidnivå har baseredigering også den fordel at såkalte *off-targets* blir mindre skadelige. Et *off-target* oppstår når CRISPR redigerer et sted i arvematerialet som ikke var tilsiktet. Dette kan forekomme på steder som har likheter med målsekvensen, og er en av de største bekymringene ved genredigering, spesielt ved tradisjonell CRISPR, der man lager brudd i DNA-et. Med baseredigering får man i stedet små DNA-endringer, som gjerne er mindre alvorlige. Ettersom patogene genvarianter ofte også er små, kan dette likevel synes skummelt, men et viktig poeng her er at genene utgjør mindre enn 2 % av det menneskelige arvematerialet, og mye av det resterende er i stor grad uten funksjon. En liten endring på et tilfeldig sted er derfor gjerne uten betydning. Til gjengjeld kan naboredigering være et problem i tilfeller hvor baser ved siden av genfeilen endres. Siden disse basene er en del av det samme genet, kan endringer få konsekvenser. For å begrense dette og øke presisjonen ytterligere forskes det på flere nye baseredigeringsproteiner (1).

Baseredigering har i mus blitt brukt til å kurere sigdcelleanemi og den progressive genetiske sykdommen progeria (4), og en klinisk studie rettet mot sigdcelleanemi og enkeltbasemutasjon i *HBB*-genet er på trappene. Den første kliniske studien med mål om å kurere familiær hyperkolesterolemi omfatter 40 pasienter og bygger på studier på aper der man gjorde en A-til-G-endring i *PCSK9*-genet med positivt utfall (5, 6). For disse tilstandene vil de potensielt store nytteeffektene veie tungt i forhold til det mer begrensede skadeomfanget man forventer ved baseredigering.

«I prinsippet kan metoden sette inn en hvilken som helst kort DNA-sekvens»

Såkalt *prime*-redigering er blant de nyeste CRISPR-verktøyene og kan sammenlignes med en søk-og-erstatt-funksjon for DNA (7). Her bærer CRISPR med seg oppskriften for hva som skal inn i arvematerialet, og i prinsippet kan metoden sette inn en hvilken som helst kort DNA-sekvens. Forsøk har vist lovende resultater i mus for sjeldne tilstander som arvelig tyrosinemi og Lebers kongenitale amaurose (8). Gitt at resultatene kan reproduseres i mennesker,

har vi et potensielt enda mer presist verktøy for genredigering, som i motsetning til baseredigering kan gjøre alle baseendringer og behandle de fleste kjente patogene genvarianter med høy redigeringseffektivitet.

I teorien er dermed en kur for de fleste genetiske sykdommer innenfor rekkevidde, men det gjenstår flere tekniske avklaringer og tilpasninger til hver tilstand. Er det best å korrigere genfeilen i kroppen (in vivo) eller å først hente ut celler, korrigere dem og deretter sette dem tilbake i kroppen (ex vivo)? Med in vivo-tilnærmingen er det å få levert CRISPR til de riktige cellene en utfordring vi kjenner fra behandling med legemidler. Genterapi ex vivo kan være langt tryggere for pasienten, men til gjengjeld kan det være vanskelig å oppnå langvarig effekt. Utfordringer til tross: De nyere resultatene er svært lovende, og vi kan forvente en lang rekke kliniske studier på CRISPR-metoder de neste årene.

REFERENCES

1. Rees HA, Liu DR. Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet* 2018; 19: 770–88. [PubMed] [CrossRef]
2. Komor AC, Kim YB, Packer MS et al. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 2016; 533: 420–4. [PubMed][CrossRef]
3. Porto EM, Komor AC, Slaymaker IM et al. Base editing: advances and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2020; 19: 839–59. [PubMed] [CrossRef]
4. Koblan LW, Erdos MR, Wilson C et al. In vivo base editing rescues Hutchinson-Gilford progeria syndrome in mice. *Nature* 2021; 589: 608–14. [PubMed][CrossRef]
5. Rothgangl T, Dennis MK, Lin PJC et al. In vivo adenine base editing of PCSK9 in macaques reduces LDL cholesterol levels. *Nat Biotechnol* 2021; 39: 949–57. [PubMed][CrossRef]
6. Musunuru K, Chadwick AC, Mizoguchi T et al. In vivo CRISPR base editing of PCSK9 durably lowers cholesterol in primates. *Nature* 2021; 593: 429–34. [PubMed][CrossRef]
7. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR et al. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 2019; 576: 149–57. [PubMed][CrossRef]
8. Jang H, Jo DH, Cho CS et al. Application of prime editing to the correction of mutations and phenotypes in adult mice with liver and eye diseases. *Nat Biomed Eng* 2022; 6: 181–94. [PubMed][CrossRef]

Publisert: 21. november 2022. Tidsskr Nor Legeforen. DOI: 10.4045/tidsskr.22.0689

