



Smíme klonovat člověka?

Jaroslav PETR

VÚŽV v.v.i.

petr@vuzv.cz

Klón = výhonek

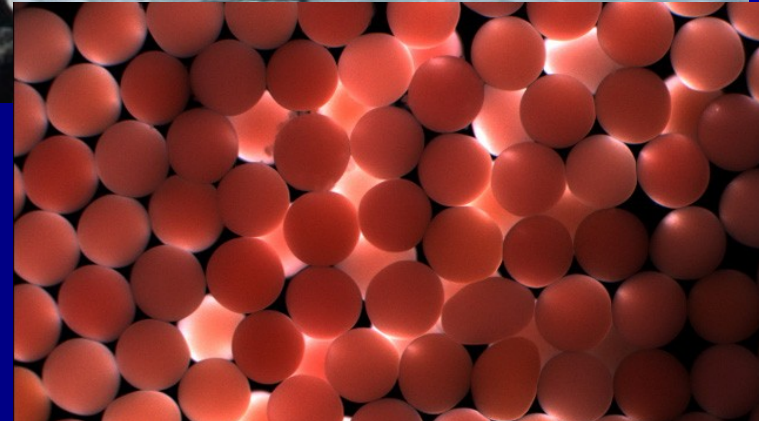
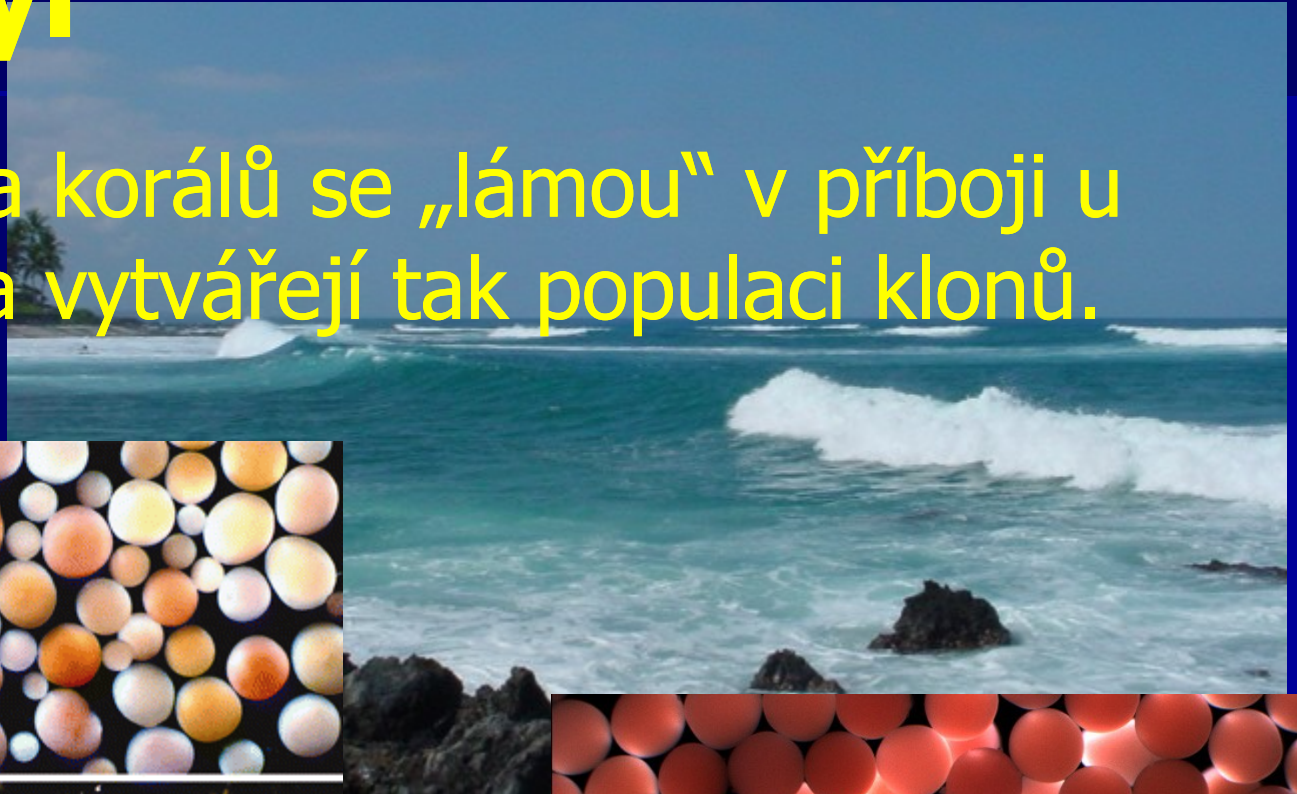
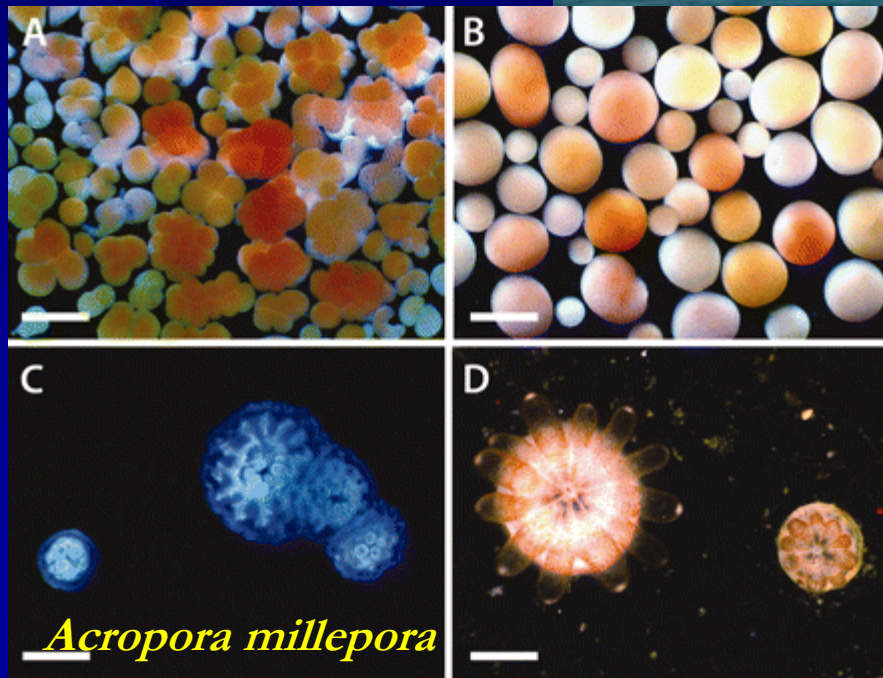


Vegetativní rozmnožování = přírodní klonování



Spontánní fragmentace embryí

- Embrya korálů se „lámou“ v příboji u útesů a vytvářejí tak populaci klonů.



Krab *Lybia leptochelis*

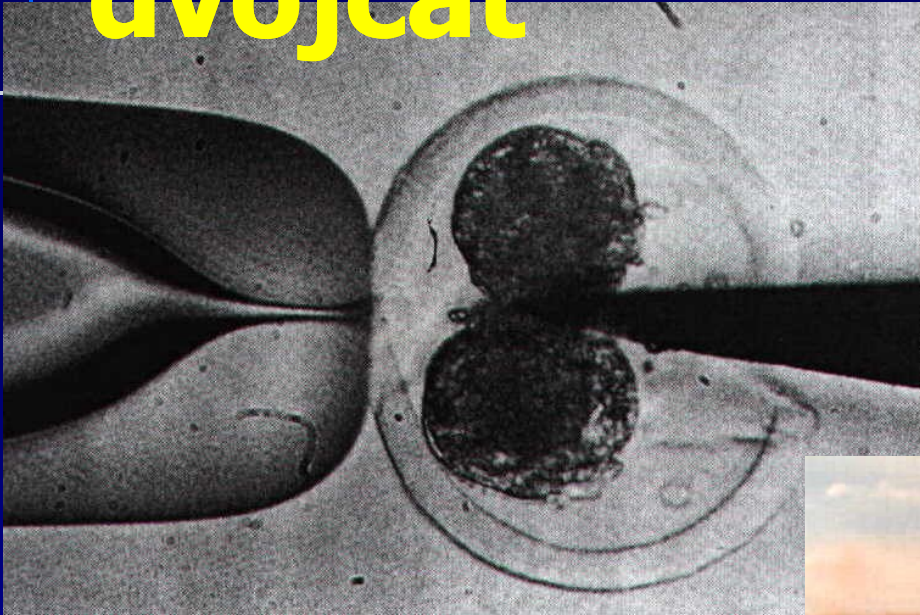
- Nosí v každém klepetu sasanku rodu *Alicia*
- Sasanky volně nežijí
- Když o ně krab přijde, ukradne jednu jinému krabovi a tu si naklonuje dělením



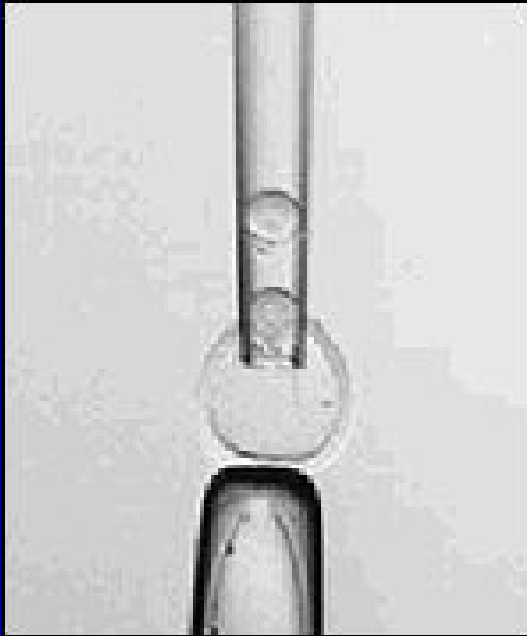
Jednovaječní sourozenci



Produkce identických dvojčat

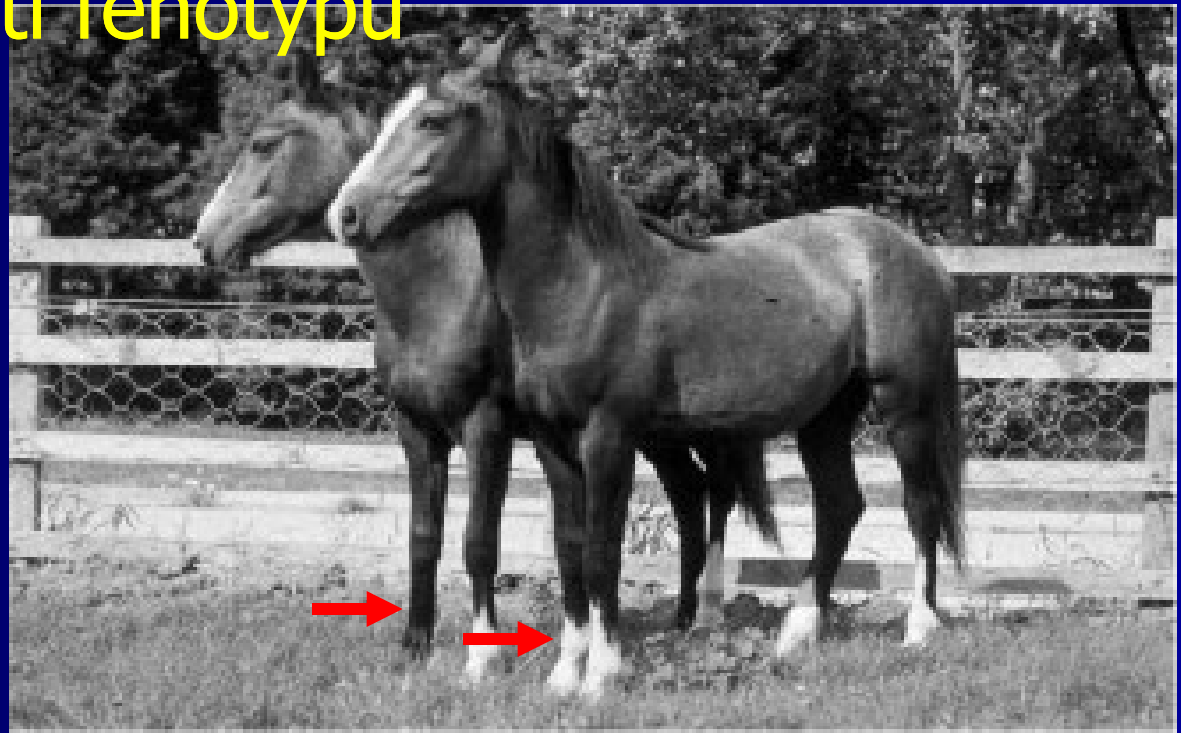


Rok 2000 - makak



Identická dvojčata

- Identický genotyp
- Odlišnosti fenotypu



Identická dvojčata



Matroklinní efekt:

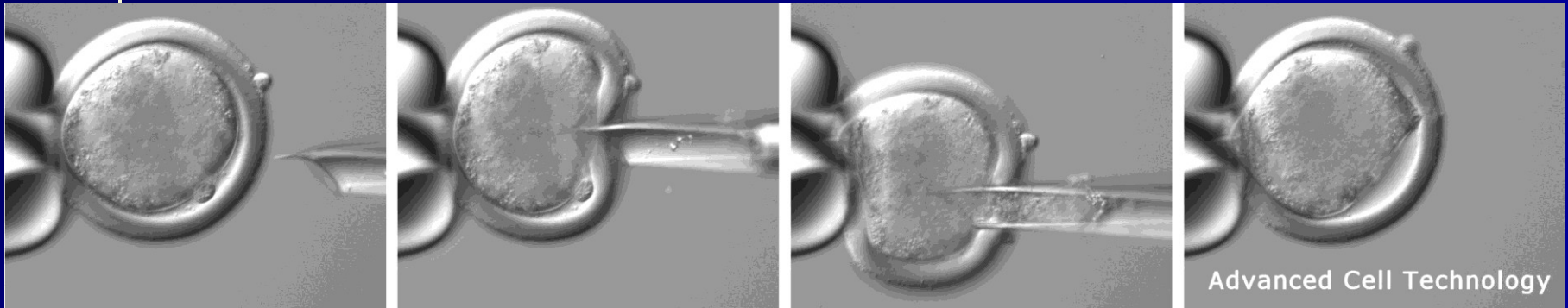
Ve 2 letech

Rozdíl 64 kg

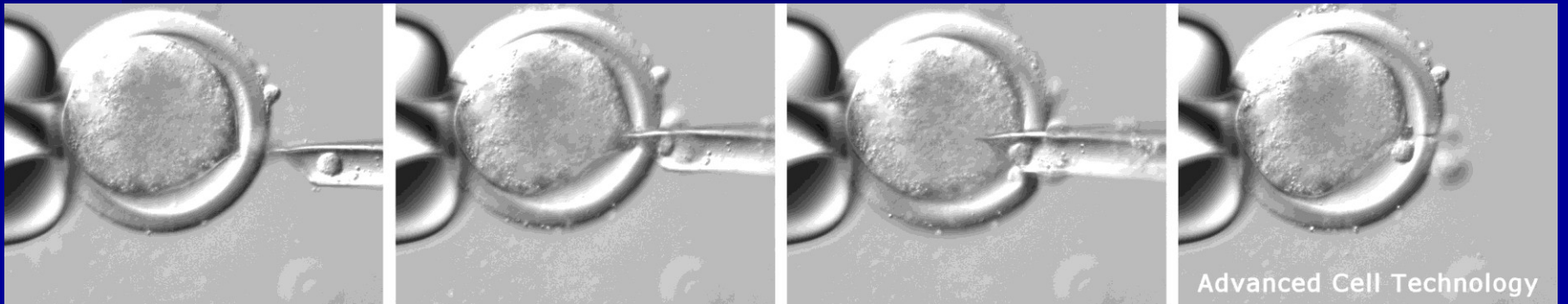
8 cm v kohoutku

Přenos jader

Enukleace oocyty

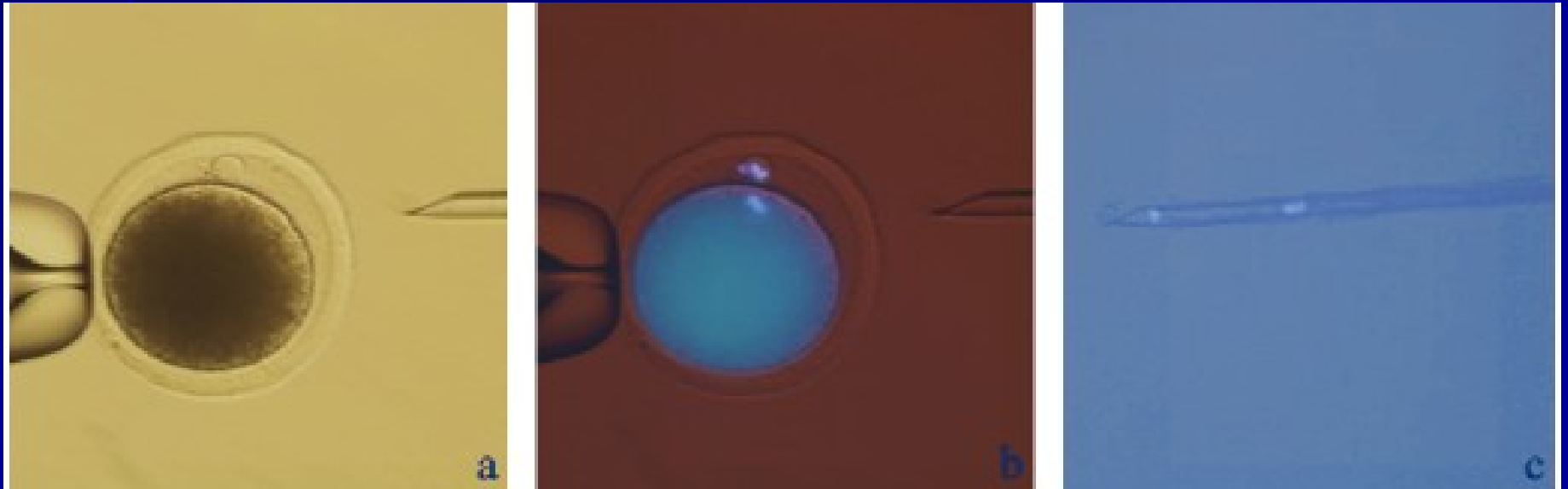


Přenos somatické buňky pod zonu cytoplastu

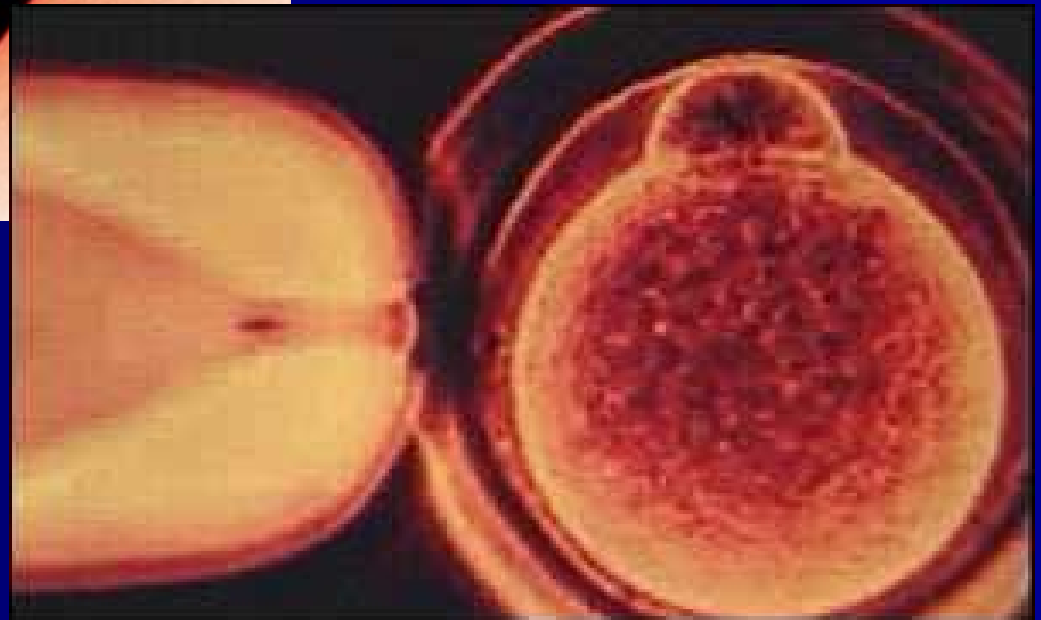
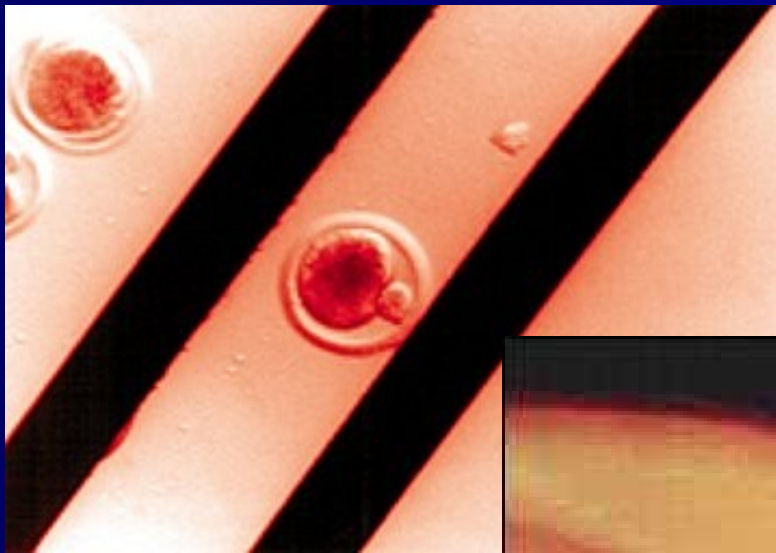


Přenos jader

- Kontrola enukleace po vitálním barvení chromatinu



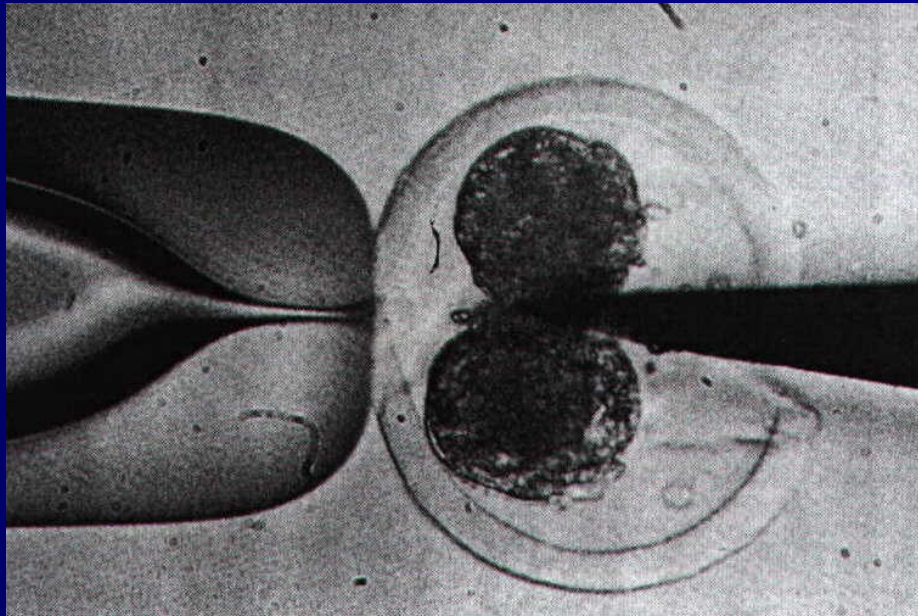
Fúze



Kultivace embrya a jeho přenos

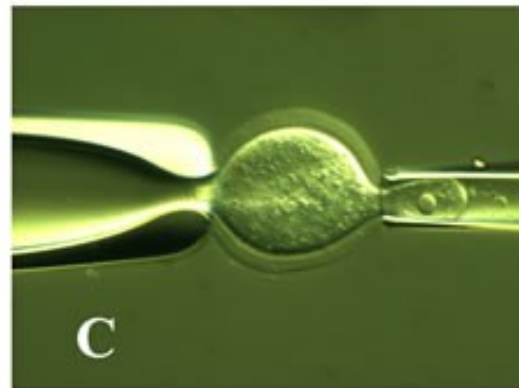
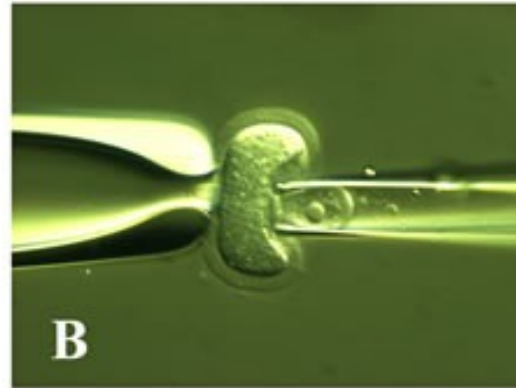
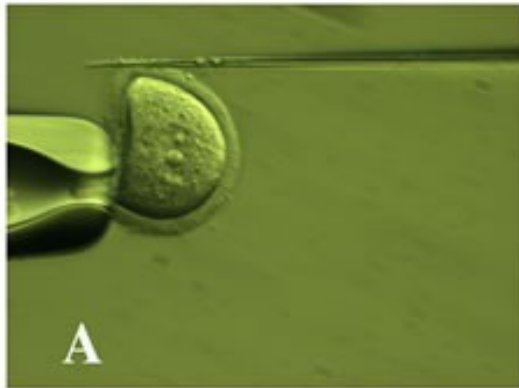


Klonování není jen přenos jader



**Důležité pro legislativu – co je povoleno
- co je zakázáno**

Přenos jader není jen klonování



Přenos jader
u oocytů

Následně IVF



Klony domácích zvířat





2005



Snuppy
Soul National University Puppy

2006



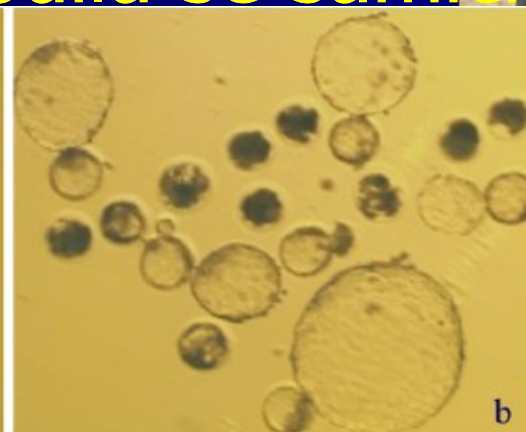
Lilly + 6



Libby + 10

Velbloud 2009

- Spojené arabské emiráty
- Použity kumulární buňky
- Oocyty dozrálé in vivo
- Odběr ovum pick up
- Narodila se samička Injaz



Klony ohrožených druhů

Muflon 2000

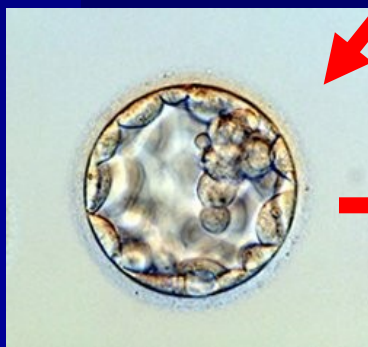
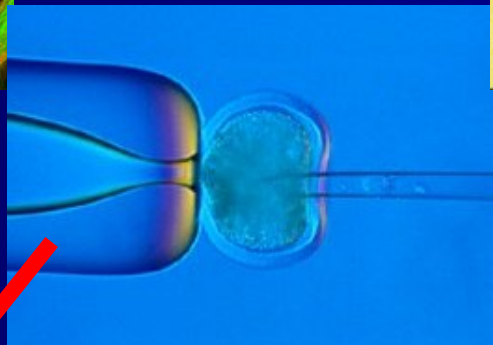
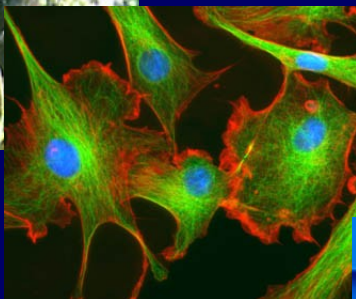
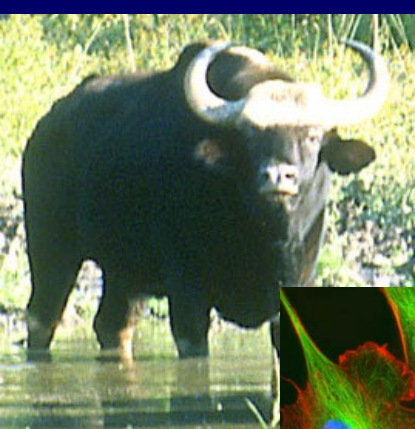


Gaur 2001



**Banteng
2003**

Mezidruhové klonování

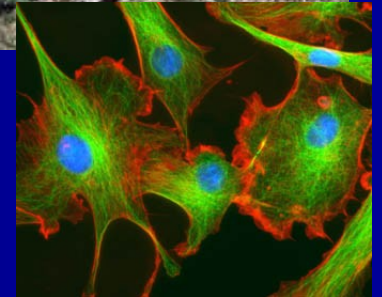
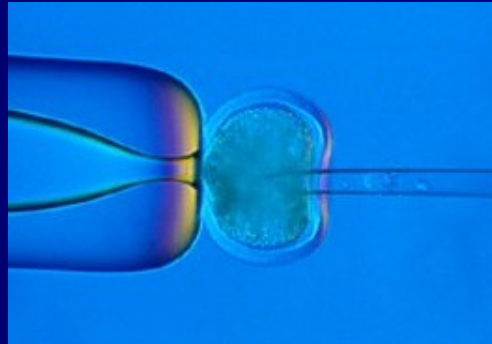


Mezidruhové přenosy embryí

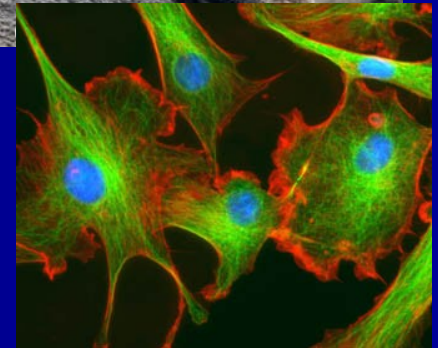
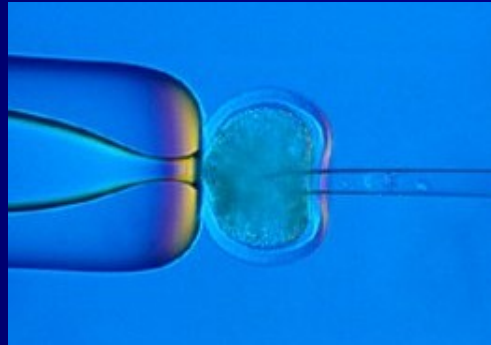
- Kůň – 64 chromozomů
- Zebra – 44 chromozomů
- Kůň Przewalského – 66 chromozomů
- Osel – 62 chromozomů



Antilopa dzeren - 2006



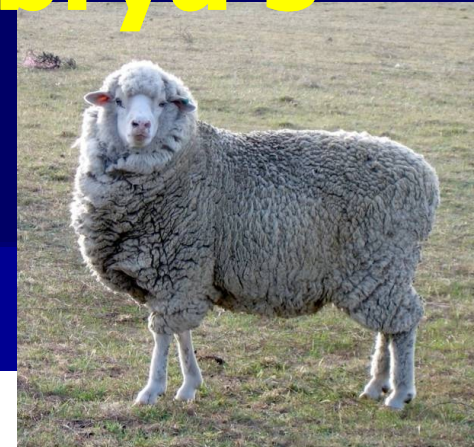
Ovce tlustorohá - 2006



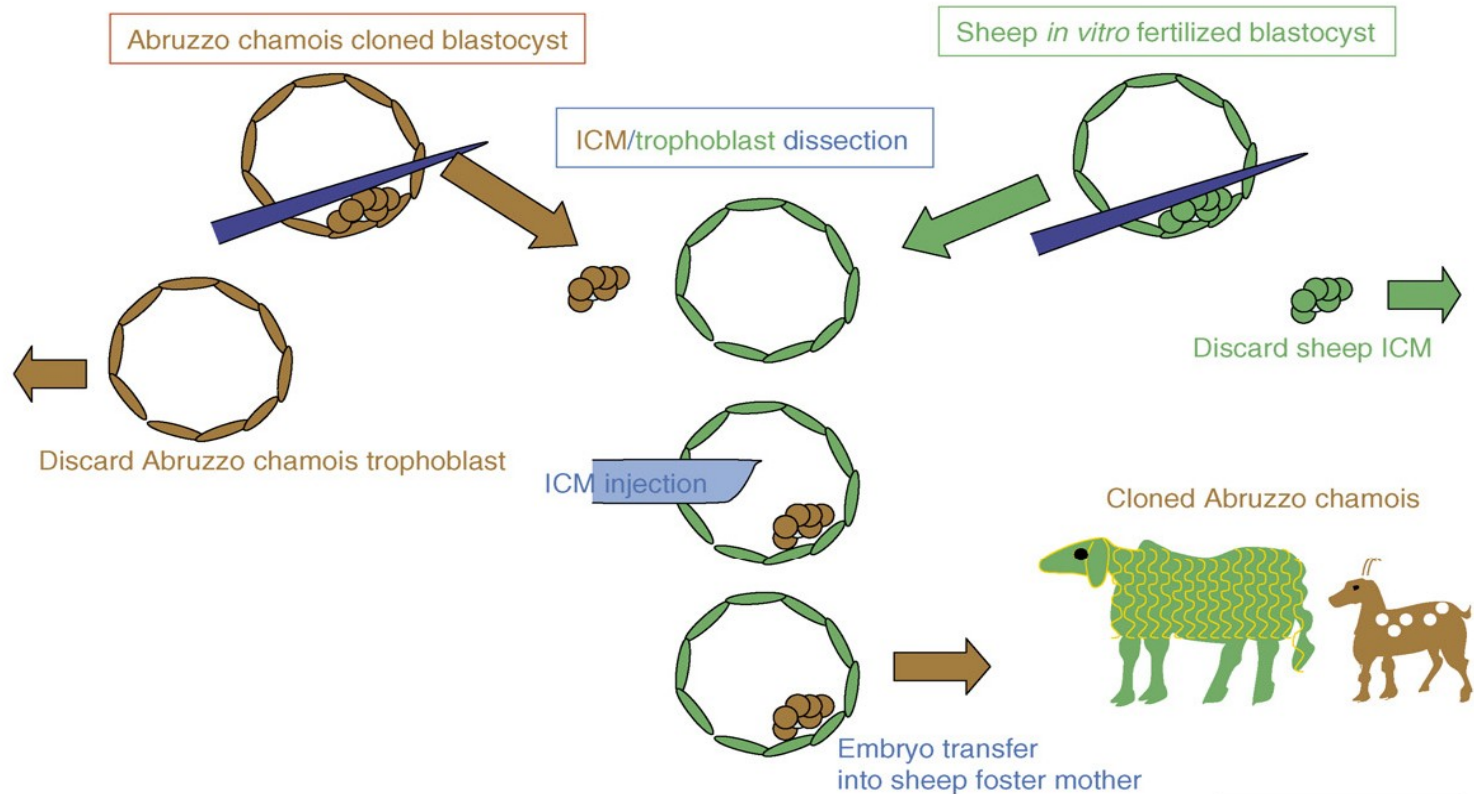
VIK - 2005



Při nekompatibilitě embrya s náhradní matkou



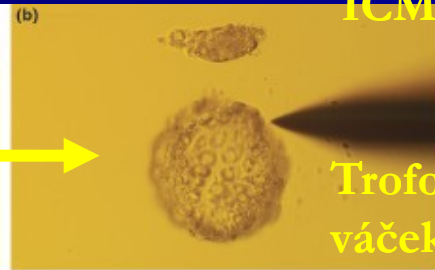
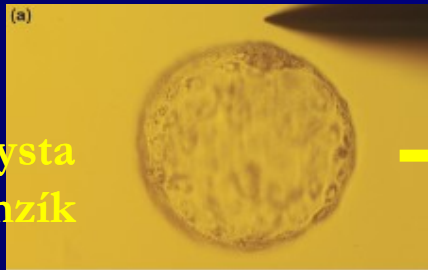
Idealized procedure for cloning endangered animals
Step 2: ICM/trophoblast exchange and inter-species embryo transfer



mikročepel

ICM

Blastocysta
kamzík

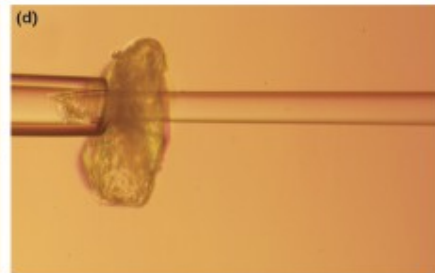


Trofoblastický
váček

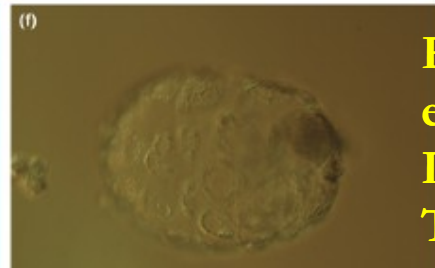
Trofoblastický
váček ovce



ICM
kamzík



Re-ekspanze
ICM - vitální barvení



Rekonstruované
embryo
ICM – kamzík
Trofoblast - ovce

Pomůže klonování k záchraně ohrožených druhů?



Bongo lešný



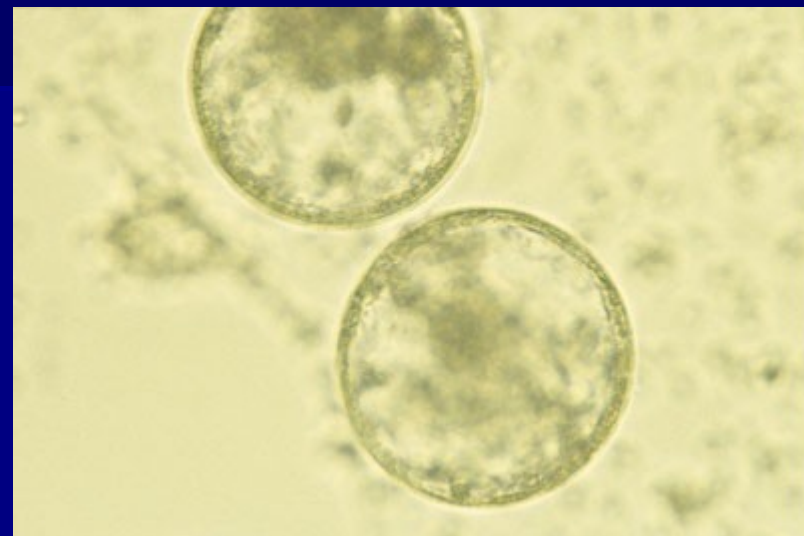
Antilopa losí

Saola



- Popsána v roce 2000 podle zakoupené trofeje.
- Žije jich asi 200 ks (?) na vietnamsko-laoském pomezí
- Je intenzivně lovena
- V zajetí rychle hyne, i když je krotká
- Biologie druhu – prakticky neznámá

Klonování



Panda velká



Kočkovité šelmy



Gepard



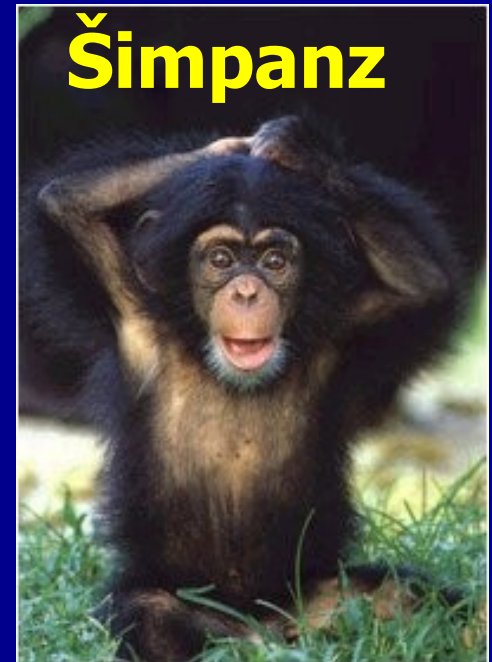
Primáti



Gorila



Gueréza



Šimpanz

Vyhynulé druhy

**Kozorožec bucardo
(Capra pyrenaica
pyrenaica)**



Klon vytvořen v roce 2008 – žil 2 hodiny – defekt plic

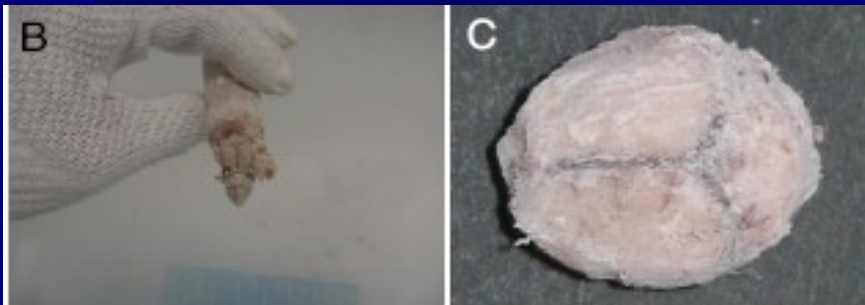
Mamuti a dinosauři??



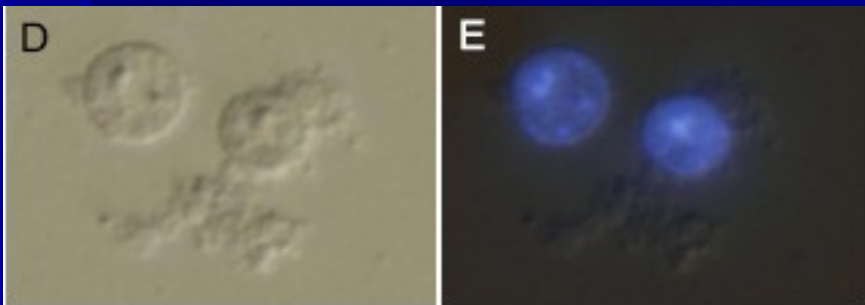
Klon myši 16 let při -20°C



Zamražené myší
tělo



Mozek vyjmutý z
lebky



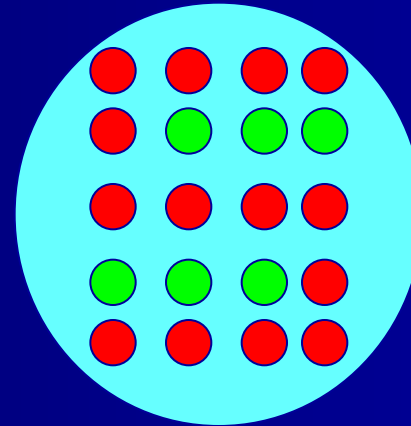
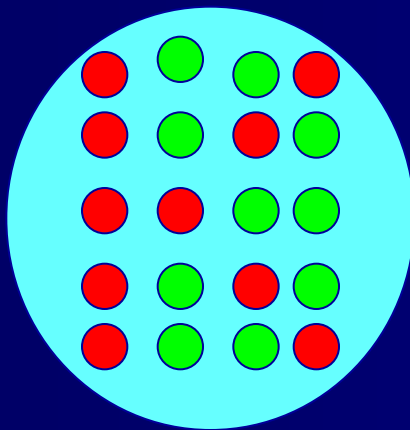
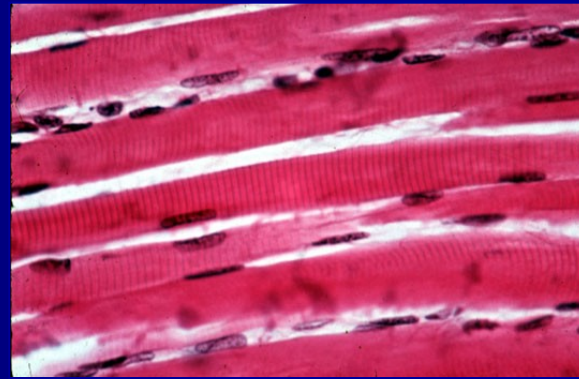
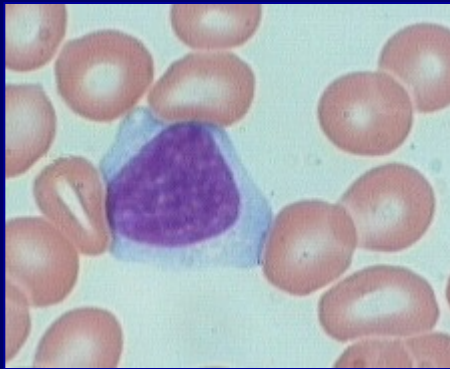
Izolovaná jádra
neuronů

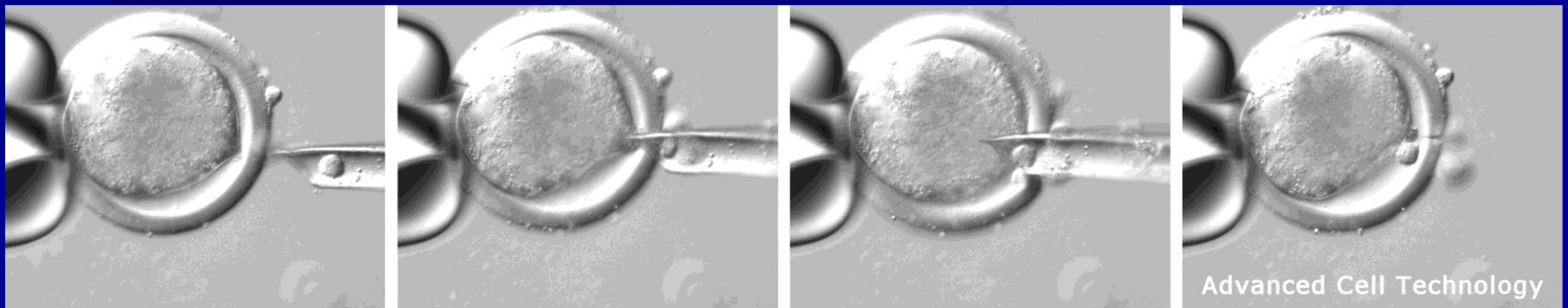
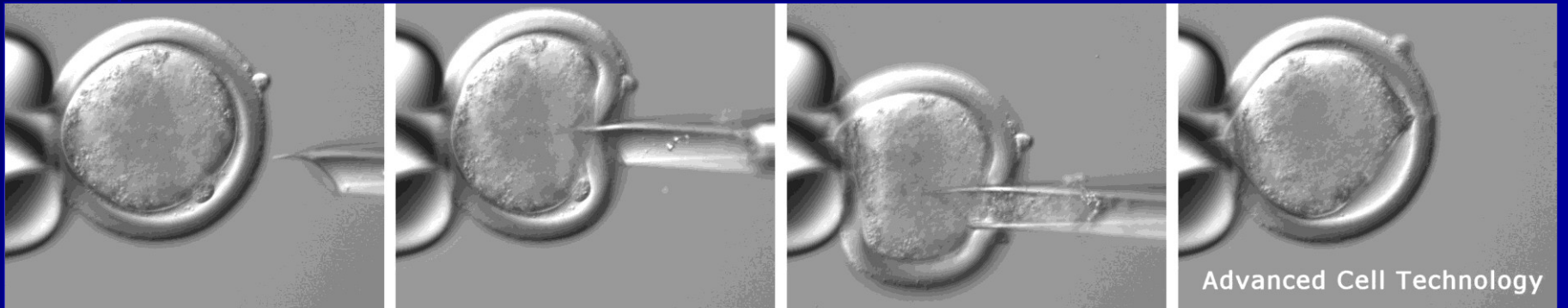
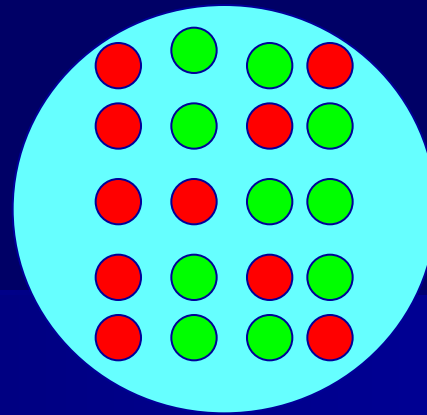
Klonování

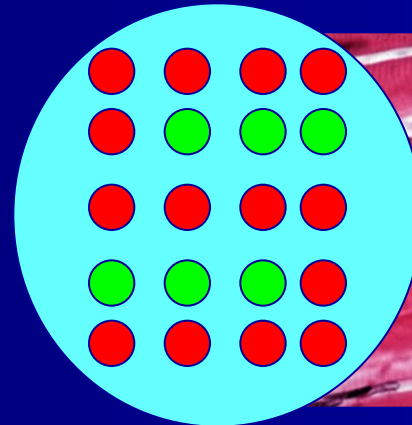
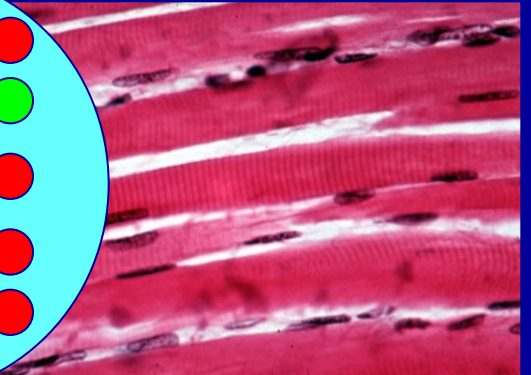
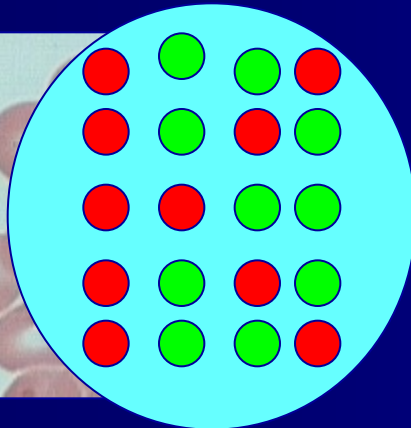
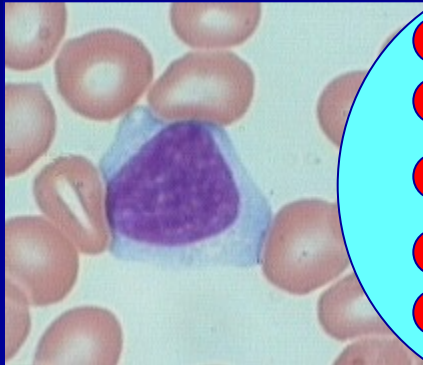
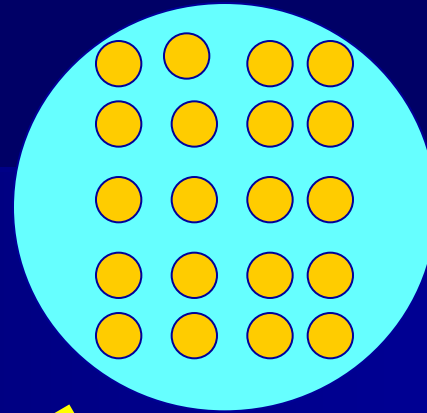
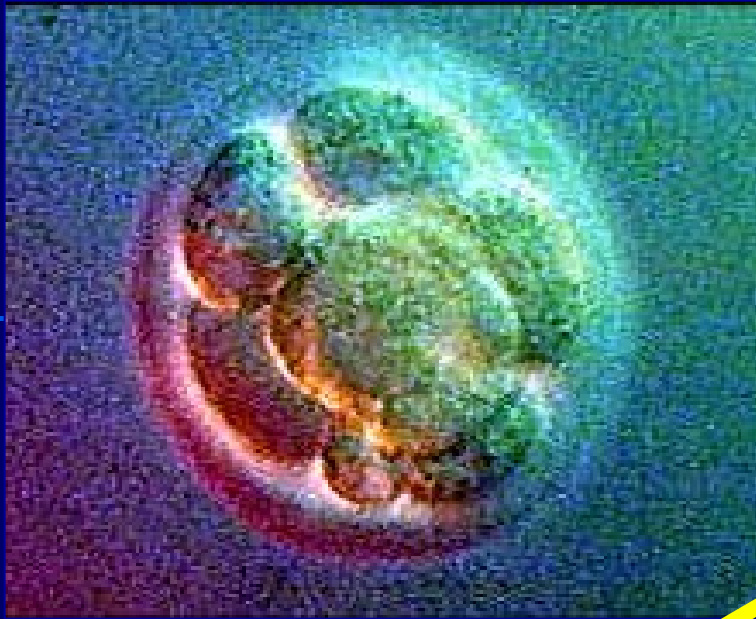
- Má nízkou účinnost
- Zvířata trpí vrozenými defekty
- Zvířata jsou náchylná k nádorovým onemocněním
- Zvířata se nedožívají vysokého věku
- „nevysvětlitelná“ úmrtí - Matilda

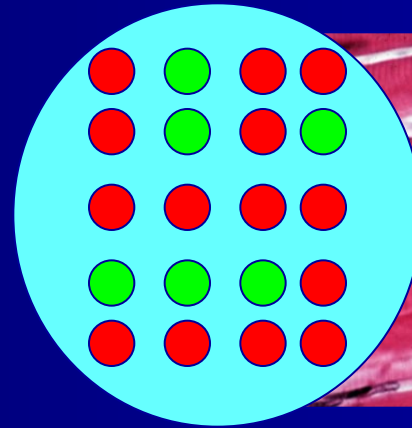
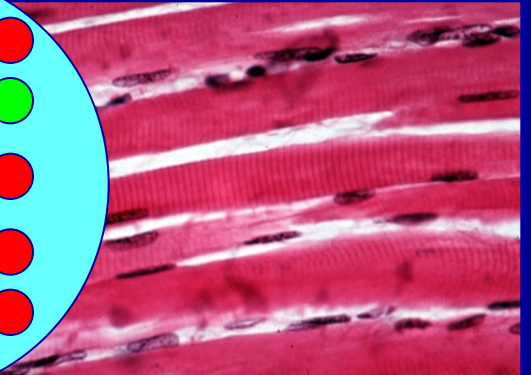
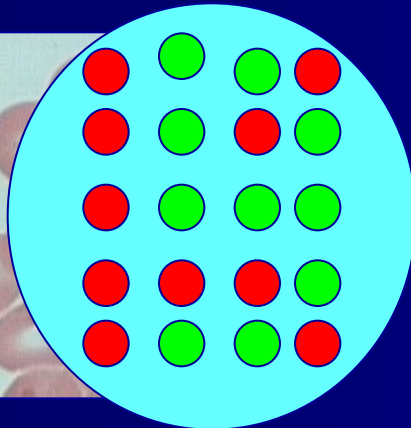
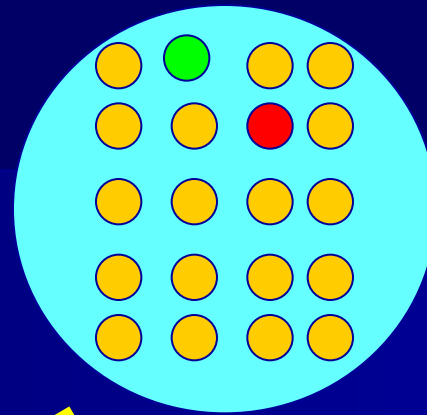
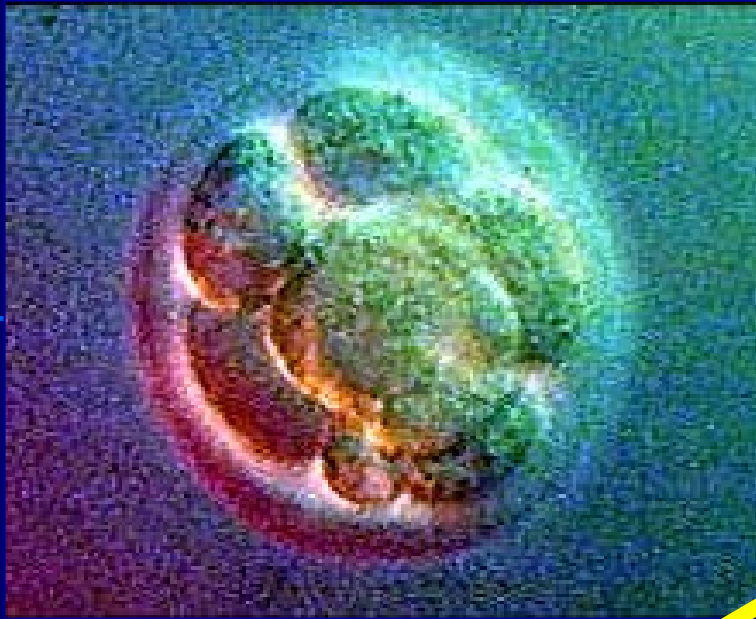
PROČ?

Vadná reprogramace genomu

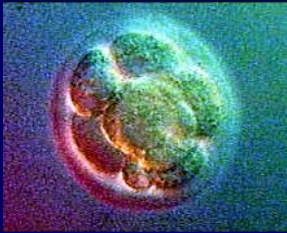




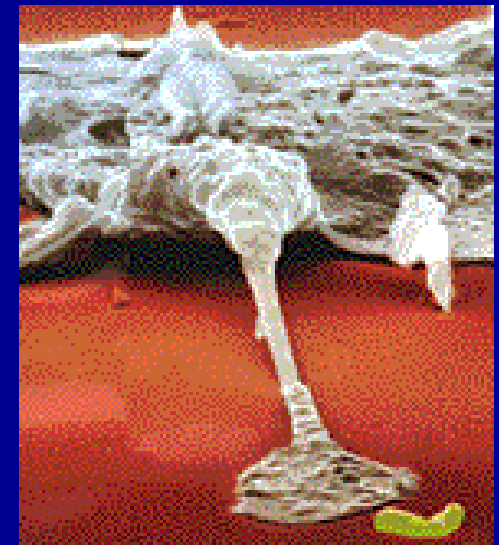
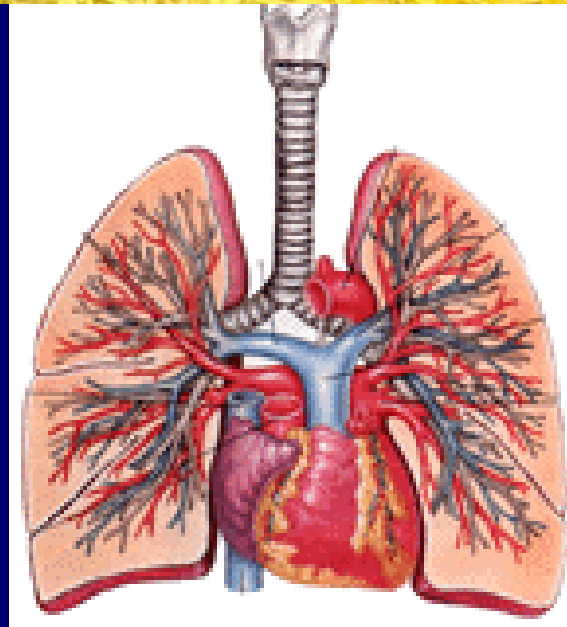
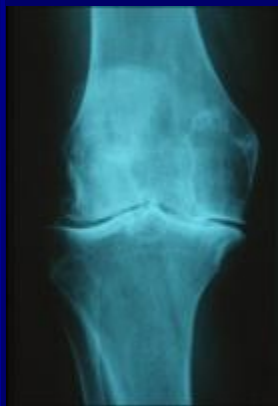
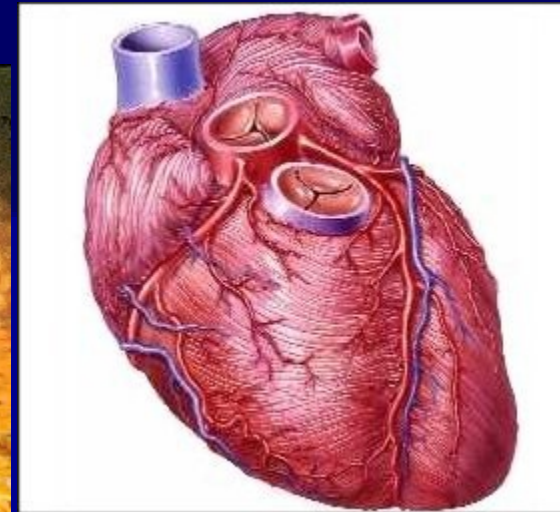




Účinnost je nízká



Defekty



Náhlá úmrtí klonů



Klony prasat

- úhyn bez zjevné příčiny
- stáří 6 měsíců

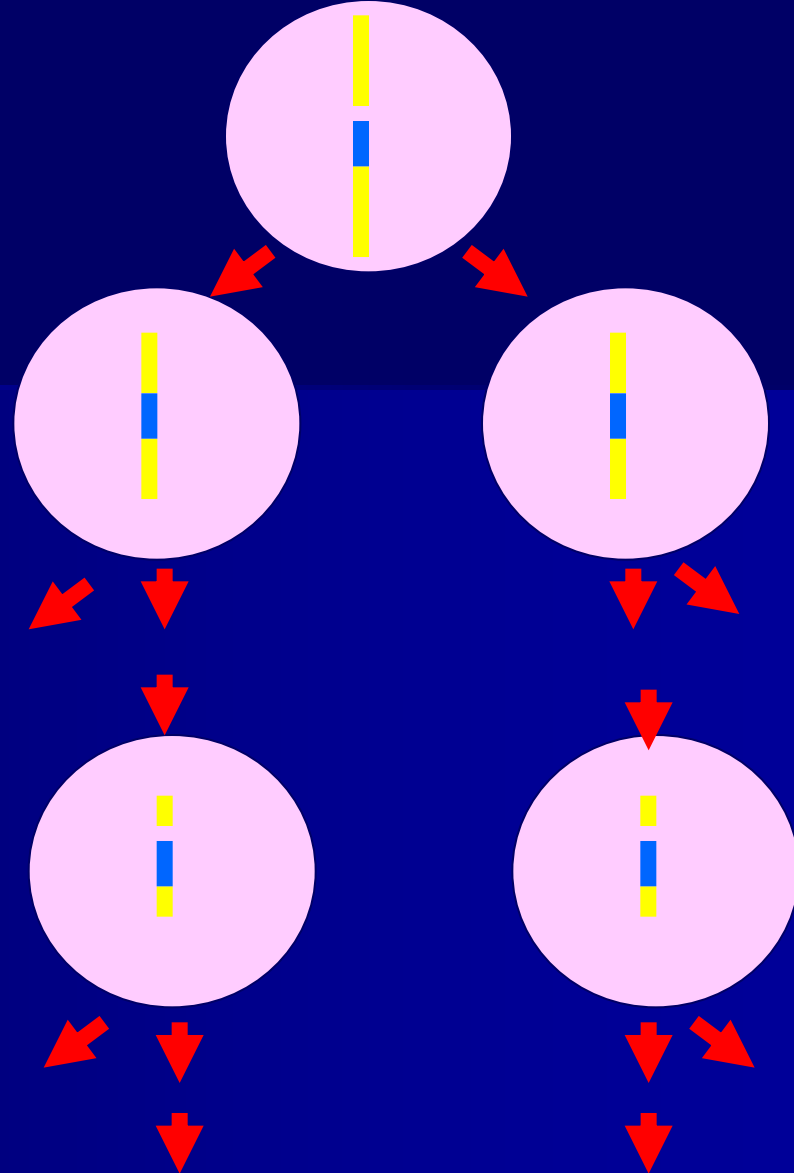
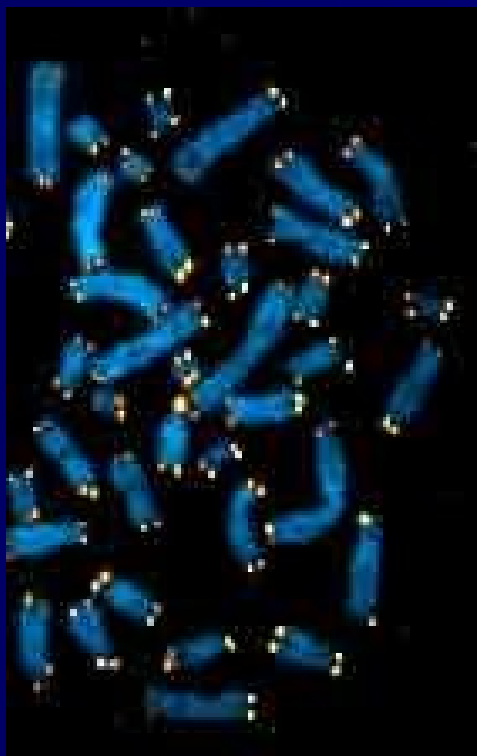
Matilda

- úhyn bez zjevné příčiny
- stáří 3 roky

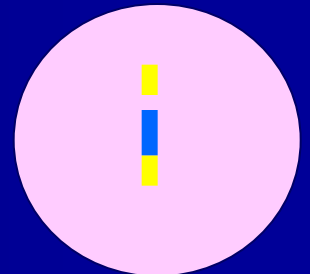
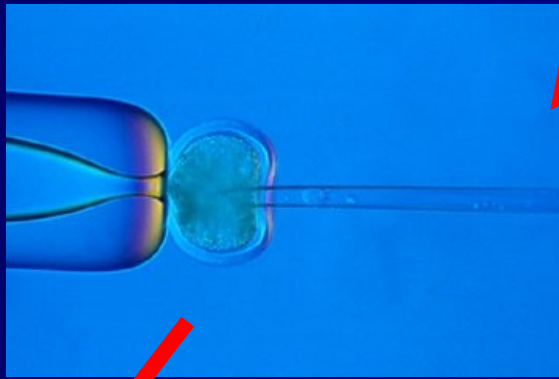
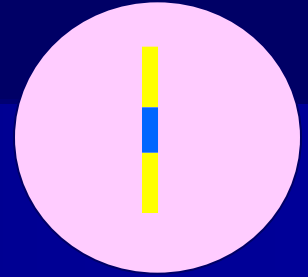
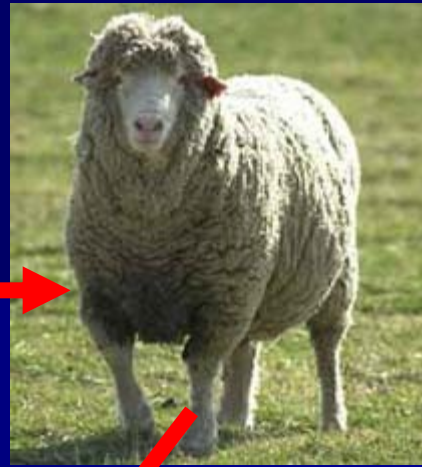
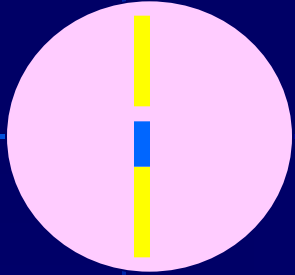
Jak jsou klony staré?



Telomery

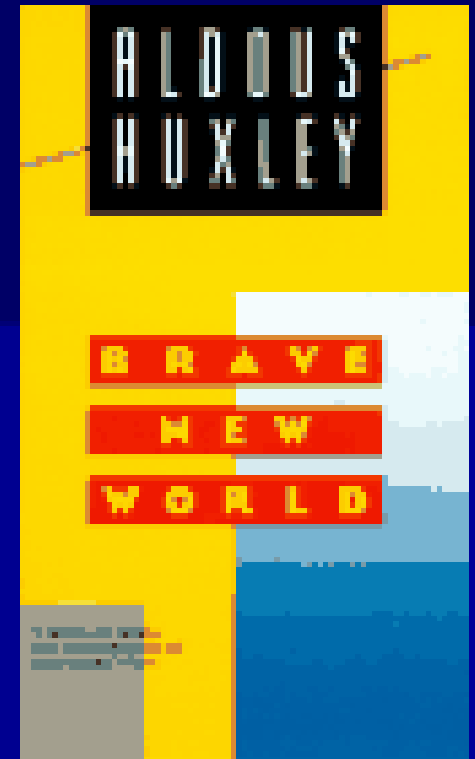


Smrt buňky



KLON

Aldous Leonard Huxley (1894 – 1963)



Konec civilizace (1932)



První údajné klonování člověka Soul - prosinec 1998



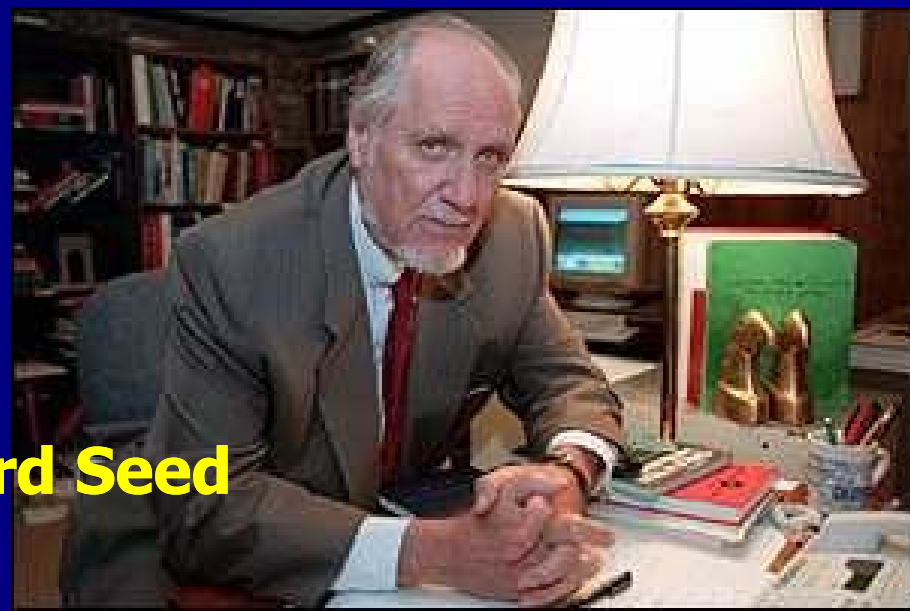
Kdo chce klonovat člověka?



**Severino Antinori
a Panayotis Zavos**



**Brigitte Boisselierová
– společnost Clonaid**



Richard Seed

26. 12. 2002

narodil se první lidský klon?



Raëliáni

**– cílem je geniokracie
vláda úzké skupiny géniů**

Určitě ne!

- **nebyly podány vědecké důkazy**
- **klonování savců má nízkou účinnost**
- **primáty nelze klonovat současnými technikami**
- **za firmou Clonaid je sekta raelinánů**

Bezpečnost klonování

- **Hlavní vědecká námitka proti klonování lidí**
nízká úspěšnost
vysoká zdravotní rizika
pro dítě i matku
- **Každá nová technologie nese rizika**
Testování léku nese rizika a
dobrovolníci je podstupují
na základě poučeného souhlasu
- **Klon – vznikne a nemohl projevit svou vůli**

Biologická bezpečnost klonování

- Defekty
- Biologické stáří
- Délka života
- Odlišnosti v délce telomer
- Záhadná úmrtí klonů
- U člověka – duševní zdraví klonu



Biologická bezpečnost klonování



- Defekty jsou výsledkem rediferenciace buněčného jádra
- Dva názory
 - 1) Povede se optimalizovat přenos jader
 - 2) Neúplná či defektní rediferenciace jádra je dána principem klonování a defekty nelze odstranit

Biologická bezpečnost klonování



- Epigenetické reprogramování jádra po klonování přenosem jader
- Epigenetické změny v pohlavních buňkách probíhají měsíce či roky
- V klonech musí dojít k reprogramování jádra během minut či hodin
- Metylace DNA klonů je defektní

Biologická bezpečnost klonování



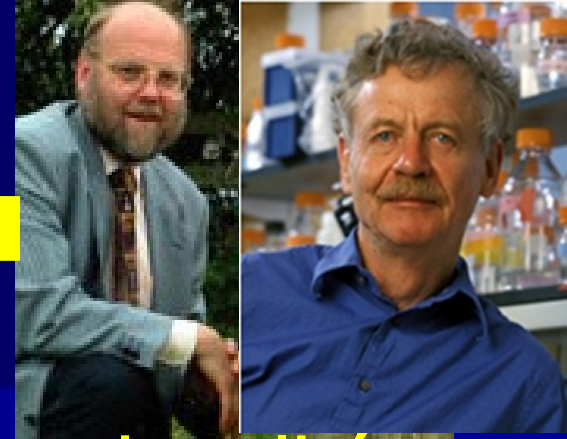
- Rudolf Jaenisch
- 30-50% genů v zárodku klonu má změněnou expresi
- Není technika pro kontrolu správného vzoru exprese na živém embryu
- Nelze selektovat klony s normální expresí genu



Nízká úspěšnost

- **Za současného stavu techniky přenosu jader by bylo pro narození klonu třeba 1000 oocytů**
 - 50 různých náhradních matek
- **Znamená to zásah do života 50 žen, aby byla šance na narození 1 dítěte**
- **Jaká bude role náhradních matek v životě klonu?**
- **Co se stane, když se narodí více klonů? Kdo se o ně postará?**

Rizika tvorby klonu



- Většina biologů – rizika jsou tak velká, že opodstatňují zákaz reprodukčního klonování
- Wilmut a Jaenisch

Pokud se někdo pokusí klonovat člověka a narodí se postižené dítě, ohrozí to celou jednu část biomedicínského výzkumu

Rizika tvorby klonu

- Jednou se podaří vyvinout bezpečné techniky srovnatelné s ART
- Přinese to obrovský pokrok do biomedicíny
- Bezpečnost sama o sobě není důvod pro trvalý zákaz



Anne McLaren

Epigenetická normalizace klonovaného embrya

Wakayama et al. (2013)

- Klonování 25 generací myši bez zjevných defektů
- Zygota (klonota) vytvořená přenosem jader vystavena inhibitoru histon deacetyláz (trichostatin A)

Mechanismus účinku nejasný



Rizika tvorby klonu



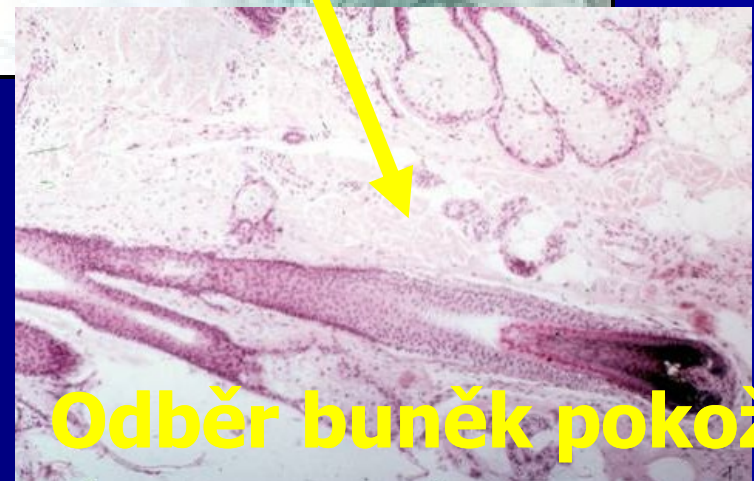
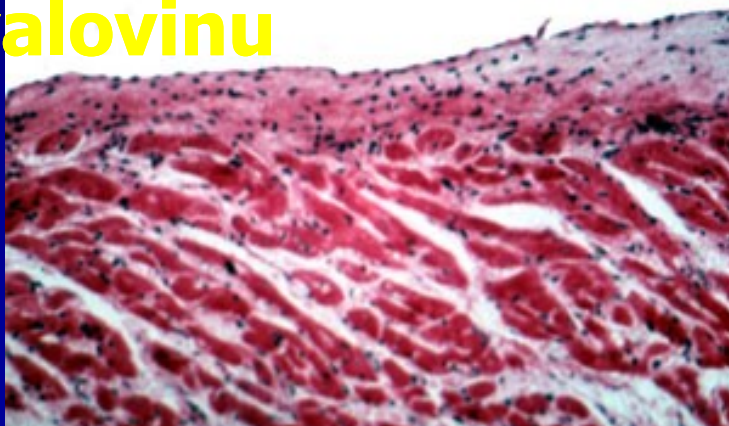
- **Zastánci klonování**
- Pokud by měla být na prvním místě absolutní bezpečnost – zastavil by se biomedicínský výzkum
- Testy léků – nebezpečné ale přínos vyváží rizika
- Pokud jsou však rizika při pokusech na zvířatech vysoká, klinické zkoušky nezačnou

Terapeutické klonování

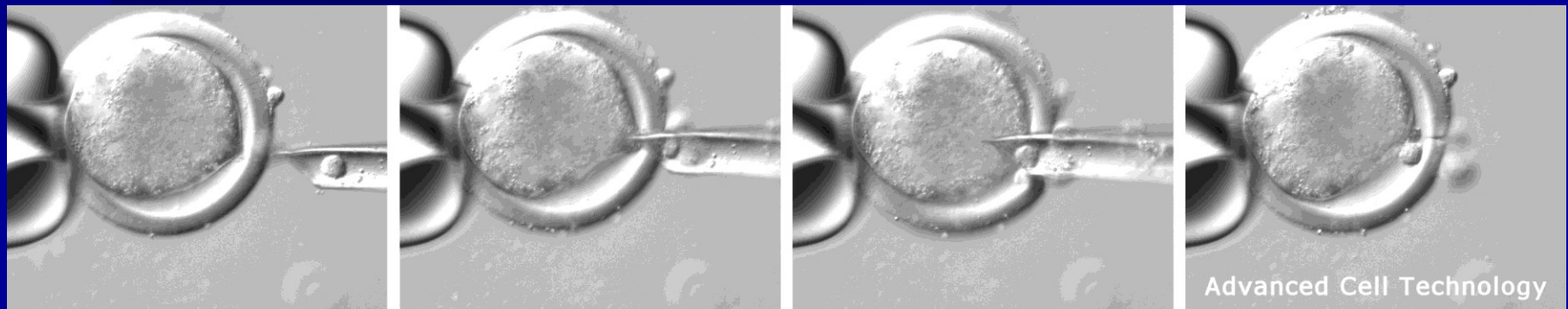
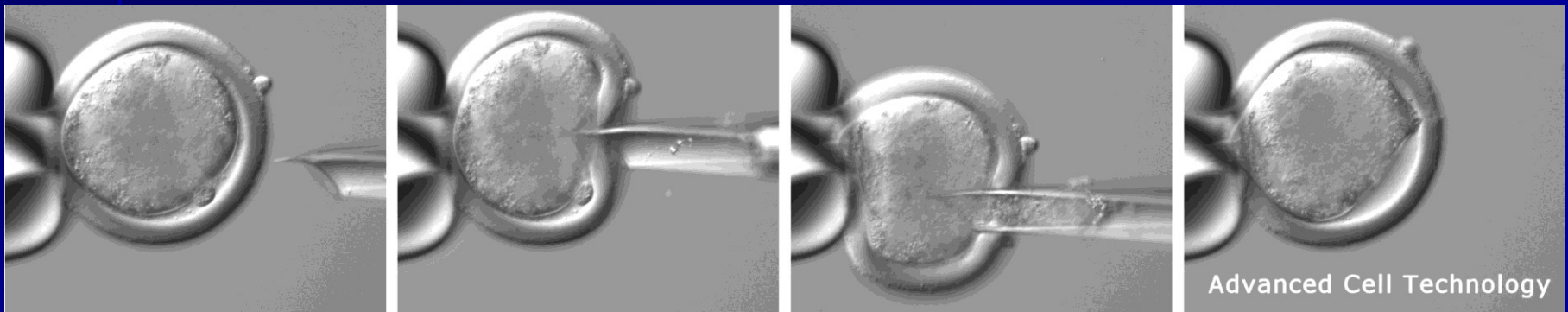
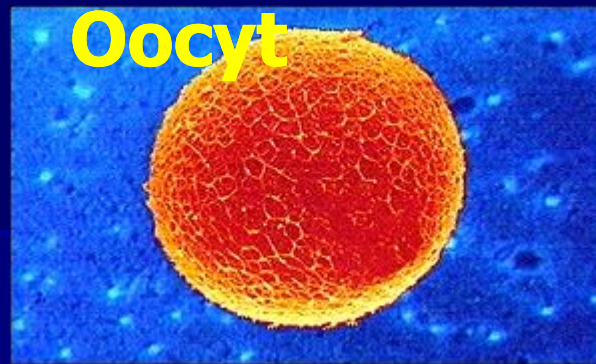
Pacient



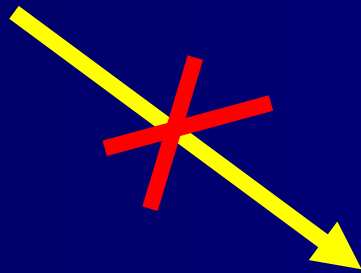
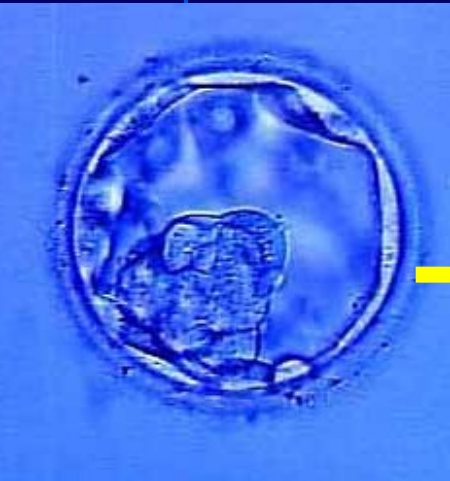
Potřebuje srdeční svalovinu



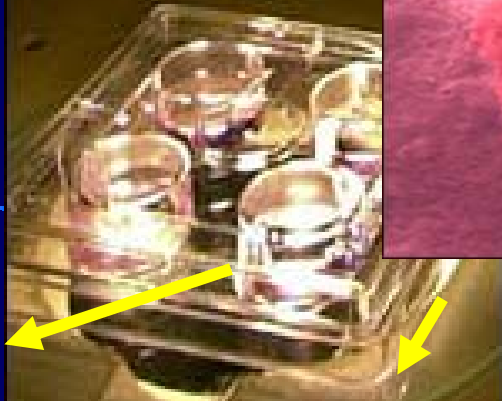
Odběr buněk pokožky



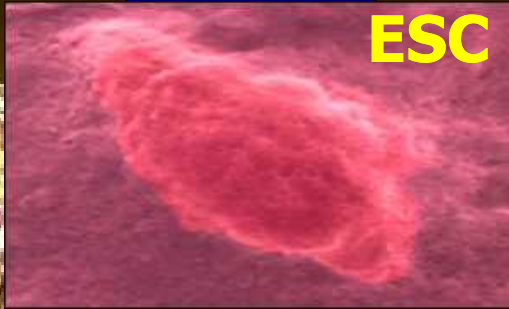
Embryonální kmenové buňky



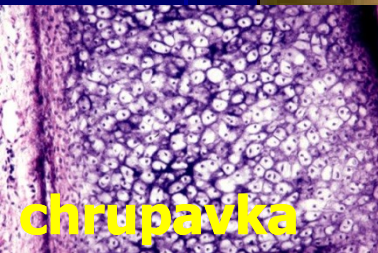
Diferenciace



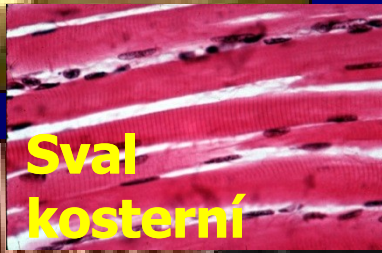
ESC



Diferenciace



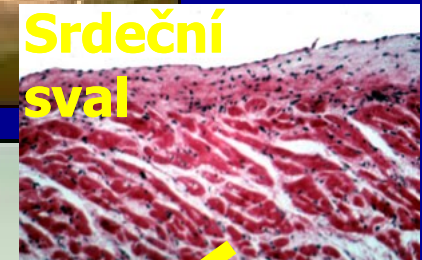
chrupavka



**Sval
kosterní**



**Langerhansovy
ostrůvky**



**Srdeční
sval**



Pacient

Přínosy a rizika

- Přínosy jsou sporné
- Rizika enormní

K čemu by to bylo dobré?

- 1) **Kopie konkrétních jedinců**
- 2) **Děti pro neplodné a homosexuální páry**
- 3) **Dárci orgánů pro „předlohu“**
- 4) **Nic by se nemělo jen tak zakazovat**



Klon konkrétní osoby



- **Osobnost je určena geny jen zčásti**
- **Klon vyrůstá v jiných podmínkách**
- Existuje variabilita v chování klonů zvířat. Srovnatelná s mláďaty z normálního vrhu.
- V důsledku epigenetických změn se budou klony lišit během života čím dál tím více

Děti pro neplodné a homosexuály

- Až 20% manželských párů v ekonomicky rozvinutých zemích nemůže mít děti.



Neplodnost ART



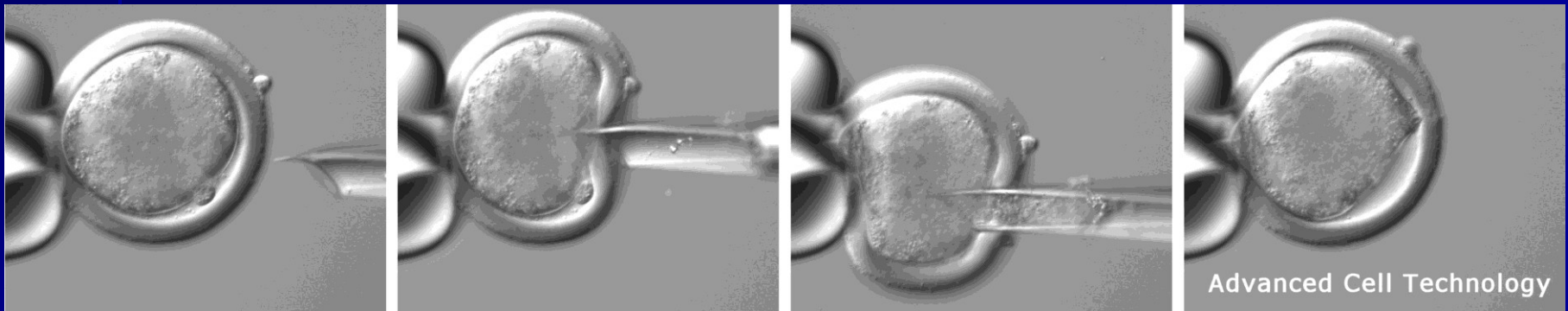
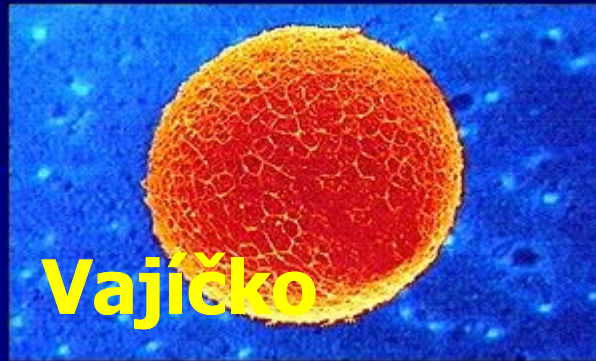
Nepomůže všem

Pomohlo by klonování

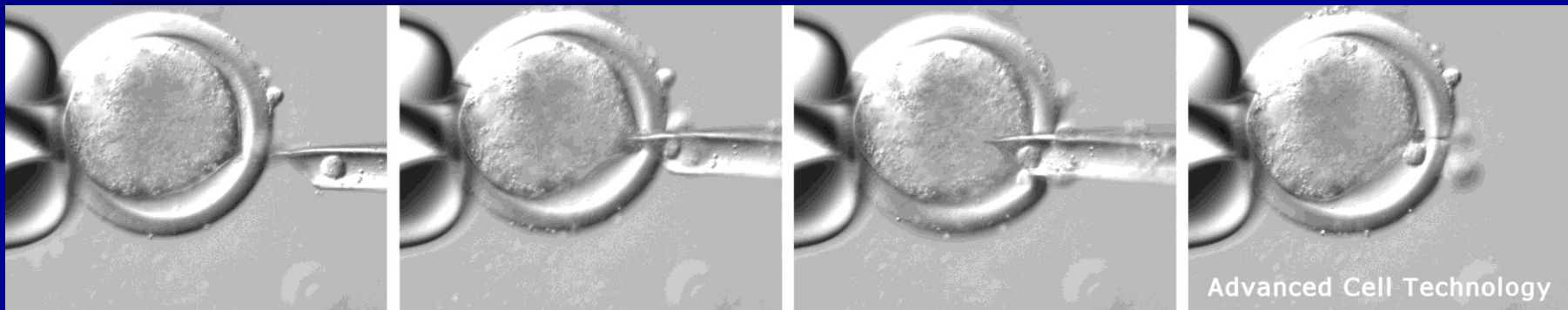
Pokožka



Vajíčko



Advanced Cell Technology



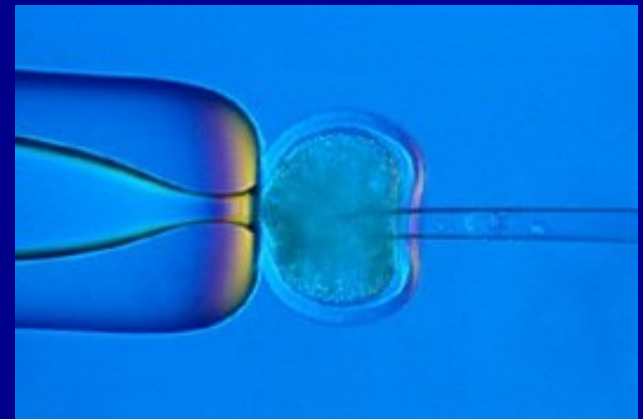
Advanced Cell Technology



Děti pro neplodné a homosexuály



**Nikdo nesmí nikomu upírat právo
na založení rodiny
zplození dětí**



Momentální stav zákazů reprodukčního klonování

- Není zákazem či omezením reprodukce
- Zákaz reprodukčního klonování

Chrání člověka před technologií, která je drahá, neúčinná a nebezpečná.

Brání narození klonů, které by byly téměř s jistotou postiženy jak duševně tak i fyzicky.

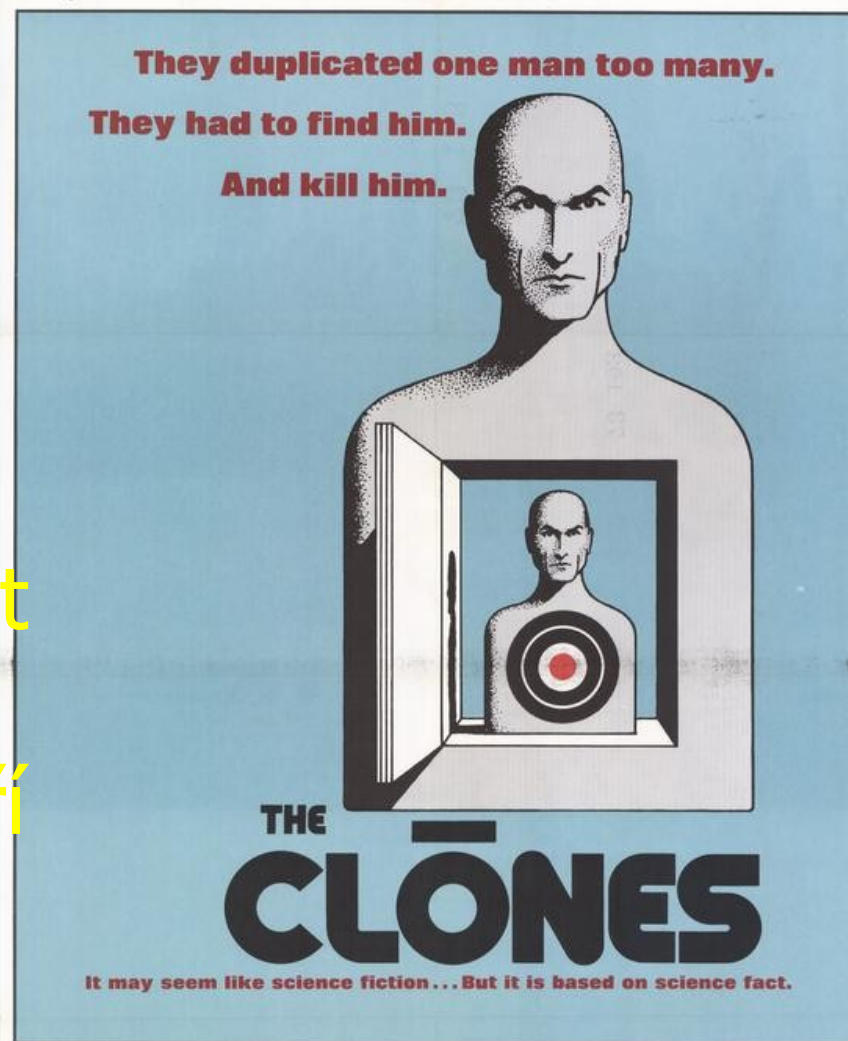
Dárci orgánů pro „předlohu“

- **ETIKA!**
- Byly by buňky klonu vhodné pro léčbu „předlohy“?
- Otázka času
Stihlo by se to?



Svět se bojí klonů

- Lidé se bojí věcí, kterých se obávat nemusejí
- Lidé snadno uvěří ve „spiknutí“
- Lidé se nebojí věcí, kterých by se měli obávat



A HUNT-CARD Production • Starring Michael Greene • Gregory Sierra • Otis Young • Susan Hunt • Stanley Adams
Executive Producer Barbara Burgdorf and John Barrymore Jr. • Producer Lamar Card • Producer Paul Hunt
Directors Paul Hunt & Lamar Card • Associate Producer Michael Bennett • Screenplay Steve Fisher • Music Allen D. Allen
Cinematography Gary Graver • EASTMAN COLOR • WIDE SCREEN • A FILM-MAKERS INTERNATIONAL Release • PG

A FILM-MAKERS INTERNATIONAL RELEASE



1 týden po zprávě o narození Dolly

90% Američanů pro zákaz klonů

67% je proti klonování zvířat

56% by odmítlo maso z klonů

- Výsledek prezentace Dolly ve sdělovacích prostředcích
- Hysterie opadla
- Averse zůstala



Schválení živočišných produktů z klonů - FDA

- 2007 - USA – FDA
- Maso a mléko klonů skotu, koz a prasat se neliší od produktů normálních zvířat
- Potomci klonů vzniklí oplozením se neliší od normálních zvířat
- Veřejnost – požaduje značení „Made from clone“



Živočišné klony - EU

2008 – EFSA

Živočišné produkty klonů neškodí zdraví spotřebitelů

Klonování narušuje welfare zvířat

a) klonů

b) samic, které klon donosí

(giant offspring syndrome)

Tvorba klonů pro produkci potravin je momentálně neetická.

Potomci klonů

V USA – normální zvířata

V EU - ?

Požadavky, aby
produkty potomků
klonů prošly stejným
schvalovacím řízením
jako léky živočišného
původu



Dundee Paradise

Evropský parlament

2015

Zákaz klonování hospodářských zvířat – nikoli psů a koček

Zákaz dovozu potravin z klonů

Zákaz chovu potomků klonů

Klonování člověka

- Pokud bude klonování bezpečné
Bude se rozhodovat o klonování člověka na základě etických norem
- Námitky
Klonování je nemorální,
protože je nepřirozené

Klonování a náboženství

- Destrukce spousty embryí
- Otázka počátku lidského života
- Klonování jako „hra na boha“
- Otázka účelu lidského života
- Náboženské texty klonování neřeší
- Existuje široké spektrum názorů

Judaismus

- Velká váha medicíny
souhlas s terapeutickým klonováním
- Reprodukční klonování
- Různé názory
 - 1) z náboženského hlediska bez výhrad
 - 2) mělo by se zakázat



Judaismus

- Lidé
partneři boha
spolutvůrci světa
- Je povinností měnit svět tak, aby v něm bylo méně utrpení - medicína



Judaismus

Rabi
Avraham
Steinberg



- Mít dítě za jiným účelem než naplnit boží příkaz „Milujte se a množte se“ není neetické
- Narození dítěte, které bude dárce buněk pro nemocného přináší dvojí dobro
 - 1) Narození dítěte
 - 2) Záchrana lidského života
- Bůh neměl v úmyslu nechat lidi klonovat
- „Milujte se a množte se“ nikoli „Klonujte se“

Judaismus

- Klonování může narušit tradiční rodinné vztahy
- Dítě nebude mít jasně identifikovatelné rodiče na základě judaistického práva (halacha)
- Klonování nezahrnuje pohlavní akt a jako takové není přímo zakázáno předpisy, které upravují vztah muže a ženy



Judaismus

- Velké obavy z defektů klonů
- Obavy z přenosu somatických mutací
- Defekty plodů klonů
- Nepřijatelné nábožensky i světsky
- Nepanují obavy, že by klon neměl duši
- Izrael
moratorium na reprodukční klonování



Římsko–katolická církev

- Striktně odmítá klonování
- Stejné argumenty jako proti ART, antikoncepci a interrupci
 - 1) Oddělení fyzického pohlavního aktu od početí
 - 2) Ničení embryí, která vznikají, je ekvivalentem interrupce
- Odmítají reprodukční i terapeutické



Protestantské církve

- Hlavní protestantské církve



Požadují moratorium na klonování dokud se nevyjasní etické otázky

Nejsou v principu proti klonování, pokud je zaručena lidská důstojnost pro klon

Protestantské církve



- Některé protestantské církve
- Klonování potlačuje lidskost klonu
klon vzniká jinak, než jak to určil bůh
- Klonování posouvá člověka na „šikmou plochu“
- Klonování může oživit eugeniku -
omezí rozmnožování jen na určitou
skupinu lidí

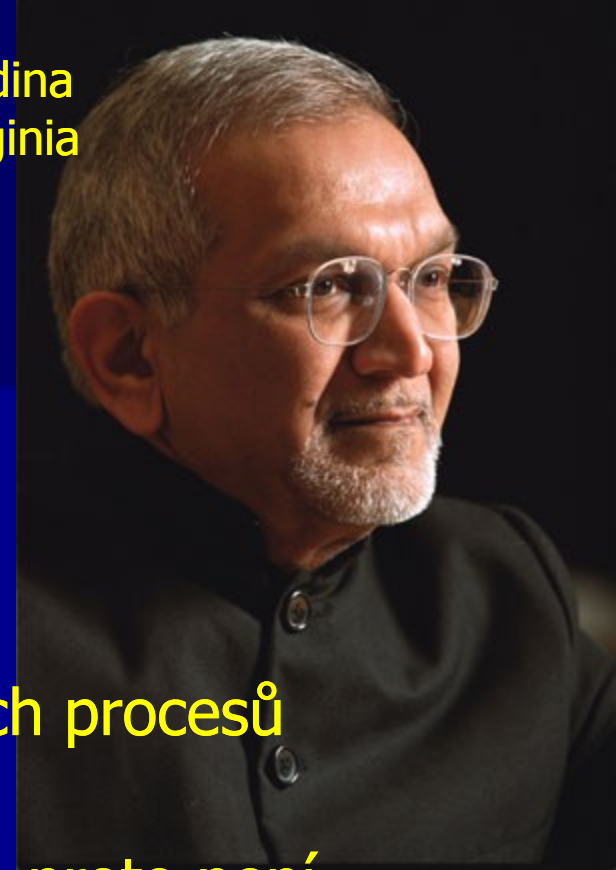
Islám



- Korán vyzývá k zásahům, které mají za cíl léčbu. Varuje před arogancí v těchto otázkách
- Korán považuje „párování pohlaví“ za universální princip a klonování jej popírá
- Muslimové se obávají, že klony budou diskriminovány a mohou se stát zbožím
- Většina muslimských zemí klonování člověka zakazuje

Islám

- Mezi islámem a klonováním existují oblasti shody a rozporu
- Lidé - spolutvůrci světa s bohem
- Lidé by měli zasahovat do přírodních procesů když to pomůže člověku
- Oduševnění nastává až po 40. dnu, proto není manipulace s embryi zakázána
- Pokud vede klonování k početí dítěte mezi manželi, nelze jej odmítat
- Pokud klonování nezpůsobuje újmu na zdraví a udrží si nezávislost na politických vlivech, není v rozporu s islámem



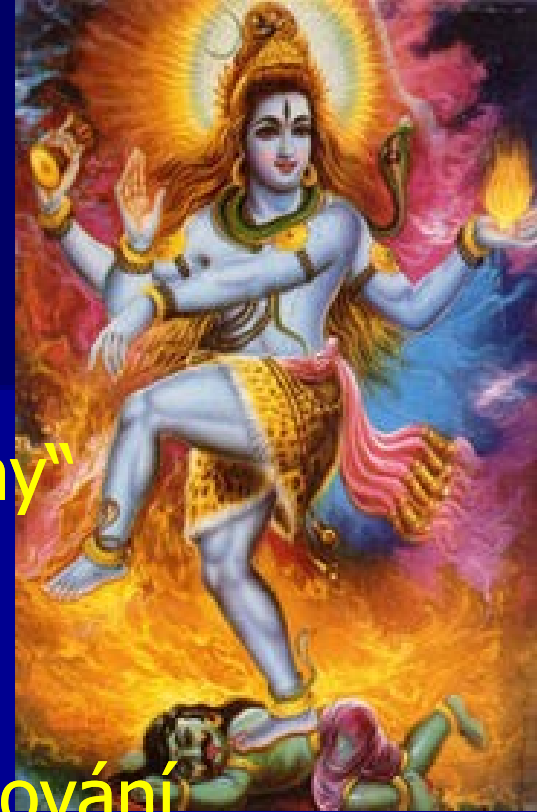
Hinduismus

- Mezi hinduisty
 - silná averze ke klonování
- Hinduističtí duchovní
- Klonování
 - arogantní
 - hříšné
 - je to hra na boha
- Klonování není potřeba
- Provází jej příliš vysoké riziko



Hinduismus

- Klon může žít i po smrti „předlohy“
Problém s karmou
Problém s reinkarnací
- Chtějí velmi jasnou regulaci klonování
- Tvorba legislativy - účast duchovních
- Neodmítá pokrok ve vědě vedený dobrými úmysly. Pokud se věda dělá ze sobectví, lakoty a touhy pomoci, vážně naruší karmu



Buddhismus

- Nemají oficiální stanovisko ke klonování. Každý se učí sám.
- Klonování není samo o sobě špatné
- Dvě základní složky života
 - Rupa – hmota
 - Nama – duchovno
- Klonování manipuluje jen s hmotou
- Duchovno klonu – svobodný rozvoj



Buddhismus

- Klonování není v rozporu s buddhismem, dokud nikomu neubližuje
- Obavy ze zneužití
- Jaká je motivace těch, co chtějí klonovat?
- Klonování narušuje přirozený stav světa a to může být nevratné.



Buddhismus

- Odmítá klonování lidí
- Terapeutické klonování
„opětovné nastartování
životního cyklu“



Woo Suk Hwang

Klonování a kulturní hodnoty



- Klonování vynikajících plemenných zvířat inspirovalo obavy z klonování vynikajících lidí.
- Kdo je VYNIKAJÍCÍ?
- Muslimská konference v Dubaji:
Klonovat by se měli jen ženatí muži.

- Ræeliání:

Klonovat by se měli lidé s nejvyšším IQ



Klonování a kulturní hodnoty



„Přenos jader somatických buněk není vlastně vědecká technika pro reprodukci jedinců. Jde tu o to klonovat naše hodnoty. Raeliáni budou klonovat chytré lidi, protože to je to, čeho si váží. Muslimové budou klonovat muže.“

Klonování a kulturní hodnoty

- **Obavy:** Klonování může omezit rekombinační vloh a zablokovat evoluci člověka.
- **Protiargument:** Klonování je drahé a v dohledné době nenabude rozsahu, který by geneticky poznamenal populaci. Preference by se lišily a klony by byly geneticky různorodé. Evoluci jsme již prakticky zablokovali medicínským a technologickým omezením přírodního výběru.



Psychologická stránka klonování

- Psychologická stránka
 - Klon
 - Rodiče
 - Tvůrci
- Klíčové pro případné povolení reprodukčního klonování

Psychologická stránka Klon

- Kant: Člověk by měl přijít na svět, aby naplnil svůj vlastní život. Pokud přijde na svět z jiných důvodů, pak je tím narušena jeho důstojnost.



Emanuel Kant
(1724-1804)

Psychologická stránka Klon

- Většina bezdětných párů si může zajistit dítě jinými prostředky než reprodukčním klonováním

IVF

dárcovství gamet

adopce



Psychologická stránka Klon

- Klon vzniklý jako dárce buněk pro léčbu nemocného
- Může to posílit vazbu mezi klonem a „předlohou“
- Ale je tu narušena kantovská zásada: existuje účel, pro který klon vznikl
- Klon může cítit frustraci z toho, že bez tohoto účelu by se nikdy nenarodil



Psychologická stránka Klon

- **Potenciální dárci buněk pro léčbu jsou získáváni i přirozeným počtím**
- **Není objektivní důvod, proč by takto počaté dítě mělo být bráno jako méněcenné a rodiče k němu měli horší vztah**
- **Obecně je početí života pro léčbu chápáno jako problematické**
- **Řešení - terapeutické klonování, při kterém nevzniká klon**

Psychologická stránka Klon

- Vytvoření klonu zemřelé osoby
- Bude klon chápat jako svůj životní úkol pokračování v životní dráze „předlohy“?

Co když klon selže?

Jak to ponese klon?

Jak to ponесou rodiče?



Psychologická stránka Klon

- **Přenášení ambicí a životních cílů na dítě se děje i bez klonování**
- Hovoří se o „ukradené individualitě“
- Individualita se vytváří vlastními zkušenostmi a vzpomínkami. Klon si může udržet vlastní individualitu.
- Rozhodující je jeho pocit. Pokud má pocit, že individualitu ztratil, je to pro něj, jako by ji ztratil skutečně.

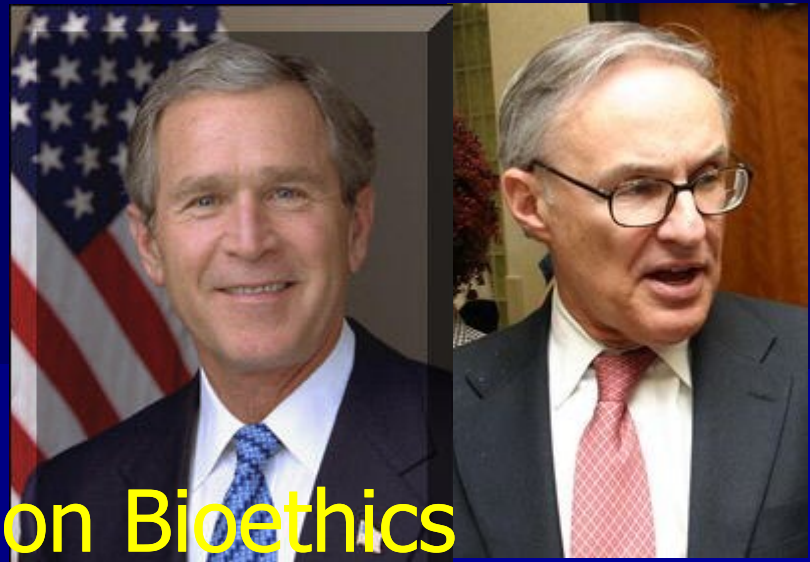
Psychologická stránka Klon

- V konfrontaci s „předlohou“ může mít klon pocit ztráty individuality
- Přispívá k tomu i názor lidí v okolí, kteří vidí klon „jen jako kopii“
- Klon – „život ve stínu“

Klonování a veřejnost

- **2002 – USA**
- Pro reprodukční klonování - 25% lidí
- Většina odmítajících:
Klonování je nemorální
- Minimum odmítá pro nebezpečnost
- **Masové odmítání
založeno na emocích**

USA



- President's Council on Bioethics
- Předseda Leon Kass
- Odpor Američanů ke klonování je „moudrá antipatie“.
I když není ničím zdůvodněný,
je hoden zřetele.

Zákaz reprodukčního klonování



- Mezinárodní konvence na ochranu lidského genomu
- Národní legislativa
- Zakázalo více než 30 zemí
- 2005 - OSN
zákaz jakéhokoli klonování v deklaraci, jejíž neplnění nelze postihnout sankcemi

Pro – USA a katolické země

Proti – Evropa – nehodlá dodržovat

Islámské země – zdržely se hlasování

USA



- Stály za deklarací OSN
- V USA není nijak regulováno
- Politici se shodují na zákazu reprodukčního klonování
- Politici se neshodují na zákazu terapeutického klonování
- Obavy z povolení terapeutického byla by dostupná technika pro reprodukční

Lze oddělit reprodukční a terapeutické?

- Podle mnohých to lze
Reprodukční klonování
přenos embrya matce a narození klonu



V počáteční fázi - stejné

Zákaz nebo tvrdou regulací?

- Panayotis Zavos
- „Dnes může klonovat každá klinika IVF. Zákaz jen posune tyto aktivity do ilegality. Džin už utekl z láhve.“



Zákaz nebo tvrdou regulaci?

Opor k reprodukčnímu klonování je tak silný, že zatím neproběhly žádné diskuse o tom, jak by měla vypadat jeho regulace. Shoda je jen na absolutním zákazu.

Bude zapotřebí lidských klonů?

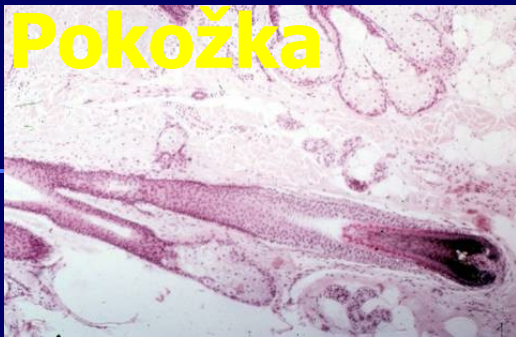


Pohlavní buňky pro početí dítěte
vzniknou z ESC.

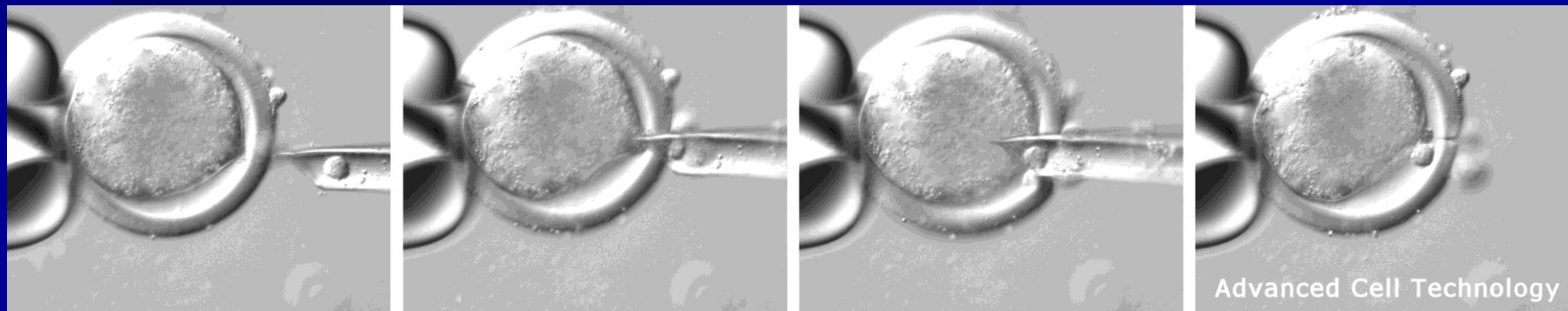
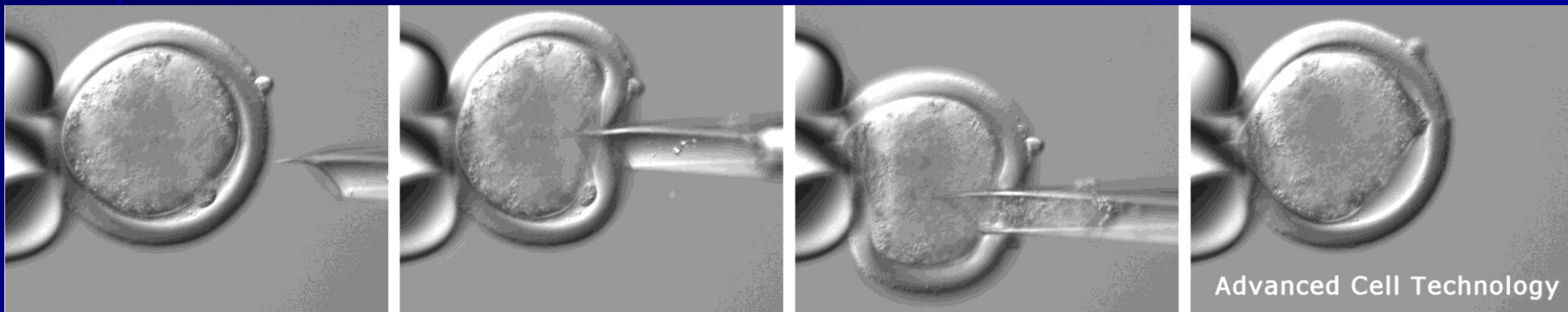
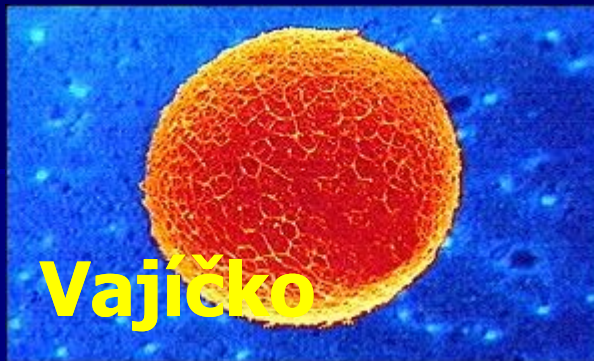
Léčba neplodnosti terapeutickým klonováním



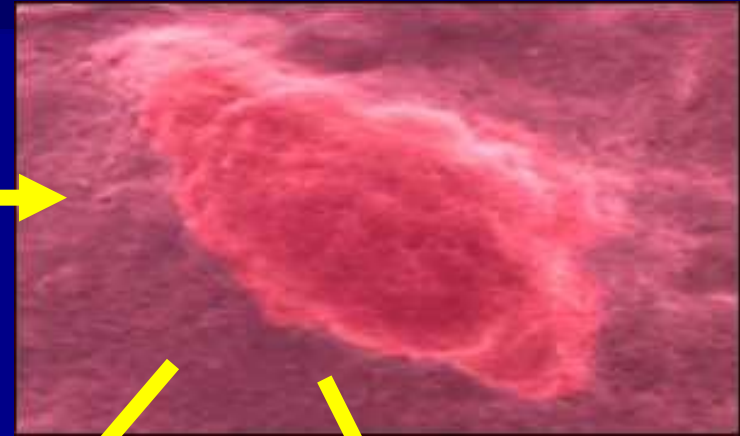
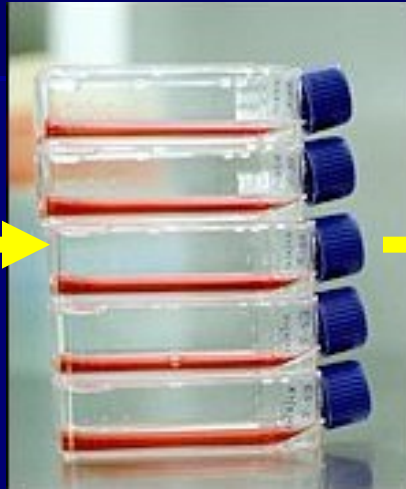
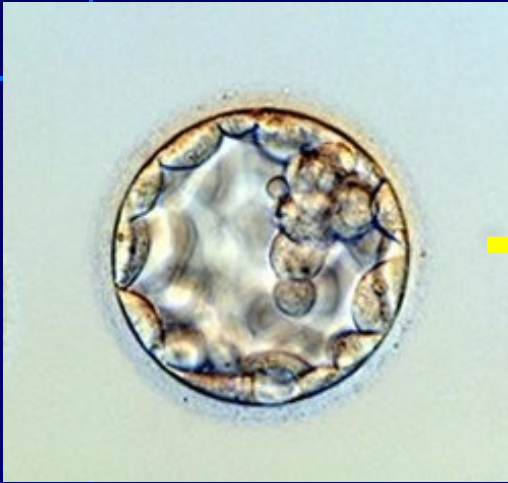
Pokožka



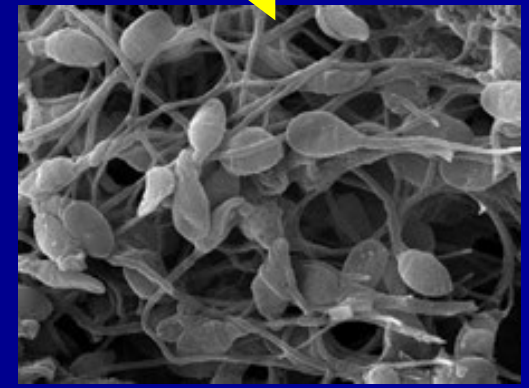
Vajíčko



Embryonální kmenové buňky

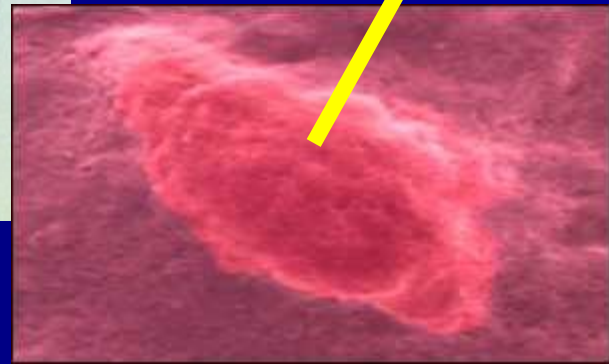
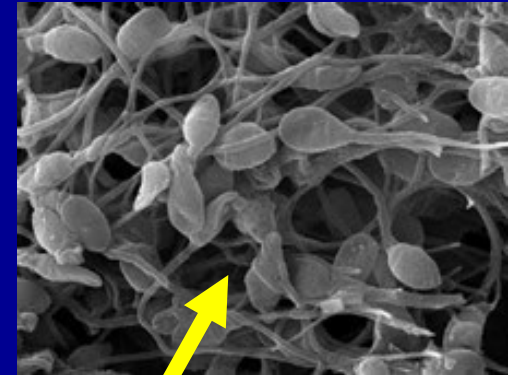
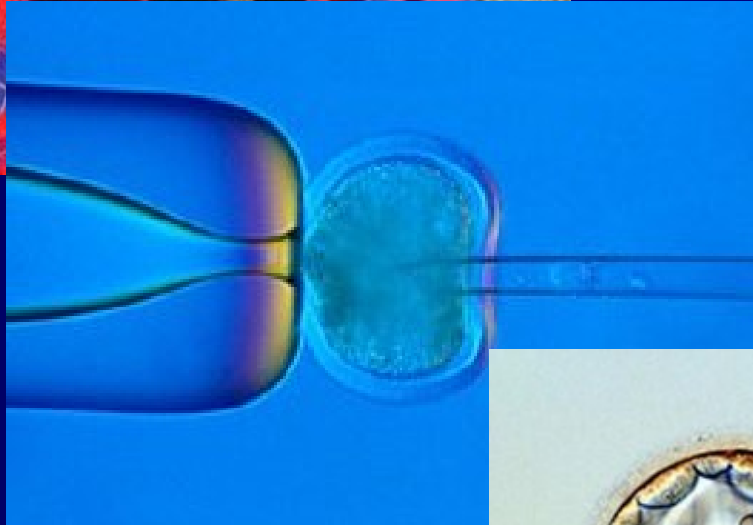


Vajíčko

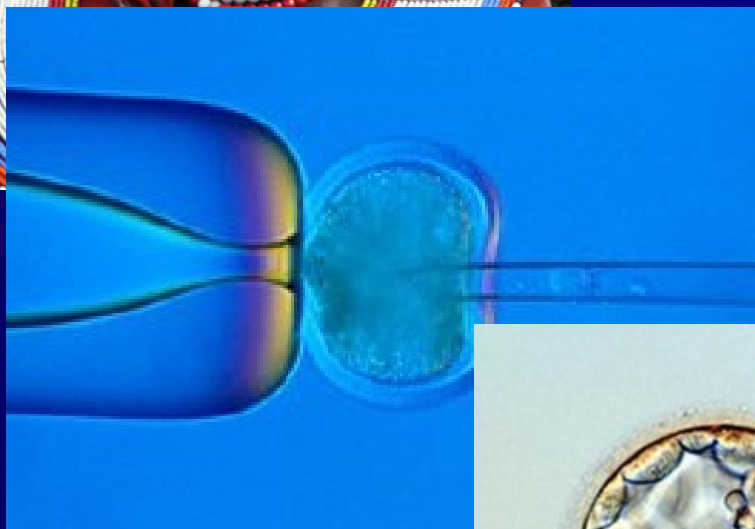


Spermie

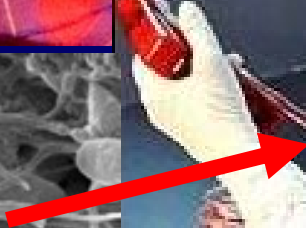
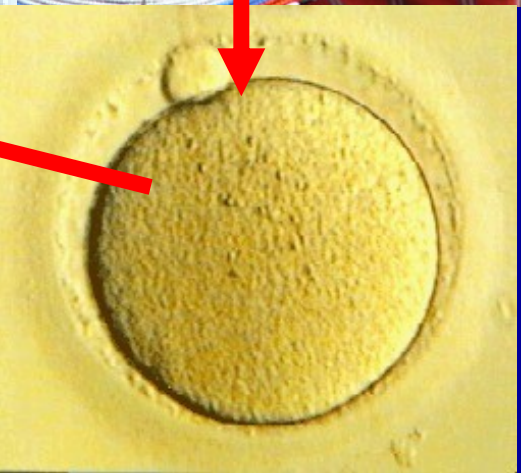
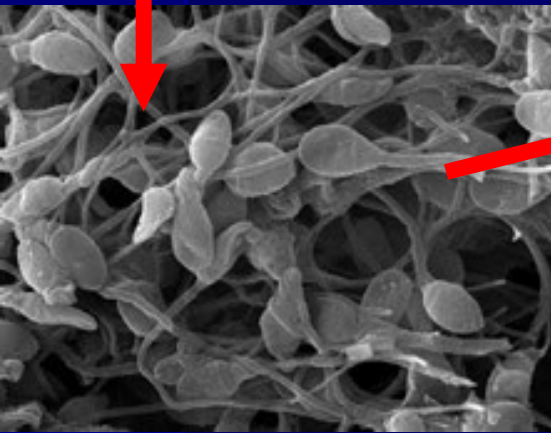
Spermie z ESC



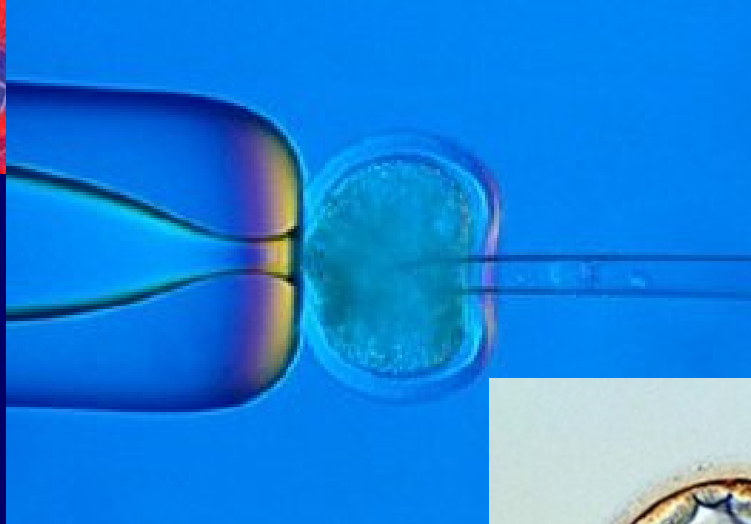
Oocyty z ESC

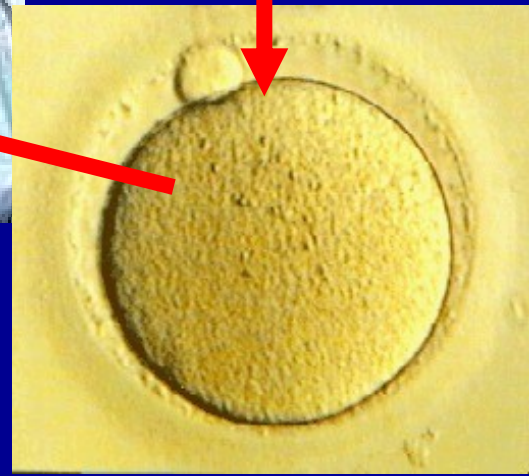
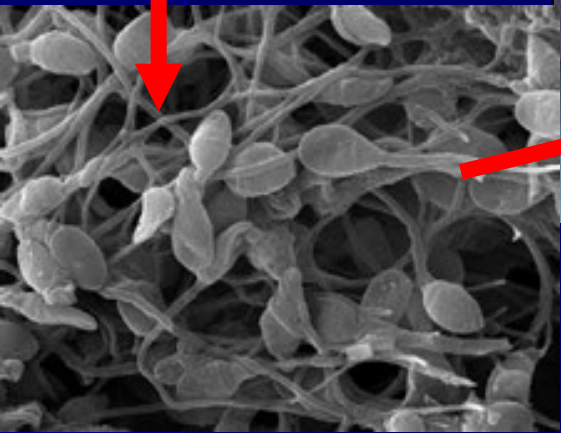


Asistovaná reprodukce

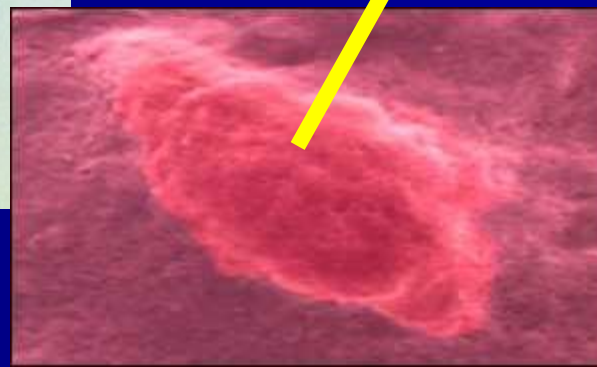
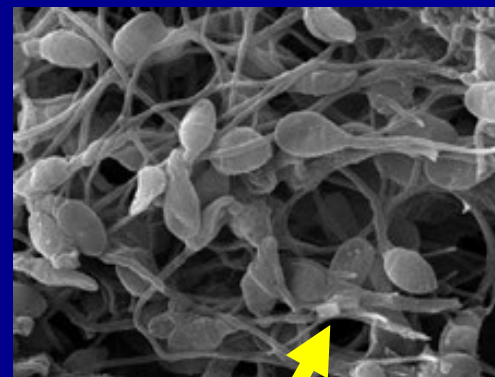
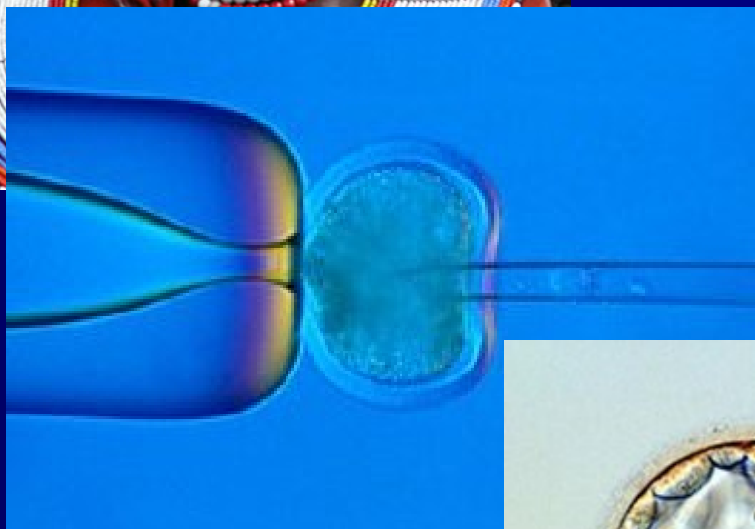


Vajíčka lze získat i z buněk s XY





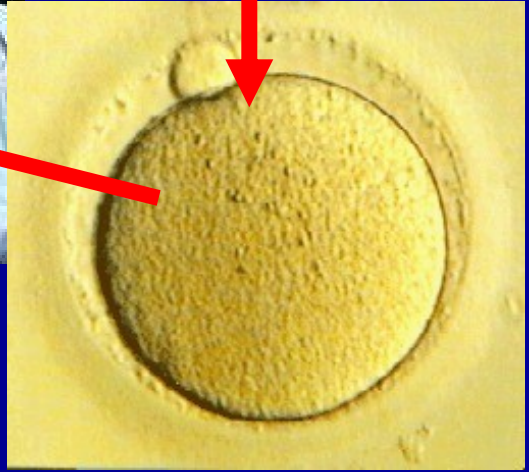
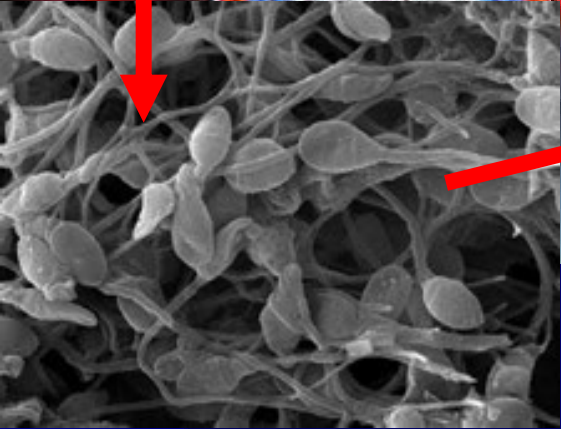
Spermie lze teoreticky získat i z buněk s XX

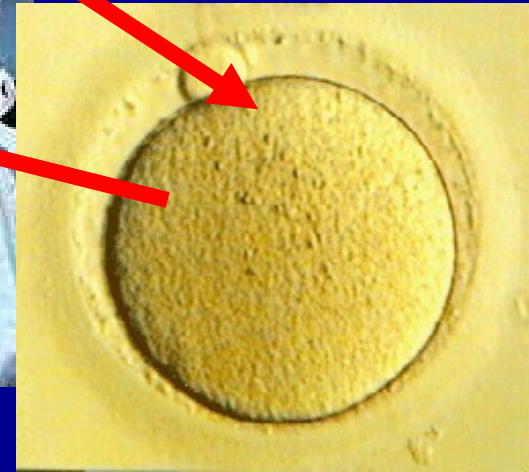
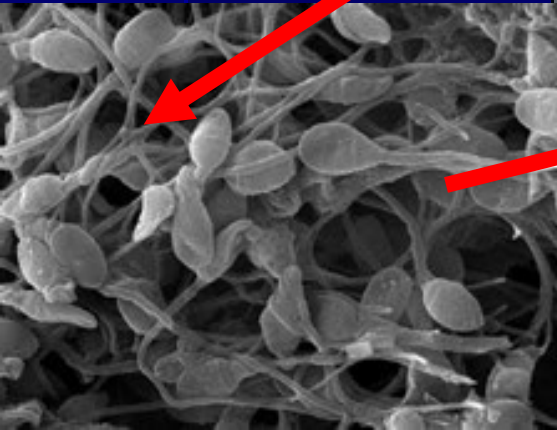


SRY





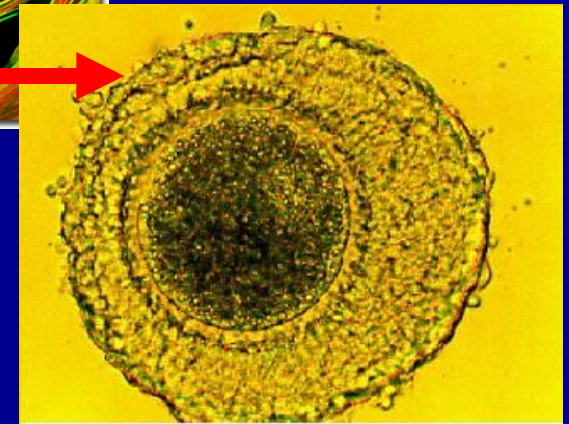
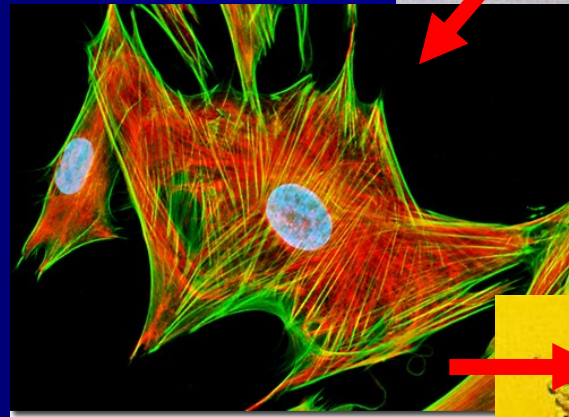




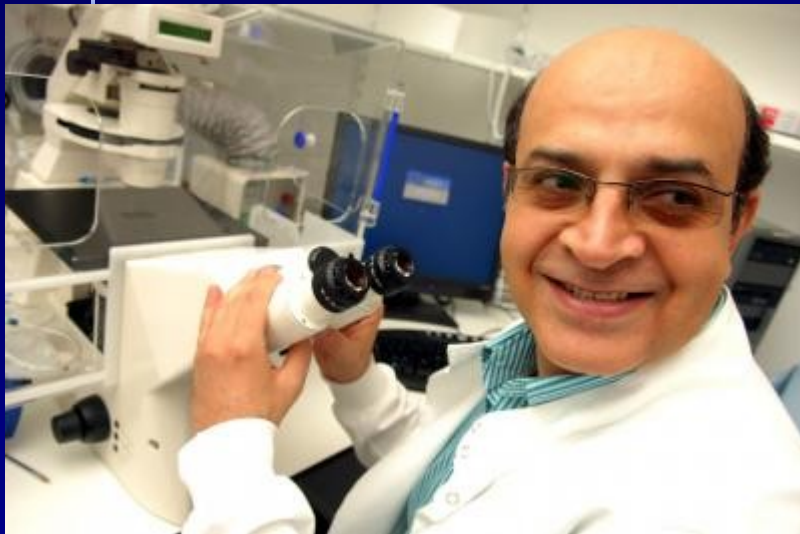
Pohlavní buňky přímo ze somatických buněk



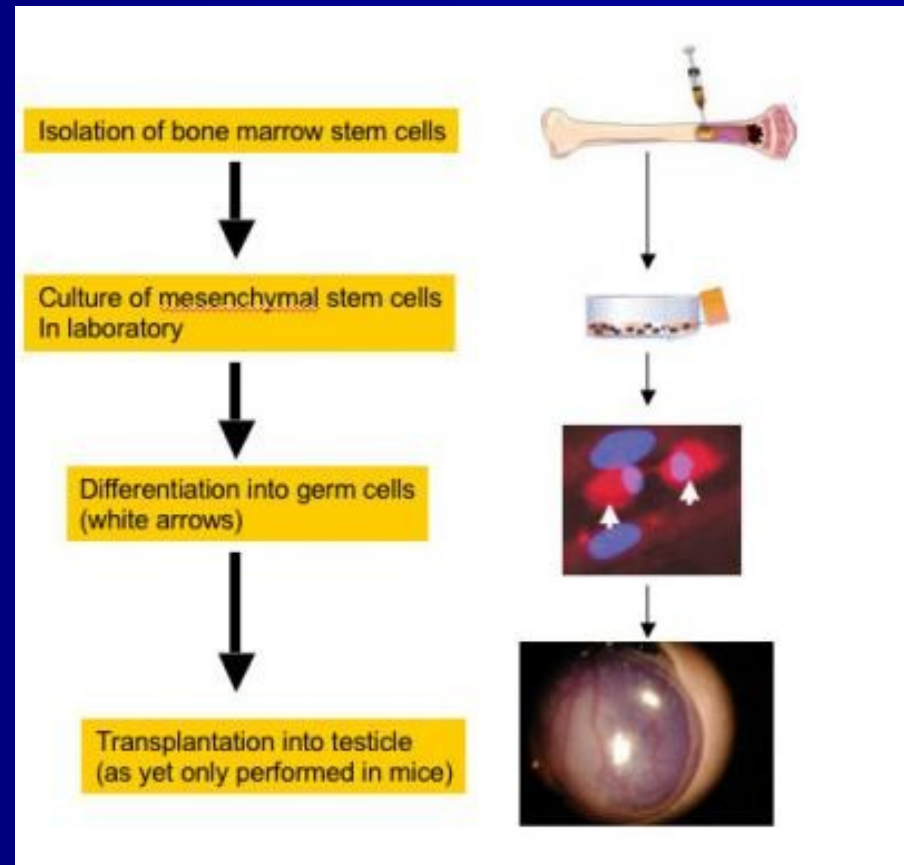
Julang Li
University of Guelph



Pohlavní buňky přímo ze somatických buněk

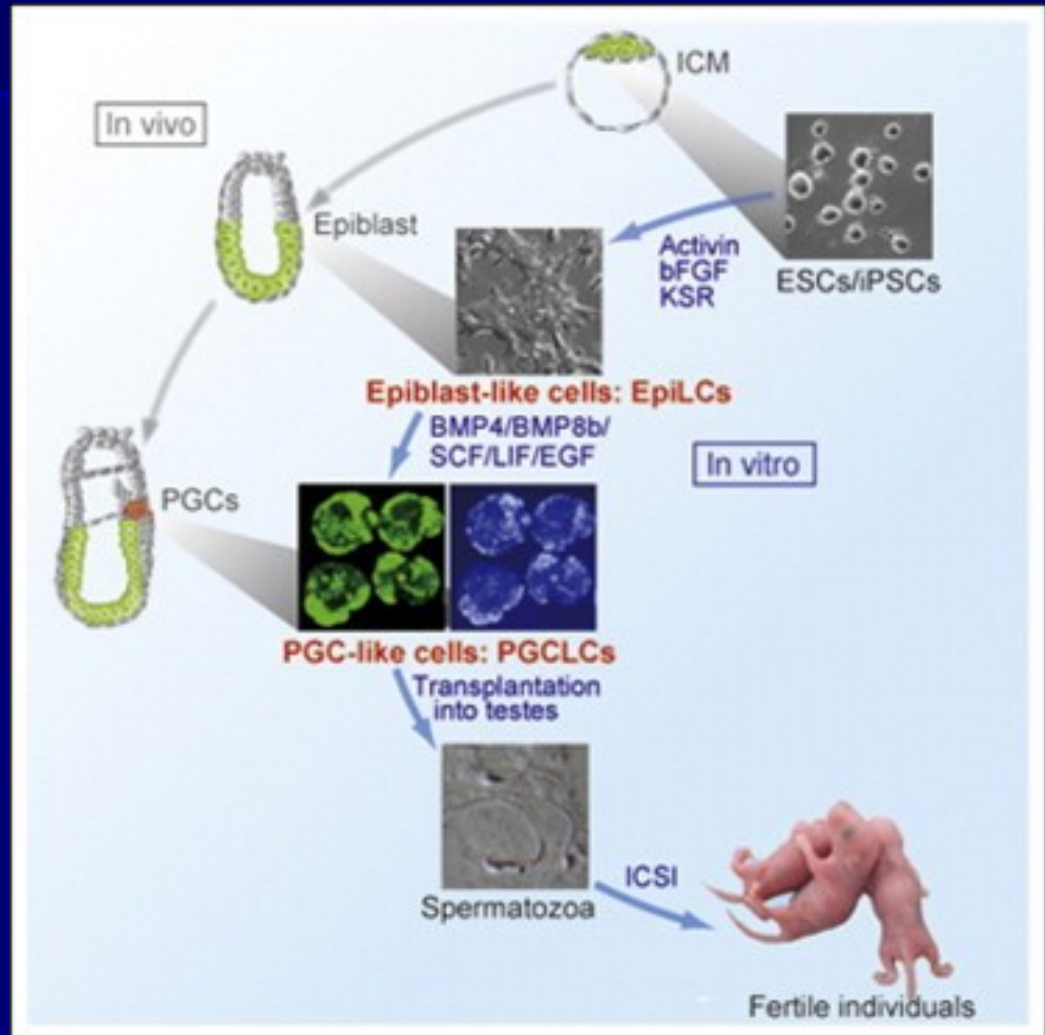


Karim Nayernia
University of Newcastle



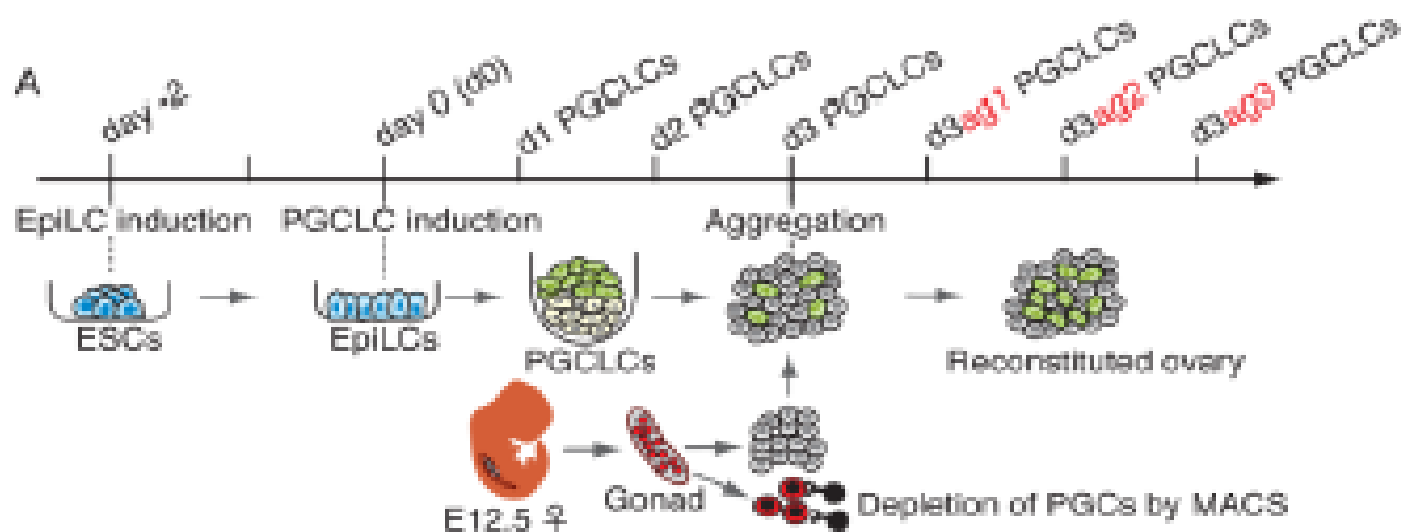
Spermie z ESC

Hayashi et al
Cell 2011



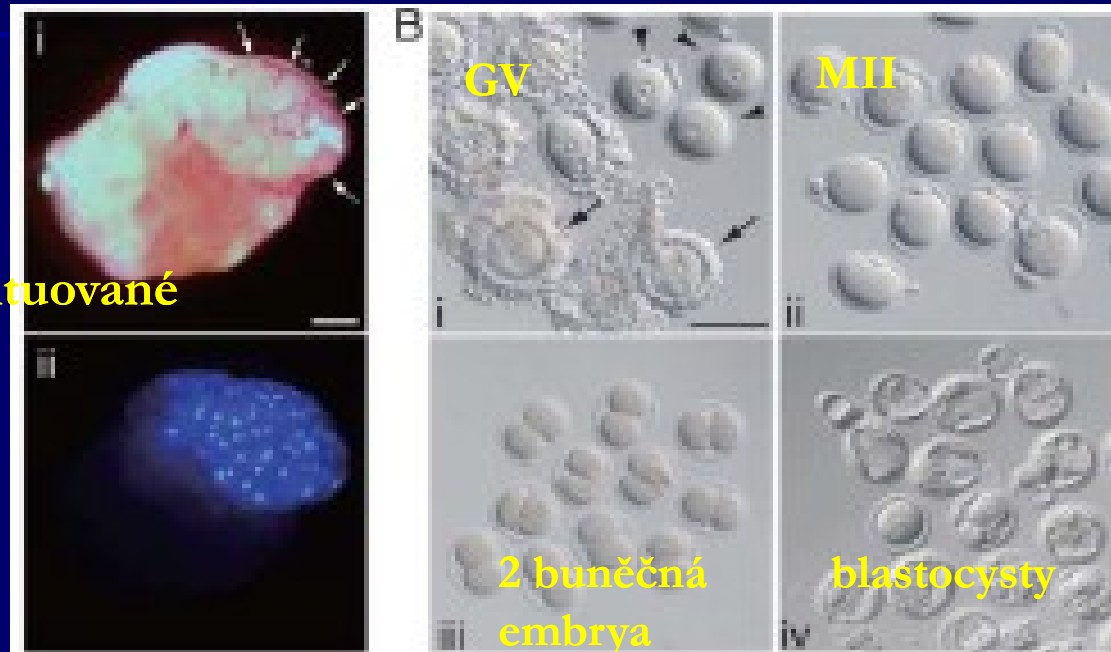
Oocyty z ESC a IPSC (Hayashi et al. Science 2012)

- Indukce diferenciace ESC (IPSC)
- Agregace se somatickými buňkami gonád
- V rekonstituovaném „ováriu“ vznikají



Oocyty z ESC a IPSC

Rekonstituované
ovárium



Oocyty z ESC a IPSC

- Po IVF se narodila z oocytů mláďata



- Tato zvířata jsou plodná



**I bez klonování nás čeká
„nádherný nový svět“.**



Genová terapie

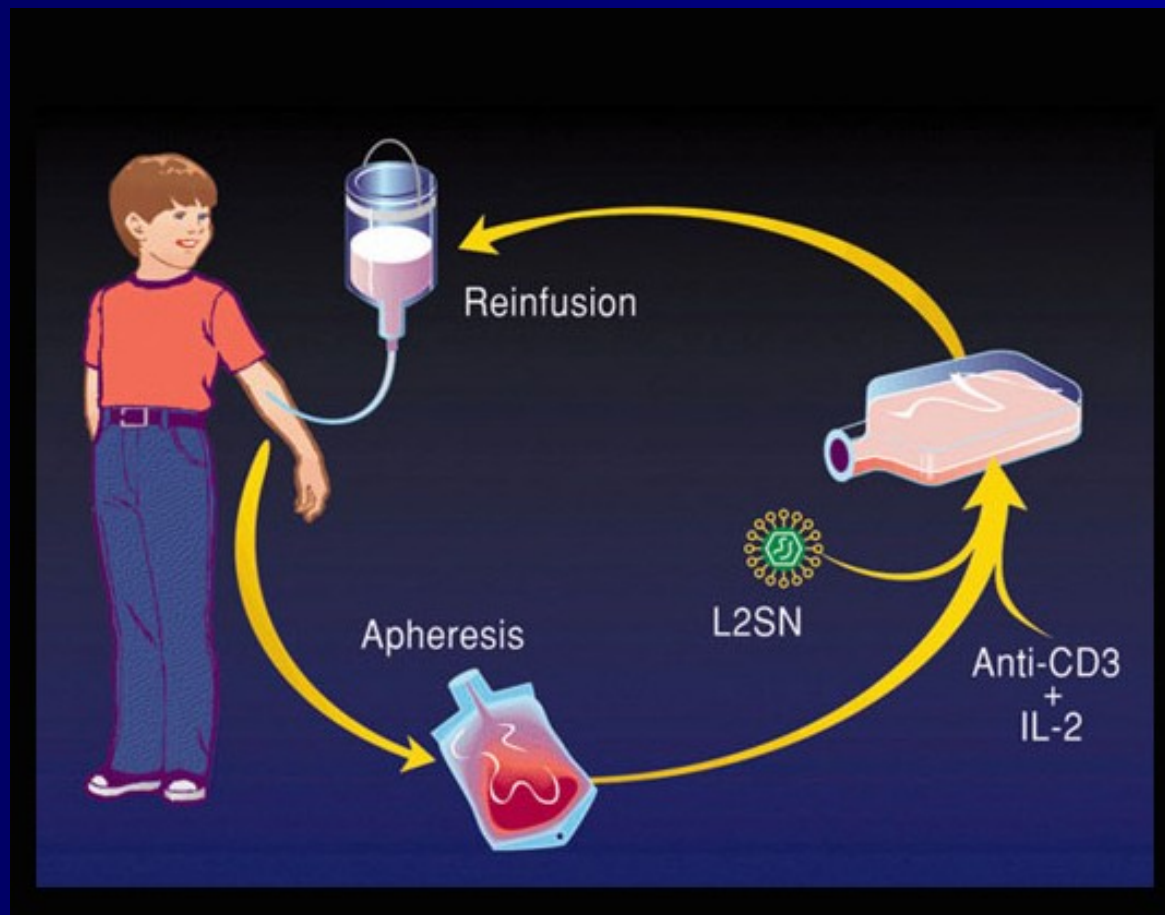
- **Zárodečná - zakázaná**
- **Somatická**
 - **in utero**
 - **in vivo**
 - **ex vivo**

Zárodečná



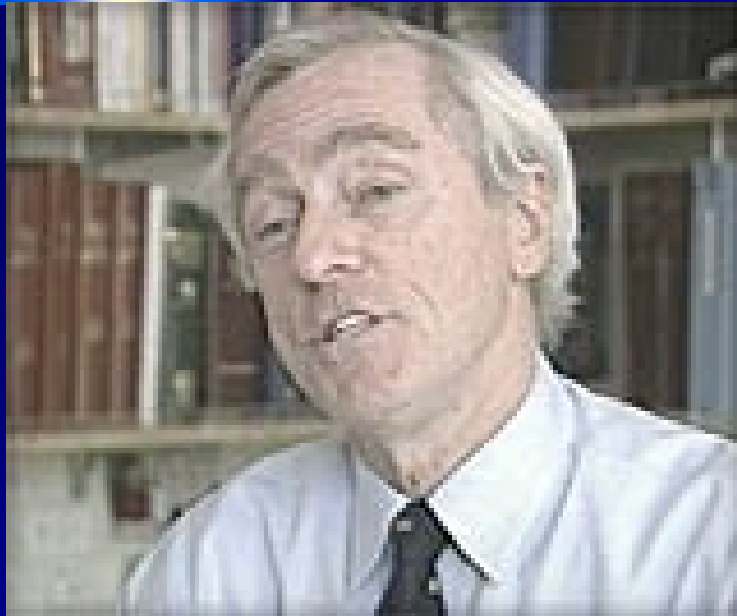
- Gen je v každé buňce těla
- Je i v pohlavních buňkách
- Dědí jej potomci
- Obavy ze ztráty kontroly nad genem
- Obavy z defektů vyvolaných inserční mutací

Somatická



- Gen jen v některých buňkách těla
- Potomci ho nedědí

1990 – první pokus French Anderson - USA

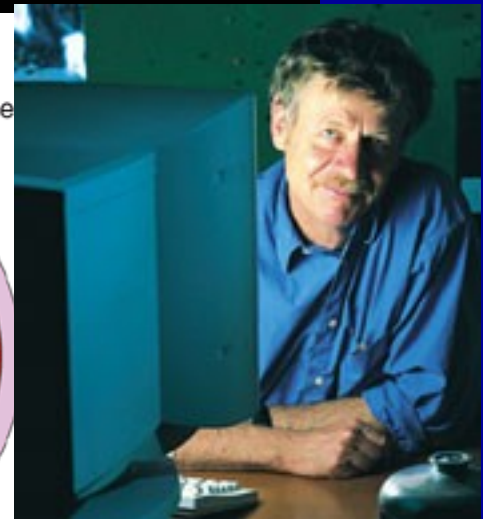
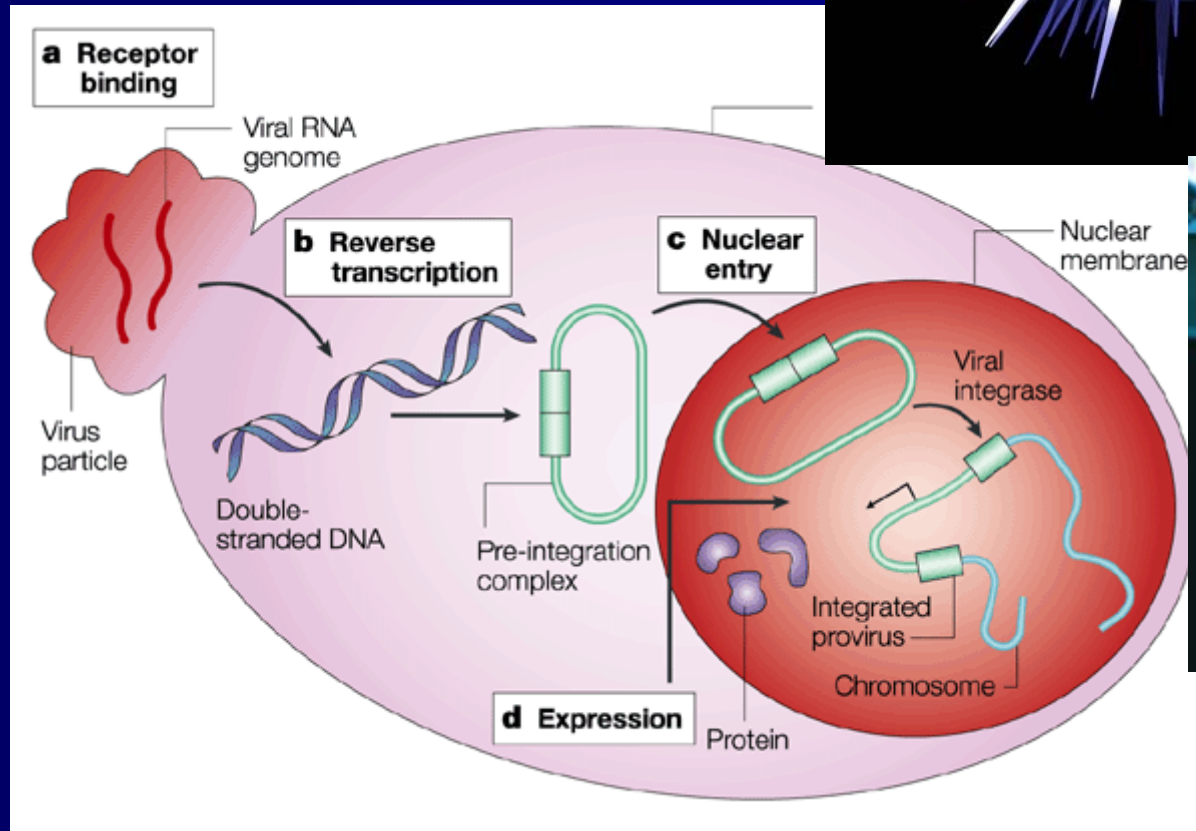


Nedostatečná imunita – Ashanti da Silva

Metody genové léčby

- **Virové nosiče**
 - retroviry**
 - adenoviry**
 - adenoasociované viry**
- **Nevirové nosiče**
 - liposomy, gene gun, nanočástice**
 - polymerů**
- **Bez nosičů**
 - přímá injekce, elektroporace**

Retrovirové vektory



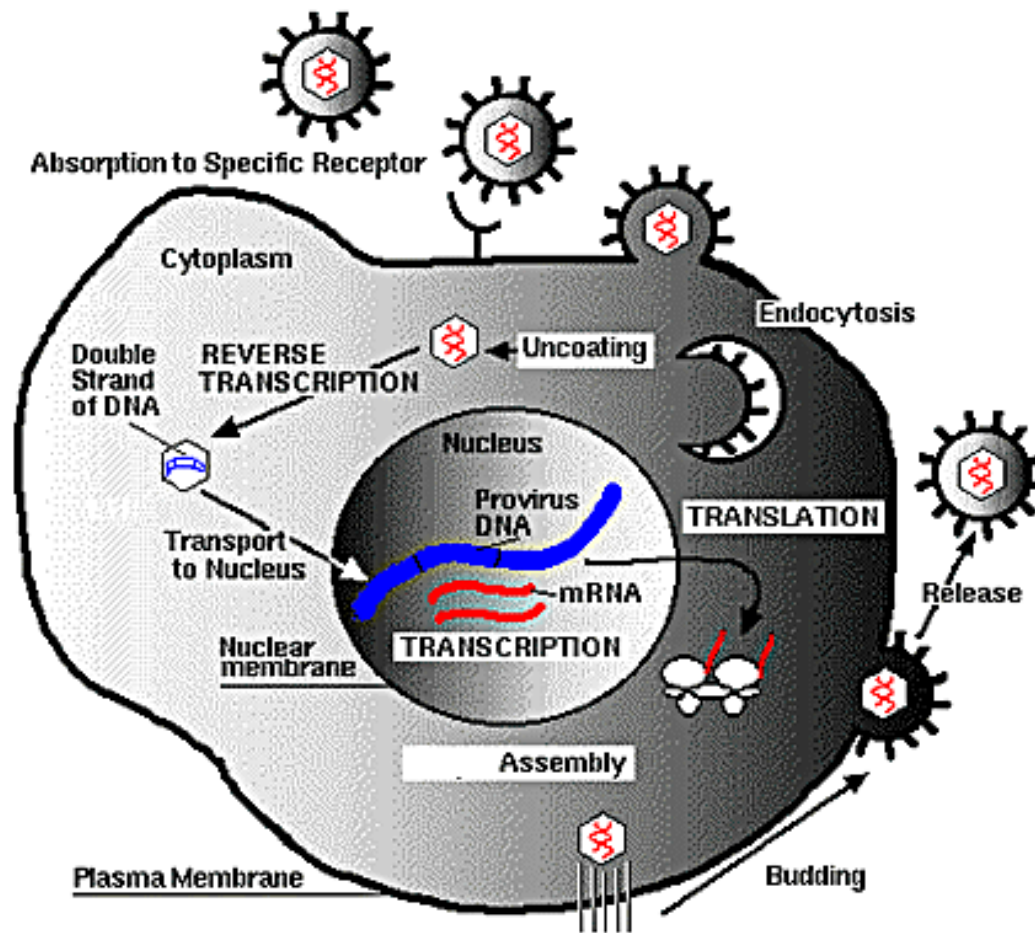
Retroviry



- **Malá imunitní odezva**

- **stabilní integrace**

- **Exprese genu klesá – narušeny promotory**



Retrovirus replication

2001 – léčba SCID



Alain Fischer

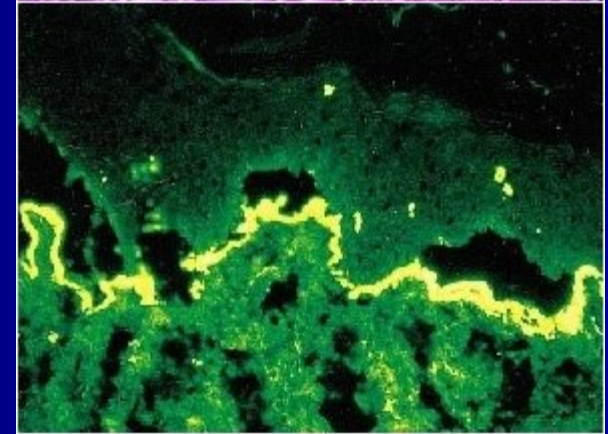
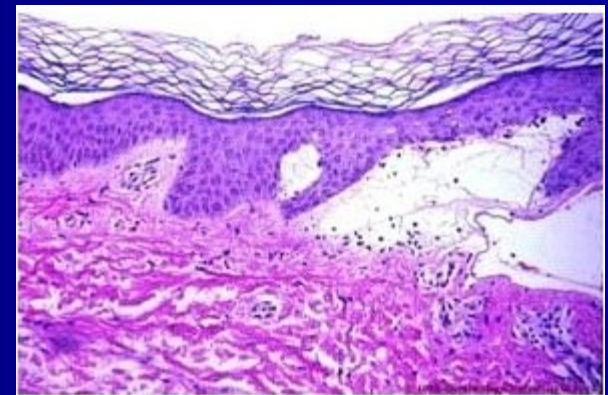


3 z 12 pacientů - leukemie

- **Retrovir se přednostně integruje u vysoce aktivních genů**
- **Při léčbě ex vivo se musí buňky množit – přednostně se množí buňky, které získaly aktivací genů proliferační schopnosti**
- **U pacientů s nevyzrálým imunitním systémem**

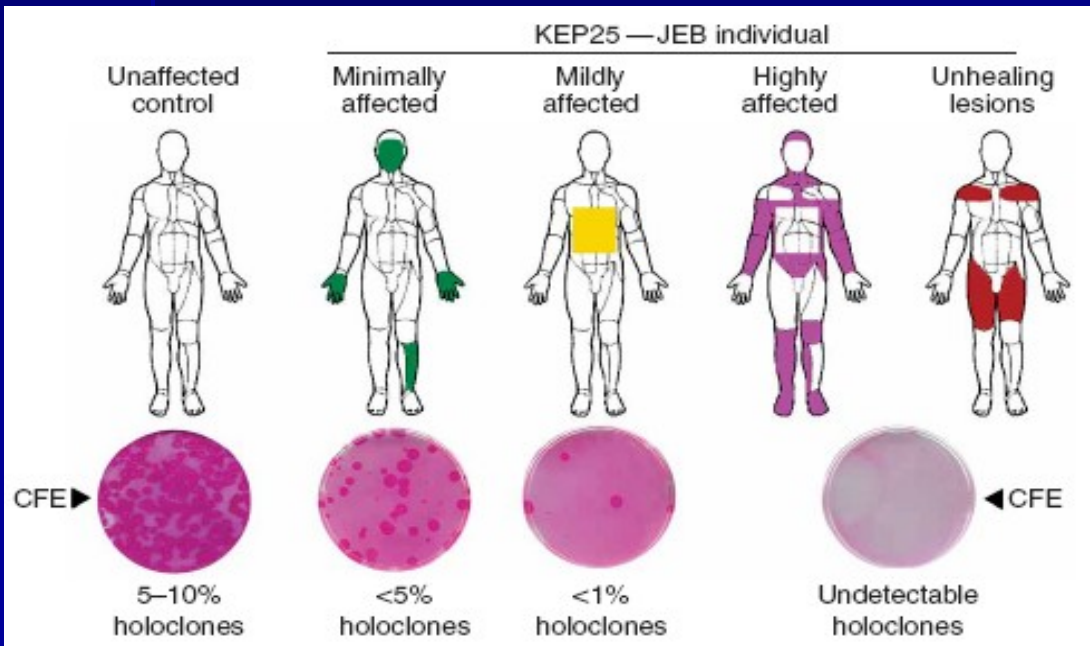
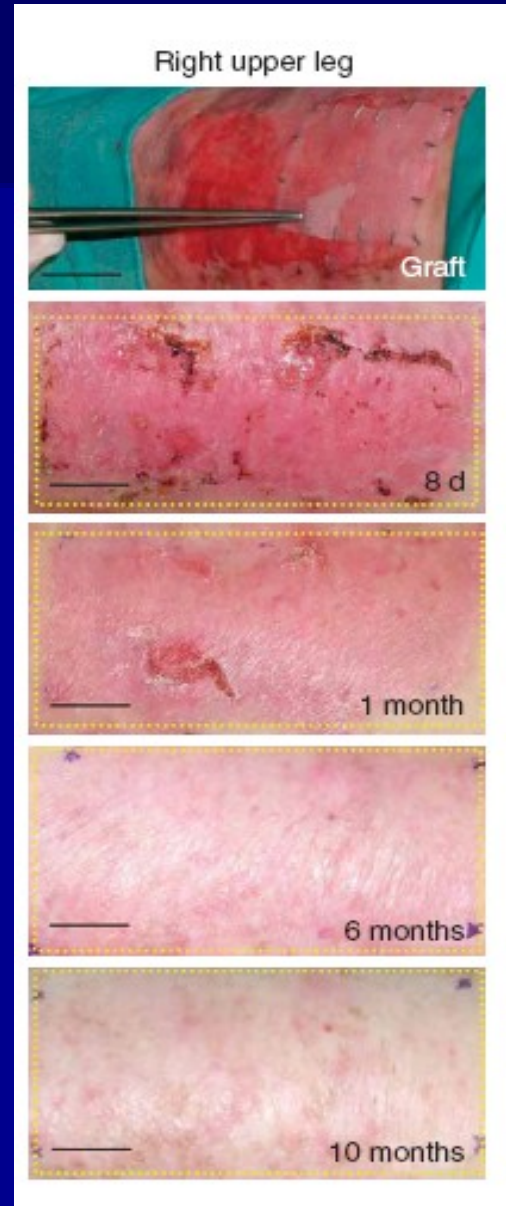
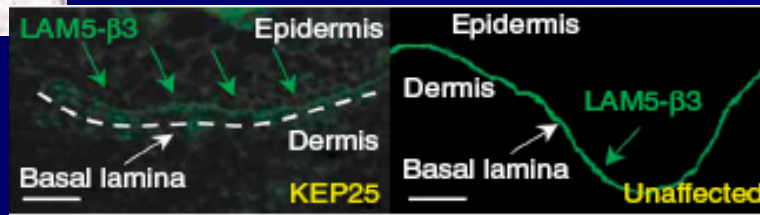
Léčba junkční dermatolysis bullosa

- Mutace genu pro lamin





Michele de Luca
Universita v Modeně
Itálie

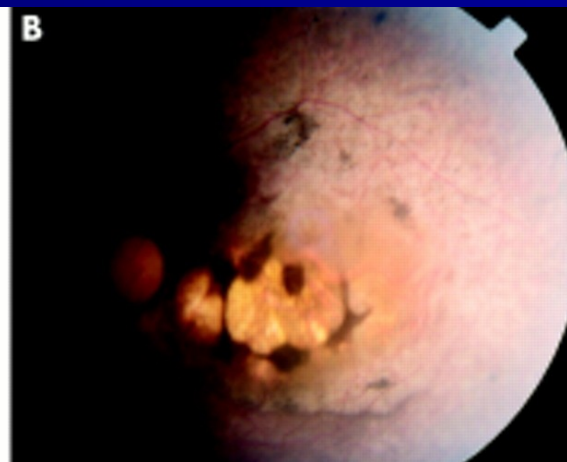
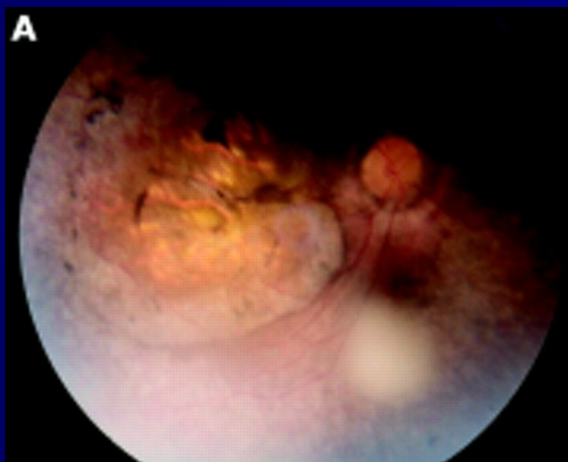
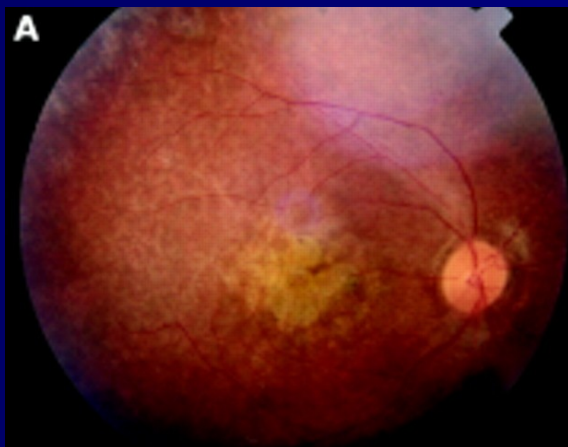
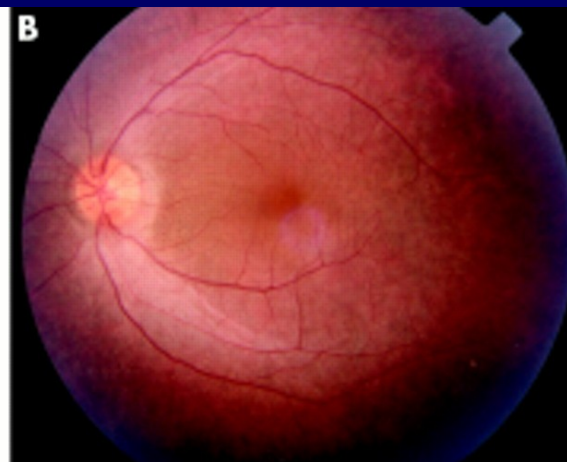
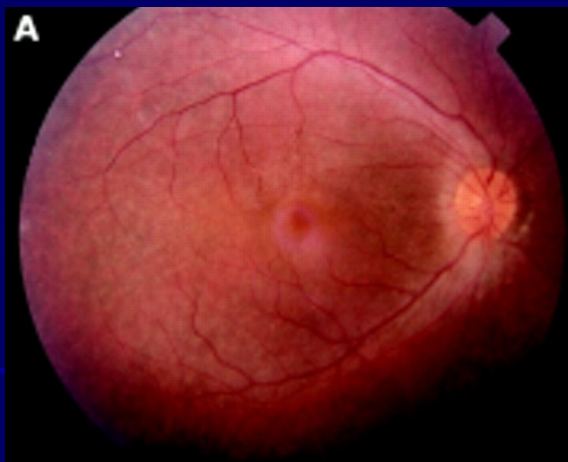


Léčba Leberovy vrozené amaurozy



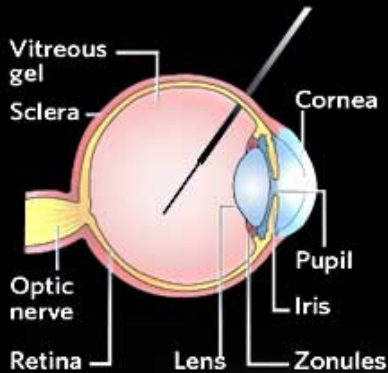
Robin Ali
University
College
London

- Dědičná choroba
- Vyvolána mutací genu RPE65
- Světločivné buňky sítnice ztrácejí schopnost reagovat na světlo a předávat signály do gangliových buněk sítnice
- Postupná ztráta zraku
- Nejprve klesá funkčnost tyčinek a pak čípků

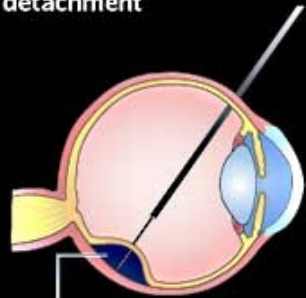


How the miracle of sight was restored

1: Surgeon inserts needle through cornea into the back of the eye and places the tip precisely behind the retina

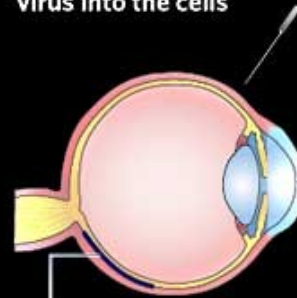


2: Solution with replacement gene is injected, gently lifting the retina and causing a temporary detachment



Solution containing replacement gene attached to a harmless virus. The virus infects the cells, carrying the gene into them

3: Needle is withdrawn, retina reattaches itself, solution spreads across retina and replacement gene is carried by the virus into the cells



**Steven Howarth
(18)**

**Virový vektor
Funkční gen RPE65**

**Před léčbou
Vidí nejvýše pohyby své ruky**

**Po léčbě
Může číst knihy ve speciální edici s velkým písmem**

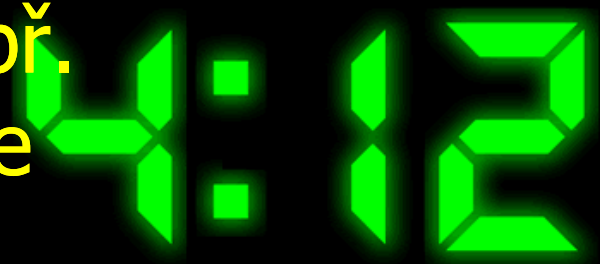
Genová terapie Leberovy vrozené amaurozy

Rok po terapii

- **Není imunitní reakce na produkt genu RPE65**
- **Udržuje se zlepšená schopnost vidění**
Vidění na světle se zlepšilo 1000krát
Vidění za šera se zlepšilo 63 000krát

Genová terapie Leberovy vrozené amaurozy

- Oblast léčené sítnice se vyrovná citlivostí ke světlu žluté skvrně pacientů. Nedává ale tak ostrý obraz.
- Pacienti se naučí využívat léčenou oblast sítnice jako druhou žlutou skvrnu např. pro málo jasné objekty ve tmě.



Léčba daltonismu

- Barevné vidění
 - červená - „dlouhovlnný“ opsin – OPN1LW
 - zelená – „středněvlnný“ opsin – OPN1MW
 - žlutá – „středněvlnný“ opsin – OPN1MW2
 - modrá – „krátkovlnný“ opsin – OPN1SW
- OPN1LW a OPN1MW - tandemově na X chromozomu
- Rekombinace a konverze – ztráta funkce
- Kotul veverovitý – většina samců a mnoho samic je barvoslepých
 - mutace genů OPN1LW a OPN1MW, nerozeznají červenou a zelenou



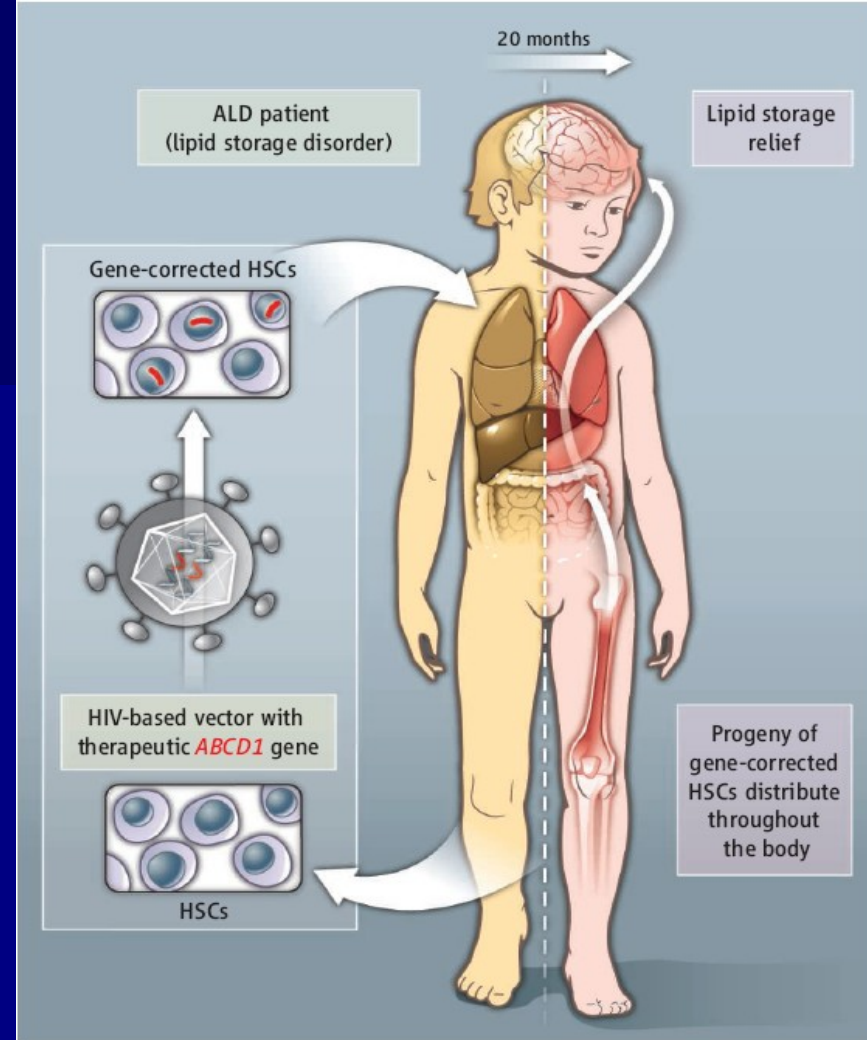
Léčba daltonismu



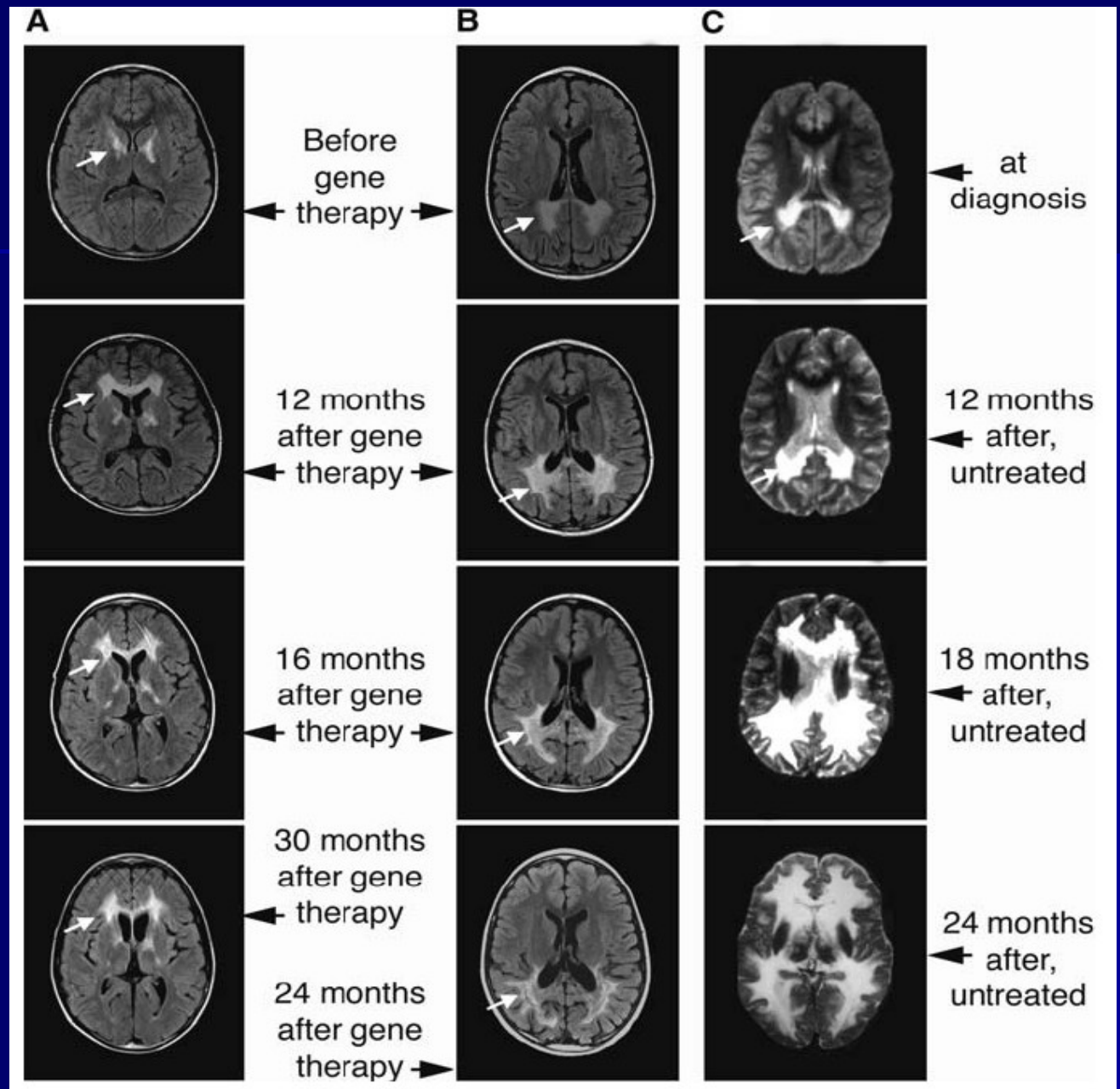
- Vnesení genu *OPN1LW* do světločivných buněk sítnice
- Použita zvířata „středního“ věku
- Za 20 týdnů po léčbě rozlišovali kotulové červenou a zelenou
- Zrakové centrum se naučilo zpracovávat informaci o barvě

Léčba ALD 2009

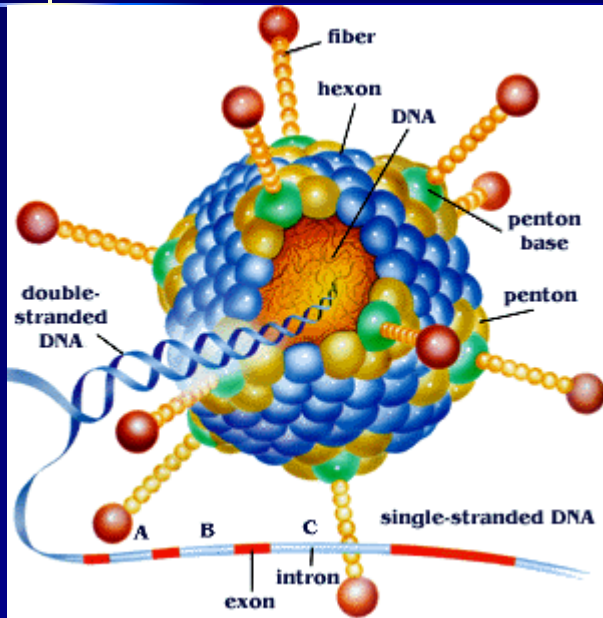
- Adrenoleukodystrofie
- Porucha v metabolismu tuků
- Neurodegenerativní onemocnění
- Vázáno na X chromozom
- Mutace genu ABCD1
- Léčba pomocí vektoru odvozeného z HIV
- Přenos do krvetvorných buněk kostní dřeně



ALD

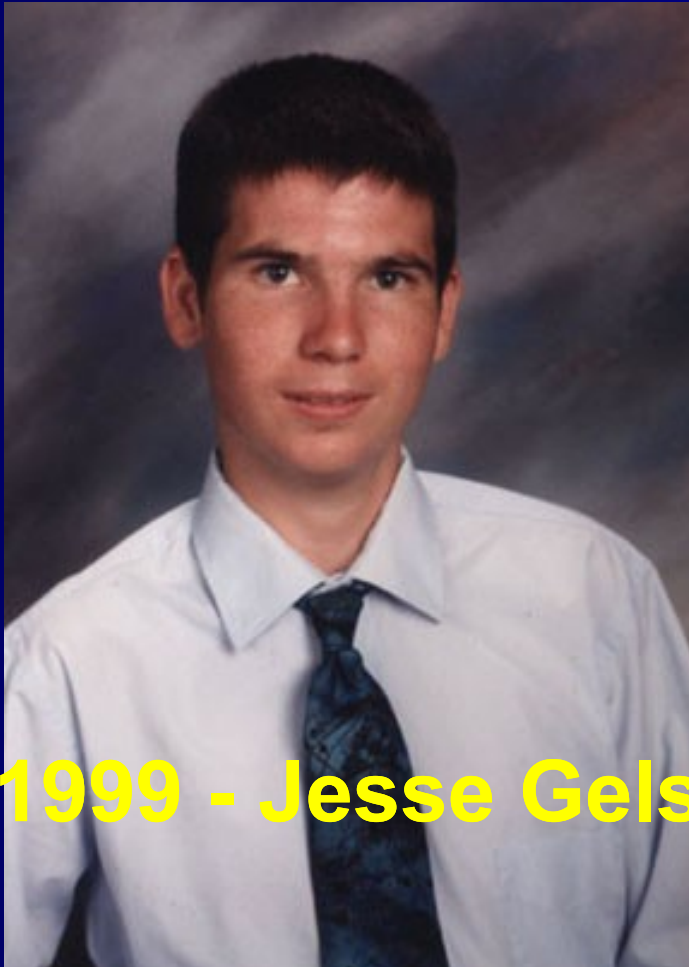


Adenoviry



- **Genom – DNA dvouvláknová**
- **Kapsida**
- **3 hlavní proteiny**
- **menšinové proteiny**
- **Vyvolává nachlazení**
- **Napadá specializované postmitotické buňky**
- **Genom vnesen do jádra**

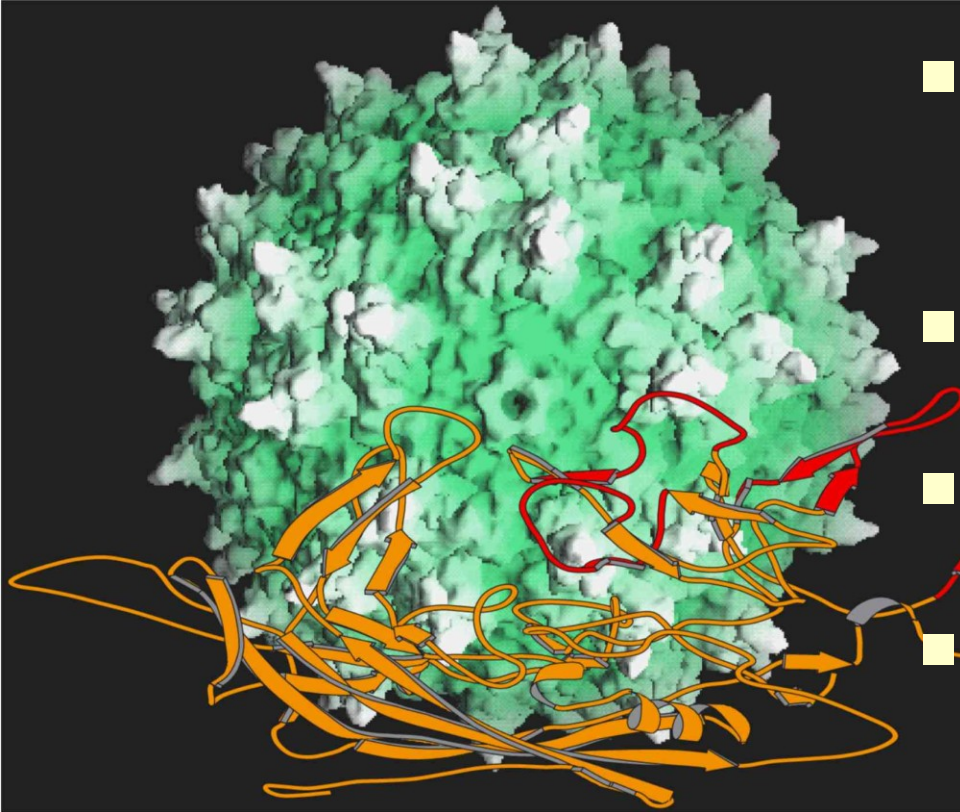
Na adenoviry je silná imunitní reakce



1999 - Jesse Gelsinger

- Vyvíjejí se bezpečnější nosiče
- „Gutless“ zbavené zcela vlastních genů

Adenoasociované viry



- **Genom – DNA
jednovláknová
4680 bp – malý vir**
- **Nevyvolávají
onemocnění**
- **Pro replikaci
potřebují AV**
- **Bez pomocného viru
je latentním
provirem**
- **AV ho může
aktivovat dodatečně**

AAV nosič

- **Nemá žádné vlastní geny jen koncové sekvence**
- **Dlouhá exprese**
- **Není na něj imunitní reakce**
- **Nosiče se nezabudují ale fungují jako minichromozom**

První genová terapie v EU

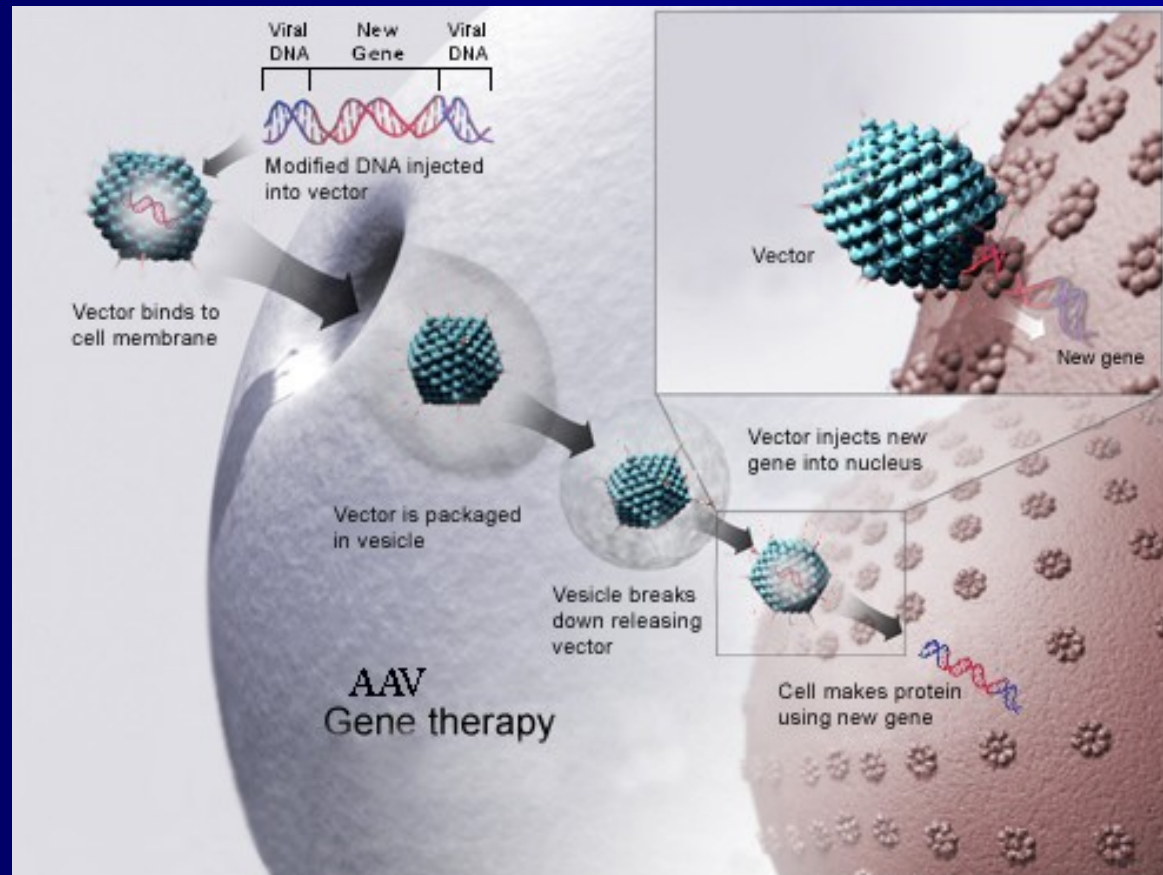
Glybera (uniQure –NL)

- Povoleno v EU - 2012
- Gen pro lipoproteinovou lipázu (LPL)
- Deficience LPL – 1 z milionu lidí
 - chylomikronémie
 - extrémní hladiny lipoproteinů
 - záněty slinivky
- Nízkotučná dieta



Glybera

■ Přenos genu pro LPL pomocí AAV



Využití „ZFN“

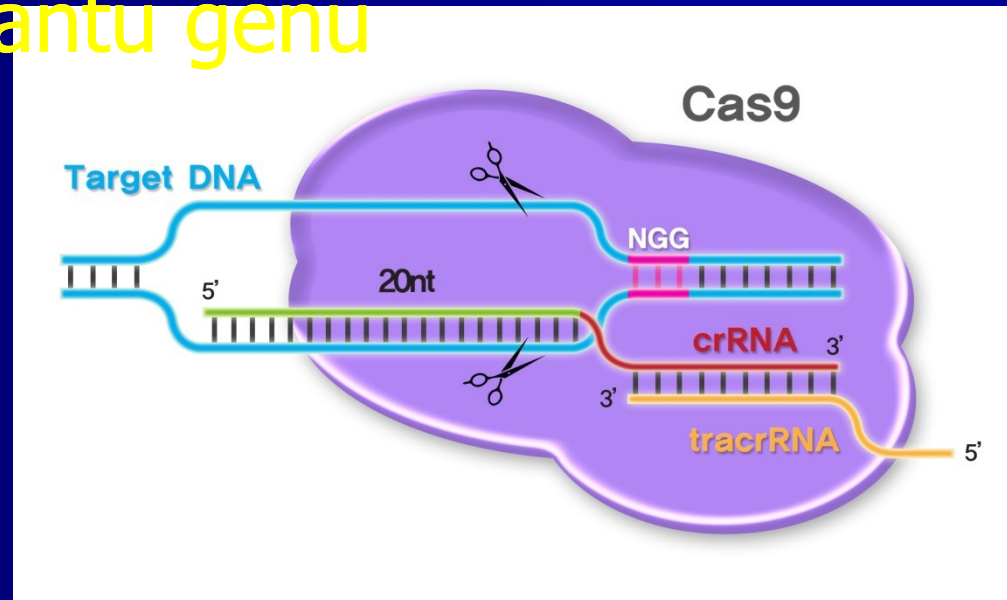
- Zdařila se homologní rekombinace u genu IL2R gama v lidských buňkách in vitro
- Účinnost
 - buňky kostní dřeně 18%
 - T-lymfocyty 5%
- Navození mutace genu CCR5
- Navozuje odolnost vůči viru HIV-1

Problémy

- **Patenty**
- **Vnesení ZNF do buněk**
 - Používá se elektroporace**
 - Nezralé T-lymfocyty jsou příliš křehké**
 - Vyvíjí se vnášení pomocí lentivirů**
- **Bezpečnost**
 - zlomy DNA v necílových místech**
 - riziko nádorového bujení**

System CRISPR-Cas

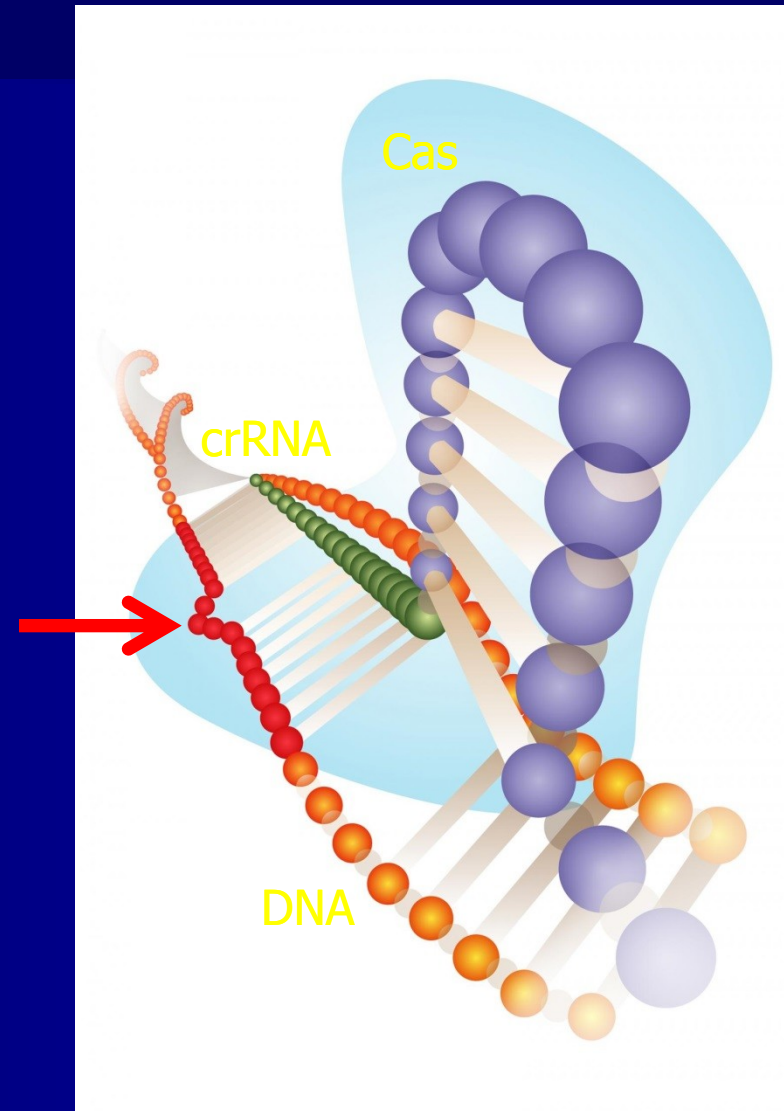
- Synteticky připravené crRNA
- Cílí na specifické místo genomu
- Navodí homologní rekombinaci mutace za funkční variantu genu



Off-target editing

Komplementarita
DNA a crRNA není
udržena vytvořením

- „kličky“ na cílové
sekvenci DNA
- „kličky“ na crRNA



CRISPR - Cas



Korekce mutací v buňkách

- Myší model dědičného šedého zákalu
- Korekce mutace genu SFTR v lidských kmenových buňkách

Off-target editing

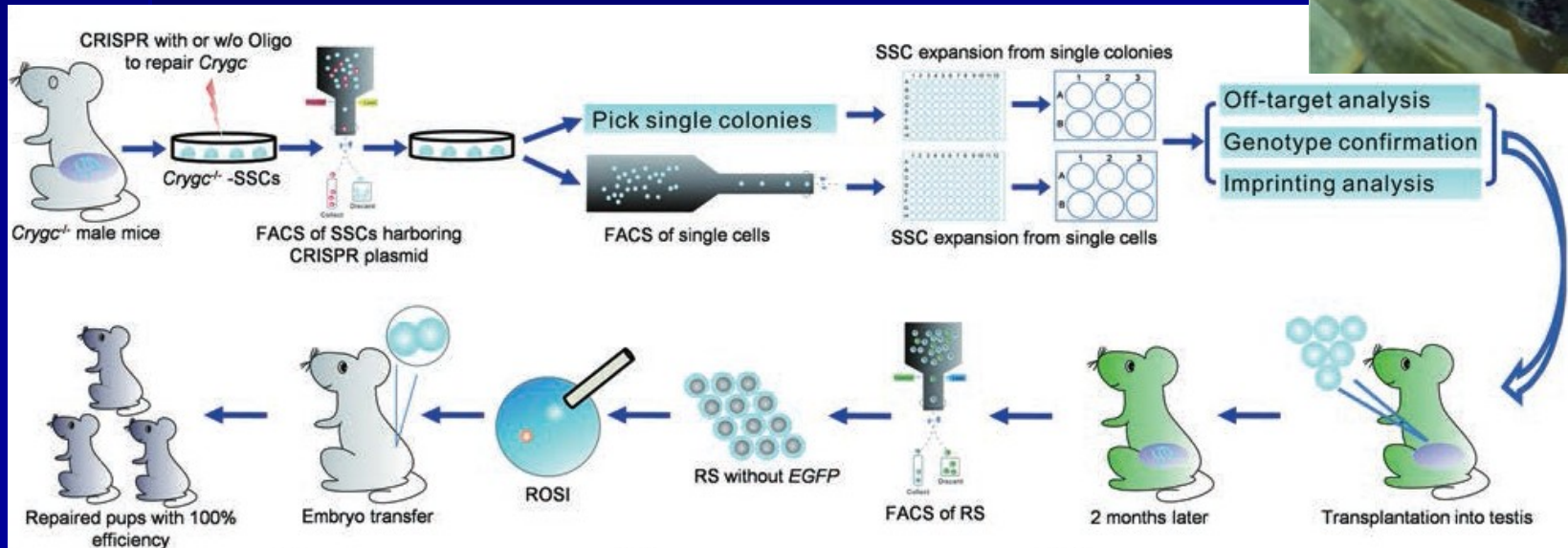
- **Nové varianty Cas9**

Dosaženo minimálně 100krát nižší úrovně off-target editingu

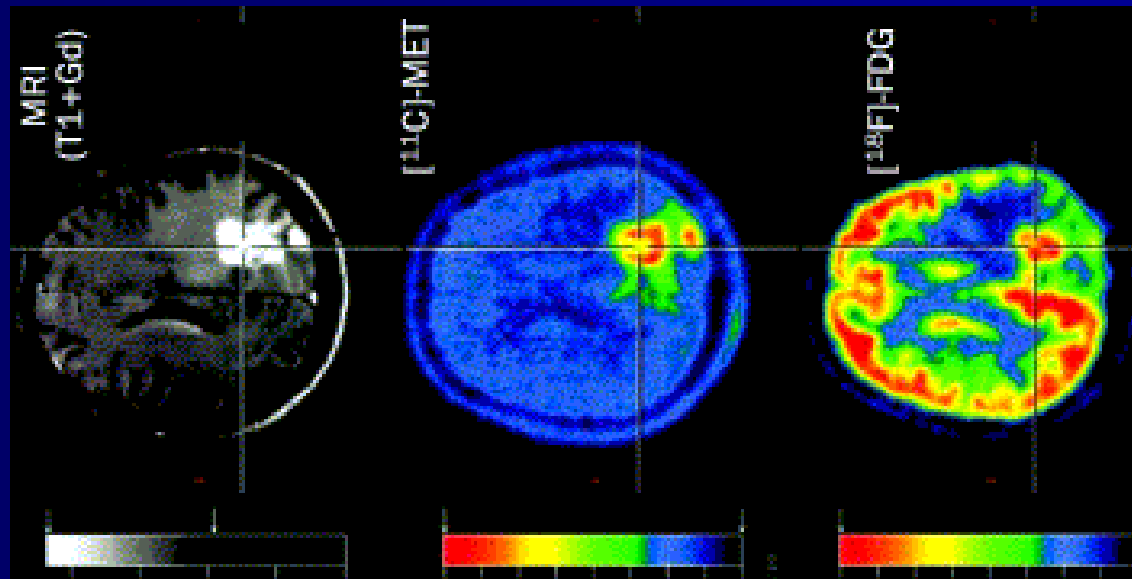
- **Software pro detekci rizikových míst genomu a návrhy „nerizikových“ crRNA**

Zárodečná genová terapie CRISPR-Cas

Korekce defektu ve
spermatogoniích
a přenos do varlete příjemce

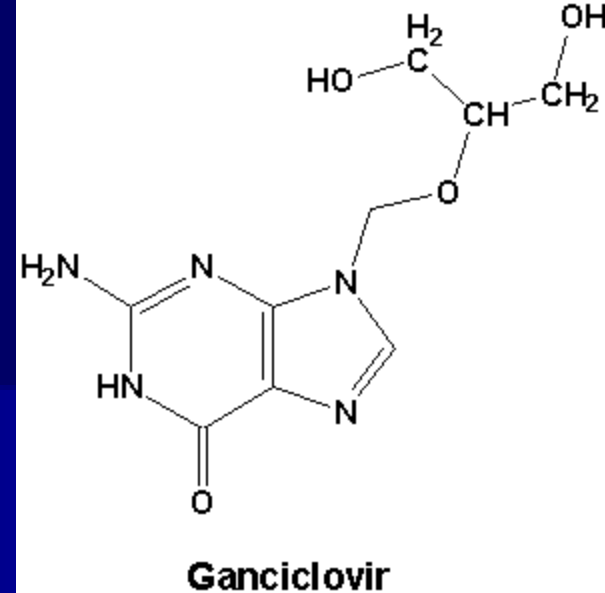


Genová terapie nádorů



- Více než 2/3 všech klinických zkoušek

Cytotoxické postupy



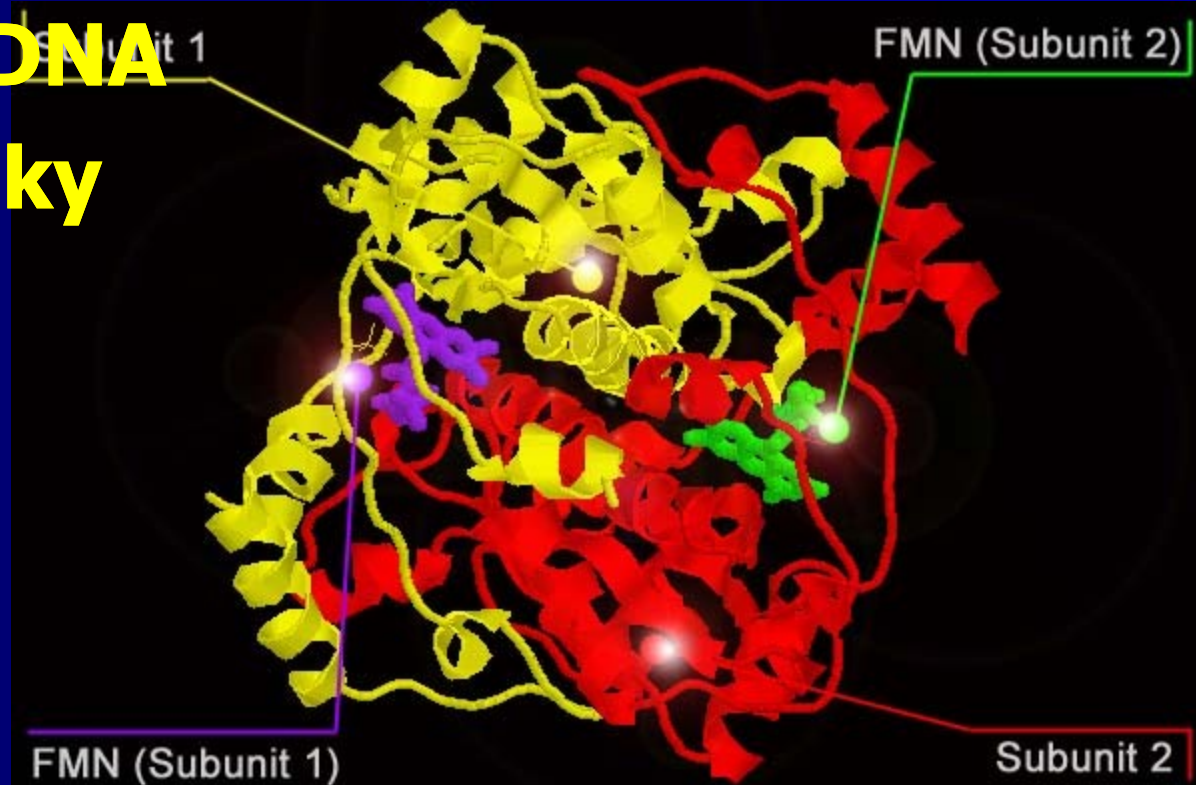
- **Thymidin kináza z herpes simplex viru – fosforylace nukleosidů**
- **Člověk ji postrádá**
- **Po injekci nosiče s HSV TK se podá abnormální nukleosid ganciclovir**
- **Po fosforylaci se zabuduje do DNA a buňky hynou**

Další možnosti

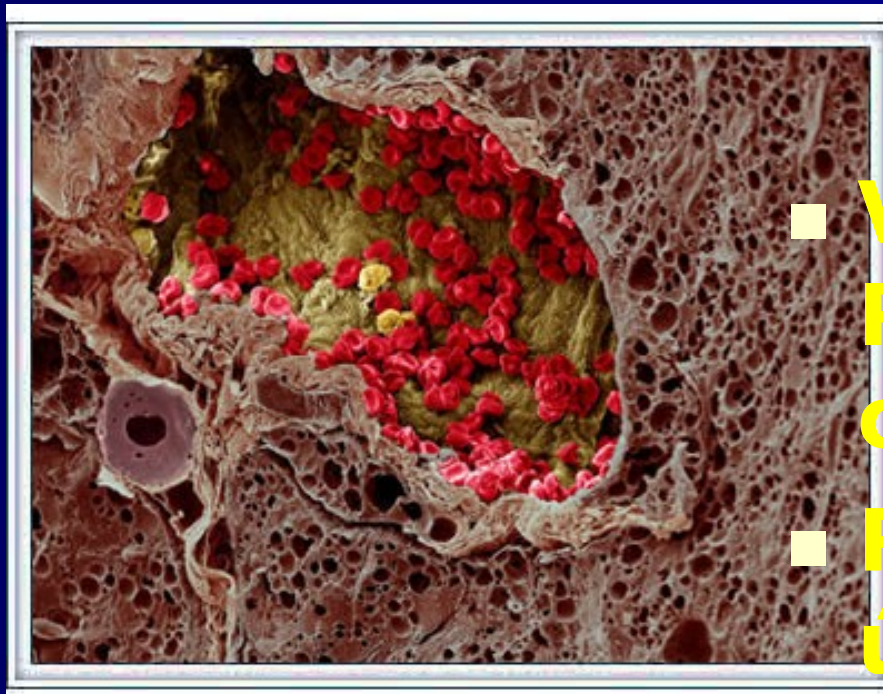
- **Cytosin deamináza (bakteriální gen)**
- **Podává se fungicid 5-fluorocytosin**
- **Mění se na 5-fluorouracyl**
- **Naruší syntézu RNA**
- **Smrt buněk**



- **Nitroreduktáza (E. coli)**
- **Mění slabé alkylační činidlo CB1954 na silné**
- **Alkyluje DNA**
- **Smrt buňky**



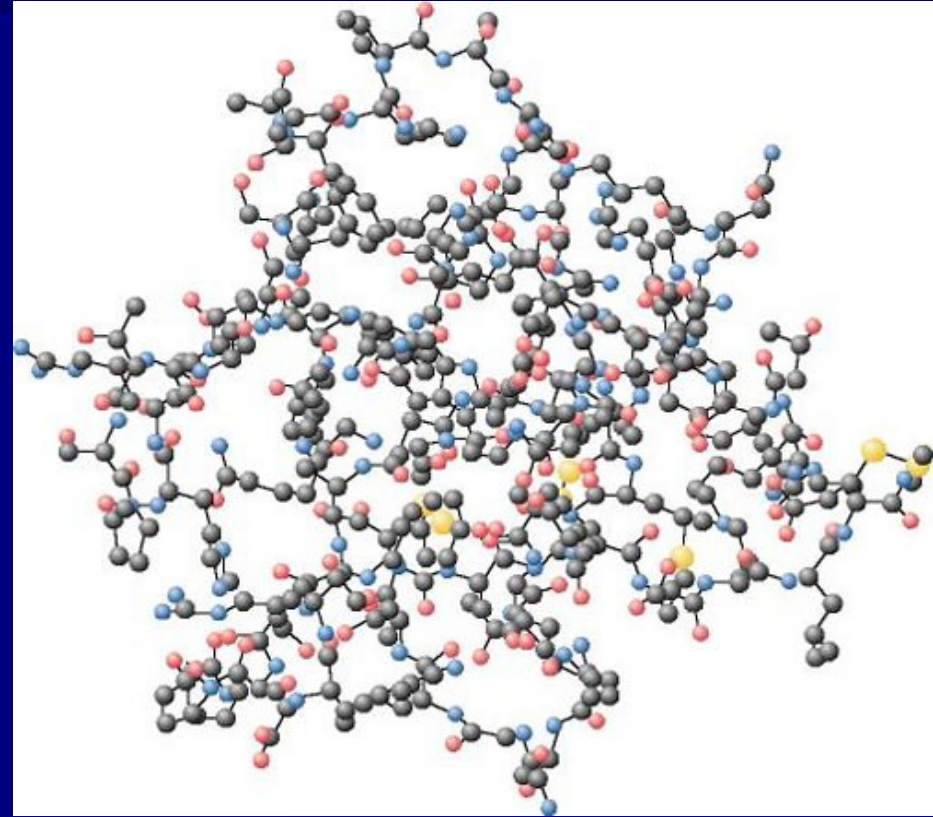
Narušení angiogeneze



- VEGF a receptory R, R1, R3 budí růst cév
- R2 váže VEGF bez účinku
- VEGF – i RNA

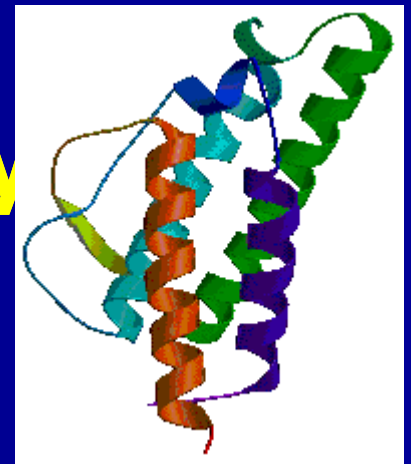
Antiangiogenní faktory

- **Angiostatin**
- **Endostatin**



Aktivace imunitního systému

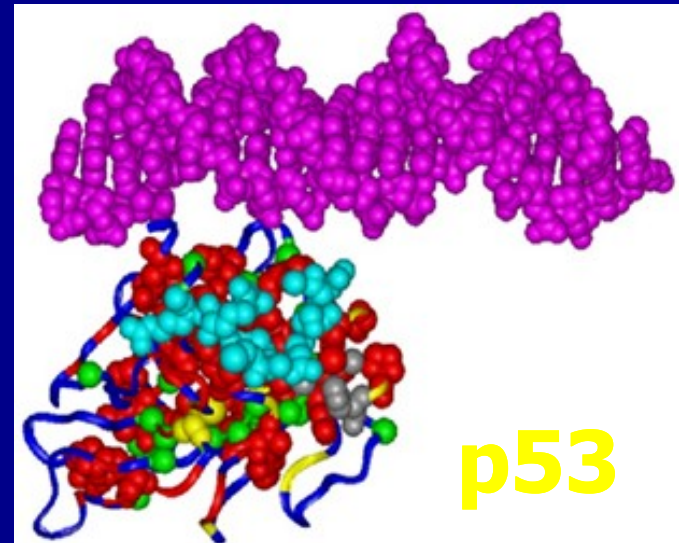
- Do nádoru je vnesen gen pro cytokiny
- Ty pomohou prezentovat antigeny rakovinných buněk imunitnímu systému
- Nádor likvidují T-lymfocyty



Apoptotické účinky

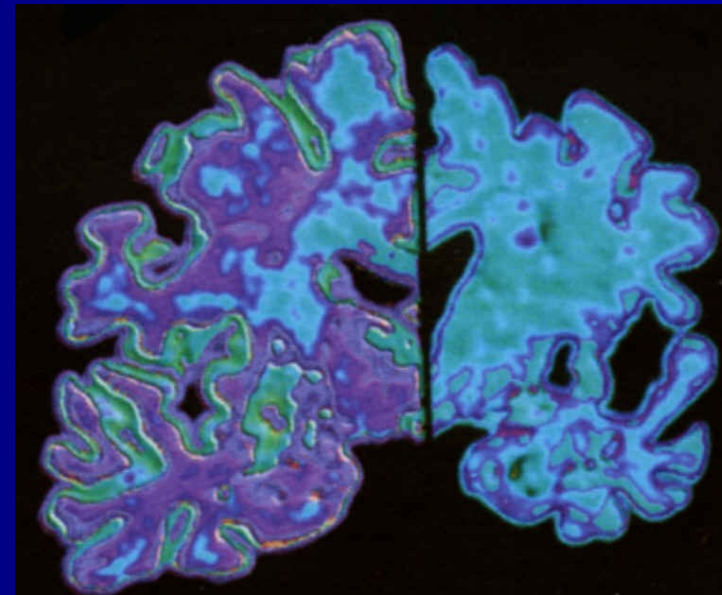
- **Nádory mají nefunkční signální kaskádu programované buněčné smrti - apoptózy**
- **Dodání genů pro enzymy z apoptózové kaskády**

- **Kaspázy**
- **Protein p53**
- **Retinoblastoma protein**



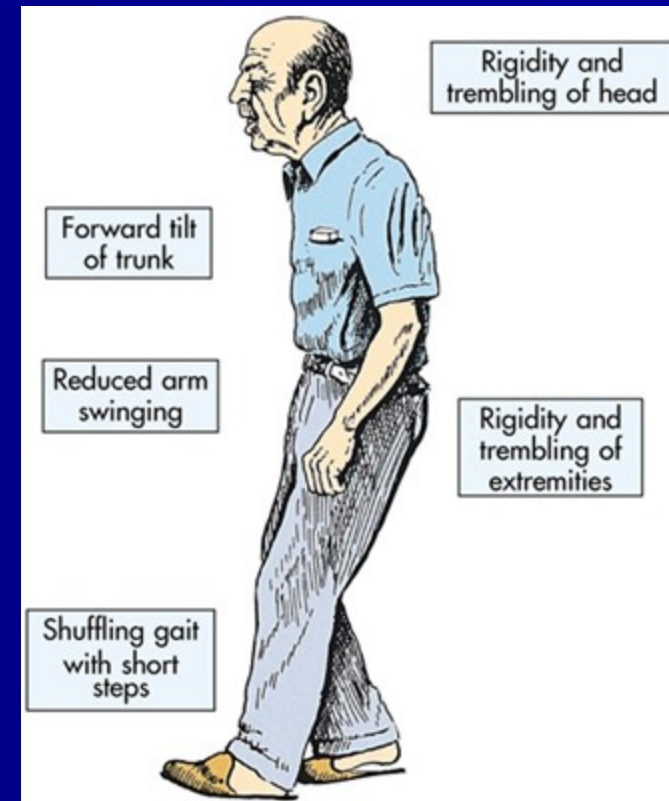
Genová terapie degenerativních onemocnění

- Alzheimerova choroba
- Gen pro NGF – zajišťuje přežití neuronů v cholinergním systému
- Vnášení buněk s NGF do nucleus basalis



Genová terapie Parkinsonovy choroby

- Třas, pomalý pohyb, potíže s rovnováhou a chůzí, „mrznutí“
- Odumírání neuronů substantia nigra produkujících dopamin
- Nedostatek dopaminu vede k nadměrné aktivaci neuronů motorických center v subthalamických jádrech
- Podávání dopaminu pomáhá v počátečních fázích – později nežádoucí vedlejší účinky.



Genová terapie - PD

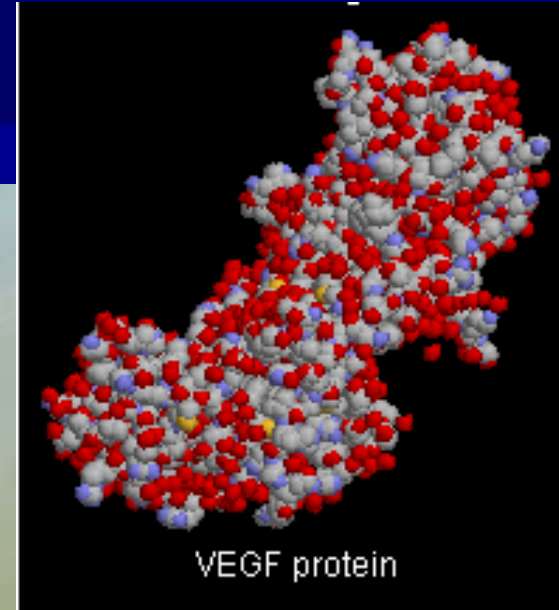
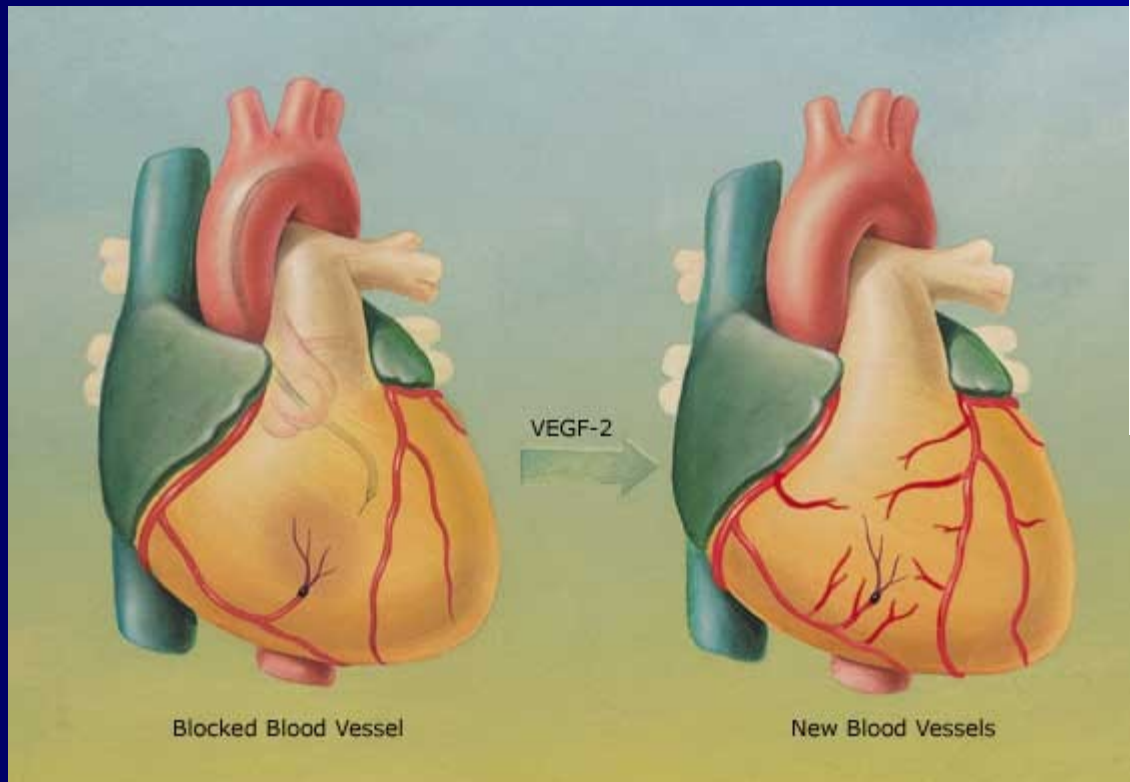
- AAV2 virový vektor s lidským genem GAD
- Injekce do subhypothalamických jader
- GAD -dekarboxyláza kyseliny glutamové – katalyzuje tvorbu GABA
- GABA inhibuje neurony a uvádí do rovnováhy motorická centra

2011

**Druhá fáze klinických zkoušek
U poloviny pacientů zlepšení
motorických funkcí o 23%**



VEGF – kardiovaskulární choroby



**Startuje s GT i genové
vylepšení člověka?**



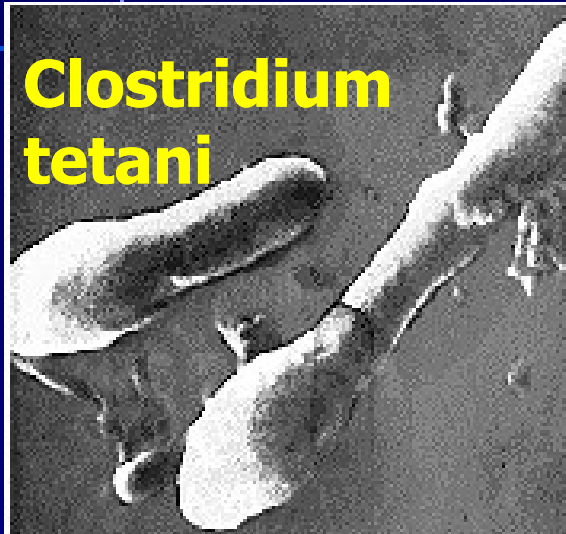
Genová terapie – návrat k normálu



**Napravuje dědičné defekty
Léčí nádorová onemocnění
Léčí degenerativní onemocnění**

**Genové vylepšení
– posun za hranice normálu**

Takto vypadá „přirozený“ stav při nákaze tetanem



**I v zemích s rozvinutou medicínou umírá
30 % nakažených lidí**

Očkováním se dostáváme za hranici „normy“

Co je „nemoc“?

- Malá postava?
- Neplodnost?
- Plešatost?



Nikdo není dokonalý. Tak proč nebýt lepší?



Proč si nevylepšíť
smysly,
paměť,
imunitu,
metabolismus?



Arthur Caplan
University of Pennsylvania

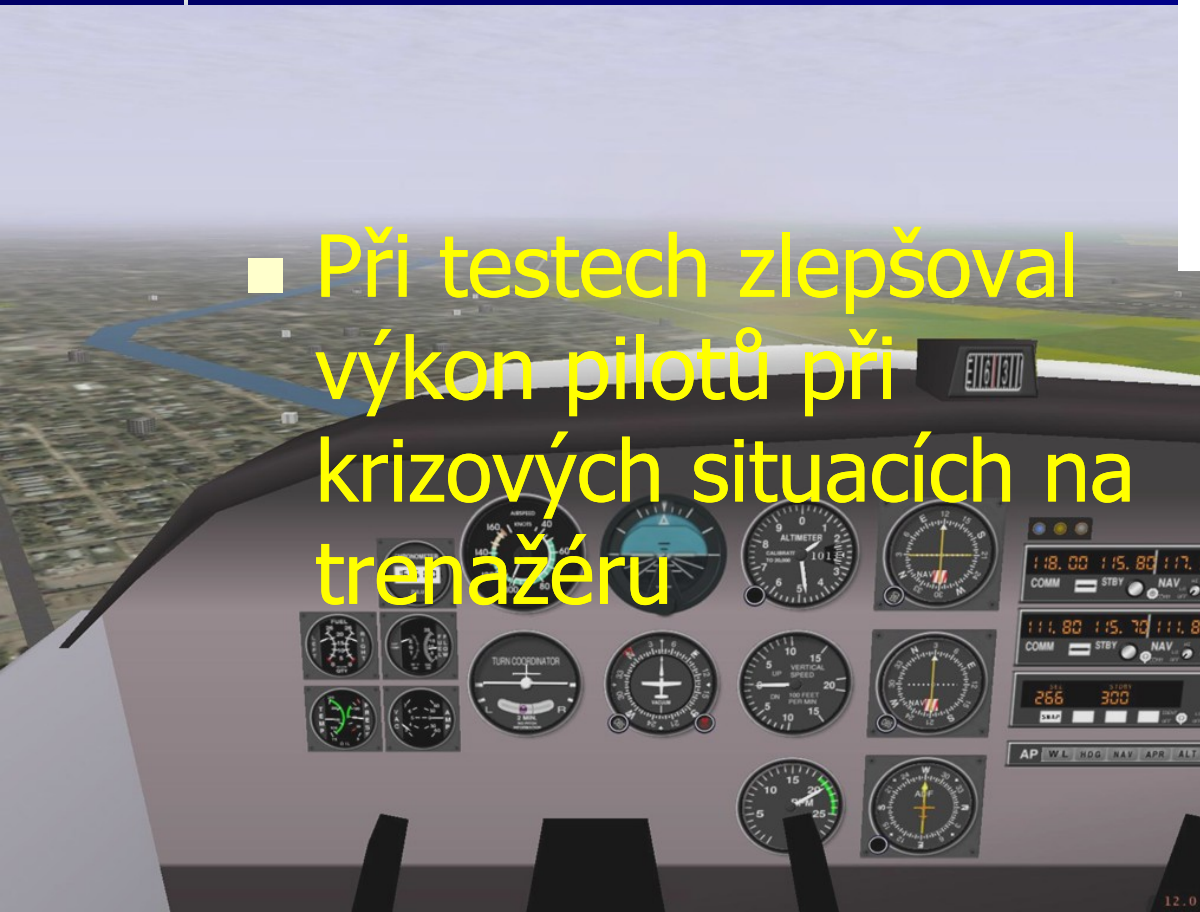
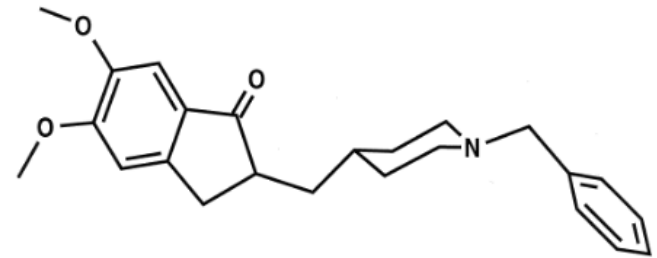
Využití medicíny pro vylepšení člověka



Plastická chirurgie
pro kosmetické účely

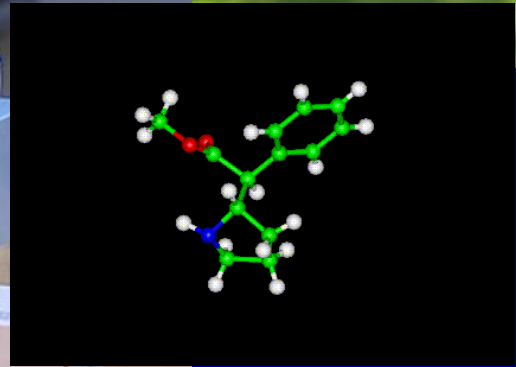
Donepezil – lék na Alzheimerovou chorobu

- Při testech zlepšoval výkon pilotů při krizových situacích na trénažeru

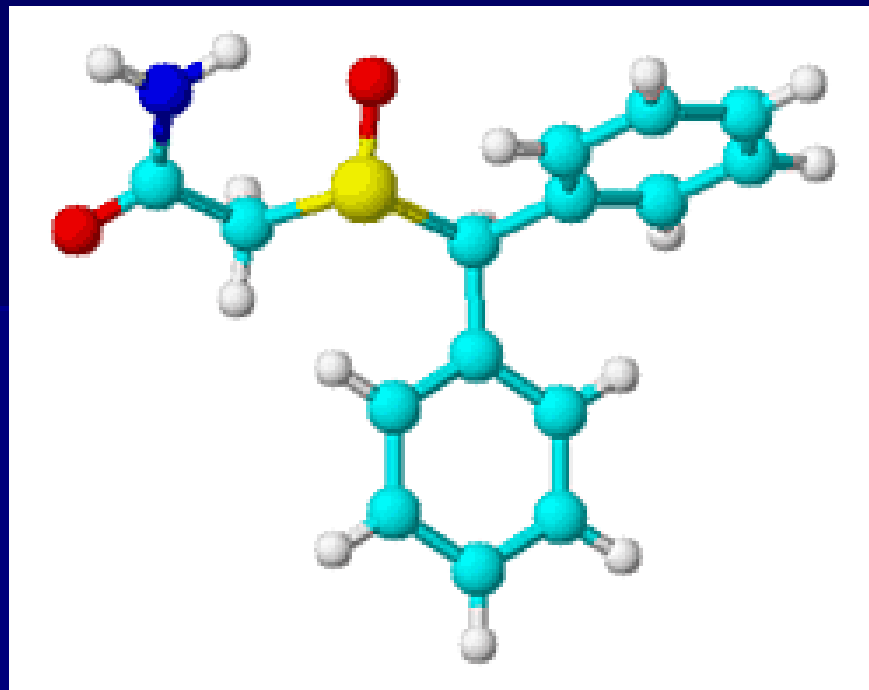


Ritalin – lék na poruchy pozornosti a hyperaktivitu

- V USA ho užívají 2,1 milionu zdravých studentů středních a vysokých škol
- Pomáhá při soustředění

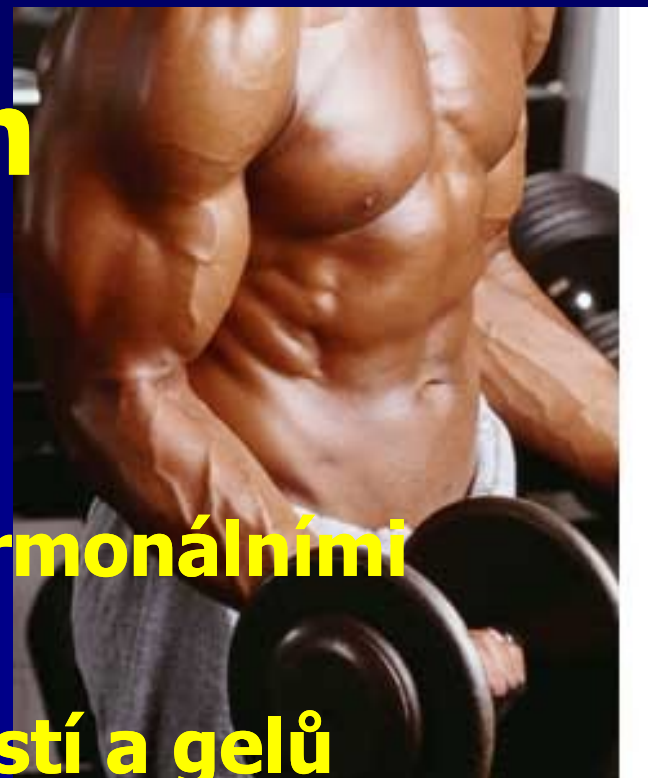


Modafinil



- Lék užívaný při narkolepsii
- Sportovní doping
- Armáda – potlačení ospalosti
- Testy – vyšší duševní výkonnost

Testosteron



- Původně pro muže s hormonálními poruchami
- Dnes ho ve formě náplastí a gelů užívají jen v USA 2 miliony zdravých mužů pro kompenzaci přirozeného poklesu testosteronu ve vyšším věku
- 30% uživatelů ve věku 18- 45 let

Vnesením nových genů

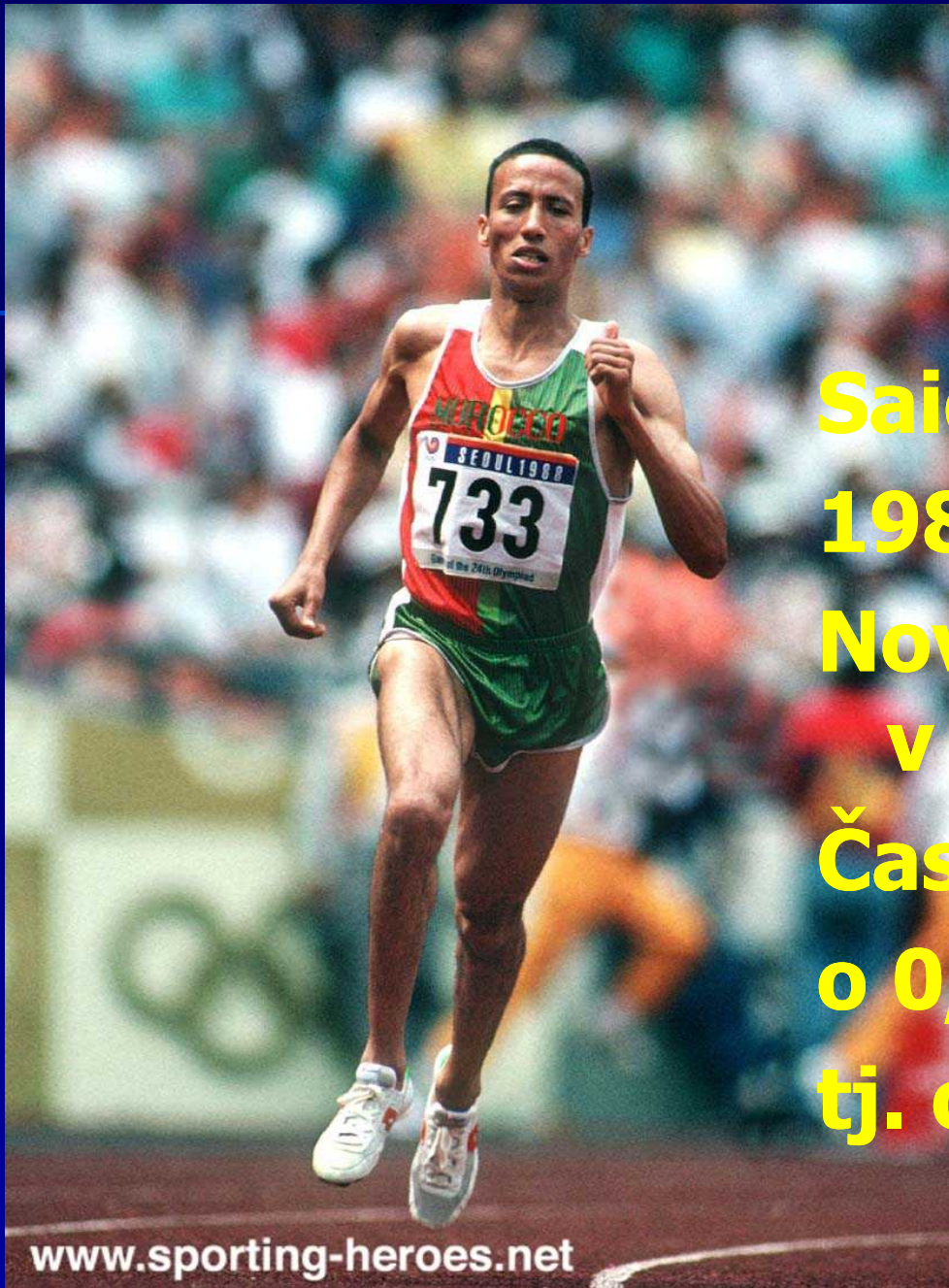


Odolnost vůči

- AIDS
- malárii
- rakovině
- chorobám srdce

Sport - hlavní pole pro start genového vylepšení





Said Aouita

1984

**Nový světový rekord
v běhu na 5000 m**

Čas zlepšen

o 0,01 sec

tj. o 0,000013%

Sport je zajímavý až za hranicemi lidských možností



Ve hře jsou

- Peníze
- Sláva
- Ctižádost
- Osobní ambice



At' to stojí, co to stojí



Tim Montgomery:

**„Kdybych vyhrál
zlatou
olympijskou
medaili, tak to
stálo za to, i
kdybych za
cílovou čárou
umřel.“**



Odolnost k námaze



Delší varianta genu ACE

Zvýšení exprese genu PPAR-delta



**Myši uběhnou do vyčerpání
dvakrát větší vzdálenost.**

Myostatin nebo IGF1



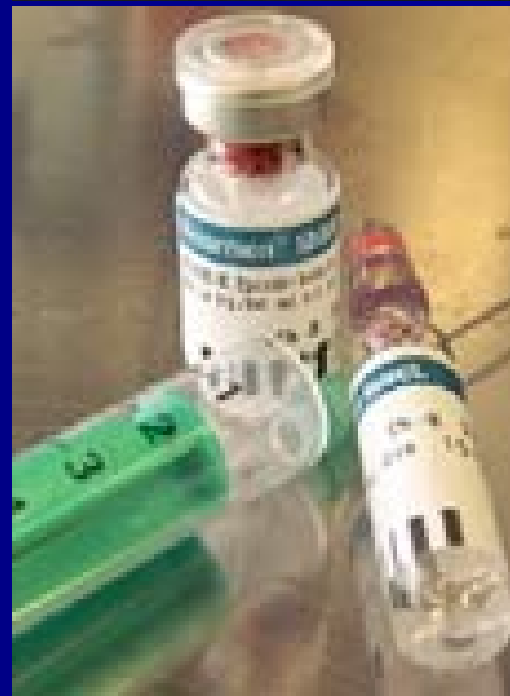
Geny pro ukládání tuku



@Tim de Waele



Tělem produkované látky nelze odhalit



Lee Sweeney:



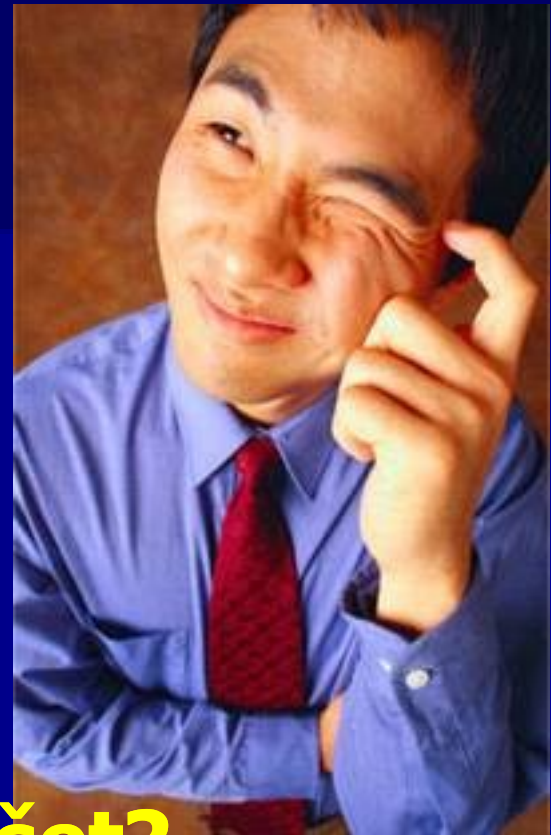
(NNO)

„Olympiáda v Athénách byla poslední, kde ještě medaile nebrali geneticky dopovaní sportovci.“



Velké dilema

- **Dělat nebo nedělat?**
- **Zkoušet nebo nezkoušet?**
- **Zkoumat nebo nezkoumat?**



Zárodečná genová terapie



- Genetická změna – dědičná
- Gregory Stock: „Otázka nestojí, jestli budeme geneticky zasahovat do dědičné informace pohlavních buněk člověka, ale kdy s tím začneme.“

Editace genomu embryí

Čína 2015 - první editace genomu embryí pomocí CRISPR-Cas9

- Příliš mnoho necílových změn

Konference v Napa Valley

- Výzkum editace genomu lidských embryí musí pokračovat
- Klinické testy jsou za stávajícího stavu nepřijatelné

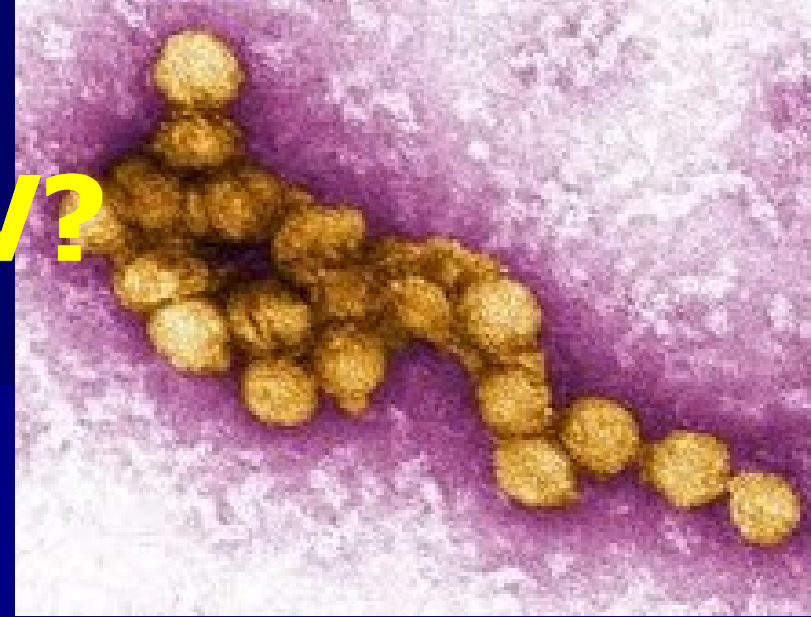
Otázka už nezní: „Jestli?“

Známe odpovědi:

- **Kde? V Číně**
- **Kdy? 2018**
- **Kdo? He Jiankui**
- **Komu? Nana a Lulu**

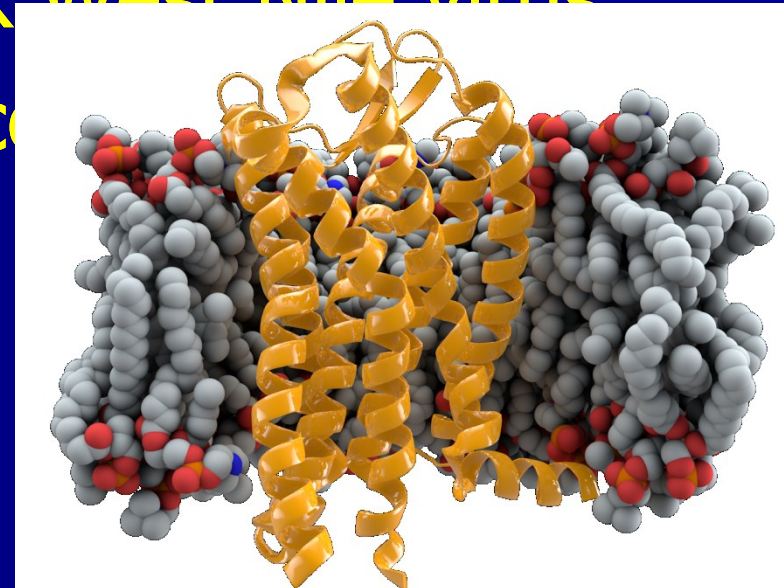


Odolnost k HIV?



Receptor CCR5

- Mutace delta 32
- Odolnost k HIV 1
- Zvýšená náchylnost k West Nile virus
- Komplikace při chřipce



Hůř už to nešlo

- Nana – odolnost nejasná
- Lulu – odolnost vyloučena

- Zfalšované povolení etické komise
- Mylné informace dobrovolníkům
- Porušení čínských zákonů

- Motivem sláva a zisk. **Trest smrti?**



Je Čína „black box“?

- Kolektivní prospěch nad zájmy individua
- Obrovská konkurence – snaha prosadit se za každou cenu
- Mnoho západních vědců o tom vědělo



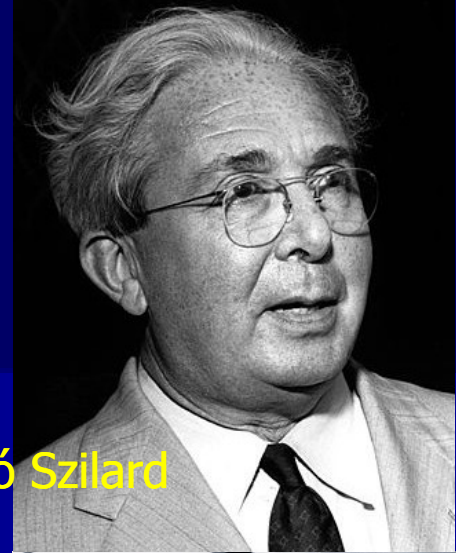
Craig Mello
Nobelova cena 2006

Lze to zastavit?

■ NIKOLI

Příklady:

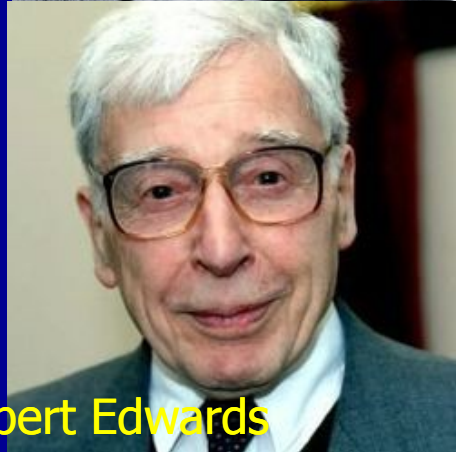
- Atomová bomba
- Rekombinantní DNA
- Lidské IVF



Leó Szilard



Paul Berg



Robert Edwards

Lze to zastavit?

„We need translational pathway.“

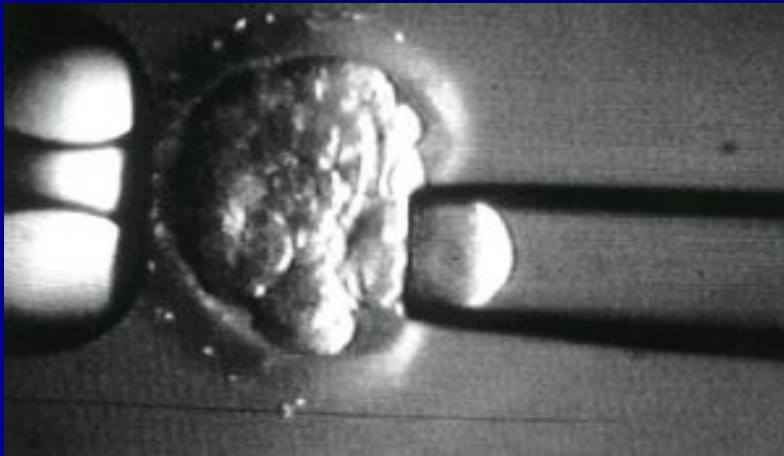
George Daley
Harvard

**2nd International Summit on Human
Genome Editing University Hong Kong
2018**



Zárodečná genová terapie

- Má vyznavače i odpůrce
- Zastánci – přeruší se dědění chorob
- Odpůrci – není třeba, stačí PGD



X



Je GT bezpečná?



- Riziko inzerčních mutací
- u GM myší
defekty oka, ucha, čichu, náchylnost k nádorům
defekty se mohou objevit až po několika generacích
- Capecchi: „celotělová somatická GT“
Využití umělých chromozomů
Ponesou nové geny
Bude u nich možné indukovat externím signálem ztrátu centromer
Nebudou předávány při mitóze a meiozi
Nebudou se dědit

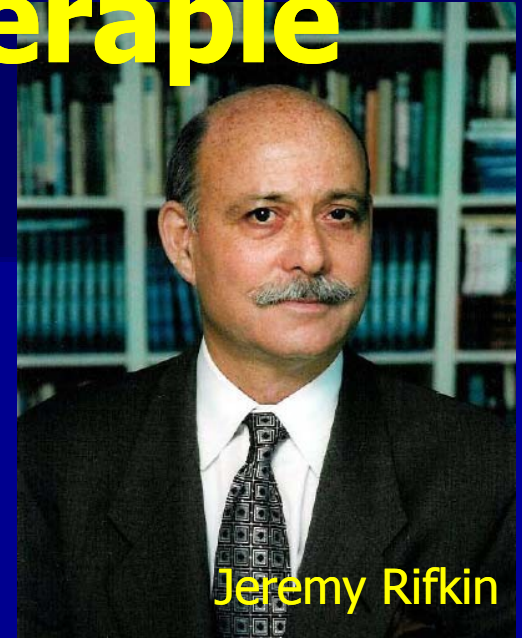
Hrajeme si na bohy?

- Ze hry na boha a zasahování do přirozeného běhu věcí byl viněn např. objevitel očkování proti neštovicím Edward Jenner



Edward Jenner
(1749 – 1823)

Může být genová terapie zneužita?



Jeremy Rifkin: Zásahy do dědičné informace nastolí nerovnost biologickou, ekonomickou a sociální.

Protiargument

- Nikdo nezakazuje ani léky pro hyperaktivní děti ani plastickou chirurgii. Tak proč zakazovat genovou terapii?



Které dědičné vlastnosti a znaky jsou dobré?

- Alely genů mají pleiotropní účinky
- Mutace CCR5 chrání před AIDS, ale zvyšuje riziko západonilské horečky
- Srpková anemie zvyšuje odolnost k malárii, ale homozygoti umírají
- Geny pro bipolární poruchu a umělecký talent



Známe všechny funkce genů, které bychom měnili?

- Lidský genom má 23 500 genů
- Neznáme funkce všech
- Neznáme interakce genů
- Neznáme význam míry exprese genů
- BMP4 – růst kostí, indukce apoptózy, diferenciacie epidermu i nervové tkáně
- Záleží na podmínkách

Mají rodiče právo měnit genotyp svých dětí?

- Genotyp dítěte je výsledkem náhodné kombinace genů rodičů
- Volbou určitých alel se předurčuje osud dítěte a jeho individualita
 - zúžené spektrum
 - posunuté spektrum
 - rozšířené spektrum

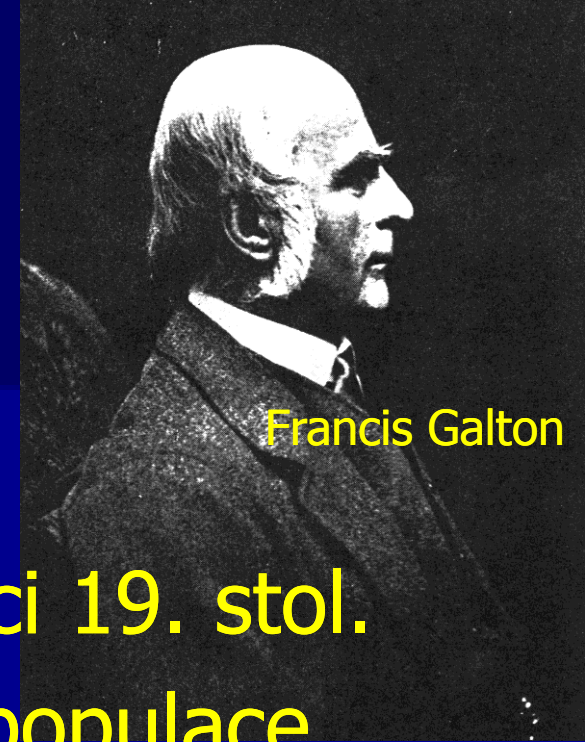


Mají rodiče právo měnit genotyp svých dětí?

- Společnost může definovat „optimum“ vzhledu, inteligence, zdraví apod. Kdo tomu neodpovídá – méněcenný
 - Jaké bude postavení postižených?
 - Nelze zabránit dědičným chorobám
- Achondroplasie – 7 z 8 případů je výsledek „de novo“ mutace ve spermii
- Každý z nás nese několik recesivních alel pro dědičná postižení



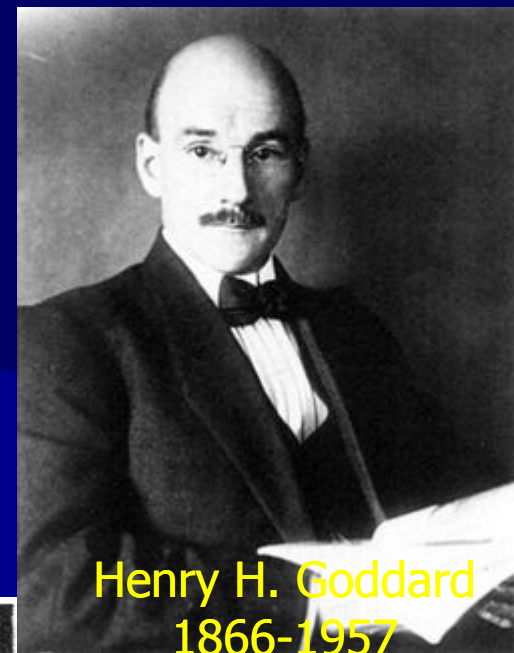
Hrozí eugenika?



Francis Galton

- **Eugenika** – počátky na konci 19. stol.
- Cílem je vytvoření zdravější populace
plození dětí vybranými rodiči
bezdětnost „méněcenných“
- Vrchol - 1. polovina 20. stol.
- Nejen nacistické Německo, ale i další země, např. Británie, USA

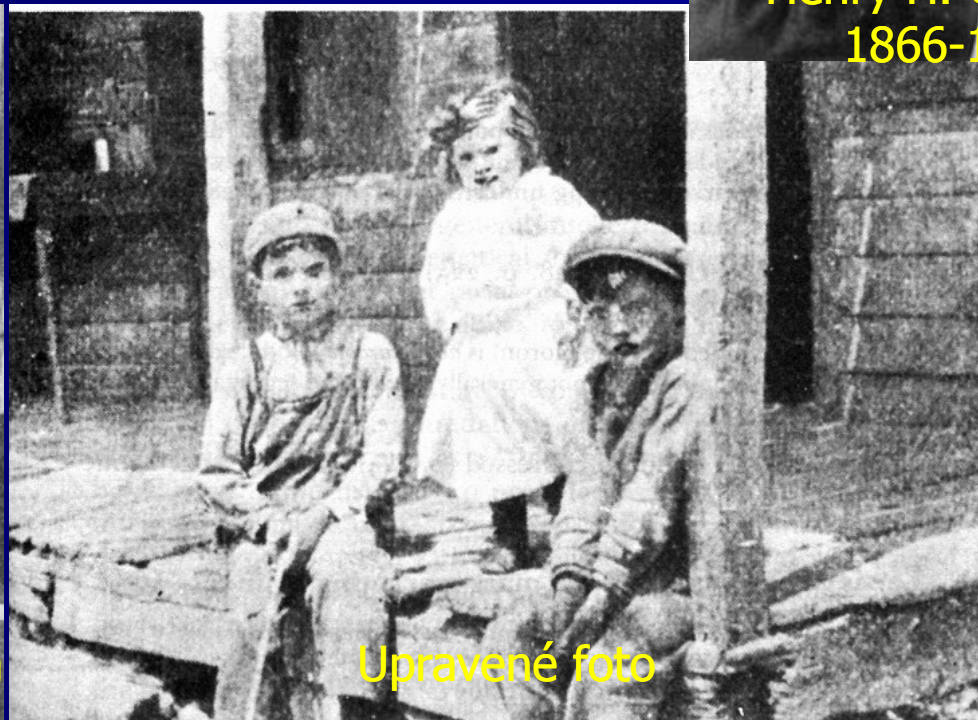
Rodina Killikaků



Henry H. Goddard
1866-1957



Deborah Killikaková



Upravené foto

Vrátí zárodečná GT eugeniku?



David Duke,
National Director
Ku Klux Klan

- Většina vědců, kteří jsou zastánci zárodečné GT, nemají zájem na eugenice
- Některé rasistické skupiny apod. mají zájem o zárodečnou GT

Theodosius Dobzhansky



„Problémy tohoto světa nejsou způsobeny těmi, kdo mají poškozenou dědičnou informaci, ale těmi, kdo mají geny úplně v pořádku a využívají své nadání k amorálním cílům.“