

Nobelli Bir Bilim İnsanı

Jennifer Doudna

ile Söyleşi

Jennifer Doudna

Merve Asena Özbek ve Dr. Adil Denizli

Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

CRISPR – Cas gen düzenleyicileri artık hem klinik uygulamaya taşınıyor hem de ilaç hedeflerini bulmak ve doğrulamak için bir araç olarak benimseniyor. Ancak UC Berkeley'deki çalışmalarıyla bu vaadin öncülüğünü yapan Jennifer Doudna için, bu araçların tam potansiyeli ancak geniş ölçekte kullanılabilirliklerinde ortaya çıkacak. Bu amaçla, Doudna ve meslektaşları geçen yıl GlaxoSmithKline (GSK) ile insan genetiğinin ayrıntılı keşfi için CRISPR – Cas ilerleyişini sanayileştirmeyi amaçlayan 67 milyon ABD doları tutarında "The Laboratory for Genomic Research" (LGR) çalışmasını başlatmak için ortaklık kurdu. Bir yıl sonra Asher Mullard ile CRISPR – Cas düzenleyicilerinin ilaç keşif araçları olmasındaki umutlarını, LGR'nin üzerinde çalıştığı zorluklar hakkında konuştu.

LGR'nin yaratılmasına ne sebep oldu?

[GlaxoSmithKline CSO'su] Hal Barron ve ben bir akşam yemeği yedik ve ilaç hedeflerini belirlemek için CRISPR'yi geçmişte olduğundan daha hızlı ve potansiyel olarak daha etkili bir şekilde kullanmaktan bahsettik. Bu, ilaç keşfindeki gerçek hayal kırıklıklarından biridir: ilaç hedeflerini nasıl buluruz ve onları nasıl doğrularız? Ve daha da önemlisi, her türlü değişkenliğe sahip olan bir bireyin genomu bağlamında ilaçların nasıl etkileşime gireceğini nasıl anlayacağız? Bir gen alelinin hepsinde değil ama bir ailedeki bazı bireylerde hastalığa neden olacağı gibi ilginç vaka çalışmalarından bahsettik. Yani bu etkilenmemiş bireylerde baskılayıcı genler var, ama onları nasıl buluyorsunuz? Ve bizim fikrimiz, bu tür genetik araştırmaları yaparken CRISPR'yi kullanmak için bir iletişim hattı kurmanın, ilaç hedeflerinin çok daha hızlı tanımlanması ve doğrulanması için heyecan verici olacaktıydı.

Bunu nasıl ayarladınız?

Bu ortaklığın şartlarını müzakere etmek biraz zaman aldı, çünkü inovasyonu teşvik edecek şekilde kurulduğundan emin olmak

için çok istekliydik. Üç farklı türde proje yürüteceğimiz bir model elde ettik. İlki, GSK'nın öncelikli ilgi alanına giren, şirket tarafından başlatılan projelerdir. İkincisi, UCSF ve UC Berkeley'deki laboratuvarların projeler üzerinde GSK bilim insanlarıyla birlikte çalıştığı bir tür standart GSK-akademik ortaklıklarıdır. Üçüncüsü, diğer akademi-endüstri ortaklıklarında gördüğünüzden farklı olduğunu düşündüğüm, kesinlikle buradaki akademik gruplardan kaynaklanan projelerdir. Bu ekipler için finansman sağlıyoruz ve GSK işi ve sonuçları görürken, fikri mülkiyetle sonuçlanan lisans için otomatik haklara sahip değiller.

Devam etmekte olan projelerden örnekler verebilir misiniz?

Şirket tarafından başlatılan projelerle amaç, GSK'da halihazırda devam etmekte olan ilaç keşif çalışmalarını hızlandırmaktır. Ya bu ilaçlar için hedeflerin ne olduğunu bulmaları ya da farklı genom türleriyle nasıl etkileşime girdiklerini daha iyi anlamaları gereken bir dizi küçük moleküle sahiptirler. Bu tür şeyleri anlamak için CRISPR'yi kullanabiliriz.

İkinci tür için, GSK'nın yürüttüğü programlar ile UC Berkeley ve UCSF'deki akademik laboratuvarlarda devam eden projeler arasında birçok ilginç sinerji var. Ve bu nedenle, uygun ilaç hedeflerini belirleyebilmemiz için öncelikle hastalıkların genetiğini anlamaya odaklanan kanserle ilgili ve nörodejenerasyonla ilgili projeler belirledik.

Araştırmacı tarafından başlatılan projeler için, dahil olmaya gerçekten teşvik etmek istediğimiz birkaç yıldız, daha genç öğretim üyemiz vardı. Martin Kampmann, nörodejeneratif hastalıklar üzerine bir proje yürütüyor. Dirk Hockemeyer ise karsinogenez üzerinde çalışıyor.

Önümüzdeki 12-18 ay içinde bazı önemli sonuçlar almaya odaklandık.

Bu tutku, yaklaşık 15 yıl önce, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) için ilk umutları anımsatıyor.

Bence bu çok makul bir karşılaştırma ve bence gerçekten ilgili teknolojilerin farklı nesillerinden bahsediyoruz.

GWAS'lerin ilk günlerinde, yaklaşım esas olarak filogenetik karşılaştırmalar ve klasik genetik deneylerdi. Ancak insanlar, ortaya çıkan bulguları test etmek için laboratuvarında insan hastalığı için hayvan modellerine veya diğer şeylere güvenmek zorunda kaldı. Ve bence CRISPR'ın yaptığı şey, şimdi aynı soruların bazılarını insan primer hücrelerini sorgulamamıza izin veren bir araçla sorabilmemiz oldu. Ve bu hücre türleri, insan hastalığını anlamakla daha doğrudan ilgilidir. Dahası, CRISPR'ı insan hastalığını daha iyi temsil eden hayvan modelleri yapmak için kullanabiliriz. Bunların hepsi oldukça mümkün.



Sanırım şimdi, bu CRISPR tabanlı yaklaşımların genetik keşfin adımlarını gerçekten hızlandığını göreceğimiz bir noktadayız. Ve sadece birçok orijinal GWAS çalışmasının birincil hedeflerinden biri olan bireysel genlerin işlevleri açısından değil, aynı zamanda genetik etkileşimlerin karmaşık doğasını anlamak açısından da önemli. Bu, bizi Hal ile yaptığım, bireysel genetik varyantların nasıl etkileyebileceğini, bir ilacın bireysel bir hastada nasıl etki edebileceğini veya belirli bir genetik varyantın bir kişide hastalığa neden olup başka bir kişide nasıl hastalığa neden olmadığı hakkında yaptığımız konuşmaya geri getiriyor.



O zamandan beri GWAS analizlerinin bazı sınırlamalarını öğrendik. CRISPR – Cas deneylerinin faydasını sınırlayan olası etmenler nelerdir?

Bu enzimleri gerçekten anlamak - mekanizmalarını, farklı hücre tiplerinde nasıl çalıştıklarını, farklı hücre türlerinde düzenleme sonuçlarının neler olduğu - derinlemesine bilgiye ihtiyaç duyduğunuz her şeydir.

İster bütün bir genom, ister genlerin bir alt kümesi olsun, geniş bir gen koleksiyonunu etkili bir şekilde hedeflemek söz konusu olduğunda, etki oldukça tekdüze olacak şekilde, bu birinin düşündüğünden daha zor olduğunu ortaya çıkıyor.

Öte yandan, bu tür çalışmalardan çıkan verileri nasıl yorumlayacağımızı düşünmemiz gerekiyor. Bu veri setlerini nasıl sorgulayacağız? Genetik yıkımların veya farklı genetik yolların kesişimlerinin küçük ama potansiyel olarak çok önemli etkilerini nasıl ararız? Bunların uygulanması yine önemsiz değil.

GWAS analizleri, hastalıkla ilişkili varyasyonların %90'a kadarının kodlanmayan bölgelerde düştüğünü göstermektedir. CRISPR – Cas bu kodlanmayan unsurları hedefleyebilir mi?

Bence bu tür kodlanmayan hedeflerin peşinden gitmek oldukça iyi bir konumda. Ancak, genomun hangi parçalarının hedeflenmesinin önemli olduğu konusunda önceden var olan bilgilerinize bağlıdır. Ve elbette, bir önceki soruya geri dönersek, genomun bu bölgeleri için size istenen sonuçları verecek en etkili kılavuz RNA'ları nasıl tasarlıyorsunuz? Ancak bu alanda yapılan ilk akademik çalışmalardan bazılarına göre, bu kodlanmayan bölgeleri RNA müdahalesi gibi daha önceki teknolojileri kullanarak mümkün olandan daha etkili bir şekilde hedeflemek imkanı oldu. Ve bu da bizi çok sayıda geçit olduğunu düşündürüyor.

Genetik düzenleme aracı olarak başlayan CRISPR'ı alıp transkripsiyonu manipüle edilebilen bir teknolojiye dönüştüren LGR'nin kurucularından Jonathan Weissman gibi insanlara, meslektaşlarına ve ortaklarına vermelisiniz. Sadece CRISPRi ile ekspresyonu baskılayarak değil, CRISPRa ile de ekspresyonu artırarak, tek tek genlerin veya hatta gen dizilerinin hücrelerde ekspresyonunu ayarlayabilirsiniz. Bu olağanüstü, çünkü bilim insanlarına gen ekspresyonunu hedefli bir şekilde kontrol etmenin ve bunu bir seferde sadece bir genle değil, isterlerse tüm gen dizileriyle yapmanın bir yolunu veriyor.

Son zamanlarda olan bir diğer şey de, The Broad'dan Jonathan, Aviv Regev ve meslektaşları Perturb-seq'i geliştirdiler; burada belirli bir gene veya hatta birden fazla gene müdahale etmek veya bozmak ve ardından bunun hücrelerde tüm gen-ekspresyon modelinde ne gibi bir etkisi olduğunu sormak mümkün. Bu gerçekten de tüm genetik keşif fikrini bir sonraki seviyeye taşıyor. Ve yine, bu sadece model hücrelerde veya organizmalarda değil, aslında hastadan türetilmiş hücrelerde yapılabilir. Yani, LGR ile gitmek istediğimiz

yer burası: akademik laboratuvarlarda geliştirilen bu teknolojiyi alıp, genleri çok daha büyük ölçekte sorgulamak için sağlam bir iletişim hattına dönüştürmek.

Tüm bu analizlerle topladığınız veri yoğunluğu şaşırtıcı olmalı. Bu ne kadar büyük bir zorluk?

Kesinlikle doğru. Bence bu tür araştırmalardan elde ettiğimiz veri miktarıyla başa çıkmak zorlu. Sadece deneysel çalışmayı kendisi yapmakla kalmıyor, aynı zamanda diğer taraftan gelen verileri alıyor ve onları nasıl sorgulayacağını buluyorsunuz. Ve herhangi bir deneyden, yalnızca sormayı düşündüğümüz soru için değil, muhtemelen birçok başka soru için de geçerli olan çok derin ve zengin bir bilgi kümesi elde edebiliriz.

Hâlâ tüm bunları ayarlama sürecindeyiz. Ancak dünyanın en iyi veri bilimcilerinden bazılarına erişimimiz olduğu için oldukça heyecanlıyız. Şu anda bir şekerci dükkanındaki çocuklar gibi hissediyoruz.

CRISPR – Cas düzenleyicileri, kullanımı çok kolay olduğu için kısmen benimsenmiştir. Ancak bu düzenleyicilerin geniş ölçekte uygulanması, erişilebilir olmaktan başka bir şey gibi görünmüyor.



Bu muhtemelen birçok özgür, ulaşılabilir teknoloji için doğrudur. En temel düzeyde, [CRISPR] kesinlikle bir özgürleştirme aracıdır, çünkü esasen herhangi bir yüksek lisans öğrencisinin ilgilenilen hücrelerde değişiklik yapmak için kullanabileceği kadar basittir. İşte bu nedenle, CRISPR ve ilgili teknolojilerle son birkaç yılda devam eden temel araştırma hızında bir tür olağanüstü ilerlemeler görüyoruz. Ancak bu, bu teknolojinin çok daha geniş bir şekilde hızlı bir şekilde uygulanmasını

sağlayan sanayileşmiş bir iletişim hattına sahip olmaktan çok farklıdır. Bu tamamen farklı bir şeydir.

İkisine de ihtiyacımız olduğunu iddia ediyorum. LGR'deki hedeflerimizden biri, başka bir yerde kullanılacak bir iletişim hattı oluşturmaktır. Bence, örneğin sağlam rehber RNA kütüphaneleri ve CRISPR enzimleri için hedef bölgelerin nasıl seçileceğine dair kurallar bulabiliriz. Bu, birçok yerde bir dereceye

kadar zaten yapıldı, ancak gerçekten merkezileştirilmedi ve standartlaştırılmadı ve biz de bunu yapmak istiyoruz.

"Pekala, bunu her şirket yapmıyor mu?" diye de sorabilirsiniz. Ve cevap, aslında hayır. Muhtemelen isterler ama şeytan ayrıntıda gizlidir. Daha önce hiç kimse bu bilgilerin tamamını gerçekten bir araya getirmemişti.

LGR'yi daha fazla endüstri ortağı içerecek şekilde genişletmeyi düşünür müsünüz?

Şahsen bunu çok isterim. Ama bu, ondan çıkan bilime bağlı. Bir yıl sonra bunu bana tekrar sorarsanız çok daha iyi anlayacağınızı düşünüyorum.

CRISPR – Cas ilaçlarına veya sadece yeni hedeflere yol açan LGR projelerini öngörüyor musunuz?

Her şey olabilir. CRISPR-Cas düzenleyicilerinin uzun vadeli tarihçesi yazıldığında, bunlar biyolojiyi sorgulamak için araçlar olarak mı yoksa terapötik bir yaklaşım olarak mı daha yararlı olacak?

Bence gerçekten berabere gidiyorlar. İkisine de ihtiyacımız var. Ancak, açıkçası, CRISPR'yi pek çok insan için bu kadar heyecan verici kılan şey, onun sadece bir keşif aracı olmamasıdır. Bunun yanı sıra potansiyel bir tamir mekanizmasıdır.

CRISPR'nin bir yaklaşım olarak geniş çapta kullanılabilir hale gelmesini nasıl sağladığımızı, sadece az sayıdaki ve çok zenginler için olmadığını şimdiden düşünmemiz gerektiğine inanıyorum. Tıpkı laboratuvarında özgürleştirici bir araç olduğu gibi, klinik uygulamada da ulaşılabilir bir şey olduğunu görmek isteriz. Şimdi, bunu söylemek kolay ve uygulaması çok daha zor. Ama bunu nasıl yapacağımı gerçekten çok düşünmek motivasyonumdan biri.

