

Inkeri Soppa ja Kirmo Wartiovaara

Mitä uutta geneettisissä hoidoissa?

Geenit ohjaavat RNA:n ja proteiinien muodostumista, ja geenivirheet voivat aiheuttaa monenlaisia synnynäisiä tai myöhemmin puhkeavia sairauksia. Sairauksien farmakologinen hoito kestää yleensä lääkkeen kemiallisen vaikutuksen ajan, mutta geenihoito muuttaa geenejä tai niiden ilmentymistä, joskus hyvinkin pitkäkestoisesti. Geenilääketiedettä ajatellaan usein hoidoksi perinnöllisiin sairauksiin, mutta se on hyödyllinen myös hankinnaisten sairauksien kuten syöpien ja infektioautien hoidossa. Kliinisiä kokeita on maailmanlaajuisesti käynnissä satoja, mutta myyntiluvallisia geenilääkkeitä on edelleen vähän. Alkuvuonna 2024 Euroopan lääkevirasto EMA hyväksyi ensimmäisen geenisaksien eli CRISPR-Cas9:n avulla valmistetun lääkkeen, eksagamglogeeniautotemseelin, jossa potilaan omaa genomia muokataan geenisaksien avulla. Suurin osa hyväksytyistä geenihoidoista perustuu edelleen uuden geenin siirtotekniikkaan, mutta geenimuokkauksen näkymät ovat lupaavat. Laajaan aihepiiriin liittyy monia eettisiä ja yhteiskunnallisia kysymyksiä, joihin ei ole valmiita vastauksia.

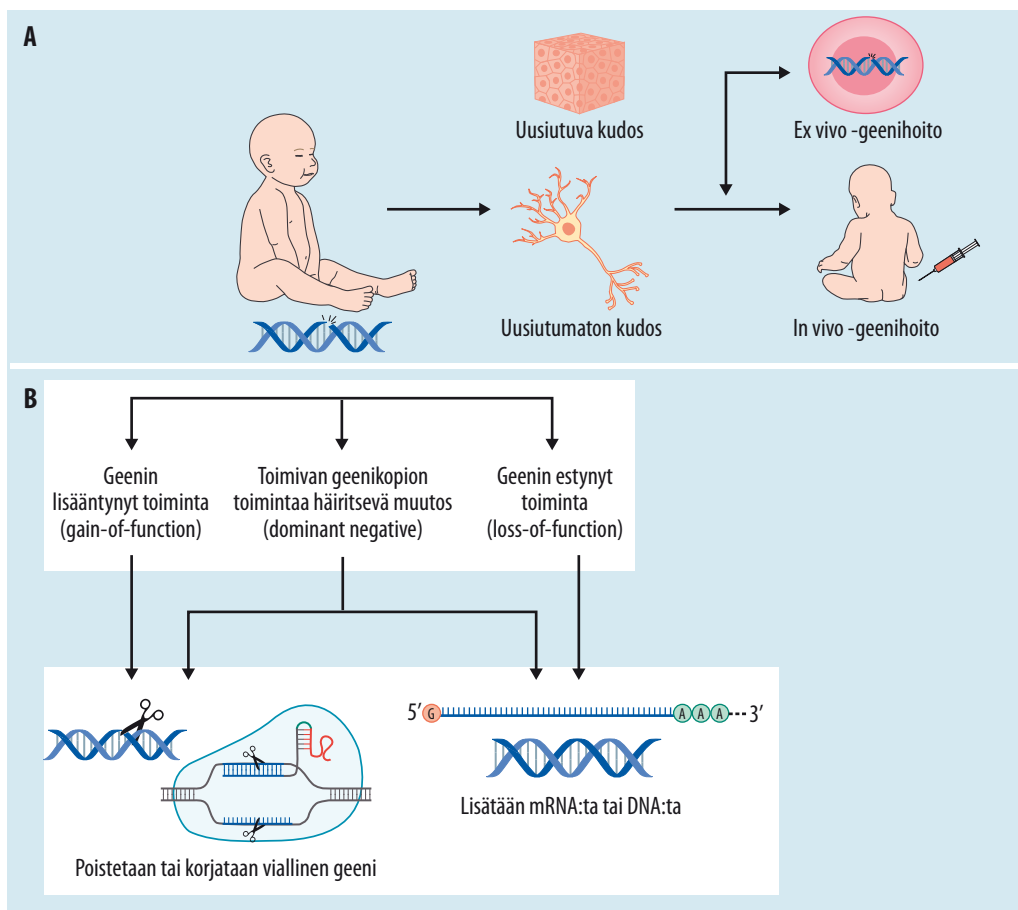
Geenivirheistä osa on perittyjä, mutta niitä syntyy myös elämän aikana somaattisissa soluissa (1). Virheet voivat lisätä tai vähentää geenin ohjaaman tuotteen määrää tai toimintaa. Peittyvästi periytyvät taudit joutuvat usein inaktivoivasta muutoksesta, jolloin geenituotetta ei synny, se toimii huonosti tai ei ollenkaan. Yhden virheellisen geenikopion kantajat voivat olla terveitä, mikäli toinen, terve geenikopio riittää solujen toiminnan ylläpitoon. Vallitsevasti periytyvä tauti voi puolestaan syntyä sekä hiljentävän että aktivoivan virheen seurauksena. Mikäli yksi terve geenikopio ei riitä toiminnan säilyttämiseen, puhutaan haploinsuffisienssista. Joskus yhden kopion muutoksesta syntyvä haitallinen proteiini estää myös virheettömän proteiinin toiminnan tai yliaktiivinen geenituote vaikuttaa solun toimintaan, vaikka toinen alleeli olisi virheetön (2–4). DNA-muutosten tyyppi siis vaikuttaa geenihoidon mahdollisuuksiin: toimimaton geenikopio voidaan korvata siirtogeonilla, mutta haitallisten muutosten hoidossa virheellinen geenikopio pitäisi poistaa tai korjata (5,6).

Eri kudoksissa ilmentyy erilaisia proteiineja, ja geenihoidon kohde tulee valita tämän mukaan. Hoito voidaan suunnata sairastuneeseen

elimeen, esimerkiksi maksaan, silmään tai syöpäsolukkoon, ja tämä määrittää myös geenikorjauksen optimaalisen menetelmän (7,8). Nopeasti uusiutuvat kudokset vaativat esimerkiksi erilaisen menetelmän kuin hermoston lähes jakautumattomat solut. Solujen nopea jakautuminen ja vaihtuvuus voivat vaikuttaa myös hoidon hyödyn kestoon. Jos solujen geneettiset muutokset tehdään potilaassa, kyseessä on in vivo -hoito. Ex vivo -hoidoissa puolestaan hyödynnetään kehon ulkopuolella geneettisesti muokattuja soluja, jotka annetaan takaisin potilaalle ([KUVA](#)) (9,10).

Mitä geenilääkkeet ovat?

EMA säätelee ja valvoo geenilääkkeiden myyntilupia erityisen ATMP (advanced therapy medical products) -menettelyn kautta, johon kuuluvat myös somaattiset soluhoidotuotteet ja muokatut kudosvalmisteet. EU:n alueella geenilääkkeet määrittellään geneettiseksi materiaaliksi, jolla saadaan aikaan terapeuttinen, profylaktinen tai diagnostinen vaikutus, ja niihin lasketaan yhdistelmä-DNA-tekniikalla valmistetut geneettistä materiaalia sisältävät tuotteet (11). Tämä rajaa esimerkiksi synteettiset DNA-tuot-



KUVA. Geeninkorjausmenetelmät. **A.** Kudostyyppi vaikuttaa siihen, tehdäänkö geenimuutos kehon ulkopuolella ex vivo vai suoraan potilaassa in vivo. Jos kudos on uusiutuva ja sen solut kasvatettavissa, muokkaus voidaan tehdä kehon ulkopuolella ja muokatut solut siirtää vastaanottajalle. Jos kohdekudos on puolestaan uusiutumaton eikä enää aktiivisesti jakaudu tai solutyyppiä ei osata viljellä, geeninsiirto tai -muokkaus tehdään yleensä suoraan potilaassa. **B.** Geenivirheen tyyppi määrää geeninkorjausmenetelmän. Geenin estynyt toiminta (loss-of-function) korjataan yleensä siirtämällä toimiva geenikopio DNA:na tai mRNA:na. Geenin lisääntynyt toiminta, yliaktiivisuus (gain-of-function) tai häiritsevä (dominant negative) alleeli hoidetaan poistamalla tai korjaamalla viallinen geenimuoto. Menetelmiä voidaan myös yhdistellä.

teet, kuten oligonukleotidi- ja RNA-sammutus (RNA interference) -valmisteet, geenilääke-kategorian ulkopuolelle. Marraskuussa 2024 EU:n markkinoilla oli kuusitoista EMA:n hyväksymää, myyntiluvallista geenilääkettä, joilla hoidetaan silmä-, maksa- ja veritauteja sekä syöpää (**TAULUKKO**) (12). Lisäksi käynnissä on satoja kliinisiä tutkimuksia (13).

Uuden geenihoidon kehittäminen on monivaiheinen prosessi. Tunnistettuja perinnöllisten sairauksien aiheuttajageenejä on lähes 7 000, ja korjausmenetelmän kehittäminen vaatii ymmärryksen kunkin taudin patogeneesistä (14). Sama koskee osaa somaattisten geenivirheiden

aiheuttamista taudeista, mutta esimerkiksi syöpähoidoissa solu halutaan tuhota eikä korjata jotain tiettyä signaalireittiä (15). Koska solun tappaminen on monesti suoraviivaista, sama tai samankaltainen lääke voi toimia monen eri taudin hoidossa.

Geenitekniikat mahdollistavat myös rokotteiden ja diagnostisten testien valmistamisen (16,17). Rokotteissa oleva geenituote, kuten mRNA, saa aikaan antigeneeninä toimivan proteiinin ilmentymisen ja immuunivasteen kehittymisen (18). Diagnosoinnissa voidaan hyödyntää muun muassa CRISPR-Cas9:n tarkkaa sitoutumista kohteeseen, kuten mikrobin

genomiin. Geenitekniikalla voidaan vaikuttaa lähes kaikkiin geenejä sisältäviin eliöihin. Jopa tautivektoreihin, kuten hyttysiin, puuttuminen on mahdollista (19), joskaan tätä ei luultavasti laskettaisi geneettiseksi hoidoksi.

Jotta lääkkeet ja hoidot voisivat vaikuttaa, niiden on yleensä päästävä kaupallisille markkinoille. Myyntiluvan vaatimuksena on kliinisissä tutkimuksissa osoitettu lääkkeen turvallisuus ja tehokkuus (20). Perinnölliset sairaudet ovat usein hyvin harvinaisia, joten lääketutkimuksiin on haastavaa rekrytoida riittävästi potilaita. Siksi on kehitetty ehdollinen myyntilupamenetely, jossa suppeammat onnistuneet kliiniset kokeet riittävät myyntiluvan saamiseen, mutta lääkeyritysten on kerättävä hoidettujen terveys-tietoja määrääjän. Geenihoidojen kehittäminen on silti osoittautunut yrityksille kaupallisesti hankalaksi, ja muutama myyntiluvan saanutkin valmiste on vedetty pois markkinoilta taloudellista syistä (21,22).

Geeniterapiamenetelmät

Tehokas geeninsiirto soluun on toimivan geeniterapian perusta, ja geenisiirtoihin on useita biologisia, kemiallisia ja fysikaalisia keinoja. Geneettisen materiaalin siirtämiseen käytettäviä kuljettimia kutsutaan vektoreiksi, jotka jaetaan karkeasti viruksiin ja muihin (23,24). Esimerkiksi koronarokotteet perustuvat lipidipartikkeleihin pakattuun mRNA:han, ja lipidipartikkelit soveltuvat hyvin myös geeniterapiaan (25). Suuri osa geenisiirroista on vielä toistaiseksi perustunut erilaisiin virusvektoreihin. Yleisimpiä käytettyjä viruksia ovat adenovirukset, AAV (adeno-associated virus)- ja retrovirukset, kuten lentivirus (HIV-1) (24).

EMA:n hyväksymät geenilääkkeet

Euroopan komission vuoden 2024 elokuuhun mennessä hyväksymät ja myyntiluvalliset lääkkeet luetellaan **TAULUKOSSA** (12). Näistä in vivo -geenilääkkeitä on kehitetty melanoomaan, perinnölliseen verkkokalvorappeumaan, spinaaliseen lihasatrofiaan (SMA), entsyymipuutoksiin ja verenvuototautiin sekä ex vivo -lääkkeitä verisyöpiin, lymfoomiin, myeloomaan, immu-

nipuutoksiin, neurologisiin rappeumatauteihin ja hemoglobiinitauteihin (12,26). Neljä lääketä on vedetty pois markkinoilta joko taloudellisista syistä tai haittavaikutusten vuoksi varoit-
mina (12).

Geeninsiirtoa uudempi menetelmä on geenimuokkaus. Geenimuokkaus tai -editointi tarkoittaa, että solun omaa DNA-juostetta muutetaan kohdennetusti. Tunnetuin geenimuokkausmenetelmä lienee CRISPR-Cas9, ja vanhempia tekniikoita ovat sinkkisormi (ZF)- ja TALEN-nukleasit (5,28). Vuonna 2024 eli vain 12 vuotta CRISPR-Cas9-tekniikan kuvamisesta Euroopan komissio antoi EMA:n suosituksesta myyntiluvan ensimmäiselle CRISPR-geenihoidolle (12,29).

Beetatalasemia ja sirppisolutauti. Eksaganglogeeniautotemseeli on geenilääke, jossa potilaan CD34-positiivisia hematopoeettisia kantasoluja on muokattu CRISPR-Cas9-tekniikalla. Lääkkeen avulla hoidetaan yli 12-vuotiaiden potilaiden beetatalasemiaa ja sirppisolutautia (29). Nämä peittyvästi periytyvät taudit johtuvat hemoglobiinin beetayksikköä koodaavan geenin muutoksista, jotka johtavat tehottomaan tai virheelliseen punasolutuotantoon ja anemiaan. Geenivirheen vuoksi punasolut eivät tuota tarpeeksi toimivaa hemoglobiinia tai ne hajoavat hemolyyysissä, joten potilaat tarvitsevat säännöllisiä verensiirtoja yleensä koko elämänsä ajan (29,30). Verensiirrot auttavat oireisiin mutta aiheuttavat vaarallista raudan kertymistä eivätkä hoida sairauksien taustasyitä. Ehtona beetatalasemiapotilaan hoidolle on tarve säännöllisille verensiirroille, ja sirppisolutautia sairastavan potilaan eksaganglogeeniautotemseelihoito rajataan vaikeaa muotoa sairastaville potilaille, joilla on kivuliaita sairausjaksoja (29,31).

Eksaganglogeeniautotemseeli-CRISPR-Cas9-hoito perustuu geenimuokkaukseen, jossa hemoglobiinia tuottavan solun genomista on leikattu osa kokonaan pois. Poistettava osa on sikiökautisen hemoglobiinin (HbF) tuotantoa hiljentävä tekijä (31). Hoidossa veren kantasoluja on muokattu tuottamaan punasoluja, joissa on enemmän sikiöaikaista hemoglobiinia, mikä kompensoi toimivan aikuishemoglobiinin puutetta, vähentää hemolyyysiä, lisää punasolujen määrää ja estää hemoglobiinimolekyylien sak-

TAULUKKO. EMA:n hyväksymät markkinoilla olevat geenilääkkeet vuonna 2024. Geneettiset lääkeaineet nimeään tarkan protokollan mukaan (27). Nimeämisessä huomioidaan muun muassa aineen (geenin) biologinen vaikutus, sen sisältämä vektori ja mahdollinen solukomponentti. Koska geneeriset nimet ovat hyvin monimutkaisia, esitetään myös vuoden 2025 kaupanimet.

Kaupanimi	Vaikuttava aine	Ex vivo / in vivo	EMA hyväksynyt (vuosi)	Hoidettava sairaus
Imlygic	Talimogeenilaherparepveekki	In vivo	2015	Melanooma
Strimvelis	CD34-positiivisiin soluihin transdukoitu retrovirusvektori	Ex vivo	2016	ADA-SCID
Yescarta	Aksikabtageenisiloleuseeli	Ex vivo	2018	DLBCL ja HGBL
Kymriah	Tisagenlekleuseeli	Ex vivo	2018	DLBCL, lapsipotilaiden ALL ja FL
Luxturna	Voretigeenineparvoveekki	In vivo	2018	Perinnöllinen verkkokalvorappeuma
Zolgensman	Onasemnogeeniabeparvoveekki	In vivo	2020	SMA
Libmeldy	Atidarsageeniautotemseeli	Ex vivo	2020	MLD
Tecartus	Breksukabtageniautoleuseeli	Ex vivo	2020	Manttelisolulymfooma ja ALL
Abecma	Idekabtageenivikleuseeli	Ex vivo	2021	Multipple myelooma
Breyanzi	Lisokabtageenimaraleuseeli	Ex vivo	2022	DLBCL, PMBCL ja FL
Carvykti	Siltakabtageniautoleuseeli	Ex vivo	2022	Multipple myelooma
Upstaza	Eladokageenieksuparvoveekki	In vivo	2022	AADC-puutos
Roctavian	Valoktokogeeniroksaparvoveekki	In vivo	2022	Vaikea A-hemofilia
Hemgenix	Etranakogeenidsaparvoveekki	In vivo	2023	Vaikea ja keskivaikea B-hemofilia
Casgevy	Eksagamglogeeniautotemseeli	Ex vivo	2024	Verensiirtoja vaativa beetatalassemia ja sirppisolutauti
Durveqtix	Fidanakogeenielaparvoveekki	In vivo	2024	Vaikea ja keskivaikea B-hemofilia

AADC = aromaattinen L-aminohappojen dekarboksylaasi, ALL = akuutti (B-solulinjan) lymfoblastinen leukemia, ADA-SCID = adenosinideaminaasin puutteesta johtuva vaikea kombinoitunut immuunivajaus, DLBCL = diffuusi suurisoluihin B-solulymfooma, FL = follikulaarinen lymfooma, HGBL = korkean pahanlaatuistumisasteen B-solulymfooma, MLD = metakromaattinen leukodystrofia, PMBCL = primaarinen välikarsinan suurisoluihin B-solulymfooma, SMA = spinaalinen lihasatrofia

kautumista. Tämä taas vähentää tai jopa lopettaa sirppisolutaudin aiheuttamat kivuliaat kriisit, jotka johtuvat hiussuonten tukkeutumisesta (29–32).

Hyperkolesterolemia. Geenimuokkaustyökalut ovat kehittyneet nopeasti viime vuosina. Ensimmäiset CRISPR-Cas9-versiot ovat sananmukaisesti geenisaksia, joilla DNA-juoste katkaistaan halutusta kohdasta tai kohdista (33). Uudempia muokkausmenetelmiä ovat muun muassa emäseditorit, joilla voidaan muuttaa haluttu yksittäinen DNA-kirjain toiseksi (34,35). Emäseditoria käytetään potilaskokeissa muun muassa hyperkolesterolemian hoitoon muokkaamalla *PSCK9*-geeniä in vivo (NCT06164730). Toistaiseksi melko pienen tutkimuksen hoitotulokset ovat rohkaisevia ja osoittavat, että emäseditorihoidolla potilaiden seerumin LDL-pitoisuudet pienenevät lähes 50 % ilman havaittavia vakavia haittavaiku-

tuksia (36). Myös sirppisolutaudin osalta on käynnissä emäsmuokkauksen hoitokoe ex vivo (NCT06565026) (37). Myyntiluvallisia lääkkeitä ei vielä ole markkinoilla.

Huntingtonin tauti ja ALS. Geenimuokkauksen suurimpia edistysaskelia on ollut vuonna 2019 julkaistu prime editing -menetelmä. Prime editing eli alukemuokkaus perustuu myös CRISPR-Cas9-toimintaan ja mahdollistaa lähes minkä tahansa elävän solun geneettisen muutoksen. Molekyylitasolla menetelmä käyttää käänteiskopioijaentsyymiä muodostamaan annetusta RNA-mallista DNA:ta, joka sitten ohjataan ja liitetään haluttuun kohtaan genomia (38). Solu- ja eläintutkimuksissa prime editing on osoittautunut yliveriseksi esimerkiksi pienten delettioiden korjaamisessa, ja sillä voidaan muun muassa vähentää haitallisten toistojaksojen määrää (39). Toistojaksotauteja ovat esimerkiksi Huntingtonin tauti

ja jotkin ALS-muodot. Prime editing -menetelmän ensimmäiset ensimmäisen vaiheen eli turvallisuuskokeet ovat alkaneet vuonna 2024 (NCT06559176) (40).

Infektiotaudit. Geenilääkkeitä voidaan käyttää myös infektioiden tai niiden aiheuttamien seurausten hoitoon. Solunsisäisiä virusgeenejä voidaan leikata samalla tavalla CRISPR-Cas9-geenisaksilla, ja tätä kokeillaan muun muassa HIV:tä (NCT05144386) vastaan (41). Pidemmällä ollaan diagnostiikan kehittämisessä, sillä CRISPR-Cas9 on osoittautunut herkäksi menetelmäksi osoittaa infektion aiheuttaja luotettavasti ja nopeasti (42). Geenitekniikalla voidaan vaikuttaa myös ympäristötekijöihin ja ehkäistä sairauksia. Monet infektiotaudit ovat zoonooseja eli leviävät ihmiseen eläinten välityksellä. Hoitamalla eläimiä tai rajoittamalla vektorieläinten lisääntymistä voidaan välillisesti vaikuttaa ihmisen tautikuormaan. Esimerkki tällaisesta on muun muassa malariahyttysen populaation hallintaan tähtäävä Target Malaria-projekti (43).

Mitä seuraavaksi?

Geneettiset sairaudet johtuvat peritystä geenivirheestä tai geenien de novo -muutoksista. Hedelmöityksessä saatujen muutosten ohella soluihin tulee myös elämänaikaisia somaattisia DNA-muutoksia, jotka voivat aiheuttaa muun muassa syöpää (2–4). Tämän lisäksi geenihoidoilla voitaisiin vaikuttaa solun toimintaan ja parantaa sairauksia, vaikka kyseessä ei olisikaan geenien virheellinen toiminta (36). Esimerkiksi valtaosa sydän- ja verisuonitautipotilaista on geneettisesti terveitä, mutta he voisivat silti hyötyä uudissuonia kasvattavasta geenihoidosta (44).

Usein perinnöllisten sairauksien ensimmäiset merkit näkyvät heti syntymän jälkeen tai lapsuudessa, ja yli 75 % harvinaissairauksista ilmenee lapsipotilailla. Erilaisia harvinaissairauksia sairastavia potilaita on maailmassa noin 350 miljoonaa. Monet sairaudet aiheuttavat kumulatiivisia oireita sekä varhaisempaa kuolemaa (8,9,14). Nykyiset harvinaissairauksien lääkkeet ovat pääasiassa pienmolekyylejä tai proteiinin toimintaan vaikuttavia yhdisteitä,

Ydinasiat

- ▶ Geenihoidot ohjaavat solujen toimintoja muuttamalla geenejä tai niiden luenta.
- ▶ Geenihoidot voisivat soveltua moniin tauteihin, jos taudin patogeneesi on tarkasti selvillä.
- ▶ Yksi keskeisistä kysymyksistä on lääkkeen kohdistaminen kohdesoluun turvallisesti ja tehokkaasti.
- ▶ Nykyisistä hoidoista noin puolet kohdistuu perinnöllisten tautien ja puolet syövän hoitoon.
- ▶ Geenilääkkeiden kehittämisessä on kustannuksiin, etiikkaan ja lääkesäätelyyn liittyviä kysymyksiä.

jotka keskittyvät oireiden hoitoon tai sairauden etenemisen hidastamiseen (8,9,20). Geenilääkkeet voivat tuoda ratkaisun nykyisten harvinaissairauksien lääkeongelmiin (20). Geenihoidot koetaan kuitenkin usein kalliiksi ja kannattamattomiksi, minkä takia moni potilas jää ilman riittävää hoitoa. Toisaalta kokeellisiin hoitoihin valikoituu usein pitkälle edennyttä tautia sairastavia potilaita, jolloin hoidon tehoa on vaikea osoittaa (20–22,26).

Geenilääkkeiden kehittämisessä on vielä teknisiä ja tehokkuuteen liittyviä kysymyksiä. Lisäksi ongelmana ovat taloudelliset ja eettiset haasteet. Geenilääkkeiden kallis hinta pakottaa yhteiskunnat linjaamaan lääkkeiden hinnan ylärajan yksilöä kohden. Toisaalta geenilääke annetaan yleensä kertaluontoisesti eikä kallista lääkitystä enää tarvita elinajaksi. Geenilääkkeillä olisi mahdollista muokata myös sukusoluja, mikä on toistaiseksi ollut kiellettyä.

Oma kokonaisuutensa on geenien säätelyn ohjaaminen eli epigenetiikka. Osa lääkeaineista ja muista kemikaaleista, kuten rasvaliukoisista vitamiineista, vaikuttaa esimerkiksi geenien luentaan, mutta niitä ei mielletä geneettiseksi hoidoiksi (45). Geenien säätelytoiminnan muutoksissa ajaututaan helposti geneettisen lääkkeen määritelmäkysymyksiin, sillä epigeneettiset vaikutukset voivat olla laaja-alaisia ja vaihdella yksilöstä tai olosuhteesta toiseen. Sen

sijaan huomattavasti tarkempaan geenisäätelyyn voidaan vaikuttaa rakentamalla CRISPR-Cas9:n avulla tiettyyn DNA-kohtaan sitoutuva proteiini, joka hiljentää tai aktivoi geenin luennan tarkasti (46,47). Tämä on onnistunut esimerkiksi edellä mainitun *PCSK9*-geenin osalta (36,47). Tarkasta hiljentämisestä voisi olla hyötyä hoidettaessa vallitsevia tauteja eli esimerkiksi Huntingtonin tautia, jossa viallinen geenikopio on huomattavasti suurentunut ja eroaa suuresti normaalialleelistä. Geeniä ei tarvitsisi DNA-tasolla korjata tai muuttaa, mikäli haitallinen alleeli saadaan hiljennettyä.

Lopuksi

Geenihoidon tai -muokkauksen avulla on mahdollista vaikuttaa solujen toimintaan. Toiset muokkaukset on helpompi tehdä, ja osa sairauksista sopii muita paremmin geneettisen hoidon piiriin. Lääkkeiden osalta suurena haasteena on nykyinen jäykkä myyntilupamenettely, joka ei muun muassa sovi kaupallisesti

kannattavien henkilökohtaisten lääkkeiden kehittämiseen, mikäli jokainen DNA-emäsjärjestykseltään erilainen molekyyli tulkitaan omaksi lääkkeekseen (20–22).

Molekyylibiologian huima kehitys on johtanut monenlaisiin mahdollisiin vaihtoehtoihin sekä omien että ympäristössämme olevien solujen muokkauksessa. Kun erilaisten geenimuotojen kehittämisen suurimpana rajoitteena on oma mielikuvituksemme, tällaista valtaa täytyy käyttää vastuullisesti. ■

INKERI SOPPA, FM, LK, väitöskirjatutkija
Helsingin yliopisto

KIRMO WARTIOVAARA, LT, dosentti,
perinnöllisyyslääketieteen erikoislääkäri
Helsingin yliopisto ja HUS

VASTUUTOIMITTAJA
Seppo Meri

SIDONNAISUUDET

Inkeri Soppa: Tutkimusapuraha (Suomen lääketieteen säätiö, Maud Kuistilan muistosäätiö, Lastentautien tutkimussäätiö)

Kirmo Wartiovaara: Luottamustoimet (European Society of Human Genetics, johtokunnan jäsen)

KIRJALLISUUTTA

- Drake JW, Charlesworth B, Charlesworth D, ym. Rates of spontaneous mutation. *Genetics* 1998;148:1667–86.
- Gerasimavicius L, Livesey BJ, Marsh JA. Loss-of-function, gain-of-function and dominant-negative mutations have profoundly different effects on protein structure. *Nat Commun* 2022;13:3895.
- Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, ym. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature* 2020;581:434–43.
- Soskine M, Tawfik DS. Mutational effects and the evolution of new protein functions. *Nat Rev Genet* 2010;11:572–82.
- Maeder ML, Gersbach CA. Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Mol Ther* 2016;24:430–46.
- Li H, Yang Y, Hong W, ym. Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. *Sig Transduct Target Ther* 2020;5:1.
- Nami F, Basiri M, Satarian L, ym. Strategies for in vivo genome editing in nondividing cells. *Trends Biotechnol* 2018;36:770–86.
- Cornu TI, Mussolino C, Cathomen T. Refining strategies to translate genome editing to the clinic. *Nat Med* 2017;23:415–23.
- Volodina O, Smirnikhina S. The future of gene therapy: a review of in vivo and ex vivo delivery methods for genome editing-based therapies. *Mol Biotechnol* 2025;67:425–37.
- Gowing G, Svendsen S, Svendsen CN. Ex vivo gene therapy for the treatment of neurological disorders. *Prog Brain Res* 2017;230:99–132.
- Advanced therapy medicinal products: overview. Amsterdam: European Medicines Agency. www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/advanced-therapy-medicinal-products-overview.
- CAT quarterly highlights and approved ATMPs. Amsterdam: European Medicines Agency 2024. www.ema.europa.eu/en/documents/committee-report/cat-quarterly-highlights-approved-atmps-november-2024_en.pdf.
- Clinical trials for gene therapy. EU Clinical Trials Register. www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=gene+therapy.
- The landscape for rare diseases in 2024. *Lancet Glob Health* 2024;12:e341.
- Yu B, O'Toole SA, Trent RJ. Somatic DNA mutation analysis in targeted therapy of solid tumours. *Transl Pediatr* 2015;4:125–38.
- Castiblanco J, Anaya J-M. Genetics and vaccines in the era of personalized medicine. *Curr Genomics* 2015;16:47–59.
- Kaminski MM, Abudayyeh OO, Gootenberg JS, ym. CRISPR-based diagnostics. *Nat Biomed Eng* 2021;5:643–56.
- Rijkers GT, Weterings N, Obregon-Henao A, ym. Antigen presentation of mRNA-based and virus-vectored SARS-CoV-2 vaccines. *Vaccines (Basel)* 2021;9:848.
- Hammond A, Galizi R, Kyrou K, ym. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat Biotechnol* 2016;34:78–83.
- Tambuyzer E, Vandendriessche B, Austin CP, ym. Therapies for rare diseases: therapeutic modalities, progress and challenges ahead. *Nat Rev Drug Discov* 2020;19:93–111.
- Multidisciplinary: gene therapy. Amsterdam: European Medicines Agency. <https://fimea.fi/myyntiluvat/myyntilupa-hakemus/harvinaislaakkeet>.
- Harvinaislääkkeet. Helsinki: Fimea. <https://fimea.fi/myyntiluvat/myyntilupa-hakemus/harvinaislaakkeet>.
- Wivel NA, Wilson JM. Methods of gene delivery. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998;12:483–501.
- Bulcha JT, Wang Y, Ma H, ym. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Sig Transduct Target Ther* 2021;6:53.

25. Zhao Y, Huang L. Lipid nanoparticles for gene delivery. *Adv Genet* 2014;88:13–36.
26. Bellino S, la Salvia A, Cometa MF, ym. Cell-based medicinal products approved in the European Union: current evidence and perspectives. *Front Pharmacol* 2023;14:1200808.
27. Guidance on the use of International Nonproprietary Names (INNs). Geneva: World Health Organization 2017. www.who.int/publications/m/item/guidance-on-the-use-of-inns.
28. Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF. ZFN, TAL-EN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol* 2013;31:397–405.
29. Adashi EY, Gruppuso PA, Cohen IG. CRISPR therapy of sickle cell disease: the dawn of the gene editing era. *Am J Med* 2024;137:390–2.
30. McGann PT, Nero AC, Ware RE. Clinical features of β -thalassemia and sickle cell disease. *Adv Exp Med Biol* 2017;1013:1–26.
31. Singh A, Irfan H, Fatima E, ym. Revolutionary breakthrough: FDA approves CASGEVY, the first CRISPR/Cas9 gene therapy for sickle cell disease. *Ann Med Surg* 2024;86:4555–9.
32. Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, ym. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *N Engl J Med* 2021;384:252–60.
33. Xue C, Greene EC. DNA repair pathway choices in CRISPR-Cas9-mediated genome editing. *Trends Genet* 2021;37:639–56.
34. Komor AC, Kim YB, Packer MS, ym. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 2016;533:420–4.
35. Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, ym. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature* 2017;551:464–71.
36. Musunuru K, Chadwick AC, Mizoguchi T, ym. In vivo CRISPR base editing of PCSK9 durably lowers cholesterol in primates. *Nature* 2021;593:429–34.
37. Newby GA, Yen JS, Woodard KJ, ym. Base editing of haematopoietic stem cells rescues sickle cell disease in mice. *Nature* 2021;595:295–302.
38. Anzalone AV, Randolph PB, Davis JR, ym. Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA. *Nature* 2019;576:149–57.
39. Hwang H-Y, Gim D, Yi H, ym. Precise editing of pathogenic nucleotide repeat expansions in iPSCs using paired prime editor. *Nucleic Acids Res* 2024;52:5792–803.
40. FDA clears prime editors for testing in humans. *Nat Biotechnol* 2024;42:691.
41. Study of EBT-101 in aviremic HIV-1 infected adults on stable ART. *ClinicalTrials.gov* 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05144386>.
42. Kaminski MM, Abudayyeh OO, Gootenberg JS, ym. CRISPR-based diagnostics. *Nat Biomed Eng* 2021;5:643–56.
43. Connolly JB, Burt A, Christophides G, ym. Considerations for first field trials of low-threshold gene drive for malaria vector control. *Malar J* 2024;23:156.
44. Hartikainen J, Hassinen I, Hedman A, ym. Corrigendum to: adenoviral intramyocardial VEGF-D Δ N Δ C gene transfer increases myocardial perfusion reserve in refractory angina patients: a phase I/IIa study with 1-year follow-up. *Eur Heart J* 2018;39:1652.
45. Chiarella AM, Wang TA, Butler KV, ym. Repressing gene transcription by redirecting cellular machinery with chemical epigenetic modifiers. *J Vis Exp* 2018;58222.
46. Pulecio J, Verma N, Mejía-Ramírez E, ym. CRISPR/Cas9-based engineering of the epigenome. *Cell Stem Cell* 2017;21:431–47.
47. Cappelluti MA, Mollica Poeta V, Valsoni S, ym. Durable and efficient gene silencing in vivo by hit-and-run epigenome editing. *Nature* 2024;627:416–23.