RNA-თი მართული DNA-ს სამიზნე სისტემების ახალი ოჯახი — CRISPR-ისგან განსხვავებული და ჯერ არა გენური რედაქტირების ინსტრუმენტი

მიკრობული გენომების ძიებით მკვლევრებმა აღმოაჩინეს TIGR-Tas — მანამდე უცნობი RNA-თი მართული DNA-ს საჭრელი სისტემების ოჯახი, რომელიც CRISPR-ისგან განსხვავებით ორნაწილიან გიდს იყენებს და „PAM“ დასაჯდომ ადგილს არ საჭიროებს. მათ აჩვენეს, რომ ერთ-ერთი ვერსიის ადამიანის უჯრედების რედაქტირებისთვის დაპროგრამება შესაძლებელია, თუმცა დაბალი ეფექტიანობით, და ოჯახის ღრმა ევოლუციური კავშირები სხვა RNA-თი მართულ მანქანებთან გამოკვეთეს. ეს RNA-თი მართული ბიოლოგიის რეალური გაფართოება და მომავალი ინსტრუმენტებისთვის შესაძლო ახალი საწყისი წერტილია — საბაზისო მეცნიერების აღმოჩენა და proof of concept, არა მომწიფებული გენური რედაქტორი ან თერაპია.

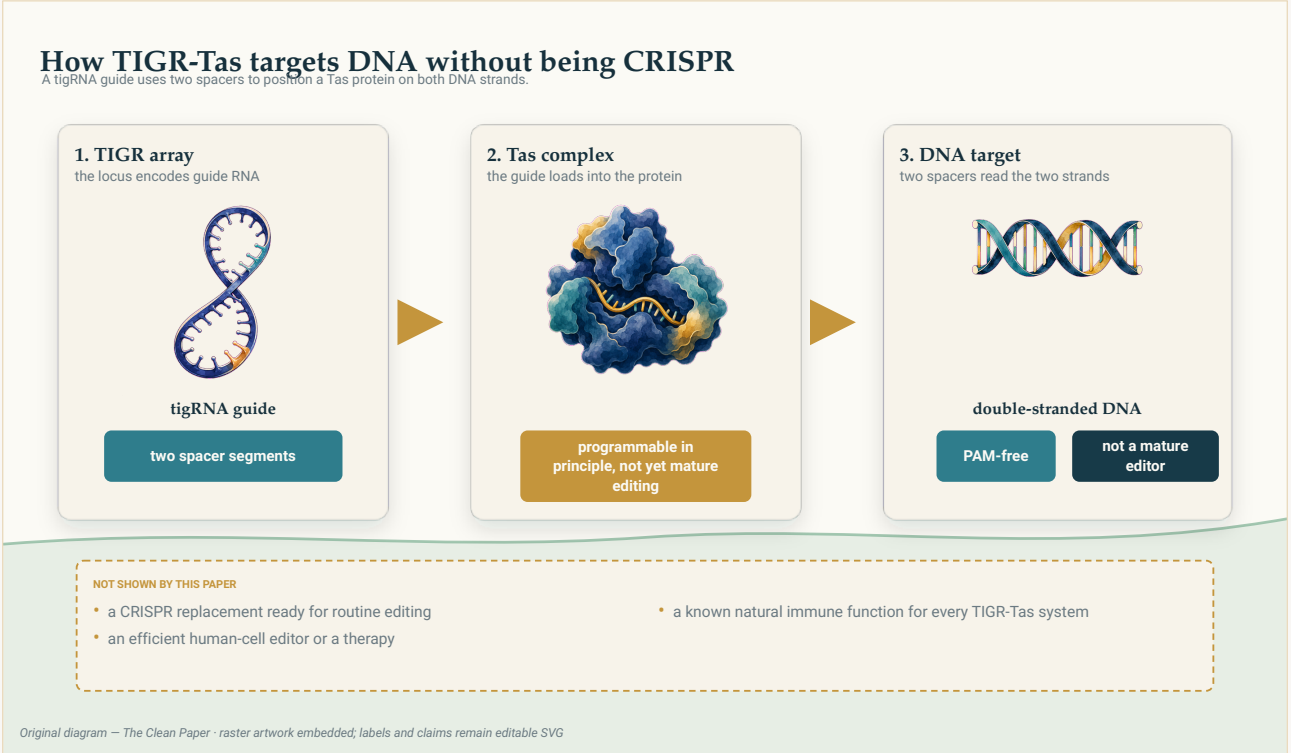
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

Paper: *TIGR-Tas: A Family of Modular RNA-Guided DNA-Targeting Systems in Prokaryotes and Their Viruses*, Guilhem Faure, Makoto Saito, Max E. Wilkinson et al.; Feng Zhang (corresponding author), Science 388, 6746, eadv9789 (2025) · DOI: 10.1126/science.adv9789

RNA-თი მართული მანქანების ხეზე ახალი ტოტი

ხანდახან ბიოლოგიური ნაშრომი ისეთ სათაურში ხვდება, რომელიც თავად არასოდეს უთხოვია. ამ შემთხვევაში ის იყო „ახალი CRISPR“. რეალური სამუშაო ამაზე უფრო საინტერესოა — და, როგორც ხშირად ხდება, უფრო მოკრძალებულიც.

დავიწყოთ იმით, რაც CRISPR-მა ცნობილი გახადა: *RNA-თი მართული სისტემა*. ხრიკი ისაა, რომ ცილას ერთი კონკრეტული სამიზნის ამოსაცნობად მუდმივად „ჩაშენებული“ სტრუქტურა არ სჭირდება. მის ნაცვლად ის მოკლე RNA-ს — გიდს — ატარებს და მიდის იქ, სადაც გიდის მიმდევრობა სამიზნეს ემთხვევა. შეცვალეთ გიდი და შეიცვლება სამიზნეც. სწორედ ეს პროგრამირებადობა გახდა CRISPR-ის ხელსაწყოდ ქცევის მიზეზი. მაგრამ ბუნებაში RNA-თი მართული სისტემა მხოლოდ CRISPR არ არის. ამ ნაშრომის კითხვა მოთმინებითია: კიდევ რამდენი განსხვავებული ტიპი არსებობს და რას გვასწავლიან ისინი?



TIGR-Tas სამიზნე DNA-ის ორ საპირისპირო ჯაჭვს ორნაწილიანი გიდით კითხულობს. ეს ახალი არქიტექტურაა და არა მზა გენური რედაქტორი.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

ძებნისას ავტორებმა მსგავსი გენური მიმდევრობები არ ეძებეს — ევოლუციური დროის განმავლობაში ისინი იმდენად იცვლება, რომ შორეული ნათესავები შეიძლება ვეღარ გამოჩნდეს. მათ *ფორმები* მოძებნეს. CRISPR-ის Cas9 ცილის იმ ნაწილისგან, რომელიც გიდ RNA-ს იჭერს, დაიწყეს და პროგნოზირებული ცილოვანი სტრუქტურების მონაცემთა ბაზებში მოძებნეს მსგავსი აგებულების ყველაფერი. ამ გზამ — ბაქტერიული

„მხტუნავი გენიდან“ და იმ მექანიზმის გავლით, რომელსაც ჩვეულებრივი უჯრედები საკუთარი RNA-ის ქიმიურად შესაცვლელად იყენებს — მართლაც ახალ სისტემამდე მიიყვანა.

რა გააკეთეს ავტორებმა

სტრუქტურულმა ძიებამ მანამდე ამოუცნობი ცილების ოჯახი გამოავლინა. ისინი უმეტესად ბაქტერიოფაგებში (ბაქტერიების ვირუსებში), არქეების ვირუსებსა და პატარა პარაზიტულ ბაქტერიებშია კოდირებული. თითოეული ასეთი გენის გვერდით აღმოჩნდა დამახასიათებელი DNA მონაკვეთი — გრძელი, განმეორებადი მასივი, რომელსაც ავტორებმა **TIGR array** (Tandem Interspaced Guide RNA) უწოდეს. ცილებს კი **Tas** (TIGR-associated) დაარქვეს. ზოგი Tas მხოლოდ RNA-ს დამჭერი ნაწილისგან შედგება; სხვებს DNA-ს საჭრელი ინსტრუმენტიც აქვს დამატებული — ორი ტიპის მოლეკულური „მაკრატლიდან“ ერთ-ერთი, RuvC ან HNH.

ოჯახის მონაცემთა ბაზაში პოვნის შემდეგ მკვლევრებმა ის ლაბორატორიაში გადაიტანეს: სისტემები *E. coli*-ში გამოხატეს და წარმოქმნილი მცირე RNA-ები სეკვენირებით შეისწავლეს; გაარკვიეს წესები, რომლითაც ეს RNA-ები DNA სამიზნეს პოულობს; შეამოწმეს, ჭრის თუ არა საჭრელი ვერსია რეალურად DNA-ს; სცადეს ერთ-ერთი სისტემის დაპროგრამება ადამიანის უჯრედების რედაქტირებისთვის; ბოლოს კი მოქმედი კომპლექსი გაყინეს და მისი სტრუქტურა თითქმის ატომურ გარჩევადობაზე გადაიღეს.

რა აღმოაჩინეს

გიდი ორ ნაწილადაა გაყოფილი. TIGR მასივი მუშავდება დაახლოებით 36 „ასოს“ სიგრძის მოკლე RNA-ებად, თითოეულს კი *ორი* ცალკე სამიზნე სეგმენტი აქვს. ერთი სეგმენტი სამიზნე DNA-ის ერთ ჯაჭვს კითხულობს, მეორე — საპირისპიროს. ისინი ერთად მუშაობს და კონკრეტულ ადგილს ამაგრებს. ეს CRISPR-ისგან რეალური მექანისტური განსხვავებაა: CRISPR-ის გიდი ერთ ჯაჭვს უწყვეტ მონაკვეთზე ერგება.

და მას „დასაჯდომი ადგილი“ არ სჭირდება. ბევრი CRISPR ნუკლეაზა მხოლოდ მაშინ ჭრის, როცა სამიზნის გვერდით მოკლე სპეციფიკური DNA მოტივი — „PAM“ — დგას. ეს შეზღუდვა შესაძლო სამიზნეების რაოდენობას ამცირებს. TIGR სისტემებში ასეთი მოთხოვნა არ გამოჩნდა: ისინი მხოლოდ თვით სამიზნე მიმდევრობას ეყრდნობოდა. PAM-ის არმომთხოვნი სისტემა, პრინციპში, უფრო მეტ ადგილას შეიძლება მიმართო.

საჭრელი ვერსიები ზუსტად ჭრის. მცირე RNA-ის მითითებით RuvC- ან HNH-შემცველმა Tas ცილებმა DNA-ში სუფთა, მიმდევრობაზე დამოკიდებული ჭრილობები გააკეთეს — გიდის გარეშე კი არ მოქმედებდნენ.

ერთ-ერთი ვერსიის ადამიანის უჯრედების რედაქტირებისთვის დაპროგრამება

შეიძლებოდა — მაგრამ ძლივს. კულტურაში ადამიანის უჯრედებში შეტანის და ექვს სხვადასხვა გენზე დამიზნების შემდეგ Tas ცილამ რედაქტირება მოახდინა, რაც ადასტურებს, რომ ჩვენს უჯრედებშიც პროგრამირებადია. თუმცა ეფექტიანობა დაბალი იყო: საუკეთესო შემთხვევაში უჯრედების მხოლოდ რამდენიმე პროცენტი. შედარებისთვის, დღევანდელი ოპტიმიზებული CRISPR ხელსაწყოები ჩვეულებრივ უჯრედების დიდ ნაწილს რედაქტირებს. ეს იმის მტკიცებულებაა, რომ სისტემა *შეიძლება* იმუშაოს, და არა რომ ის *კარგად* მუშაობს.

სტრუქტურამ მექანიზმი ახსნა — და წარმოშობის კვალიც მიანიშნა. გამოსახული კომპლექსი სარკისებურად სიმეტრიული ცილების წყვილია, რომელიც რვიანის ფორმის გიდ RNA-ს იჭერს, ხოლო სამიზნე DNA მკვეთრ მობრუნებაზე იხრება. განსაკუთრებით საინტერესოა, რომ ეს არქიტექტურა ძალიან ჰგავს ჩვენს უჯრედებთან მონათესავე უჯრედებში არსებულ მანქანას — box C/D „snoRNP“-ს, რომელიც RNA-ში ქიმიურ ცვლილებებს მართავს და არა DNA-ს ჭრას.

ბუნებრივი ფუნქცია გაურკვეველია. როცა ავტორებმა ერთი სისტემა *E. coli*-ში გამოხატეს, ის შემოჭრილ ვირუსებს ან პლაზმიდებს **არ** ებრძოდა — რაც CRISPR-ის ჩვეულებრივი ფუნქციაა. ამის ნაცვლად სისტემა მრავალი თაობის განმავლობაში ნელ-ნელა აქრობდა დამიზნებულ პლაზმიდს. ეს მიანიშნებს, რომ მისი რეალური როლი შეიძლება DNA-ის მოძრავ ელემენტებს შორის ნელ კონკურენციაში იყოს და არა ფრონტის ხაზის იმუნურ დაცვაში. თუმცა ეს ნასესხები, ხელოვნური გარემო იყო და ზუსტი პასუხი დღეს ასეთია: არავინ იცის, რას აკეთებს ეს სისტემა ბუნებაში.

რას ნიშნავს ეს, სავარაუდოდ

ორი რამ — განსხვავებული ნდობის დონით.

მყარი დასკვნა: RNA-თი მართული სისტემების ცნობილი სამყარო უფრო დიდი და მრავალფეროვანია, ვიდრე CRISPR და მისი ახლახან აღმოჩენილი ნათესავები. TIGR-Tas ნამდვილად განსხვავებული ტოტია, DNA-ის ამოცნობის საკუთარი ორნაწილიანი, PAM-ისგან დამოუკიდებელი გზით. ეს რუკაზე რეალური დამატებაა.

უფრო ღრმა და სპეკულაციური დასკვნა: რადგან TIGR-ის აპარატი აგებულია იმ snoRNP-ის მსგავსად, რომელიც ჩვენს მსგავს უჯრედებში RNA-ს ცვლის, და ასევე ჰგავს ცნობილ „მხტუნავ გენს“, ის შეიძლება RNA-თი მართულ *RNA*-მოდიფიცირებელ სისტემებსა და RNA-თი მართულ *DNA*-სამიზნე სისტემებს შორის ევოლუციურ კავშირს აღნიშნავდეს — შესაძლო დაკარგულ რგოლს პროგრამირებადი RNA გიდების წარმოშობის ისტორიაში.

რას *არ* ამტკიცებს ეს ნაშრომი

- ეს **არ არის მზა გენური რედაქტირების ხელსაწყო**. ადამიანის უჯრედებში რედაქტირება აჩვენეს, მაგრამ ძალიან სუსტად — საუკეთესო შემთხვევაში რამდენიმე პროცენტი. ეს პროგრამირებადობის დამტკიცება of ცნება-ია, არა მომწიფებული რედაქტორი, და კლინიკამდე ძალიან შორია.
- ეს **არ არის „CRISPR 2.0“**. დღევანდელი ხელსაწყოს სახით CRISPR-Cas9 ბევრად უფრო ეფექტიანად რედაქტირებს. TIGR-Tas ახალი *არქიტექტურაა* proof-of-ცნება ეტაპზე და არა არსებული პროდუქტის უკეთესი ვერსია.
- მისი **ბიოლოგიური როლი უცნობია**. ამ იდეის ერთ ტესტში ის ანტივირუსულ იმუნურ სისტემად არ მოქმედებდა; ამიტომ „ახალი ბაქტერიული იმუნური სისტემა“ დადგენილი არ არის.
- **ძირითადი მექანიზმის ბევრი ნაწილი ჯერ ღიაა** — მათ შორის, როგორ იჭრება გიდ RNA საბოლოო ზომამდე და სინამდვილეში რას უმიზნებს ეს სისტემები ბუნებაში (მათი უმეტესობა ისეთ მიკრობებშია, რომელთა კულტივირებაც ძლივს შეგვიძლია).
- აქ **თერაპიული შედეგი არ არის**. ეს მიკრობებსა და უჯრედულ კულტურაში აღმოჩენა და დახასიათებაა — არც დაავადება, არც მკურნალობა, არც პაციენტი.

რამდენად ძლიერია მტკიცებულება?

თვით აღმოჩენა მყარ საფუძველზე დგას და უჩვეულოდ მრავალმხრივია: იწყება ფართომასშტაბიანი სტრუქტურული ძიებით, შემდეგ ლაბორატორიულად ადასტურებს, როგორ წარმოიქმნება RNA და როგორ პოულობს და ჭრის ის DNA-ს; მოჰყვება მოქმედი კომპლექსის თითქმის ატომური სტრუქტურა და ადამიანის უჯრედების ტესტი. მტკიცება „ეს არის ახალი, განსხვავებული, RNA-თი მართული DNA-ს სამიზნე ოჯახი“ რამდენიმე დამოუკიდებელი მიმართულებით კარგადაა მხარდაჭერილი.

რაც *ადრეულ ეტაპზეა*, ყველაფერი გამოყენებას ეხება: რედაქტირება მუშაობს, მაგრამ ძლივს, და ის ოპტიმიზაცია, რომელმაც CRISPR ცნობისმოყვარეობიდან ინსტრუმენტად აქცია, TIGR-ისთვის ჯერ წინ არის. რაც *ინფერენციულია*, დანარჩენი ამბავია — ბუნებრივი როლი ხელოვნური ექსპერიმენტიდან გამოტანილი გონივრული ვარაუდია, ევოლუციური კავშირი კი, მიუხედავად ელეგანტურობისა, საერთო სტრუქტურაზე დაფუძნებული არგუმენტია და არა დადგენილი ისტორია. ნაშრომი ამ დონეებს ერთმანეთისგან ფრთხილად აცალკევებს.

რატომ არის ეს მნიშვნელოვანი

RNA-თი მართული კატალოგის რამდენიმე წინა გაფართოებას საბოლოოდ პრაქტიკული სარგებელი მოჰყვა. დღევანდელი ხელსაწყოების საფუძვლები — Cas9, Cas12, Cas13,

ახლახან კი უფრო მცირე IscB/OMEGA ცილები და ეუკარიოტული Fanzor-ები — თავიდან უბრალოდ ახლად აღწერილი ბიოლოგია იყო. არცერთი მზა ინსტრუმენტად არ დაბადებულა. ორნაწილიანი გიდის და PAM-ის მოთხოვნის გარეშე სისტემა ნამდვილად განსხვავებული საწყისი წერტილია, ხოლო PAM-ისგან თავისუფალი დამიზნება სწორედ ის მოქნილობაა, რომელსაც ინსტრუმენტების შემქმნელები აფასებენ.

მაგრამ უფრო ჩუმი შედეგი შეიძლება ინსტრუმენტის პერსპექტივაზე მნიშვნელოვანიც იყოს. DNA-ს საჭრელი სისტემის RNA-შემცვლელ snoRNP აპარატთან და „მხტუნავ გენთან“ დაკავშირება სიცოცხლის ხეზე ძალიან განსხვავებულ RNA-თი მართულ სისტემებს შორის შესაძლო ძაფს ხატავს. ასეთი აღმოჩენა სფეროს აძლევს ახალ წარმოდგენას, საიდან შეიძლება მოდიოდეს მისი ინსტრუმენტები — და გრძელვადიანად ეს კიდევ ერთ „მოლეკულურ მაკრატელზე“ სათაურზე უფრო ღირებული შეიძლება იყოს.

სუფთა შეჯამება

ცილების *ფორმების* და არა მიმდევრობების ძიებით მკვლევრებმა აღმოაჩინეს TIGR-Tas — მანამდე უცნობი RNA-თი მართული DNA-ს სამიზნე სისტემების ოჯახი, რომელიც უმეტესად ბაქტერიულ ვირუსებსა და პარაზიტულ ბაქტერიებში გვხვდება. მისი გიდ RNA უჩვეულოა: დაახლოებით 36 ასოს სიგრძისაა და ორ ცალკე სამიზნე სეგმენტს ატარებს, რომლებიც DNA-ის საპირისპირო ჯაჭვებს კითხულობს; CRISPR-ისგან განსხვავებით, გვერდით „PAM“ მოტივი არ სჭირდება. DNA-ს საჭრელი წევრები ზუსტად ჭრიან, ერთ-ერთი მათგანი ადამიანის უჯრედების რედაქტირებისთვისაც დაპროგრამდა (თუმცა მხოლოდ რამდენიმე პროცენტის ეფექტიანობით), ხოლო თითქმის ატომურმა სტრუქტურამ აჩვენა კომპლექსი, რომელიც ჩვენს უჯრედებში RNA-ს შემცვლელ snoRNP აპარატს ჰგავს — ეს RNA-თი მართულ RNA-მოდიფიცირებელ და DNA-ს სამიზნე სისტემებს შორის ღრმა ევოლუციურ კავშირზე მიანიშნებს. ეს RNA-თი მართული ბიოლოგიის რეალური გაფართოება და მომავალი ინსტრუმენტებისთვის შესაძლო ახალი ჩარჩოა — საბაზისო მეცნიერების აღმოჩენა და დამტკიცება of ცნება, **არა** მომწიფებული გენური რედაქტორი, არა „CRISPR 2.0“ და არა თერაპია. ბუნებაში მისი რეალური ფუნქცია ჯერ უცნობია.

პირდაპირი შემოწმება

რას აჩვენებს ნაშრომი: პროკარიოტებსა და მათ ვირუსებში RNA-თი მართული DNA-ს სამიზნე სისტემების ახალი, განსხვავებული ოჯახი (TIGR-Tas), ნაპოვნი სტრუქტურული ძიებით; ორსეგმენტიანი, PAM-ისგან დამოუკიდებელი გიდ RNA (~36 nt), რომელიც DNA-ის ორივე ჯაჭვს ტანდემურად უმიზნებს; ნუკლეაზის მქონე წევრების მიერ ზუსტი RNA-თი მართული DNA ჭრა; ადამიანის უჯრედებში დაბალი ეფექტიანობის პროგრამირებადი რედაქტირება (მაქსიმუმ რამდენიმე პროცენტი);

თითქმის ატომური cryo-EM სტრუქტურა; და სტრუქტურულ-ევოლუციური კავშირები box C/D snoRNP-ებთან და IS110 ტრანსპოზონებთან.

რა არის სარწმუნო, მაგრამ დაუმტკიცებელი: სისტემების ბუნებრივი ბიოლოგიური როლი (ერთ ხელოვნურ ექსპერიმენტში მოძრავი ელემენტების კონკურენციაში არადაცვითი როლი იკვეთება); შემოთავაზებული ევოლუციური ხიდი RNA-მოდიფიცირებელ და DNA-ს სამიზნე RNA-თი მართულ სისტემებს შორის (სტრუქტურული არგუმენტი).

რას არ აჩვენებს: მომწიფებულ ან მაღალი ეფექტიანობის გენურ რედაქტორს; CRISPR-ზე ხელსაწყოს სახით უპირატესობას; დადასტურებულ ბუნებრივ ფუნქციას; გიდ RNA-ის მომწიფების მექანიზმს; რაიმე თერაპიულ გამოყენებას.

მთავარი შეზღუდვები: ადამიანის უჯრედებში რედაქტირების ეფექტიანობა დაბალია (მხოლოდ დამტკიცება of ცნება); სისტემების უმეტესობა რთულად შესასწავლ მეტაგენომებში ცხოვრობს, ამიტომ ბუნებრივი სამიზნეები თითქმის უცნობია; ბიოლოგიური როლისა და ევოლუციური წარმოშობის მტკიცებები ინფერენციულია; დახასიათება გაკეთებულია მიკრობებსა და უჯრედულ კულტურაში, არა დაავადების კონტექსტში.

რამდენად უნდა ენდოს ზოგადი მკითხველი? მაღალი ნდობა, რომ ეს RNA-თი მართული DNA-ს სამიზნე სისტემების ნამდვილი, განსხვავებული ახალი ოჯახია, ახალი ორნაწილიანი PAM-ისგან დამოუკიდებელი მექანიზმით, და რომ სტრუქტურული/ევოლუცი დაკვირვებები რეალურია. ასევე მაღალი ნდობა, რომ ეს **არ არის** მზა გენური რედაქტორი, „CRISPR 2.0“ ან თერაპია. დაბალი ნდობა მის ბუნებრივ როლსა და იმაზე, რამდენად შორს წავა როგორც ინსტრუმენტი. სწორი პოზიციაა: ნამდვილი აღფრთოვანება ახალი ბიოლოგიით და შესაძლო ევოლუციური დაკარგული რგოლით — და მოთმინება გამოყენებებთან, რომლებიც ჯერ დასაწყისშია.

წყაროები

Science 388, eadv9789 (2025)
https://doi.org/10.1126/science.adv9789

PubMed Central (PMC12045711)
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12045711/