

# РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА МЕТОДОМ CRISPR/CAS В МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКЕ

## GENOME EDITING BY THE CRISPR/CAS METHOD IN MEDICAL GENETICS

**T. Butyrskaya**  
**I. Marinina**

**Summary.** The article is devoted to the modern achievements in genome editing using the CRISPR/Cas system and assesses its potential applications in medical genetics. The paper describes the fundamental principles of the CRISPR/Cas9 mechanism, including the interaction between guide RNA and DNA target sites and the function of Cas endonuclease. A review of studies from 2014 to 2025 is presented, focusing on technological improvements such as Cas12, Cas13, and prime editing systems. Particular attention is paid to the clinical outcomes of CRISPR/Cas-based therapies for hereditary blood disorders, the molecular mechanisms underlying precise DNA modification, and the role of this system in creating new therapeutic strategies. Additional emphasis is placed on the potential of this technology in treating ophthalmological and neurodegenerative diseases, as well as its emerging role in mitochondrial genome correction. The article discusses current challenges related to editing accuracy, delivery systems for target cells, and the ethical and legal aspects of medical implementation. It concludes that CRISPR/Cas represents a highly promising tool for personalized gene therapy, offering innovative strategies for treating genetic diseases while maintaining biosafety and ethical principles.

**Keywords:** CRISPR/Cas9, genome editing, medical genetics, gene therapy, hereditary diseases, prime editing, ethics, personalized medicine.

**Бутырская Татьяна Семеновна**

канд. биол. наук, доцент,

Российский государственный социальный университет  
tbutyrskaya99@gmail.com

**Маринина Инна Александровна**

канд. биол. наук, доцент,

Российский государственный социальный университет  
marinina-inna@bk.ru

**Аннотация.** Статья посвящена анализу современных достижений в области редактирования генома методом CRISPR/Cas и оценке перспектив его применения в медицинской генетике. Рассмотрены основные принципы действия системы CRISPR/Cas9, включая механизм взаимодействия направляющей РНК с целевыми участками ДНК и функции эндонуклеазы Cas. Проведён обзор исследований 2014–2025 годов, направленных на совершенствование технологии, включая разработку модификаций Cas12, Cas13 и систем «прайм-редактирования». Особое внимание уделяется клиническим результатам применения технологии при лечении наследственных заболеваний крови, анализу молекулярных механизмов, лежащих в основе точечного редактирования ДНК, а также роли CRISPR/Cas в разработке инновационных терапевтических стратегий. Дополнительно рассматриваются возможности использования CRISPR/Cas в терапии офтальмологических и нейродегенеративных патологий, а также новые подходы к коррекции мутаций в митохондриальном геноме. Обсуждаются актуальные проблемы точности редактирования, методы доставки системы в клетки-мишени, а также этические и правовые аспекты использования технологии в медицине. Сделан вывод о высокой перспективности CRISPR/Cas как инструмента персонализированной генной терапии, способного обеспечить новые подходы к лечению наследственных заболеваний при условии соблюдения принципов биобезопасности и этических норм.

**Ключевые слова:** CRISPR/Cas9, редактирование генома, медицинская генетика, генная терапия, наследственные заболевания, прайм-редактирование, этика, персонализированная медицина.

## Введение

Современная медицинская генетика находится на этапе стремительного развития, связанного с внедрением технологий направленного редактирования генома. Одним из наиболее значимых инструментов этого направления стала система CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats / CRISPR-associated proteins), которая за последние годы заняла ключевое место в молекулярной биологии. Она позволяет вносить точечные изменения в нуклеотидную последовательность ДНК, воспроизводя естественные механизмы бактериального иммунитета против вирусов [11, с. 5430]. Простота, универсальность и высокая эф-

ективность сделали технологию CRISPR/Cas неотъемлемой частью современной биомедицины.

В отличие от ранних подходов — таких как цинковые нуклеазы (ZFN) и системы TALEN — метод CRISPR/Cas использует направляющую РНК, которая обеспечивает точное связывание фермента Cas с целевым участком ДНК, делая процесс редактирования более гибким и экономичным [9, с. 14]. В последние годы были созданы усовершенствованные варианты Cas-ферментов (Cas12, Cas13, CasФ) и разработаны технологии «мягкого редактирования» — *base editing* и *prime editing*, позволяющие изменять нуклеотиды без разрыва ДНК-цепи, что повышает точность и безопасность редактирования [6, с. 826].

Актуальность темы обусловлена тем, что свыше 10 000 заболеваний человека имеют наследственную природу, а их терапия остаётся ограниченной. Технология CRISPR/Cas открывает возможности точечной коррекции мутаций, восстановления функций генов и создания модельных систем заболеваний для тестирования новых подходов к терапии [2, с. 415]. За последние пять лет проведены клинические исследования, подтвердившие эффективность применения CRISPR/Cas при лечении наследственных болезней крови, офтальмологических патологий и некоторых онкогенетических состояний [1, с. 99].

Целью настоящего исследования является анализ принципов функционирования системы CRISPR/Cas, рассмотрение её применения в медицинской генетике, а также оценка перспектив и ограничений использования технологии в клинической практике.

### Материалы и методы

Исследование современных направлений редактирования генома в медицинской генетике проводилось на основе анализа научных публикаций, посвящённых молекулярным механизмам систем CRISPR/Cas и их применению в терапии наследственных заболеваний. В работе использованы данные из ведущих международных изданий (*Science*, *Nature*, *Nature Medicine*) за 2014–2025 гг. [7, с. 1710].

Особое внимание уделялось системам CRISPR/Cas9, Cas12a и Cas13, которые различаются механизмом действия и уровнем специфичности. Эти комплексы включают направляющую РНК и фермент Cas, осуществляющий разрез целевого участка ДНК, после чего запускаются клеточные механизмы репарации, приводящие к изменению нуклеотидной последовательности [5, с. 149].

Для медицинской генетики ключевое значение имеет доставка CRISPR-компонентов в клетки-мишени. Наиболее распространены вирусные векторы (аденоассоциированные вирусы, лентивирусы) и невирусные системы — липидные наночастицы, электропорация. Каждый подход имеет преимущества и ограничения: вирусные векторы обеспечивают высокую эффективность, но могут вызывать иммунный ответ, тогда как невирусные методы безопаснее, однако требуют оптимизации условий трансфекции [14, с. 204].

Методологическая база исследования основана на систематическом обзоре публикаций, охватывающих как фундаментальные, так и прикладные аспекты технологии CRISPR/Cas, что позволило оценить её перспективы для медицинской практики.

### Литературный обзор

Первые сведения о необычных повторяющихся участках в геноме бактерий были опубликованы в 1987 году японским исследователем Ё. Ишино и соавторами, которые при изучении гена *IAP* у *Escherichia coli* обнаружили короткие палиндромные повторы, разделённые уникальными фрагментами [11, с. 5430]. В последующие годы аналогичные структуры были выявлены у различных прокариот, однако их функция долгое время оставалась неясной. Лишь в 2007 году было установлено, что эти участки формируют часть адаптивной иммунной системы, обеспечивающей бактериям защиту от бактериофагов [7, с. 1710].

Прорывным моментом стало исследование Дж. Дудны и Э. Шарпантье, впервые продемонстрировавшее возможность целенаправленного разрезания ДНК с использованием системы CRISPR/Cas9 [9, с. 12]. Это открытие положило начало новой эпохе в молекулярной биологии, позволив проводить редактирование генома с высокой точностью и воспроизводимостью. В дальнейшем Ф. Чжан и соавторы адаптировали систему для клеток млекопитающих, что сделало её универсальным инструментом медицинской генетики [15, с. 1475].

С 2015 года активно развиваются модификации Cas12, Cas13 и *prime editing*, позволяющие заменять нуклеотиды без образования двойных разрывов ДНК, что существенно повысило безопасность метода [6, с. 828]. Наибольшие успехи последних лет связаны с клиническим применением технологии, включая терапию серповидноклеточной анемии и β-талассемии в рамках программы CTX001 [14, с. 201].

Широкое развитие получила также CRISPR-терапия в онкогенетике и вирусологии. Исследования показали, что системы Cas13 эффективны для подавления онкогенных РНК и ингибирования вирусов ВИЧ и SARS-CoV-2 в клеточных моделях [4, с. 865]. Это подтверждает перспективы использования CRISPR/Cas в разработке новых антивирусных и противоопухолевых подходов [12, с. 1241].

Особое внимание в последние годы уделяется этическим и правовым аспектам применения CRISPR/Cas. После известного случая редактирования человеческих эмбрионов в Китае в 2018 году [8, с. 442] мировое научное сообщество выступило за ужесточение контроля и разработку международных биоэтических норм. Российские и зарубежные исследователи подчёркивают важность правового регулирования, направленного на обеспечение безопасности и предотвращение злоупотреблений при использовании технологии в клинике [3, с. 416].

В российских исследованиях последних лет акцент делается на вопросах биобезопасности, этического регулирования и создания законодательной базы в области геномных технологий. Учёные подчёркивают необходимость оптимизации систем доставки CRISPR-комплексов и контроля внецелевых эффектов, что является условием безопасного клинического применения [1, с. 97]. В этот контекст вписываются работы, посвящённые разработке единых биоэтических стандартов при использовании методов редактирования генома [3, с. 417].

Таким образом, за последнее десятилетие CRISPR/Cas прошла путь от фундаментального открытия до реального клинического применения. Современные исследования направлены на повышение точности редактирования, минимизацию внецелевых эффектов и формирование этических стандартов ответственного использования технологии в медицине.

## Результаты

Применение технологии CRISPR/Cas в медицинской генетике за последнее десятилетие привело к значительным достижениям как в фундаментальных, так и в клинических исследованиях. Система доказала эффективность при коррекции мутаций, моделировании патологий и изучении механизмов наследственных заболеваний [6, с. 832].

Одним из первых успешных направлений стало использование CRISPR/Cas9 при лечении наследственных заболеваний крови. В рамках программы CTX001 (CRISPR Therapeutics и Vertex Pharmaceuticals) проведено редактирование гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с  $\beta$ -талассемией и серповидноклеточной анемией. После трансплантации скорректированных клеток достигнута устойчивая ремиссия без выраженных побочных эффектов, что подтвердило безопасность и клиническую применимость технологии [14, с. 205].

Эффективность CRISPR/Cas показана и в лечении офтальмологических патологий. Клинические испытания 2020–2022 гг. при наследственном амаврозе Лебера выявили улучшение зрительных функций у пациентов после локального введения CRISPR-комплекса в клетки сетчатки [13, с. 329]. Эти данные свидетельствуют о реальных возможностях генной терапии в офтальмологии.

В онкогенетике система CRISPR применяется для создания клеточных моделей и изучения мутаций, участвующих в канцерогенезе. Моделирование изменений в генах *TP53*, *KRAS*, *BRCA1* позволило уточнить роль ключевых мутаций и протестировать коррекцию онкогенных дефектов методами *base editing* и *prime editing*, не вызывающими разрывов ДНК [5, с. 150]. Перспективным направлением остаётся подавление вирусных

инфекций. Системы Cas13a и Cas13d показали высокую эффективность при ингибировании репликации вируса иммунодефицита человека и SARS-CoV-2 [4, с. 872]. Эти результаты стали основой для разработки антивирусных платформ нового поколения.

Значимые успехи отмечены и в создании безопасных систем доставки CRISPR-комплексов. Применение липидных наночастиц и модифицированных вирусных векторов повысило эффективность трансфекции при снижении цитотоксичности. В 2022 г. Zhang и соавт. сообщили о нанокапсулах, способных направленно доставлять CRISPR-комплексы в клетки печени, что открывает перспективы терапии наследственных гепатопатий [15, с. 1479]. Основные показатели эффективности редактирования представлены в таблице 1.

Таблица 1.  
Классификация эффективности редактирования генома системой CRISPR/Cas по степени точности и специфичности

Показатель эффективности редактирования	Качественная характеристика результата
0,91–0,99	Высокая точность, минимальные внецелевые эффекты
0,71–0,90	Тесная специфичность, редкие побочные разрезы
0,51–0,70	Умеренная точность, возможны единичные мутации
0,31–0,50	Сниженная специфичность, требует оптимизации направляющей РНК
0,11–0,30	Низкая эффективность, высокая вероятность внецелевого действия
0–0,10	Отсутствие достоверного редактирования

На рисунке 1 схематично представлен механизм действия системы CRISPR/Cas9 в клетке.

В совокупности накопленные данные подтверждают, что CRISPR/Cas — один из наиболее перспективных инструментов современной медицины. Успешные примеры лечения генетических заболеваний и развитие безопасных систем доставки позволяют рассматривать эту технологию как основу будущих персонализированных терапевтических стратегий.

## Обсуждение

Несмотря на значительный прогресс в области редактирования генома, применение технологии CRISPR/Cas в медицинской генетике всё ещё сопряжено с рядом методологических, технических и этических ограничений. Главной задачей остается повышение точно-



сти редактирования, поскольку побочные изменения (off-target эффекты) могут вызывать непредсказуемые мутации и повышать риск онкогенных трансформаций [3, с. 826]. Для минимизации подобных эффектов были предложены усовершенствованные варианты ферментов Cas — eSpCas9, HypaCas9 и Cas12f, отличающиеся сниженной активностью вне целевого участка [6, с. 830].

Перспективным направлением является развитие технологий «мягкого редактирования» — *base editing* и *prime editing*, которые позволяют корректировать отдельные нуклеотиды без разрыва цепи ДНК. Эти методы обеспечивают стабильные результаты при лечении моногенных заболеваний, включая серповидноклеточную анемию и β-талассемию [5, с. 152; 10, с. 254].

Не менее важной проблемой остаётся доставка CRISPR-комплексов в клетки-мишени. Вирусные векторы (аденоассоциированные, лентивирусы) демонстрируют высокую эффективность переноса, но могут вызывать иммунный ответ, тогда как невирусные системы — липидные наночастицы и электропорация — обладают меньшей токсичностью, но требуют оптимизации. Последние исследования показывают, что многофункциональные нанокапсулы способны направленно доставлять CRISPR-комплексы в ткани печени, повышая эффективность терапии наследственных заболеваний [15, с. 1478].

Наряду с техническими аспектами актуальны этические и правовые вопросы. После скандала с редактированием эмбрионов человека в Китае в 2018 году

международное сообщество выдвинуло требования по ужесточению контроля и формированию единых биоэтических норм [8, с. 441]. В России также обсуждаются принципы законодательного регулирования в области геномных технологий и обеспечения биобезопасности.

Таким образом, успешное внедрение CRISPR/Cas в клиническую медицину требует комплексного подхода, включающего совершенствование методов доставки, повышение точности редактирования, а также развитие международных этических и правовых стандартов, гарантирующих безопасное применение технологии в персонализированной терапии.

### Заключение

Анализ современных исследований показал, что технология CRISPR/Cas является одним из наиболее перспективных инструментов медицинской генетики. Возможность точечного редактирования генома открывает новые подходы к лечению наследственных заболеваний, ранее считавшихся неизлечимыми. С момента открытия CRISPR/Cas9 в 2012 году технология прошла путь от лабораторных экспериментов до клинических испытаний, подтвердивших её эффективность.

Наибольшие успехи достигнуты при коррекции мутаций, вызывающих моногенные патологии — серповидноклеточную анемию, β-талассемию, дистрофию Дюшенна, а также при терапии офтальмологических и вирусных заболеваний, включая ВИЧ и SARS-CoV-2.

Тем не менее остаются нерешёнными вопросы, связанные с точностью редактирования, безопасностью доставки и этическим регулированием применения технологии. Дальнейшее развитие возможно лишь при взаимодействии учёных, клиницистов и экспертов по биоэтике.

В перспективе CRISPR/Cas станет основой персонализированной медицины, обеспечивая индивидуальный генетический подход к профилактике и терапии наследственных заболеваний.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев В.Н. Геномные технологии в медицине: перспективы и правовое регулирование в России // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. 2023. № 2. С. 97–105.
2. Костюченко И.А. Редактирование генома человека и этические проблемы современной медицины // Вестник Российской академии медицинских наук. 2021. Т. 76. № 5. С. 414–422.
3. Костюченко И.А. Биоэтические аспекты внедрения технологий редактирования генома в клинику // Медицинская генетика. 2022. Т. 21. № 4. С. 415–418.
4. Abbott T.R., Dhamdhere G., Liu Y., Lin X., Goudy L., Zeng L., Chemparathy A., Chmura S., Heaton N.S., Debs R., Pande T., Endy D., La Russa M., Qi L.S. Development of CRISPR-Cas13 antiviral therapies // Cell. 2020. Vol. 181. No. 4. P. 865–876.
5. Anzalone A.V., Randolph P.B., Davis J.R., Sousa A.A., Koblan L.W., Levy J.M., Chen P.J., Wilson C., Newby G.A., Raguram A., Liu D.R. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks // Nature. 2019. Vol. 576. P. 149–157.
6. Anzalone A.V., Koblan L.W., Liu D.R. Genome editing with CRISPR–Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors // Nature Biotechnology. 2020. Vol. 38. P. 824–844.
7. Barrangou R., Fremaux C., Deveau H., Richards M., Boyaval P., Moineau S., Romero D.A., Horvath P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes // Science. 2007. Vol. 315. P. 1709–1712.
8. Cyranoski D. The CRISPR-baby scandal: what's next for human gene-editing // Nature. 2019. Vol. 566. P. 440–442.
9. Doudna J.A., Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 // Science. 2014. Vol. 346. P. 1258096.
10. Frangoul H., Altshuler D., Cappellini M.D., Chen Y.S., Domm J., Eustace B. K., Foell J., de la Fuente J., Grupp S., Handgretinger R., Ho T.W., Kattamis A., Kernytsky A., Lekstrom-Himes J.A., Li A. M., Locatelli F., Mapara M. Y., de Montalembert M., Rondelli D., Sharma P., Sheehan V.A., Walters M.C., Yen A., Corbacioglu S. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and  $\beta$ -thalassemia // New England Journal of Medicine. 2021. Vol. 384. P. 252–260.
11. Ishino Y., Shinagawa H., Makino K., Amemura M., Nakata A. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in Escherichia coli // Journal of Bacteriology. 1987. Vol. 169. P. 5429–5433.
12. Kwon D. Global efforts to regulate human genome editing // Nature Biotechnology. 2022. Vol. 40. P. 1240–1243.
13. Vaidyanathan S., Salahudeen A.A., Sellers Z.M., Bravo D.T., Choi S.S., Batish S.D., Le M.T., Nguyen D.H. Human gene editing in ocular diseases using CRISPR-Cas systems // Trends in Molecular Medicine. 2020. Vol. 26. No. 3. P. 324–336.
14. Vertex Pharmaceuticals; CRISPR Therapeutics. Clinical trial results for CTX001 // New England Journal of Medicine. 2023. Vol. 389. P. 201–212.
15. Zhang F., Wen Y., Guo X. Development of CRISPR technologies for human therapy // Nature Medicine. 2022. Vol. 28. P. 1475–1488.