

DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-5-363-369

EDN: JLCFYK

УДК 616-085



**К.А. Айтбаев<sup>1</sup>, И.Т. Муркамилов<sup>\*2,3</sup>,  
Ж.А. Муркамилова<sup>3</sup>, Ф.А. Юсупов<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> — Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызстан

<sup>2</sup> — Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

<sup>3</sup> — ГОУ ВПО Кыргызско-Российский славянский университет, Бишкек, Кыргызстан

<sup>4</sup> — Ошский государственный университет, Ош, Кыргызстан

## ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА: ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ И БЛИЖАЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

**K.A. Aitbaev<sup>1</sup>, I.T. Murkamilov<sup>\*2,3</sup>,  
Zh.A. Murkamilova<sup>3</sup>, F.A. Yusupov<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> — Scientific and research Institute of molecular biology and medicine, Bishkek, Kyrgyzstan

<sup>2</sup> — I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

<sup>3</sup> — SEI HPE Kyrgyz Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan

<sup>4</sup> — Osh State University, Osh, Kyrgyzstan

## Gene Therapy for Human Diseases: Recent Achievements and Near-Term Development Prospects

### Резюме

В статье кратко изложены недавние успехи в генетической медицине, которые проложили путь для дальнейшего развития генной терапии и заложили основу для разработки технологий следующего поколения. Рассмотрены вопросы, связанные с основным препятствием для более широкого применения методов генной терапии, в частности, с иммунным ответом на векторы доставки генов и продукты чужеродных трансгенов. В этом контексте обсуждается роль новых технологий, позволяющих обойти иммунное препятствие, таких как разработка модифицированных капсидов адено-ассоциированных вирусов (AAV) и методов временного удаления антител из кровотока, а также переноса гена в ткани с помощью наночастиц. Наряду с технологиями первого поколения генной терапии, ориентированных на доставку трансгенов в ткани-мишени, резюмируются последние достижения в разработке совершенно нового подхода к генной терапии, основанного на точной модификации последовательностей генома человека — технологии редактирования генов. И наконец, обозначены перспективные технологии редактирования генов следующего поколения, такие как технологии редактирования, нацеленные на РНК и технологии редактирования эпигенома, которые являются более специфичными и точными, эффективными и применимыми к различным группам заболеваний. В заключение делается вывод, что генная терапия является на сегодняшний день самой захватывающей и революционной биотехнологией современности как из-за недавнего прогресса, так и из-за возможностей, которые она может обеспечить в ближайшем будущем.

**Ключевые слова:** генная терапия, аденоассоциированный вирус (AAV), капсиды, наночастицы, редактирование генов, эпигенетика

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов

### Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования

Статья получена 26.12.2021 г.

Принята к публикации 01.06.2022 г.

Контакты: Илхом Торобекович Муркамилов, e-mail: murkamilov.i@mail.ru

\*Contacts: Ilkhom T. Murkamilov, e-mail: murkamilov.i@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>



**Для цитирования:** Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Муркамилова Ж.А., Юсупов Ф.А. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА: ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ И БЛИЖАЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ. Архивъ внутренней медицины. 2022; 12(5): 363-369. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-5-363-369. EDN: JLCFYK

## Abstract

The article briefly summarizes recent advances in genetic medicine that paved the way for the further development of gene therapy and set the stage for the development of next generation technology. Issues related to the main obstacle for wider application of gene therapy methods, in particular, with the immune response to gene delivery vectors and transgene products are considered. In this context, the role of new technology allowing to bypass the immune obstacle, such as development of modified capsids of adeno-associated viruses (AAV) and methods for temporary removal of antibodies from the bloodstream, as well as gene transfer into tissues using nanoparticles, is discussed. Along with the technology of the first generation gene therapy focused on the delivery of transgenes into target tissues, latest advances in the development of a completely new approach to gene therapy which is based on precise modification of the human genome sequence, gene editing technology, are summarized. Finally, promising next-generation gene editing technology is outlined, such as RNA-targeted editing technology and epigenome editing technology, which are more specific, precise, efficient and applicable to different groups of diseases. The article concludes that gene therapy and, in particular, human genome editing is perhaps the most exciting and revolutionary biotechnology of our time, due to both recent developments and opportunities it might provide in the nearest future.

**Key words:** *gene therapy, adeno-associated virus (AAV), capsids, nanoparticles, gene editing, epigenetics*

## Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests

## Sources of funding

The authors declare no funding for this study

Article received on 26.12.2021

Accepted for publication on 01.06.2022

**For citation:** Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Murkamilova Zh.A., Yusupov F.A. Gene Therapy for Human Diseases: Recent Achievements and Near-Term Development Prospects. The Russian Archives of Internal Medicine. 2022; 12(5): 363-369. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-5-363-369. EDN: JLCFYK

## Введение

Ещё в 1970-х годах было признано, что генная терапия, заменяющая или дополняющая вызывающую заболевание дефектную ДНК экзогенной здоровой или полезной ДНК, может обеспечить жизнеспособные варианты лечения генетических заболеваний человека [1]. В 1980-х годах сформировалась концепция использования вирусного вектора для переноса генов в клетки млекопитающих [2], а в 1990 году было получено первое одобрение на испытание генной терапии с использованием вирусного вектора переноса гена, кодирующего фермент аденозиндезаминазу (ADA) у 4-летнего пациента, страдающего тяжелым комбинированным врожденным иммунодефицитом, связанным с хромосомой X (SCID-X1, X-Linked Severe Combined Immunodeficiency) из-за дефицита ADA (аденозиндезаминаза) [3]. После этого последовало десятилетие проведения новых испытаний, два из которых завершились неудачными результатами и временной остановкой дальнейших испытаний генной терапии. В первом случае, генная терапия дефицита орнитин-транскарбамилазы с использованием аденовируса (Ad) -опосредованного вектора доставки неожиданно привела к тяжелой векторной токсичности, полиорганной недостаточности и смерти 18-летнего мужчины [4]. Во втором случае, генная терапия шести пациентов с SCID-X1, опосредованная гамма-ретровирусным (γRV) вектором, кодирующим гамма-цепь рецептора интерлейкина-2, была связана с неконтролируемой экспоненциальной пролиферацией клональных зрелых Т-клеток и интеграцией ретровирусного

вектора в непосредственной близости от промотора протоонкогена LMO2 (The LIM only protein 2), что привело к aberrантной транскрипции и экспрессии LMO2 [5]. После этих событий последовал закрытый период клинических испытаний. Однако в последующие годы были открыты новые и более безопасные вирусные векторы, в том числе большое количество адено-ассоциированных вирусных (AAV, Adeno-associated virus) векторов [6]. Использование их в новых программах развития генетической медицины привело к дальнейшему прогрессу методов генной терапии болезней человека, краткое содержание которых и перспективы их развития в ближайшие годы представлено в данном обзоре.

## ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

### Терапия с использованием вирусных векторов доставки трансгенов

За последние пять лет произошел ренессанс в области генной и клеточной терапии болезней человека и после десятилетий усилий в этом направлении появились первые, одобренные для их применения в практической медицине, методы лечения (рисунок). К ним можно отнести методы лечения болезней, основанные на использовании олигонуклеотидов (препарат Spinraza — для лечения спинальной мышечной



атрофии, Exondys 51 и Vyondys 53 — для лечения мышечной дистрофии Дюшенна), три метода клеточной терапии (Kymriah — для лечения острого лимфобластного лейкоза, Yescarta — для лечения большой В-клеточной лимфомы, Tescartus — для лечения рецидивирующей или рефрактерной мантийноклеточной лимфомы у взрослых) и два метода генной терапии *in vivo* (Luxturna — для лечения наследственной дистрофии сетчатки и Zolgensma — для лечения пациентов с проксимальной спинальной мышечной атрофией). Эти методы лечения имеют различные клинические показания и тканевые мишени, включая нервно-мышечные заболевания, наследственную слепоту и рак. Значение этих одобренных методов лечения для медицины трудно переоценить, потому что они не только коренным образом меняют к лучшему жизнь пациентов, страдающих тяжёлыми наследственными патологиями, но и закладывают основу, на которой могут быть разработаны методы лечения и многих других болезней человека. Например, успешный перенос *in vivo*, используя в качестве вектора AAV-вирус, нормальной копии дефектного гена в сетчатку и центральную нервную систему человека с помощью препаратов Luxturna и Zolgensma при врожденном амаврозе Лебера и спинальной мышечной атрофии, соответственно, облегчил разработку (основанных на AAV) методов лечения гемофилии [7] и мышечной дистрофии Дюшенна [8], соответственно. Точно так же, ранняя разработка технологии *ex vivo* переноса лентивирусных и ретровирусных генов на Т-клетки, которая привела к созданию адаптивной клеточной иммунотерапии (персонализированному виду неспецифической клеточной иммунотерапии активированными лимфоцитами), была расширена до модификации гемопоэтических стволовых клеток, что позволило лечить наследственные заболевания, такие как серповидно-клеточная анемия и бета-талассемия [9]. Безусловно, эти ранние успехи генной терапии и возможность их экстраполяции на другие виды патологии и популяции пациентов не могут не вызывать восхищения. Однако, в ещё большей степени впечатляют технологии следующего поколения, которые могут значительно расширить использование данных препаратов для лечения многих других заболеваний человека. Например, основным препятствием для более широкого применения методов генной терапии по-прежнему является иммунный ответ на векторы доставки генов и продукты чужеродных трансгенов. Соответственно, контроль над иммунной системой человека — это то направление исследований, где в ближайшем будущем может быть сделан один из наиболее эффективных «прорывов» в области генной терапии болезней. Так, несмотря на поразительный успех многих методов генной терапии на основе AAV, до 50 % пациентов в настоящее время исключаются из лечения из-за ранее существовавшего иммунитета к вирусным капсидам [10]. Работы последних лет в области контроля над иммунной системой увенчались успехом и привели к созданию технологий (в настоящее время они проходят клинические испытания), которые позволяют обойти это

иммунное препятствие. Технологии используют модифицированные капсиды AAV, которые уклоняются от ранее существовавших нейтрализующих антител [11, 12] и методов временного удаления антител из кровотока [13]. Режимы иммуносупрессии также могут обеспечивать возможность как для обхода ранее существовавшего иммунитета, так и для предотвращения адаптивного иммунитета к вектору, что может позволить, при необходимости, проведение последующего повторного дозирования [14, 15].

## Терапия с использованием невирусных векторов (наночастиц) доставки

Кроме того, в разработке и профилировании невирусных векторов (наночастиц) доставки генов достигнут значительный прогресс, который увеличил пропускную способность используемых методов терапии [16]. Учитывая клинический успех доставки мРНК наночастицами и первое одобрение препарата на основе мРНК (Onpattro) для лечения наследственного транстиретинового амилоидоза (ATTR-амилоидоза) в 2018 году, можно полагать, что эти технологии окажут огромное влияние на генную терапию в будущем [17]. Одним из преимуществ использования наночастиц в качестве векторов для доставки генов является возможность избежать их обнаружения иммунной системой, которая ограничивает доставку генов с помощью вируса. Кроме того, химически определенные составы наночастиц предоставляют уникальные возможности для функционализации и нацеливания на ткани, что, в конечном итоге, может иметь решающее значение для успеха переноса гена *in vivo* за пределы сетчатки и печени.

## Технология редактирования генов

В отличие от методов первого поколения генной терапии, ориентированных на доставку трансгенов, технология редактирования генов позволяет использовать совершенно новый подход к лечению, основанный на точной модификации последовательностей генома человека (рисунок). Существуют четыре основных метода редактирования генома — с использованием мегануклеазы, нуклеазы цинковых пальцев (ZFN), нуклеазы TALE (TALEN) и CRISPR/Cas9. В то время как методы лечения с помощью редактирования генов были впервые включены в клинические испытания в 2010 году как подход к профилактике ВИЧ-инфекции (вирус иммунодефицита человека) Т-клеток [18], первый пример эффективности, изменяющей течение заболевания, был продемонстрирован только в 2019 году в клинических испытаниях, основанных на CRISPR редактировании генов серповидно-клеточной анемии и бета-талассемии (CTX001) [19]. Этот новаторский успех в сочетании с многообещающими показателями безопасности для редактируемых генов Т-клеток и гемопоэтических стволовых



клеток в испытаниях на людях [19-21] заложил основу для долгожданных результатов текущих и предстоящих клинических испытаний по редактированию генома *in vivo*, включая текущее испытание редактирования генов на основе AAV в сетчатке (EDIT-101) [22] и запланированное испытание доставки CRISPR в печень на основе невирусных наночастиц (NTLA-2001) [19, 23].

Несмотря на эти достижения, следует всё-таки признать, что распространение технологии редактирования генов на ткани-мишени за пределами сетчатки и печени сопряжено со многими проблемами. Чтобы стимулировать и продвигать исследования в области клеточной и генной терапии (КГТ), включая разработку технологий редактирования генов, в США, Китае, России и некоторых странах Евросоюза созданы соответствующие консорциумы и правительственные программы. Так, в США, финансирование сектора регенеративной медицины, который включает и генную терапию, резко увеличилось с 6 млрд американских долларов в 2019 году — до 19,9 млрд в 2020 году [24]. В Китае, благодаря политической поддержке руководства страны, исследования по КГТ вышли на небывало высокий уровень. В настоящее время Китай, имея быстро развивающийся сектор биотехнологии с более чем 45 национальными и 4 совместными с зарубежными партнёрами компаниями, занимает второе после США место в мировом рейтинге по числу поданных патентных заявок и зарегистрированных клинических испытаний в области генетической медицины и рассматривается как один из наиболее развитых мировых центров клеточной и генной терапии. В России также принята государственная программа развития генетических технологий, рассчитанная на 2019-2027 гг., общее финансирование которой составляет 127 млрд рублей [24]. Несомненно, усилия, принимаемые в этой области научных исследований ведущими странами мира, должны в течение следующих десяти и более лет значительно ускорить развитие методов лечения, основанных на редактировании генов.

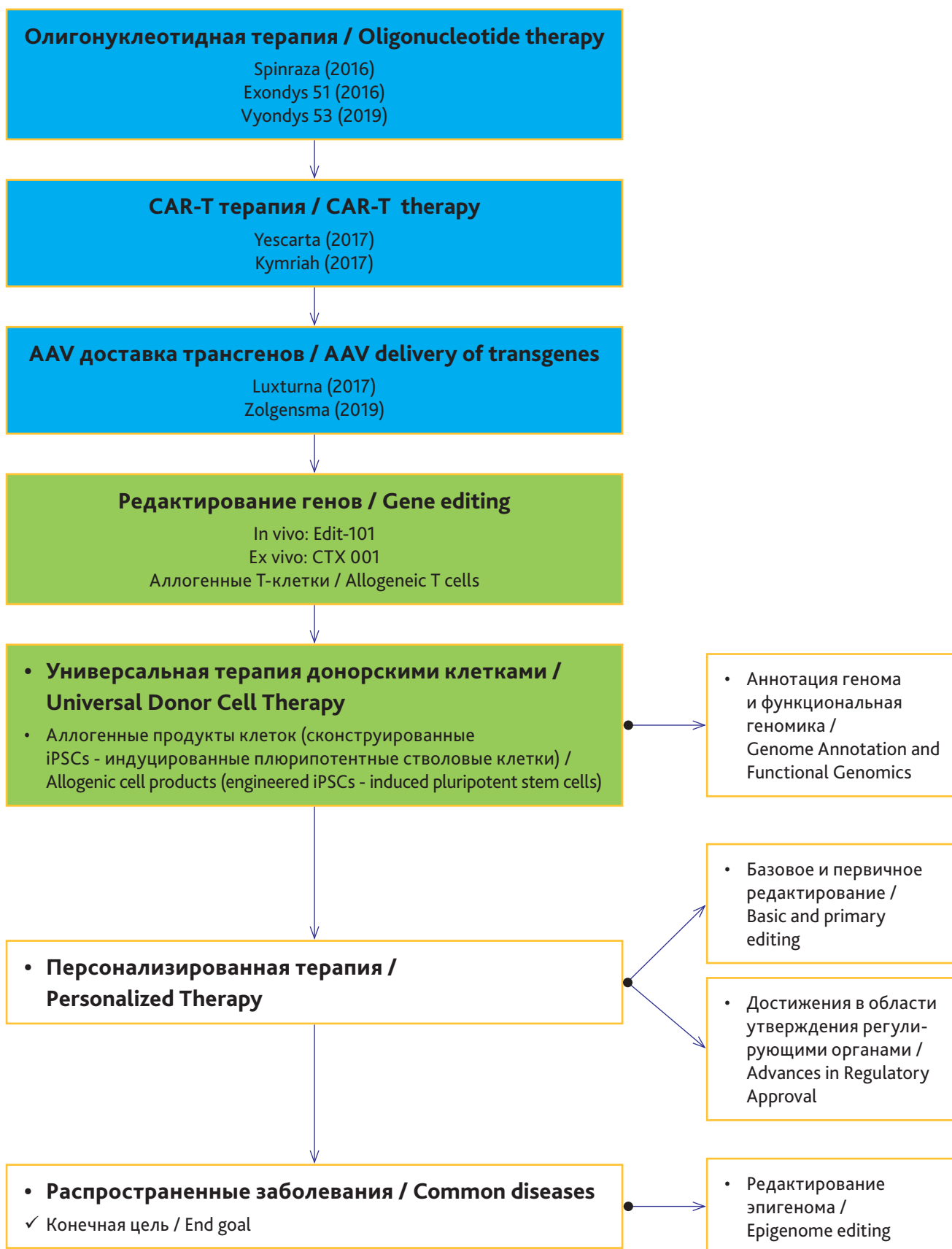
Современные технологии редактирования генов используют системы на основе нуклеаз для разрезания цепей ДНК и стимуляции путей репарации ДНК с целью внесения желаемых изменений последовательности. Хотя эти технологии только сейчас начали проходить клинические испытания, но уже вслед за ними стали выстраиваться в очередь на прохождение клинических испытаний многочисленные, более специфичные и точные, эффективные и применимые к различным группам заболеваний технологии редактирования следующего поколения [25, 26]. Например, изобретение базового редактирования и первичного редактирования сделало возможным точно изменять геномные последовательности в отсутствие разрывов ДНК и без зависимости от активности эндогенных путей репарации ДНК [25]. А технологии редактирования, нацеленные на РНК, допускают временную и обратимую модификацию экспрессии генов без необходимости постоянного изменения

последовательностей генома (рисунок), что потенциально приводит к большей эффективности и безопасности [26]. Наконец, технологии редактирования эпигенома обладают преимуществом настраиваемости, обратимости и потенциала для устойчивых результатов после кратковременной активности редактора, которые наследуются через деление клетки [27]. Параллельно этим усовершенствованным модальностям редактирования, список возможных систем нацеливания на ДНК продолжает расширяться, особенно с экспоненциально увеличивающимся разнообразием систем CRISPR-Cas (Clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequences/CRISPR-associated protein), полученных из модифицированных вариантов различных видов бактерий и различных классов механизмов нацеливания CRISPR [26]. Быстрые темпы технологических инноваций в этих областях редактирования, по мнению исследователей, не только изменят наше нынешнее представление о том, что собой представляет генная терапия, но также значительно расширят масштабы болезней человека, к которым могут быть применены эти подходы.

## Технология редактирования регуляторных элементов генов

Еще одна область инноваций, которая в ближайшем будущем существенно повлияет на сферу генной терапии — это функциональная геномика и наше понимание регуляции генома человека, то есть, эпигенетика. Например, функции ~ 6000 из ~ 20 000 генов человека в настоящее время не известны [28]. Поэтому, параллельно с возможностью лечения с помощью редактирования генов, технологии CRISPR также могут облегчить функциональное расчленение этих генных последовательностей [29]. Следует отметить, что раньше научные исследования и терапевтические вмешательства традиционно были сосредоточены почти исключительно на генах, хотя 98 % нашего генома состоит из некодирующей ДНК, содержащей эпигенетические регуляторы, ответственные за >90 % восприимчивости к распространенным заболеваниям [30]. Фактически, первый пример терапевтической эффективности подхода редактирования генов на основе технологии CRISPR (CTX001) в качестве стратегии компенсации утраченного бета-глобина при гемоглобинопатиях включает в себя редактирование дистального регуляторного элемента гена для изменения экспрессии гена, а не редактирование лежащей в основе генетической мутации [31]. Усилиями международного консорциума ENCODE (The Encyclopedia of DNA elements, Энциклопедия элементов ДНК) картировано более двух миллионов этих регуляторных элементов генов в сотнях типов клеток человека и образцах тканей, тем не менее, функция очень немногих из этих сайтов известна [32]. Поэтому аннотирование этой «темной» материи генома может привести к развитию совершенно новых областей в биологии болезней и классов терапевтических мишеней,





**Рисунок.** Основные этапы развития генной терапии распространенных заболеваний.

**Примечание:** одобренные методы лечения и год их одобрения представлены синими прямоугольниками, а экспериментальные методы лечения — зелеными прямоугольниками. Для достижения более поздних этапов необходимы дальнейшие исследования по разработке альтернативных терапевтических подходов и решению фундаментальных научных вопросов (показаны маркерами)

**Figure.** Milestones in the development of gene therapy for common diseases.

**Note:** Approved treatments and their year of approval are represented by blue boxes, while experimental treatments are represented by green boxes. To reach later milestones, further research is needed to develop alternative therapeutic approaches and address fundamental scientific questions (shown as markers)



которые позволят применять принципиально новое лечение с помощью генной терапии, редактирования генов и других методов.

## Технология универсальных клеточных методов лечения

Примечательно, что темпы разработки технологических инноваций в генной и клеточной терапии значительно опережают таковые по их одобрению и безопасному внедрению в клиническую практику. В ряде случаев это объясняется несоответствием существующих требований по безопасности и эффективности к некоторым новым лечебным технологиям. Например, современные нормативные модели, требующие большого числа пациентов для установления безопасности и эффективности, неприменимы к лечебным технологиям, направленным на устранение мутации, обнаруженной у одного пациента или очень небольшого числа пациентов. Поэтому одной из многообещающих стратегий в этом направлении является создание единой композиции, которая позволит лечить значительно большую популяцию пациентов. Универсальные клеточные методы лечения, которые создаются путем применения редактирования генов для получения аллогенных донорских клеток-невидимок, способных ускользать от обнаружения иммунной системой хозяина (рисунок), могут использоваться как в регенеративной медицине, так и в адаптивной клеточной иммунотерапии [33]. В настоящее время проводится несколько клинических испытаний для изучения методов лечения с использованием этого дизайна [19], и выводы по результатам этих испытаний в ближайшее время существенно повлияют на будущее генной и клеточной терапии. Однако, несмотря на многообещающие перспективы данного подхода, он не направлен на исправление генетических мутаций *in vivo*, а также не влияет на разработку трансформирующих технологий, таких как базовое редактирование и первичное редактирование, которые могут исправить отдельные частные мутации. Аналогичным образом, недавний отчет по терапии на основе олигонуклеотидов, нацеленный на частную генетическую мутацию, и успешное лечение пациента с болезнью Баттена, для популяции можно рассматривать лишь как потенциальную программу и мотивацию для этих усилий [34]. Следовательно, значительные достижения в области клеточной и генной терапии в ближайшем будущем ожидаются в области регуляторных наук и решения уникальных проблем с использованием инновационных персонализированных технологий. по мере того, как мы движемся к терапии.

## Заключение

Развитию генетических технологий придаётся приоритетное значение в ведущих странах мира, а генная терапия, в частности, редактирование генома человека является на данный момент самой захватывающей и революционной биотехнологией современности [35].

Беспрецедентный уровень контроля над доставкой нуклеиновых кислот, модуляция иммунной системы и точное манипулирование геномом человека — технологии, которые невозможно было представить десять лет назад — несомненно, дадут толчок к формированию и развитию новых областей медицины в течение следующих десяти лет. В то же время этот зарождающийся проблеск нового мира технических возможностей вдохновил и продолжает вдохновлять на развитие целые новые области исследований, такие как синтетическая биология, перепрограммирование клеток и высокопроизводительная функциональная геномика, которые, несомненно, будут и дальше менять облик биомедицинских исследований.

### Вклад авторов:

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией

**Айтбаев К.А.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>): написание текста, редактирование текста

**Муркамилов И.Т.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>): разработка дизайна исследования, анализ литературных данных и написание текста

**Муркамилова Ж.А.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>): сбор литературного материала

**Юсупов Ф.А.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>): сбор литературного материала

### Contribution of Authors:

All the authors contributed significantly to the study and the article, read and approved the final version of the article before publication

**Aitbaev K.A.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>): text writing, text editing

**Murkamilov I.T.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>): research design development, literature data analysis and text writing

**Murkamilova Zh.A.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>): collection of literary material

**Yusupov F.A.** (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>): collection of literary material

### Список литературы / References:

1. Friedmann T., and Roblin R. Gene therapy for human genetic disease? Science 1972; 175: 949–955. <https://doi.org/10.1126/science.175.4025.949>.
2. Williams D.A., Lemischka I.R., Nathan D.G. et al. Introduction of new genetic material into pluripotent haematopoietic stem cells of the mouse. Nature 1984; 310: 476–480. <https://doi.org/10.1038/310476a0>.
3. Blaese R.M., Culver K.W., Miller A.D. et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science 1995; 270: 475–480. <https://doi.org/10.1126/science.270.5235.475>.
4. Raper S.E., Chirmule N., Lee F.S. et al. Fatal systemic inflammatory syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. Mol. Genet. Metab. 2003; 80: 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.jymgme.2003.08.016>.
5. Hacein-Bey-Abina S., Kalle C.V., Schmidt M. et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. Science 2003; 302: 415–419. <https://doi.org/10.1126/science.1088547>.



6. Gao G., Vandenbergh L., Wilson J.M. New recombinant serotypes of AAV vectors. *Curr. Gene Ther.* 2005; 5: 285–297. <https://doi.org/10.2174/1566523054065057>.
7. Pasi K.J., Rangarajan S., Mitchell N. et al. Multiyear follow-up of AAV5-hFVIII-SQ gene therapy for hemophilia A. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382: 29–40. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1908490>.
8. Mendell J.R., Sahenk Z., Lehman K. et al. Assessment of Systemic Delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in Children With Duchenne Muscular Dystrophy: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Neurol.* 2020; 77: 1–10. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1484>.
9. Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia. *N. Engl. J. Med.* 2018; 378: 1479–1493. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1705342>
10. Boutin S., Monteilhet V., Veron P. et al. Prevalence of serum IgG and neutralizing factors against adeno-associated virus (AAV) types 1, 2, 5, 6, 8, and 9 in the healthy population: implications for gene therapy using AAV vectors. *Hum. Gene Ther.* 2010; 21: 704–712. <https://doi.org/10.1089/hum.2009.182>.
11. Tse L.V., Klinc K.A., Madigan V.J. et al. Structure-guided evolution of antigenically distinct adeno-associated virus variants for immune evasion. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2017; 114:E4812–E4821. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704766114>.
12. Maheshri N., Koerber J.T., Kaspar B.K. et al. Directed evolution of adeno-associated virus yields enhanced gene delivery vectors. *Nat. Biotechnol.* 2006; 24: 198–204. <https://doi.org/10.1038/nbt1182>.
13. Leborgne C., Barbon E., Alexander J.M. et al. IgG-cleaving endopeptidase enables in vivo gene therapy in the presence of anti-AAV neutralizing antibodies. *Nat. Med.* 2020; 26: 1096–1101. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0911-7>.
14. Corti M., Elder M., Falk D. et al. B-cell depletion is protective against anti-AAV capsid immune response: a human subject case study. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2014; 1: 14033.
15. Meliani A., Boisgerault F., Hardet R. et al. Antigen-selective modulation of AAV immunogenicity with tolerogenic rapamycin nanoparticles enables successful vector re-administration. *Nat. Commun.* 2018; 9: 4098. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06621-3>.
16. Lokugamage M.P., Sago C.D., Dahlman J.E. Testing thousands of nanoparticles in vivo using DNA barcodes. *Curr. Opin. Biomed. Eng.* 2018; 7: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2018.08.001>.
17. Akinc A., Maier MA, Manoharan M, et al. The Onpatro story and the clinical translation of nanomedicines containing nucleic acid-based drugs. *Nat. Nanotechnol.* 2019; 14: 1084–1087. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0591-y>
18. Tebas P., Stein D., Tang W.W. et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370: 901–910. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1300662>.
19. Mullard A. Gene-editing pipeline takes off. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2020; 19: 367–372. <https://doi.org/10.1038/d41573-020-00096-y>.
20. Stadtmayer E.A., Fraietta J.A., Davis M.M. et al. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science.* 2020 Feb 28; 367(6481):eaba7365. doi: 10.1126/science.aba7365. Epub 2020 Feb 6.
21. Xu L., Wang J., Liu Y. et al. CRISPR-edited stem cells in a patient with HIV and acute lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2019; 381: 1240–1247. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1817426>.
22. Maeder ML, Stefanidakis M, Wilson CJ, et al. Development of a gene-editing approach to restore vision loss in Leber congenital amaurosis type 10. *Nat. Med.* 2019; 25:229–233. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0327-9>.
23. Finn J.D., Smith A.R., Patel M.C. et al. A single administration of CRISPR/Cas9 lipid nanoparticles achieves robust and persistent in vivo genome editing. *Cell Rep.* 2018; 22: 2227–2235. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.02.014>.
24. Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019 — 2027 г. [Электронный ресурс]. URL:<https://legalacts.ru/doc/postanovlenie-pravitelstva-rf-ot-22042019-n-479-ob-utverzhenii/> (дата обращения: 20.12.2021).  
Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019 — 2027. [Electronic resource]. URL:<https://legalacts.ru/doc/postanovlenie-pravitelstva-rf-ot-22042019-n-479-ob-utverzhenii/> (date of the application: 20.12.2021) [In Russian].
25. Anzalone A.V., Koblan L.W., Liu D.R. Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. *Nat. Biotechnol.* 2020; 38: 824–844.
26. Pickar-Oliver A., Gersbach C.A. The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019; 20:490–507. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0131-5>
27. Thakore P.I., Black J.B., Hilton I.B., et al. Editing the epigenome: technologies for programmable transcription and epigenetic modulation. *Nat. Methods.* 2016; 13:127–137. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3733>.
28. Dey G., Jaimovich A., Collins S.R. et al. Systematic discovery of human gene function and principles of modular organization through phylogenetic profiling. *Cell Rep.* 2015; 10:993–1006. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.01.025>.
29. Shalem O., Sanjana N.E., Zhang F. High-throughput functional genomics using CRISPR-Cas9. *Nat. Rev. Genet.* 2015; 16:299–311. <https://doi.org/10.1038/nrg3899>.
30. Hnisz D., Abraham B.J., Lee T.I. et al. Super-enhancers in the control of cell identity and disease. *Cell.* 2013; 155:934–947. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.053>.
31. Wu Y., Zeng J., Roscoe B.P. et al. Highly efficient therapeutic gene editing of human hematopoietic stem cells. *Nat. Med.* 2019; 25:776–783. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0401-y>.
32. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012; 6; 489(7414): 57-74. <https://doi.org/10.1038/nature11247>.
33. Lanza R., Russell D.W., Nagy A. Engineering universal cells that evade immune detection. *Nat. Rev. Immunol.* 2019; 19:723–733. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0200-1>.
34. Kim J., Hu C., Moufawad E.I. Achkar C. et al. Patient-customized oligonucleotide therapy for a rare genetic disease. *N. Engl. J. Med.* 2019; 381: 1644–1652. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1813279>.
35. Федорин В.В. Генетическое редактирование человека: перспективы, неизбежность и вопрос морально-этической оправданности. *Философская мысль.* 2020; 12: 30–41. <https://doi.org/10.25136/2409-8728.2020.12.34403>.  
Fedorin V.V. Human genetic editing: prospects, inevitability and the issue of moral and ethical justification. *Philosophical thought.* 2020; 12: 30–41. <https://doi.org/10.25136/2409-8728.2020.12.34403> [In Russian].