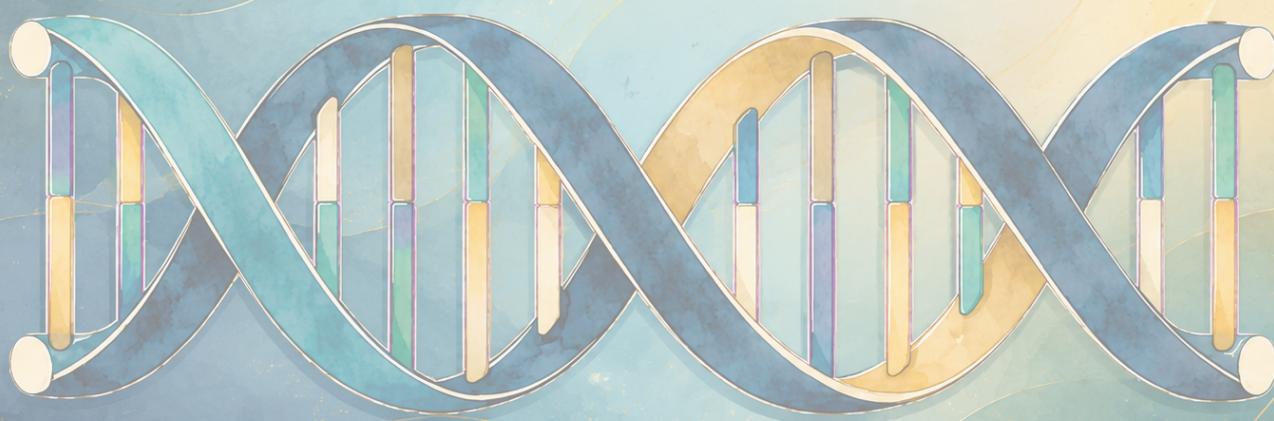




The CLEAN PAPER

WHAT THE PAPER SAYS · WHAT IT DOESN'T · WHY IT MATTERS

Nowa rodzina kierowanych przez RNA systemów celujących w DNA — odrębna od CRISPR i jeszcze niebędąca narzędziem edycji genów

Przeszukując genomy drobnoustrojów, badacze znaleźli TIGR-Tas, nieznaną wcześniej rodzinę kierowanych przez RNA systemów tnących DNA — z dwuczęściowym przewodnikiem i bez miejsca ładowania „PAM”, inaczej niż CRISPR. Wykazali, że jeden wariant można zaprogramować do edycji ludzkich komórek, lecz tylko z niską wydajnością, i prześledzili głębokie związki ewolucyjne rodziny z innymi maszynami kierowanymi przez RNA. To rzeczywiste poszerzenie wiedzy o biologii RNA i możliwy punkt wyjścia dla przyszłych narzędzi — odkrycie podstawowe i dowód zasady, nie dojrzały edytor genów ani terapia.

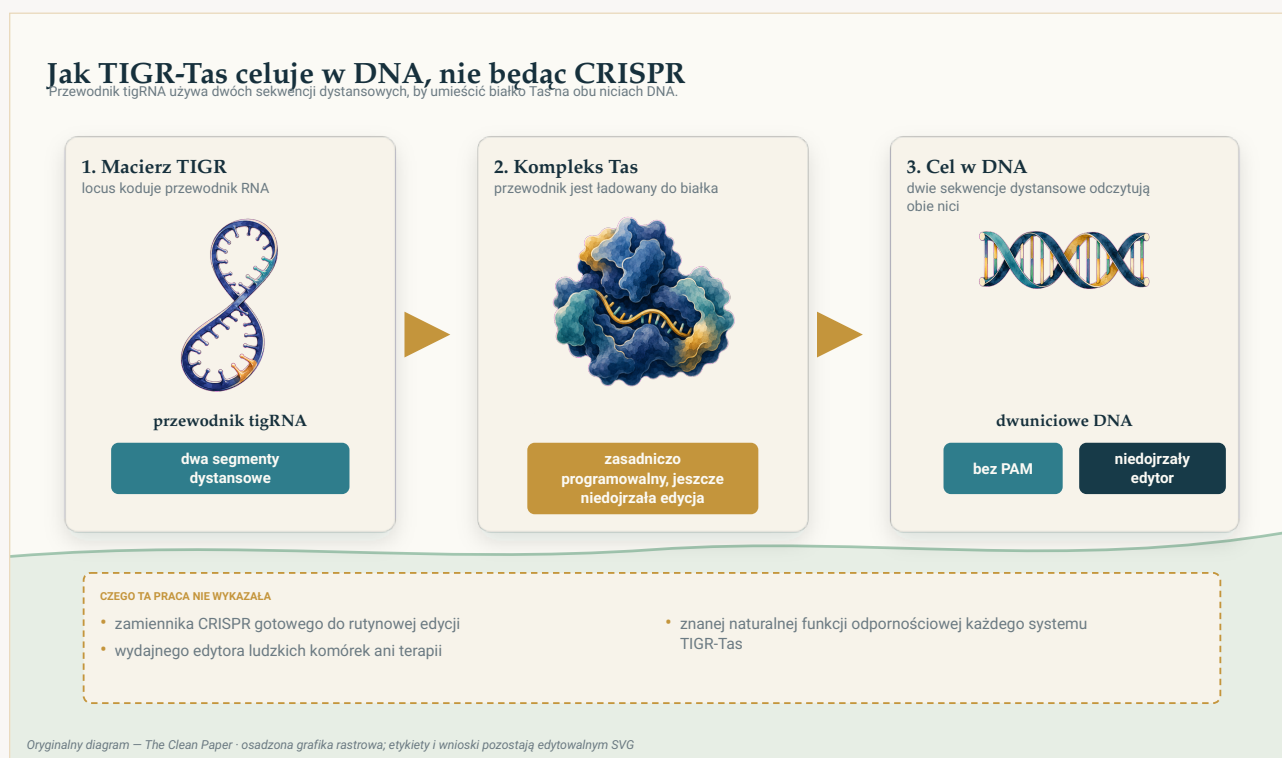
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

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

Nowa gałąź drzewa maszyn kierowanych przez RNA

Od czasu do czasu ukazuje się artykuł biologiczny ubrany w nagłówek, o który nigdy nie prosił. Tym razem było to „nowe CRISPR”. Kryjące się za nim badanie jest ciekawsze — i jak zwykle skromniejsze.

Zacznijmy od rozwiązania rozślawionego przez CRISPR: *systemu kierowanego przez RNA*. Sztuczka polega na tym, że białko nie musi być na stałe zaprogramowane do rozpoznawania jednego celu. Zamiast tego niesie krótki fragment RNA — przewodnik — i trafia wszędzie tam, gdzie pasuje sekwencja tego przewodnika. Zmiana przewodnika zmienia cel. Właśnie ta programowalność uczyniła z CRISPR narzędzie. CRISPR nie jest jednak jedynym naturalnym systemem kierowanym przez RNA, a praca stawia cierpliwe pytanie: ile *innych* rodzajów takich systemów istnieje i czego mogą nas nauczyć?



TIGR-Tas wykorzystuje przewodnik z dwoma sekwencjami dystansowymi do odczytu przeciwnych nici DNA. To nowa architektura, nie gotowy edytor genów.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

Autorzy nie szukali podobnych sekwencji genów — te zmieniają się zbyt mocno w toku ewolucji, by ujawnić dalekich krewnych. Szukali *kształtów*. Wychodząc od części białka Cas9 systemu CRISPR, która chwyta przewodnik RNA, przeszukali bazy przewidywanych struktur białek w poszukiwaniu czegokolwiek zbudowanego w ten sam sposób. Trop prowadził przez bakteryjny „skaczący gen” i element maszynierii, której zwykle komórki używają do chemicznej modyfikacji własnego RNA, aż do czegoś naprawdę nowego.

Co zrobili autorzy

Wyszukiwanie struktur ujawniło nierozpoznaną wcześniej rodzinę białek, kodowanych głównie przez bakteriofagi (wirusy zakażające bakterie), wirusy archeonów i małe bakterie pasożytnicze. Każde leży obok charakterystycznego odcinka DNA: długiej, powtarzalnej macierzy, którą autorzy nazwali **macierzą TIGR** (od Tandem Interspaced Guide RNA). Białka nazwali **Tas** (TIGR-associated). Niektóre białka Tas są jedynie częścią chwytającą RNA; inne mają dołączone narzędzie tnące DNA — jeden z dwóch rodzajów molekularnych nożyc, zwanych RuvC lub HNH.

Po znalezieniu rodziny w bazie danych przenieśli ją do laboratorium: wytwarzali systemy w *E. coli* i sekwencjonowali powstające krótkie RNA, ustalili reguły odnajdywania celu w DNA, sprawdzili, czy warianty tnące rzeczywiście przecinają DNA, spróbowali zaprogramować jeden z nich do edycji komórek ludzkich, a na koniec zamrozili działający kompleks i zobrazowali jego strukturę w rozdzielczości bliskiej atomowej.

Co odkryli

Przewodnik składa się z dwóch części. Macierz TIGR jest przetwarzana w krótkie RNA o długości około 36 nukleotydów, z których każde zawiera *dwa* oddzielne segmenty celujące. Jeden odczytuje jedną nić docelowego DNA, drugi — nić przeciwną. Razem stabilnie wskazują miejsce. To rzeczywista różnica mechanistyczna względem CRISPR, którego przewodnik dopasowuje się do jednej nici w pojedynczym ciągłym odcinku.

Nie potrzebuje też „ładowiska”. Wiele nukleaz CRISPR może ciąć wyłącznie obok krótkiego, określonego motywu DNA („PAM”) sąsiadującego z celem, co ogranicza możliwe miejsca działania. Systemy TIGR nie wykazały takiego wymagania: opierały się wyłącznie na sekwencji celu. System bez PAM można teoretycznie skierować w większą liczbę miejsc.

Warianty tnące przecinały DNA precyzyjnie. Kierowane krótkim RNA białka Tas zawierające RuvC lub HNH tworzyły wyraźne, swoiste względem sekwencji pęknięcia DNA — a bez przewodnika nie robiły nic.

Jeden wariant dało się zaprogramować do edycji komórek ludzkich — ledwo. Białko Tas przeniesione do ludzkich komórek w hodowli i skierowane na sześć różnych genów rzeczywiście wprowadzało zmiany, potwierdzając programowalność systemu także w naszych komórkach. Wydajność była jednak niska: najwyżej kilka procent komórek. Dla porównania współczesne zoptymalizowane narzędzia CRISPR rutynowo edytują dużą część komórek, do których się je wprowadza. To dowód, że system *może* działać, a nie narzędzie działające *dobrze*.

Struktura wyjaśniła mechanizm i podsunęła możliwe pochodzenie. Zobrazowany kompleks jest lustrzanie symetryczną parą białek obejmującą przewodnik RNA w kształcie ósemki, a docelowe DNA przechodzi przez ostry zakręt. Co znamienne, architektura bardzo przypomina maszynę obecną u krewnych naszych komórek — snoRNP typu C/D, który kieruje chemicznymi modyfikacjami RNA zamiast cięcia DNA.

Jego naturalna funkcja jest niejasna. Gdy autorzy wytwarzali jeden system w *E. coli*, *nie* chronił on przed atakującymi wirusami ani plazmidami — czyli nie wykonywał podstawowej pracy CRISPR. Zamiast tego przez wiele pokoleń stopniowo usuwał plazmid zawierający cel, co sugeruje rolę w powolnej konkurencji między ruchomymi elementami DNA, a nie w pierwszej linii obrony immunologicznej. Było to jednak sztuczne środowisko z pożyczonym gospodarzem; uczciwa odpowiedź brzmi, że nikt jeszcze nie wie, co systemy te robią w naturze.

Co to prawdopodobnie oznacza

Dwa wnioski, o różnym poziomie pewności.

Solidny: znany świat systemów kierowanych przez RNA jest większy i bardziej zróżnicowany niż CRISPR oraz jego niedawno odkryci krewni. TIGR-Tas jest naprawdę odrębną gałęzią, z własnym dwuczęściowym, niezależnym od PAM sposobem rozpoznawania DNA. To rzeczywiste uzupełnienie mapy.

Głębszy i bardziej spekulacyjny: ponieważ maszyna TIGR jest zbudowana podobnie do modyfikującego RNA komórkowego snoRNP oraz do znanego „skaczącego genu”, może stanowić ewolucyjne ogniwo między systemami kierowanymi przez RNA, które *modyfikują RNA*, a tymi, które *celują w DNA* — być może brakujący fragment historii programowalnych przewodników RNA w świecie żywym.

Czego to *nie* dowodzi

- To **nie jest gotowe narzędzie do edycji genów**. Edycję w ludzkich komórkach zademonstrowano, lecz była bardzo słaba — najwyżej kilka procent. Dowodzi to programowalności, a nie dojrzałości edytora, i pozostaje daleko od zastosowań klinicznych.
- To **nie jest „CRISPR 2.0”**. Jako współczesne narzędzie CRISPR-Cas9 edytuje znacznie wydajniej. TIGR-Tas to nowa *architektura* na etapie dowodu zasady, nie lepsza wersja istniejącego produktu.
- Jego **rola biologiczna jest nieznana**. W jedynym teście tej hipotezy nie działał jak przeciwwirusowy układ odpornościowy; nie wykazano istnienia „nowego bakteryjnego układu odpornościowego”.
- Znaczna część **podstawowego mechanizmu pozostaje otwarta** — między innymi sposób przycinania przewodnika RNA do ostatecznej długości i naturalne cele tych systemów (większość występuje w drobnoustrojach, których prawie nie umiemy hodować).
- Nie ma tu **niczego terapeutycznego**. To odkrycie i charakterystyka dokonane w drobnoustrojach i hodowlach komórkowych — bez choroby, leczenia ani pacjenta.

Jak mocne są dowody?

Samo odkrycie ma solidne i wyjątkowo wszechstronne podstawy: wielkoskalowe wyszukiwanie strukturalne, laboratoryjne potwierdzenie sposobu powstawania RNA oraz znajdowania i cięcia DNA, struktura działającego kompleksu w rozdzielczości bliskiej atomowej, a do tego test w ludzkich komórkach. Twierdzenie, że jest to nowa, odrębna rodzina systemów kierowanych przez RNA i celujących w DNA, ma jednocześnie poparcie z kilku stron.

Wczesny jest cały wątek użyteczności: edycja działa, ale ledwo, a cała optymalizacja, która zmieniła CRISPR z ciekawostki w narzędzie, w przypadku TIGR dopiero czeka na wykonanie. *Wnioskowane* są pozostałe elementy opowieści — naturalna rola jest rozsądnym przypuszczeniem na podstawie sztucznego eksperymentu, a eleganckie powiązanie ewolucyjne stanowi argument ze wspólnej struktury, nie ustaloną historię. Praca starannie rozróżnia te poziomy.

Dlaczego to ważne

Kilka wcześniejszych poszerzeń katalogu systemów kierowanych przez RNA z czasem przyniosło owoce. Systemy stojące za dzisiejszymi narzędziami — Cas9, Cas12, Cas13, a ostatnio mniejsze białka IscB/OMEGA i eukariotyczne Fanzor — początkowo były tylko nowo opisaną biologią. Żaden nie pojawił się jako gotowe narzędzie. System z dwuczęściowym przewodnikiem i bez wymogu PAM jest naprawdę innym punktem wyjścia, a swoboda wyboru celu bez PAM to dokładnie ta elastyczność, którą cenią twórcy narzędzi.

Spokojniejszy wynik może jednak okazać się ważniejszy od perspektywy zastosowań. Łącząc system tnący DNA z maszyną snoRNP modyfikującą RNA oraz ze skaczącym genem, praca szkicuje możliwą nić łączącą bardzo różne systemy kierowane przez RNA na drzewie życia. Takie odkrycie potrafi uporządkować na nowo rozumienie pochodzenia narzędzi przez całą dziedzinę — a w dłuższej perspektywie jest warte więcej niż kolejny nagłówek o nożycach.

Zwięzłe podsumowanie

Szukając *kształtów* białek zamiast ich sekwencji, badacze odkryli TIGR-Tas: nieznaną wcześniej rodzinę kierowanych przez RNA systemów celujących w DNA, występującą głównie w wirusach bakterii i bakteriach pasożytniczych. Jej przewodnik RNA jest niezwykle — ma około 36 nukleotydów i dwa oddzielne segmenty celujące, odczytujące przeciwległe nici DNA — a w odróżnieniu od CRISPR nie potrzebuje sąsiedniego motywu „PAM”. Członkowie rodziny zawierający nukleazę precyzyjnie cięli DNA; jeden dało się zaprogramować do edycji ludzkich komórek (choć z wydajnością zaledwie kilku procent); a struktura bliska rozdzielczości atomowej ujawniła kompleks zbudowany podobnie do maszyny snoRNP, która modyfikuje RNA w naszych komórkach. Sugeruje to głębokie ewolucyjne powiązanie systemów kierowanych przez RNA, które modyfikują RNA i celują w DNA. To rzeczywiste poszerzenie biologii RNA i możliwa nowa platforma przyszłych narzędzi — odkrycie podstawowe

i dowód zasady, **nie** dojrzały edytor genów, „CRISPR 2.0” ani terapia. Naturalna funkcja systemu pozostaje nieznana.

Kontrola bez upiększeń

Co pokazuje praca: Nową, odrębną rodzinę kierowanych przez RNA systemów celujących w DNA (TIGR-Tas) u prokariotów i ich wirusów, znaną przez wyszukiwanie strukturalne; dwusegmentowy, niezależny od PAM przewodnik RNA (~36 nt), który celuje kolejno w obie nici DNA; precyzyjne cięcie DNA kierowane przez RNA u członków zawierających nukleazę; programowalną edycję ludzkich komórek z niską wydajnością (do kilku procent); strukturę cryo-EM bliską rozdzielczości atomowej; oraz strukturalne i ewolucyjne powiązania z snoRNP typu C/D i transpozonomi IS110.

Co jest prawdopodobne, ale niedowiedzione: Naturalna rola biologiczna systemów (jeden sztuczny eksperyment sugeruje funkcję niezwiązaną z obroną, lecz z konkurencją elementów ruchomych); proponowany pomost ewolucyjny między systemami kierowanymi przez RNA, które modyfikują RNA i celują w DNA (argument strukturalny).

Czego praca nie pokazuje: Dojrzałego ani wydajnego narzędzia do edycji genów; przewagi nad CRISPR jako narzędziem; potwierdzonej naturalnej funkcji; sposobu dojrzewania przewodnika RNA; jakiegokolwiek zastosowania terapeutycznego.

Główne ograniczenia: Niska wydajność edycji ludzkich komórek (wyłącznie dowód zasady); większość systemów występuje w trudnych do badania metagenomach, więc naturalne cele są niemal nieznane; twierdzenia o roli biologicznej i pochodzeniu ewolucyjnym są wnioskami pośrednimi; charakterystyka dotyczy drobnoustrojów i hodowli komórkowej, nie kontekstu choroby.

Jak duże zaufanie powinien mieć czytelnik? Duże do wniosku, że jest to rzeczywista, odrębna rodzina systemów kierowanych przez RNA i celujących w DNA, z nowym dwuczęściowym mechanizmem bez PAM, oraz że obserwacje strukturalne i ewolucyjne są realne. Duże także do tego, że **nie** jest to gotowe narzędzie edycji genów, „CRISPR 2.0” ani terapia. Małe do naturalnej roli i przyszłej wartości narzędziowej. Właściwa postawa: szczerze zainteresowanie nową biologią i możliwym brakującym ogniwem ewolucji — oraz cierpliwość wobec zastosowań, które są dopiero na początku.

Źródła

Science 388, eadv9789 (2025)

<https://doi.org/10.1126/science.adv9789>

PubMed Central (PMC12045711)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12045711/>