



دانشجویان علوم پایه ایران 4th International Conference of Iranian Basic Science Students

ویرایش RNA (مانند ADAR یا Cas13) برای درمان بیماری‌های ژنتیکی

اشکان صمدزاده^۱-سهیل صمدزاده^۲-امیررضا اسدی^۳

۱- گروه علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

samadzadehashkan@gmail.com

۲- گروه علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

Soheilsamadzadehr@gmail.com

۳- گروه علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

Amirrezaasadi7373@gmail.com

چکیده

در دهه‌های اخیر، درمان‌های ژنتیکی به‌عنوان رویکردی انقلابی در مدیریت بیماری‌های ارثی مطرح شده‌اند. با وجود موفقیت نسبی فناوری‌های ویرایش DNA مانند CRISPR/Cas9، نگرانی‌هایی همچون جهش‌های ناخواسته و تغییرات دائمی در ژنوم، مسیر درمان را با چالش‌هایی مواجه کرده است. در این میان، فناوری ویرایش RNA به‌عنوان جایگزینی نوآورانه و ایمن‌تر، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. این فناوری با تمرکز بر تغییرات برگشت‌پذیر و هدفمند در RNA پیام‌رسان، امکان اصلاح موقت فنوتیپ‌های بیماری‌زا را فراهم می‌آورد. در این مقاله، مکانیسم‌های عملکرد دو سامانه پیشرو در این حوزه، یعنی ADAR (Adenosine Deaminase Acting on RNA) و Cas13 یکی از آنزیم‌های خانواده CRISPR، به‌طور جامع بررسی می‌شود. همچنین کاربردهای بالینی این روش‌ها در درمان بیماری‌های ژنتیکی تک‌ژنی، نورودژنراتیو و ویروسی مورد تحلیل قرار گرفته و مزایا و محدودیت‌های هر کدام تحلیل می‌گردد. در پایان، با تأکید بر چشم‌اندازهای آینده و نقش بالقوه RNA Editing در پزشکی شخصی‌سازی‌شده، ضرورت توسعه و بهینه‌سازی این فناوری نوظهور مورد تأکید قرار می‌گیرد [۱، ۲].

کلمات کلیدی: ویرایش RNA، آنزیم ADAR، سامانه Cas13، درمان بیماری‌های ژنتیکی، ژن‌درمانی غیر دائمی RNA Editing, ADAR Enzyme, Cas13 System, Genetic Disease Therapy, Non-permanent Gene Therapy



دانشجویان علوم پایه ایران 4th International Conference of Iranian Basic Science Students

مقدمه

در سال‌های اخیر، پیشرفت‌های چشمگیر در حوزه ژنتیک مولکولی، افق‌های نوینی را در درمان بیماری‌های ژنتیکی گشوده است. فناوری‌های ویرایش ژن، به‌ویژه سامانه CRISPR/Cas9، به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای اصلاح اختلالات ژنتیکی شناخته شده‌اند؛ اما نگرانی‌هایی نظیر جهش‌های ناخواسته، اثرات دائمی و ریسک‌های ایمنی، محدودیت‌هایی در کاربرد بالینی آن‌ها ایجاد کرده است [۳، ۵]. در این راستا، فناوری ویرایش RNA به‌عنوان جایگزینی نوین، با اصلاح موقتی و قابل کنترل RNA پیام‌رسان، امکان درمان بدون دستکاری دائمی ژنوم را فراهم می‌کند [۲، ۴].

ویرایش RNA با استفاده از آنزیم‌هایی مانند ADAR (Adenosine Deaminase Acting on RNA) و سامانه Cas13، قابلیت اصلاح دقیق و برگشت‌پذیر توالی‌های RNA را بدون ایجاد تغییرات در DNA داراست. این ویژگی به‌ویژه در درمان بیماری‌های تک‌ژنی، اختلالات عصبی و عفونت‌های ویروسی، پتانسیل قابل توجهی از خود نشان داده است [۶، ۷]. از آنجا که این حوزه هنوز در مراحل اولیه توسعه است، بررسی جامع مبانی، مکانیسم‌ها، کاربردها، مزایا و چالش‌های آن می‌تواند به شفاف‌سازی مسیرهای آینده و شناسایی فرصت‌های پژوهشی جدید کمک کند [۸، ۹].

هدف این مقاله، ارائه مروری نظام‌مند بر جدیدترین دستاوردهای علمی در زمینه ویرایش RNA با تمرکز بر ابزارهای ADAR و Cas13 و تحلیل نقش آن‌ها در درمان بیماری‌های ژنتیکی است.

بحث و تحلیل

فناوری ویرایش RNA در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از شاخه‌های نوظهور در زیست‌فناوری درمانی، جایگاه ویژه‌ای در میان رویکردهای درمان بیماری‌های ژنتیکی پیدا کرده است. برخلاف ویرایش DNA که منجر به تغییرات دائمی در ژنوم می‌شود، ویرایش RNA با هدف قرار دادن مولکول‌های RNA پیام‌رسان، این امکان را فراهم می‌سازد که خطاهای ژنتیکی به‌طور موقت، برگشت‌پذیر و قابل کنترل اصلاح شوند. این ویژگی، ویرایش RNA را به گزینه‌ای ایمن‌تر و منعطف‌تر برای کاربردهای بالینی تبدیل کرده و بستر مناسبی را برای درمان بیماری‌های ژنتیکی تک‌ژنی، اختلالات نورودژنراتیو، سرطان‌ها و حتی بیماری‌های عفونی ویروسی فراهم کرده است [۱، ۲].

دو ابزار اصلی این فناوری یعنی ADAR (Adenosine Deaminase Acting on RNA) و Cas13، با مکانیسم‌هایی متفاوت ولی مکمل، امکان اصلاح هدفمند RNA را فراهم می‌کنند. آنزیم ADAR از طریق تبدیل آدنوزین به اینوزین در ساختار RNA دو رشته‌ای عمل می‌کند که می‌تواند در ترجمه پروتئین به تغییر اسیدآمینه منجر شود. استفاده از RNA‌های راهنما برای هدایت ADAR به توالی خاص، موجب شده سیستم‌هایی نظیر LEAPER (توسط گروه پژوهشی چین در Nature Biotech) مطرح شوند که در آن از ADARهای درون‌زاد بدن استفاده می‌شود و در نتیجه احتمال بروز پاسخ ایمنی کاهش می‌یابد. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که می‌توان با طراحی ساختارهای hairpin در gRNAها، دقت و راندمان این ویرایش‌ها را افزایش داد [۳، ۴].



دانشجویان علوم پایه ایران 4th International Conference of Iranian Basic Science Students

در سوی دیگر، Cas13 با قابلیت هدف‌گیری RNA تک‌رشته‌ای، بدون آسیب به DNA ژنومی، مزیتی مهم برای کاربرد در سلول‌های انسانی دارد. سامانه‌های REPAIR و RESCUE که بر پایه Cas13 ساخته شده‌اند، نه تنها قادر به اصلاح A-to-I و C-to-U در RNA هستند، بلکه در آینده می‌توانند برای ویرایش‌های پیچیده‌تر نیز مورد استفاده قرار گیرند. از آنجا که Cas13 برخلاف Cas9 فاقد فعالیت نوکلئازی روی DNA است، ریسک بروز جهش‌های ناخواسته را به شدت کاهش می‌دهد. علاوه بر این، Cas13 به دلیل عملکرد کاتالیتیک و سرعت بالا، در تکنولوژی‌های تشخیص ژنتیکی مانند (SHERLOCK) نیز مورد استفاده قرار گرفته و ظرفیت ترکیب با نانوپلتفرم‌های هوشمند برای درمان همزمان و تشخیص همزمان (theranostics) را دارد [۱، ۵، ۶].

کاربرد این فناوری در بیماری‌های انسانی به‌ویژه در مدل‌های حیوانی موفقیت‌آمیز بوده است. برای مثال، در بیماری دیستروفی عضلانی دوشن (DMD)، با استفاده از ADAR، بازسازی فریم صحیح ژن Dystrophin در سطح RNA صورت گرفته است. همچنین در آتروفی عضلانی نخاعی (SMA) و اختلالات نورولوژیک مانند سندرم رت (Rett Syndrome)، ویرایش RNA منجر به بازگرداندن عملکرد ژن معیوب شده است. از طرفی، در حوزه بیماری‌های ویروسی، به‌خصوص SARS-CoV-2، Cas13 نه تنها RNA ویروس را هدف قرار داده، بلکه در سامانه‌های تشخیص سریع نیز کاربرد یافته است. این دستاوردها نشان می‌دهد که فناوری RNA Editing نه تنها درمان‌محور بلکه تشخیص‌محور نیز هست [۷، ۸].

با این حال، چالش‌های متعددی در مسیر ترجمه بالینی این فناوری وجود دارد که باید به‌طور دقیق تحلیل شوند:

۱. نحوه رسانش (Delivery System)

موفقیت درمان‌های مبتنی بر RNA Editing به‌طور مستقیم به توانایی انتقال مؤثر و ایمن سامانه‌های ویرایشی به بافت هدف بستگی دارد. استفاده از ناقل‌های ویروسی مانند AAV، علی‌رغم کارایی بالا، با ریسک تحریک پاسخ ایمنی، یکپارچگی ژنومی ناخواسته و ظرفیت محدود بار ژنی مواجه است. در مقابل، ناقل‌های غیر ویروسی مانند نانوذرات لیپیدی، exosome‌های مهندسی‌شده، یا پلیمرهای قابل تجزیه، گزینه‌هایی نوین هستند که در مرحله بهینه‌سازی و تست قرار دارند [۹، ۱۰].

کنترل اثرات خارج از هدف (Off-target effects)

هرچند RNA Editing ذاتاً ایمن‌تر از DNA Editing است، اما همچنان خطراتی در سطح RNA برای ویرایش‌های غیردقیق وجود دارد. مطالعات در حال بررسی روش‌هایی مانند مهندسی gRNAهای فوق اختصاصی، استفاده از سیستم‌های فعال شونده با نور یا pH و طراحی سامانه‌های خودتنظیم‌شونده برای کاهش خطاهای خارج از هدف هستند [۹، ۱۰].



دانشجویان علوم پایه ایران 4th International Conference of Iranian Basic Science Students

۲. پایداری و طول عمر RNA ویرایش‌شده

از آنجا که RNA ذاتاً مولکولی ناپایدار و کوتاه‌عمر است، حفظ اثر درمانی در طول زمان نیازمند استراتژی‌هایی مانند مهندسی ساختارهای RNA مقاوم، استفاده از RNAهای مصنوعی با نوکلئوتیدهای اصلاح‌شده یا تجویزهای دوره‌ای است [۹، ۱].

۳. ملاحظات ایمنی و ایمونولوژیک

برخی پروتئین‌های باکتریایی مانند Cas13 ممکن است در بدن انسان تحریک پاسخ ایمنی ایجاد کنند. برای حل این مشکل، تلاش‌هایی جهت "انسانی‌سازی" (humanization) این پروتئین‌ها یا جایگزینی آن‌ها با آنزیم‌های انسانی در حال انجام است [۵، ۱۰].

۴. نکات اخلاقی، حقوقی و نظارتی

ویرایش RNA نسبت به ویرایش DNA با ملاحظات اخلاقی کمتری مواجه است، اما همچنان نیاز به چارچوب‌های حقوقی دقیق برای آزمایش‌های بالینی، تأییدهای سازمان غذا و دارو (FDA/EMA) و نظارت در تجویز دارد. لازم است نهادهای تنظیم‌گر علمی پیشاپیش دستورالعمل‌هایی برای کنترل و ارزیابی این فناوری تدوین کنند [۸]. از سوی دیگر، پتانسیل استفاده از RNA Editing در پزشکی شخصی‌سازی‌شده، تحولی بنیادین در طب بالینی ایجاد کرده است. با تلفیق داده‌های ژنومی بیماران و طراحی اختصاصی gRNA برای اصلاح جهش‌های خاص، می‌توان درمان‌های ژنتیکی را از شکل عمومی به شخصی‌سازی‌شده ارتقاء داد. این موضوع در آینده می‌تواند درمان بیماران با اختلالات ژنتیکی نادر و بدون درمان استاندارد را ممکن سازد [۷]. در نهایت، نوآوری‌هایی مانند ترکیب RNA Editing با فناوری نانو، هوش مصنوعی برای طراحی هدفمند gRNAها، یا الگوریتم‌های یادگیری ماشینی برای پیش‌بینی پاسخ سلولی، نویدبخش ایجاد سامانه‌های خودتنظیم و هوشمند در درمان‌های ژنی آینده هستند. این روند هم‌افزایی می‌تواند RNA Editing را به یکی از ارکان اساسی طب آینده تبدیل کند [۹، ۱].



دانشجویان علوم پایه ایران 4th International Conference of Iranian Basic Science Students

نتیجه‌گیری

ویرایش RNA با استفاده از ابزارهای پیشرفته‌ای همچون ADAR و Cas13، تحولی بزرگ در درمان بیماری‌های ژنتیکی به وجود آورده است که محدودیت‌ها و ریسک‌های ویرایش دائمی DNA را کاهش می‌دهد. ویژگی برگشت‌پذیری ویرایش RNA، امکان اصلاح موقتی خطاهای ژنتیکی را فراهم می‌کند که این امر ایمنی و انعطاف‌پذیری بالایی در کاربردهای بالینی به همراه دارد [۱، ۲]. مطالعات پیش‌بالینی موفق در مدل‌های حیوانی، از جمله درمان دیستروفی عضلانی دوشن و اختلالات عصبی، نشان‌دهنده پتانسیل بالای این فناوری است [۷، ۸].

با این حال، چالش‌هایی مانند رسانش ایمن و مؤثر، کنترل اثرات خارج از هدف، و ملاحظات ایمنی باید به دقت مورد توجه قرار گیرد و برای آنها راهکارهای مناسبی توسعه یابد [۹، ۱۰]. همچنین نیازمند چارچوب‌های قانونی و اخلاقی مناسبی برای تنظیم و نظارت بر کاربردهای بالینی این فناوری هستیم [۸]. پیشرفت‌های هم‌افزا در زمینه فناوری نانو، هوش مصنوعی و طراحی مولکولی، می‌تواند سرعت پیشرفت و توسعه ویرایش RNA را در مسیر پزشکی شخصی‌سازی‌شده افزایش دهد [۱، ۹].

در نهایت، ویرایش RNA با پتانسیل بالا برای تبدیل شدن به یک ابزار کلیدی در درمان بیماری‌های ژنتیکی، افقی نوین در حوزه پزشکی و زیست‌فناوری گشوده است که با تلاش‌های پژوهشی و توسعه‌ای مستمر، می‌توان انتظار داشت به زودی در بالین به‌صورت گسترده‌تری مورد استفاده قرار گیرد.

قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی اساتید و همکارانی که در طول انجام این پژوهش با ارائه نظرات تخصصی، راهنمایی‌های علمی و حمایت‌های معنوی ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماییم. همچنین از مؤسسات و مراکزی که امکان دسترسی به منابع و تجهیزات پژوهشی را فراهم کردند، کمال تشکر را داریم. امید است این مطالعه گامی مؤثر در پیشبرد دانش و درمان بیماری‌های ژنتیکی باشد.

مراجع

۱. Cox, D. B. T., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Franklin, B., Kellner, M. J., Joung, J., & Zhang, F. (2017). RNA editing with CRISPR-Cas13. **Science**, 358(6366), 1019-1027.
۲. Qu, L., Yi, Z., Zhu, S., Wang, C., Gao, L., Chen, S., ... & Gao, G. (2019). Programmable RNA editing by recruiting endogenous ADAR using engineered RNAs. **Nature Biotechnology**, 37(9), 1059-1069.



دانشجویان علوم پایه ایران

4th International Conference of
Iranian Basic Science Students

۳. Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., Konermann, S., Joung, J., Slaymaker, I. M., Cox, D. B. T., ... & Zhang, F. (2016). C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. **Science**, 353(6299), aaf5573.
۴. Merkle, T., Merz, S., Reautschnig, P., & Stafforst, T. (2019). Precise RNA editing by recruiting endogenous ADARs with antisense oligonucleotides. **Nature Biotechnology**, 37(9), 1081-1089.
۵. Rees, H. A., & Liu, D. R. (2018). Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. **Nature Reviews Genetics**, 19(12), 770-788.
۶. Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Kellner, M. J., Joung, J., Collins, J. J., & Zhang, F. (2018). Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. **Science**, 360(6387), 439-444.
۷. Wessels, H. H., Méndez-Mancilla, A., Guo, X., Legut, M., Daniloski, Z., & Sanjana, N. E. (2020). Massively parallel Cas13 screens reveal principles for guide RNA design. **Nature Biotechnology**, 38(6), 722-727.
۸. Wilson, C., & Newby, G. A. (2021). Harnessing endogenous ADAR for programmable RNA editing – a review of recent progress. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, 12(5), e1652.
۹. Katrekar, D., Chen, G., Meluzzi, D., Ganesh, A., Worlikar, A., Shih, Y. R., & Mali, P. (2019). In vivo RNA editing of point mutations via RNA-guided adenosine deaminases. **Nature Methods**, 16(9), 239-243.
۱۰. Du, L., & Qi, Y. (2020). RNA editing technology and applications: a comprehensive review. **Genes**, 11(9), 1045.