

Ved å generere spesifikke mutasjoner i dyremodeller kan viktige molekylære sykdomsmekanismer kartlegges

## Nobelpris for genmodifisering

Fra naturens side er utveksling av genetiske elementer innen et genom etablert for å sikre genetisk variasjon. Denne mekanismen kalles homolog rekombinasjon. I 1958 ble Joshua Lederberg tildelt nobelprisen for sitt arbeid med å beskrive rekombinasjon i bakterier (1). I dag er det mulig å generere spesifikke mutasjoner ved å utnytte rekombinasjonsteknikker i alle veletablerte modellorganismer innen molekylærbiologisk forskning, så som *Escherichia coli* (bakterie), *Saccharomyces cerevisiae* (gjær, encellet eukaryot), *Drosophila melanogaster* (bananflue, flercellet eukaryot organisme) og *Mus musculus* (mus, pattedyr).

Årets nobelpris i medisin eller fysiologi er tildelt Mario Capecchi, Martin Evans og Oliver Smithies for deres banebrytende arbeid for oppdagelsen av prinsipper for hvordan presise genetiske endringer, mutasjoner, kan lages i mus. Flere grunnleggende oppdagelser ledet frem til det endelige prinsippet for slik genmodifisering i levende dyr. Den første oppdagelsen var at homolog rekombinasjon, dvs. utveksling av identiske, eller nesten identiske, DNA-sekvenser, kunne skje i pattedyrceller. Den andre oppdagelsen var identifisering av embryonale stamceller (ES-celler), og at disse kunne dyrkes in vitro og likevel beholde sin evne til å danne kjønnsceller ved injeksjon i nye museembryoer. Kombinasjonen av disse nyvinningene gjorde det mulig å skreddersy genendringer i embryonale stamceller og deretter å innføre en slik endring i mus ved å injisere de modifiserte stamcellene i en blastocyst.

Arbeidet som ledet frem til årets nobelpris, ble innledet ved at forskningsgruppene til Capecchi og Smithies, uavhengig av hverandre, påviste at homolog rekombinasjon i pattedyrceller kunne utnyttes for å lage en spesifikk endring i et gen (2–4). Kunststykket for begge grupper var å selekttere celler hvor det hadde skjedd endringer ved homolog rekombinasjon. Dette var i utgangspunktet som å lete etter en nål i en høystakk, fordi frekvensen av slike rekombinasjoner i pattedyrceller er ca. en per 1 000 000 celler. Capecchi-gruppens positiv-negativ seleksjonsstrategi er siden blitt den dominerende teknikken for seleksjon av modifiserte embryonale stamceller (5).

Konseptet om eksistensen av stamceller har eksistert i over 100 år og ble utledet av forskning på teratomer (6). Martin Evans utnyttet muligheten til å lage kimære mus ved å injisere embryonale karsinomceller (EC-celler) i museblastocyster. Dette arbeidet stoppet opp, fordi cellene dannet teratomer og ikke kunne bidra til å danne kjønnsceller i museembryoer. Med 1970-årenes nye antistoffteknologi kunne han vise at det fantes normale celler som var svært lik embryonale karsinomceller (7). Neste skritt var å lage kimære mus med slike normale celler og vise at de var arvbare i neste generasjon (8). Ved å sette sammen disse to oppdagelsene, muligheten til å endre spesifikke gen i pattedyrceller, og identifisering av udiffrensierede embryonale stamceller, ble det mulig å endre spesifikke gen i mus. Arbeidet med den første musen med slike mutasjoner ble publisert i 1989 (9). Prinsippene bak denne teknologien ble omtalt i Tidsskriftet for nesten ti år siden (10). Oliver Smithies beskrev homolog rekombinasjon i cellelinjer for Norsk Biokjemisk Selskap i 1987. Mario Capecchi gjestet Oslo i 1999 på en stor konferanse innen utviklingsbiologi.

Måltrettet genmodifisering i mus startet en ny æra innen molekylærmedisin og basal molekylærbiologi. De siste 20 årene er metoden videreutviklet til å kunne endre spesifikke gener i gitte organer ved et ønsket tidspunkt. I dag er mer enn 10 000 gener modifisert ved denne metoden. Viktige forskningsbidrag har også kommet fra norske fagmiljøer (11–13). Det er etablert flere enn 500 musemodeller for humane sykdommer, inkludert diabetes, nevrodegenerativ sykdom, hjertesykdom og kreft. Metodens styrke ligger i at man har kunnet etterprøve sammenhenger mellom mutasjoner og biologiske eller fysiologiske konsekvenser i pattedyr. Metoden gir også unike muligheter til å generere dyremodeller til bruk for legemiddelutvikling relevant for sykdom hos mennesker.

**Arne Klungland**  
aklungla@medisin.uio.no

**Kristin Brevik Andersson**  
k.b.andersson@medisin.uio.no

*Arne Klungland (f. 1963) er dr.scient. innen genetikk og professor ved Det medisinske fakultet, Universitetet i Oslo. Han benytter induserbare nullmutante mus for å studere DNA-reparasjon og epigenetisk reprogrammering.*

*Kristin Brevik Andersson (f. 1960) er dr.scient. innen biokjemi og molekylærbiologi og postdoktorstipendiat ved Institutt for eksperimentell medisinsk forskning, Ullevål universitetssykehus. Hun benytter vevsspesifikke og induserbare genmodifiseringer i mus for å studere mekanismer for hjertesvikt.*

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

### Litteratur

1. Tatum EL, Lederberg J. Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1947; 53: 673–84.
2. Smithies O, Gregg RG, Boggs SS et al. Insertion of DNA sequences into the human chromosomal beta-globin locus by homologous recombination. *Nature* 1985; 317: 230–4.
3. Thomas KR, Capecchi MR. Introduction of homologous DNA sequences into mammalian cells induces mutations in the cognate gene. *Nature* 1986; 324: 34–8.
4. Doetschman T, Gregg RG, Maeda N et al. Targeted correction of a mutant HPRT gene in mouse embryonic stem cells. *Nature* 1987; 330: 576–8.
5. Mansour SL, Thomas KR, Capecchi MR. Disruption of the proto-oncogene int-2 in mouse embryo-derived stem cells: a general strategy for targeting mutations to non-selectable genes. *Nature* 1988; 336: 348–52.
6. Askanazy M. Die Teratome nach ihrem Bau, ihrem Verlauf, ihrer Genese und im Vergleich zum experimentellen Teratoid. *Verhandl Deutsch Pathol* 1907; 11: 39–82.
7. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154–6.
8. Kuehn MR, Bradley A, Robertson EJ et al. A potential animal model for Lesch-Nyhan syndrome through introduction of HPRT mutations into mice. *Nature* 1987; 326: 295–8.
9. Koller BH, Hagemann LJ, Doetschman T et al. Germ-line transmission of a planned alteration made in a hypoxanthine phosphoribosyltransferase gene by homologous recombination in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8927–31.
10. Andersson KB, Skalhegg BS. Genetic modification of the mouse. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1998; 118: 3952–7.
11. Johansen FE, Pekna M, Norderhaug IN et al. Absence of epithelial immunoglobulin A transport, with increased mucosal leakiness, in polymeric immunoglobulin receptor/secretory component-deficient mice. *J Exp Med* 1999; 190: 915–22.
12. Imai K, Slupphaug G, Lee WI et al. Human uracil-DNA glycosylase deficiency associated with profoundly impaired immunoglobulin class-switch recombination. *Nat Immunol* 2003; 4: 1023–8.
13. Nilsen H, Rosewell I, Robins P et al. Uracil-DNA glycosylase (UNG)-deficient mice reveal a primary role of the enzyme during DNA replication. *Mol Cell* 2000; 5: 1059–65.