

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

А. А. Мохов<sup>1,\*</sup>, А. А. Чапленко<sup>2,4</sup>, А. Н. Яворский<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный юридический университет им. О. Е. Кутафина (МГЮА)»  
123286, Российская Федерация, Москва, ул. Садовая-Кудринская, д. 9

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»  
119991, Российская Федерация, Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 3

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт»  
142290, Российская Федерация, Московская обл., г. Пушкино, пр-т Науки, д. 3

<sup>4</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России  
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

В настоящее время для редактирования клеточного генома используют технологии, основанные на применении, как правило, одного из трех классов нуклеаз — цинкового пальца, TAL или CRISPR-Cas. Все они не лишены недостатков, некритичных при использовании у животных и в опытах *in vitro*, но значительно сдерживающих редактирование генома человека. На данный момент накоплен значительный опыт применения геноморедактирующих технологий для лечения и профилактики генетических заболеваний, трансмиссивных и вирусных инфекций, однако дальнейшее развитие сдерживают как технические, так и этические проблемы. Задача экспертного сообщества и государства — обеспечить плавную интеграцию методов геномного редактирования в жизнь общества, не допустив значительных социальных потрясений.

**Ключевые слова:** редактирование генома, CRISPR-Cas, биоэтика, генный драйв

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Статья подготовлена при финансовой поддержке РФФИ НИР «Правовое регулирование геномных исследований и внедрение их результатов в медицинской практике» (18-29-14063/18).

**Для цитирования:** Мохов А. А., Чапленко А. А., Яворский А. Н. Использование технологий геномного редактирования: достижения и перспективы. *Биомедицина*. 2019;15(2):34–42. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-2-34-42>

Поступила 03.04.2019

Принята после доработки 24.05.2019

Опубликована 10.06.2019

## USE OF GENOME EDITING TECHNOLOGIES: ACHIEVEMENTS AND FUTURE PROSPECTS

Alexander A. Mokhov<sup>1,\*</sup>, Alexander A. Chaplenko<sup>2,4</sup>, Alexander N. Yavorskiy<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kutafin Moscow State Law University (MSAL)  
123286, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-Kudrinskaya str., 9

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University  
119991, Russian Federation, Moscow, Leninskie gory str., 1, building 3

<sup>3</sup> Pushchino State Institute of Natural Science  
142290, Russian Federation, Moscow region, Pushchino, Nauki ave., 3

<sup>4</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products  
127051, Russian Federation, Moscow, Petrovsky blvd, 8/2

Genome editing technologies are currently based on the use of one from the three classes of nucleases, i.e. a zinc finger, TAL or CRISPR-Cas. Drawbacks inherent in each of these approaches, though not being critical for animal or *in vitro* experiments, significantly limit their application in human genome editing. Considerable experience has so far been accumulated in the field of using gene-editing technologies for the treatment and prevention of genetic diseases, transmissible and viral infections. However, further progress is hampered by various technical and ethical problems. It is the task of expert communities and the state that genomic editing methods be smoothly integrated into everyday practices without significant social upheavals.

**Keywords:** genome editing, CRISPR-Cas, bioethics, gene drive

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Funding:** The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, “Legal regulation of genomic research and implementation of its results in clinical practice” (18-29-14063/18).

**For citation:** Mokhov A.A., Chaplenko A.A., Yavorskiy A.N. Use of Genome Editing Technologies: Achievements and Future Prospects. *Journal Biomed.* 2019;15(2):34–42. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-2-34-42>

Submitted 03.04.2019

Revised 24.05.2019

Published 10.06.2019

## Введение

В основе высокоэффективного редактирования генома лежит возможность реализации точно направленного двухцепочечного разрыва ДНК в интересующей хромосомной последовательности. Многочисленные неспецифические разрывы двойной цепи ДНК происходят в ходе естественного процесса мейоза [1] или могут быть искусственно вызваны ионизирующим излучением [2]. Дальнейшие процессы репарации могут происходить с использованием одного из двух основных механизмов: нехомологичного соединения концов (НСК) или гомологической рекомбинации (ГР) [3–6]. В ходе НСК происходит лигирование концов ДНК с минимальной ферментной обработкой в сайте соединения концов, в то время как при ГР в качестве репарационной матрицы, как правило, используется неповрежденная гомологичная последовательность сестринской хроматиды.

В модельных экспериментах с высокоспецифическими нуклеазами была показана стимуляция как НСК, так и ГР в клетках дрожжей и млекопитающих и, таким образом, был получен путь к программируемому редактированию генома [7–11]. Иногда в ходе репарации методом НСК

происходят ошибки, что приводит к небольшим локальным инсерциям и делециям. Данные мутации могут вызывать инактивацию редактируемого гена.

В настоящее время в молекулярной биологии используют три мощных класса нуклеаз, которые могут быть запрограммированы на получение двойных разрывов по существу в любой желаемой мишени: нуклеазы цинкового пальца, транскрипционные активатор-подобные эффекторные нуклеазы (TAL нуклеазы) и CRISPR-Cas нуклеазы [12, 13]. В настоящее время именно CRISPR-Cas доминирует в исследовательских лабораториях по всему миру, поскольку остальные методы менее эффективны, более затратны и трудоемки [14]. Однако все вышеописанные способы были обнаружены в ходе исследований естественных биологических процессов, а не в процессе поиска инструментов для редактирования генома, что в очередной раз показывает, как сильно влияет фактор случайности на развитие современной науки.

## Ограничения современных методов редактирования генома

Примечательно, что все геном-редактирующие нуклеазы по сути всего лишь

производят двухцепочечный разрыв хромосомной ДНК. Главный критерий эффективности — специфичность платформы редактирования к четко обозначенному участку генома и отсутствие разрывов в остальных локусах. Однако все, что происходит после разрыва, определяется механизмом репарации клеточной ДНК, два варианта которой были описаны ранее. Большинство соматических клеток у высших эукариот запускают процесс НСК с сопутствующим возникновением инсерций и делеций чаще, чем копируют последовательности от предоставленной донорной ДНК. Это приемлемо, если цель редактирования — нокаут гена или комплекса генов, но значительно ограничивает возможности введения собственных нуклеотидных последовательностей. В исследованиях [15, 16] был достигнут ограниченный успех в модулировании соотношения между целевым и мутантным продуктом, но пока универсальное решение не найдено, и для некоторых типов клеток НСК остается наиболее часто реализуемым способом репарации. Несколько недавних сообщений показывают, что низкомолекулярные ингибиторы ключевых ферментов процесса НСК могут быть эффективными [17–19], но необходимы дополнительные исследования для создания более надежных реагентов. Другим способом влияния на эффективность вставки целевого гена является модификация донорной молекулы ДНК [20], связь донорной последовательности с направляющей РНК [21] и использование естественных механизмов для вставки нужных фрагментов [22, 23].

С другой стороны, все платформы ДНК-редактирования обладают высокой, но ограниченной специфичностью. В одном из последних исследований показана возможность увеличения специфичности CRISPR-Cas путем модуляции белка Cas9 и направляющей РНК. Насколько важна абсолютная специфичность системы редактирования, а также отсутствие мутагенного

потенциала, зависит от сферы применения. Во многих модельных организмах существуют способы предотвращения экспрессии мутантного гена, например, путем его нокаута и замены геном дикого типа. На данные механизмы можно положиться при редактировании генома растительных или бактериальных клеток, а также при создании гуманизированных моделей животных для фармакологических исследований [24]. Даже в некоторых медицинских применениях нецелевые мутации могут быть допустимыми, если они не приводят к возникновению заболеваний, однако данный аспект является наиболее этически уязвимым [25].

### **Разработка новых платформ редактирования генома**

Можно с уверенностью сказать, что редактирование генома будет оставаться широко используемым инструментом как в научных исследованиях, так и в коммерческой и медицинской сфере. Возникает вопрос: является ли CRISPR-Cas последним словом в программируемых нуклеазах, или, возможно, на горизонте есть что-то лучше? На данный момент трудно представить систему, которая существенно проще, чем распознавание гена комплементарной матрицей и расщепление одним белком. Возможно, белок может быть меньше и обладать дополнительными полезными свойствами, но все это вариации на одну и ту же тему, а не нечто совершенно новое. Возможна разработка химической системы, основанной на низкомолекулярных синтетических соединениях, сочетающих распознавание ДНК с ее расщеплением. Исследования, направленные на достижение этой цели, продолжаются десятилетиями — от триплекс-образующих олигонуклеотидов [26] до пептидных нуклеиновых кислот [27] и полииминов [28], — но до создания платформы с адекватной эффективностью расщепления и диапазоном распознавания еще очень далеко. Похоже, что новые методы редактирования генома, если и будут созданы,

обнаружатся в ходе исследований естественных процессов, а не в процессе улучшения техники CRISPR. Вариантом разрыв-индуцированного редактирования генома является CRISPR-опосредованное редактирование азотистых оснований [29–32]. В данной технологии используют нишу Cas9, которая редактирует лишь одну нить целевой ДНК, при этом получают не разрезанную, а надрезанную ДНК. Преобразование цитизина в урацил в пределах нескольких пар оснований, ближайших к сайту связывания, определяемому РНК, приводит к изменениям экспрессии в этой очень узкой области. Будущее использование этого подхода может включать в т. ч. модификацию отдельных аллелей генов человека.

### Применение технологий редактирования генома в медицине

На данный момент описано большое число попыток использования геномного редактирования в клинической практике. FDA одобрило ряд клинических исследований, включающих редактирование генома соматических клеток для клинических испытаний фазы I. В самых ранних исследованиях использовали нуклеазы цинкового пальца для нокаута гена рецептора CCR5 в Т-лимфоцитах ВИЧ-положительных пациентов [33], данная модификация делает Т-клетки устойчивыми к вирусу. В дальнейшем планируется редактировать геном клеток-предшественниц лимфоцитов, что может повысить эффективность терапии.

TAL-нуклеазы были использованы для повышения эффективности терапии CAR-T клетками [34], кроме того, для этой цели были одобрены два исследования с использованием CRISPR-Cas9 [35, 36]. Эти примеры основаны на редактировании генома клеток, предварительно выделенных из организма с последующим введением тому же пациенту, у которого был произведен забор (аутологичные биомедицинские клеточные продукты).

Такие процедуры *ex vivo* обеспечивают легкую доставку редактирующих систем в клетки, а также возможность и предварительную характеристику отредактированных клеток. По мере развития методов клеточной терапии редактирование генома будет становиться неотъемлемым их дополнением. В частности, из популяции соматических клеток индивидуума могут быть выделены стволовые клетки, путем редактирования генома которых *ex vivo* и последующего введения может быть изменен фенотип всего органа или ткани.

Во многих случаях клеточная терапия невозможна (например, невозможно выделить все или хотя бы большую часть целевых клеток). В настоящее время ведутся клинические испытания средств для лечения гемофилии и лизосомных болезней накопления, основанные на доставке нуклеаз цинкового пальца *in vivo* вирусными векторами. Таким образом осуществляют редактирование генома гепатоцитов, которые относят к типу клеток, легко доступных для внедрения. Доставка в клетки других органов *in vivo* потребует создания новых векторных и не векторных подходов и, возможно, создания специфических линий геномодифицированных стволовых клеток. Активные исследования направлены на лечение и других генетических заболеваний, включая серповидноклеточную анемию и миодистрофию. Как и для любых средств медицинского применения, для систем геномного редактирования должна быть доказана эффективность и безопасность.

Еще одним применением геном-редактирующих технологий, косвенно связанным с медициной, является создание трансгенных животных-моделей, имитирующих то или иное патологическое состояние, с целью использования в доклинических испытаниях лекарственных препаратов. В исследованиях [37–41] был достигнут значительный прогресс в создании гено-

модифицированных мышей с введенными человеческими генами NAT1 и NAT2.

### Редактирование генома эмбриона человека

По причине легкости редактирования генома с использованием платформы CRISPR и, соответственно, широких возможностей злоупотребления технологией существует значительный интерес к перспективам редактирования генома эмбриона человека. Основной метод применения — доставка редактирующих агентов в клетки эмбриона, созданного путем оплодотворения *in vitro*. В будущем может оказаться более целесообразным и этически приемлемым редактировать гаметогенные клетки-предшественники у будущих родителей. Преимущество зародышевой коррекции аллелей генов, соответствующих патологическим состояниям, заключается в том, что они навсегда исчезнут из генома. Однако существует риск того, что попытка исправить генетический код неродившегося ребенка может принести больше вреда, чем пользы. Современная технология редактирования генома не обладает достаточной эффективностью и специфичностью, чтобы полностью гарантировать безопасность. Мутации, возникающие в нецелевых локусах хромосом вследствие введения редактирующих конструкций, могут влиять на организм ребенка и передаваться из поколения в поколение, а их эффекты не всегда будут доброкачественными, предсказуемыми или обратимыми.

Продолжающиеся исследования сделают редактирование генома эмбриона более безопасным и более эффективным, и кажется неизбежным, что оно в конечном итоге будет широко использоваться. В то же время важно проводить обсуждение этических вопросов, связанных с такими технологиями [42]. Экспертами в области биоэтики был представлен подробный обзор практических трудностей редактирования генома эмбриона человека [43].

### Применение технологий редактирования генома для профилактики трансмиссивных инфекций

Другое применение редактирования генома, которое стало привлекать внимание в последние несколько лет, — использование его в генетическом процессе, называемом генным драйвом. В основе данного процесса — законы генетики, согласно которым искусственно введенный одному или нескольким представителям ген может довольно быстро распространиться и изменить геном всей популяции, причем даже в том случае, если признаки, кодируемые этим геном, умеренно пагубные для организма. Естественные драйвы генов уже были обнаружены, но текущий интерес сосредоточен на тех, которые опосредованы CRISPR-Cas9 [44]. Синтетический генный драйв был предложен для уничтожения комаров, переносящих тропические болезни (прежде всего, малярию и желтую лихорадку). К примеру, искусственно вводили гены стерильности самок [45] и гены, кодирующие факторы, замедляющие рост паразита — малярийного плазмодия [46]. Данные подходы могут значительно сократить распространение болезни в районах, где ее лечение весьма трудно организовать. Значительная тяжесть и распространенность заболеваний, передающихся комарами, особенно в развивающихся странах, подталкивают исследователей к реализации вышеописанных идей. С другой стороны, перспектива намеренного или даже непреднамеренного влияния на генетический профиль целого вида живых организмов вызывает озабоченность в обществе [47, 48]. Очень трудно предсказать последствия удаления одного из звеньев экосистемы. Если какая-то популяция комаров исчезнет, каково будет воздействие на виды, взаимодействующие с ней, — растения, рыбы, птицы? Другие виды скоро заполнят свободную нишу, но будут ли они оказывать такое же влияние на их окружение? Станет

ли драйв неэффективным из-за естественных механизмов адаптации? Также разрабатывается обратимый генный драйв [45], но его эффективность пока не оценивалась. К сожалению, маломасштабные лабораторные тесты не способны предсказать результаты применения генного драйва в естественной среде, поэтому до тех пор, пока такие технологии не будут реализованы, соотношение пользы и вреда для них будет неизвестным.

## Заключение

Параллельно с решением методологических задач, связанных с технологиями редактирования генома, важно рассмотреть и социальные проблемы, связанные, прежде всего, с медицинским применением таких платформ. Кто должен решать, какие продукты или методы лечения могут быть разработаны, а какие должны быть запрещены? Возможно ли добровольное согласие на участие в исследованиях с высоким риском для жизни? Какие состояния могут

быть скорректированы генной терапией? Очевидно, такие тяжелые болезни, как хоррея Гентингтона или мышечная дистрофия, должны быть побеждены при наличии возможности. А как быть с наследственной глухотой или карликовостью? Люди с подобными признаками часто являются полноценными членами общества и не чувствуют себя нуждающимися в «коррекции» [49]. Методы лечения, основанные на редактировании генома, в настоящее время сложны и дороги. Будут ли они доступны только богатым слоям населения?

Каждый день методы редактирования генома улучшаются и развиваются, повышается их безопасность и эффективность. Использование подобных платформ — дело ближайшего будущего, которое станет неотъемлемой частью жизни человека в XXI веке. Задача экспертного сообщества и государства — обеспечить плавную интеграцию столь этически неоднозначных технологий в жизнь общества, не допустив значительных социальных потрясений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Youds J.L., Boulton S.J. The choice in meiosis — defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. *J. Cell Sci.* 2011;(124 Pt 4):501–513.
2. Latt S.A. Sister chromatid exchange formation. *Annual Rev. Genet.* 1981;(15):11–55.
3. Ferguson D., Sekiguchi J., Chang S., et al. The non-homologous end-joining pathway of DNA repair is required for genomic stability and the suppression of translocations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2000;97(12):6630–33.
4. Iliakis G., Wu W., Wang M., et al. Backup pathways of nonhomologous end joining may have a dominant role in the formation of chromosome aberrations. In: Obe G., et al. (eds). *Chromosomal Alterations*. Berlin: Springer Verlag, 2007. Pp. 67–85.
5. Mills K., Ferguson D., Alt F. The role of DNA breaks in genomic instability and tumorigenesis. *Immun. Rev.* 2003;(194):77–95.
6. Schwartz M., Zlotorynski E., Goldberg M., et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining repair pathways regulate fragile site stability. *Genes Dev.* 2005;19:2715–26.
7. Choulika A., Perrin A., Dujon B., Nicolas J.F. Induction of homologous recombination in mammalian chromosomes by using the I-SceI system of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell Biol.* 1995;(15):196–73.
8. Plessis A., Perrin A., Haber J.E., Dujon B. Site-specific recombination determined by I-SceI, a mitochondrial group I intron-encoded endonuclease expressed in the yeast nucleus. *Genetics.* 1992;(130):451–460.
9. Rouet P., Smih F., Jasin M. Introduction of double-strand breaks into the genome of mouse cells by expression of a rare-cutting endonuclease. *Mol. Cell Biol.* 1994;(14):8096–8106.
10. Rudin N., Sugarman E., Haber J.E. Genetic and physical analysis of double-strand break repair and recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics.* 1989;(122):519–534.
11. Chapman J.R., Taylor M.R., Boulton S.J. Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice. *Mol. Cell.* 2012;47(4):497–510.
12. Carroll D. Genome Engineering with Targetable Nucleases. *Annu Rev. Biochem.* 2014;(83):409–439.
13. Немудрый А.А., Валетдинова К.Р., Медведев С.П., Закиан С.М. Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas — инструменты открытий. *ACTA NATURAE.* 2014;6(3):20–42. [Nemudryj A.A., Valetdinova K.R., Medvedev S.P., Zakiyan S.M. Sis-



- temy redaktirovaniya genomov TALEN i CRISPR/Cas — instrumenty otkrytiy [TALEN and CRISPR / Cas genome editing systems — discovery tools]. *ACTA NATURAE*. 2014;6(3):20–42. (In Russian)].
14. Мензоров А.Г., Лукьянчикова В.А., Кораблев А.Н., Серова И.А., Фишман В.С. Практическое руководство по редактированию геномов системой CRISPR/Cas9. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(6):930–944. DOI: 10.18699/VJ16.214. [Menzorov A.G., Luk'yanchikova V.A., Korablev A.N., Serova I.A., Fishman V.S. Prakticheskoe rukovodstvo po redaktirovaniyu genomov sistemoy CRISPR/Cas9 [A practical guide to editing genomes with CRISPR / Cas9]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* [J. of Genetics and Vavilov selection]. 2016;20(6):930–944. DOI: 10.18699/VJ16.214. (In Russian)].
15. Beumer K.J., Trautman J.K., Bozas A., Liu J.L., Rutter J., Gall J.G., et al. Efficient gene targeting in Drosophila by direct embryo injection with zinc-finger nucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;(105):19821–26.
16. Bozas A., Beumer K.J., Trautman J.K., Carroll D. Genetic analysis of zinc-finger nuclease-induced gene targeting in Drosophila. *Genetics*. Forthcoming. 2009.
17. Chu V.T., Weber T., Wefers B., Wurst W., Sander S., Rajewsky K., et al. Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells. *Nat. Biotechnol*. 2015;33(5):543–548.
18. Maruyama T., Dougan S.K., Truttmann M.C., Bilate A.M., Ingram J.R., Ploegh H.L. Increasing the efficiency of precise genome editing with CRISPR-Cas9 by inhibition of nonhomologous end joining. *Nat. Biotechnol*. 2015;33(5):538–542.
19. Singh P., Schimenti J.C., Bolcun-Filas E. A mouse geneticist's practical guide to CRISPR applications. *Genetics*. 2015;199(1):1–15.
20. Richardson C.D., Ray G.J., DeWitt M.A., Curie G.L., Corn J.E. Enhancing homology-directed genome editing by catalytically active and inactive CRISPR-Cas9 using asymmetric donor DNA. *Nat. Biotechnol*. 2016;34(3):339–344.
21. Lee K., Mackley V.A., Rao A., Chong A.T., DeWitt M.A., Corn J.E., et al. Synthetically modified guide RNA and donor DNA are a versatile platform for CRISPR-Cas9 engineering. *eLife*. 2017.
22. Paix A., Folkmann A., Seydoux G. Precision genome editing using CRISPR-Cas9 and linear repair templates in *C. elegans*. *Methods*. 2017.
23. Sakuma T., Nakade S., Sakane Y., Suzuki K.T., Yamamoto T. MMEJ-assisted gene knock-in using TALENs and CRISPR-Cas9 with the PITCh systems. *Nat. Protoc*. 2016;11(1):118–133.
24. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Колоскова Е.М., Каркищенко В.Н. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;(3):4–22. [Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Koloskova E.M., Karkischenko V.N. Sozdanie gumanizirovannykh myshey dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspekhi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological studies (successes, failures and prospects)]. *Bio-medicine*. 2014;(3):4–22. (In Russian)].
25. Tycko J., Myer V.E., Hsu P.D. Methods for Optimizing CRISPR-Cas9 Genome Editing Specificity. *Mol. Cell*. 2016;63(3):355–370.
26. Chin J.Y., Glazer P.M. Repair of DNA lesions associated with triplex-forming oligonucleotides. *Mol. Carcinog*. 2009;(48):389–399.
27. Kim K.H., Nielsen P.E., Glazer P.M. Site-specific gene modification by PNAs conjugated to psoralen. *Biochemistry*. 2006;(45):314–323.
28. Doss R.M., Marques M.A., Foister S., Chenoweth D.M., Dervan P.B. Programmable oligomers for minor groove DNA recognition. *J. Am. Chem. Soc*. 2006;(128):9074–79.
29. Hess G.T., Fresard L., Han K., Lee C.H., Li A., Cimprich K.A., et al. Directed evolution using dCas9-targeted somatic hypermutation in mammalian cells. *Nat. Methods*. 2016;13(12):1036–42.
30. Komor A.C., Kim Y.B., Packer M.S., Zuris J.A., Liu D.R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*. 2016;533(7603):420–424.
31. Ma Y., Zhang J., Yin W., Zhang Z., Song Y., Chang X. Targeted AID-mediated mutagenesis (TAM) enables efficient genomic diversification in mammalian cells. *Nat. Methods*. 2016;13(12):1029–35.
32. Nishida K., Arazoe T., Yachie N., Banno S., Kakimoto M., Tabata M., et al. Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems. *Science*. 2016;(353):6305.
33. Tebas P., Stein D., Tang W.W., Frank I., Wang S.Q., Lee G., et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N. Engl. J. Med*. 2014;370(10):901–910.
34. Menger L., Sledzinska A., Bergerhoff K., Vargas F.A., Smith J., Poirot L., et al. TALEN-Mediated Inactivation of PD-1 in Tumor-Reactive Lymphocytes Promotes Intratumoral T-cell Persistence and Rejection of Established Tumors. *Cancer Res*. 2016;76(8):2087–93.
35. Cyranoski D. Chinese scientists to pioneer first human CRISPR trial. *Nature*. 2016;(535):476–477.
36. Kaiser J. First proposed human test of CRISPR passes initial safety review. *Science*. 2016.
37. Рябых В.П., Колоскова Е.М., Езерский В.А., Трубцина Т.П., Максименко С.В. О перспективах получения трансгенных мышей-биомоделей для фармакологических и токсикологических исследований. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2015;2:5–22. [Ryabykh V.P., Koloskova E.M., Ezerskiy V.A., Trubitsina T.P., Maksimenko S.V. O perspektivakh polucheniya transgennykh myshey-biomodelей dlya farmakologicheskikh i toksikologicheskikh issledovaniy [On the prospects for obtaining transgenic

- biomodel mice for pharmacological and toxicological studies]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* [Problems of biology of productive animals]. 2015;2:5–22. (In Russian)].
38. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Езерский В.А., Колоскова Е.М., Лазарев В.Н., Максименко С.В., Петрова Н.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Молекулярно-генетические аспекты технологии получения трансгенных мышей с интегрированными генами N-ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2) человека. *Биомедицина*. 2016;(1):4–18. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Karkischenko N.N., Dulya M.S., Ezerskiy V.A., Koloskova E.M., Lazarev V.N., Maksimenko S.V., Petrova N.V., Stolyarova V.N., Trubitsina T.P. Molekulyarno-geneticheskie aspekty tekhnologii polucheniya transgennykh myshey s integrirovannymi genami N-acetiltransferazy (NAT1 i NAT2) cheloveka [Molecular and genetic aspects of technology for producing transgenic mice with integrated N-acetyltransferase genes (NAT1 and NAT2) in humans]. *Biomedicine*. 2016;(1):4–18. (In Russian)].
39. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Болотских Л.А., Семенов Х.Х., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В., Езерский В.А., Жукова О.Б., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Физиолого-эмбриологические аспекты создания трансгенных мышей с интегрированными генами NAT1 и NAT2 человека. *Биомедицина*. 2016;(1):52–66. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Bolotskikh L.A., Semenov Kh.Kh., Kapanadze G.D., Petrova N.V., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Stolyarova V.N., Trubitsina T.P. Fiziologo-embriologicheskie aspekty sozdaniya transgennykh myshey s integrirovannymi genami NAT1 i NAT2 cheloveka [Physiological and embryological aspects of creating transgenic mice with integrated human NAT1 and NAT2 genes]. *Biomedicine*. 2016;(1):52–66. (In Russian)].
40. Каркищенко В.Н., Болотских Л.А., Капанадзе Г.Д., Каркищенко Н.Н., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Матвейенко Е.Л., Петрова Н.В., Рябых В.П., Ревякин А.О., Станкова Н.В., Семенов Х.Х. Создание линий трансгенных животных-моделей с генами человека NAT1 и NAT2. *Биомедицина*. 2016;(1):74–85. [Karkischenko V.N., Bolotskikh L.A., Kapanadze G.D., Karkischenko N.N., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Matveyenko E.L., Petrova N.V., Ryabykh V.P., Revyakin A.O., Stan-kova N.V., Semenov Kh.Kh. Sozдание liniy transgen-nykh zhivotnykh-modelej s genami cheloveka NAT1 i NAT2 [Creating lines of transgenic animal models with human genes NAT1 and NAT2]. *Biomedicine*. 2016;(1):74–85. (In Russian)].
41. Рябых В.П., Трубицина Т.П., Максименко С.В., Жукова О.Б., Столярова В.Н., Езерский В.А., Колоскова Е.М. Физиолого-эмбриологические аспекты биотехнологии получения трансгенных мышей методом микроинъекции генно-инженерных конструкций в пронуклеусы зигот. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2016;(2):5–21. [Ryabykh V.P., Trubitsina T.P., Maksimenko S.V., Zhukova O.B., Stolyarova V.N., Ezerskiy V.A., Koloskova E.M. Fiziologo-embriologicheskie aspekty biotekhnologii polucheniya transgennykh myshey metodom mikroin'ekcii genno-inzhenernykh konstruksij v pronukleusy zigot [Physiological and embryological aspects of biotechnology for producing transgenic mice by microinjection of genetically engineered structures into zygote pronuclei]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* [Problems of biology of productive animals]. 2016;(2):5–21. (In Russian)].
42. Committee on Human Gene Editing Scientific, Medical, and Ethical Considerations. *Human Genome Editing: Science, Ethics, and Governance*. Washington (DC): The National Academies Press, 2017.
43. Kohn D.B., Porteus M.H., Scharenberg A.M. Ethical and regulatory aspects of genome editing. *Blood*. 2016;127(21):2553–60.
44. Gantz V.M., Bier E. The dawn of active genetics. *BioEssays*. 2016;38(1):50–63.
45. Hammond A., Galizi R., Kyrou K., Simoni A., Siniscalchi C., Katsanos D., et al. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat. Biotechnol.* 2016;34(1):78–83.
46. Gantz V.M., Jasinskiene N., Tatarenkova O., Faze-kas A., Macias V.M., Bier E., et al. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2015;112(49):6736–43.
47. Akbari O.S., Bellen H.J., Bier E., Bullock S.L., Burt A., Church G.M., et al. BIOSAFETY. Safeguarding gene drive experiments in the laboratory. *Science*. 2015;349(6251):927–929.
48. Esvelt K.M., Smidler A.L., Catteruccia F., Church G.M. Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wildpopulations. *eLife*. 2014.
49. Ma H., Marti-Gutierrez N., Park S.W., Wu J., Lee Y., Suzuki K., et al. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature*. 2017;(548):413–419.



## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Мохов Александр Анатольевич\***, д.ю.н., проф.,  
ФГБОУ ВО «Московский государственный юриди-  
ческий университет им. О.Е. Кутафина (МГЮА)»;  
e-mail: [med-farm-law@mail.ru](mailto:med-farm-law@mail.ru)

**Alexander A. Mokhov\***, Dr. Sci. (Law), Prof., Ku-  
tafin Moscow State Law University (MSAL);  
e-mail: [med-farm-law@mail.ru](mailto:med-farm-law@mail.ru)

**Чапленко Александр Андреевич**, ФГБОУ ВО  
«Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова»; ФГБУ «Научный центр  
экспертизы средств медицинского применения»  
Минздрава России;  
e-mail: [a.a.chaplenko@yandex.ru](mailto:a.a.chaplenko@yandex.ru)

**Alexander A. Chaplenko**, Lomonosov Moscow  
State University; Scientific Centre for Expert Eval-  
uation of Medicinal Products;  
e-mail: [a.a.chaplenko@yandex.ru](mailto:a.a.chaplenko@yandex.ru)

**Яворский Александр Николаевич**, д.м.н.,  
проф., ФГБОУ ВО «Пушкинский государствен-  
ный естественно-научный институт»;  
e-mail: [yavorskiy@gnu.edu](mailto:yavorskiy@gnu.edu)

**Alexander N. Yavorskiy**, Dr. Sci. (Med.), Prof.,  
Pushchino State Institute of Natural Science;  
e-mail: [yavorskiy@gnu.edu](mailto:yavorskiy@gnu.edu)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author