The Clean Paper

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

Uma nova família de sistemas guiados por RNA que têm ADN como alvo — distinta do CRISPR e ainda longe de ser uma ferramenta de edição genética

Ao explorar genomas microbianos, investigadores descobriram o TIGR-Tas, uma família até agora desconhecida de sistemas guiados por RNA que cortam ADN — usando um guia de duas partes e sem a «pista de aterragem» PAM do CRISPR. Mostraram que uma versão pode ser programada para editar células humanas, mas apenas com baixa eficiência, e traçaram ligações evolutivas profundas a outras máquinas guiadas por RNA. É uma expansão real do que sabemos sobre biologia guiada por RNA e um possível ponto de partida para ferramentas futuras — uma descoberta de ciência básica e prova de conceito, não um editor genético maduro nem uma terapia.

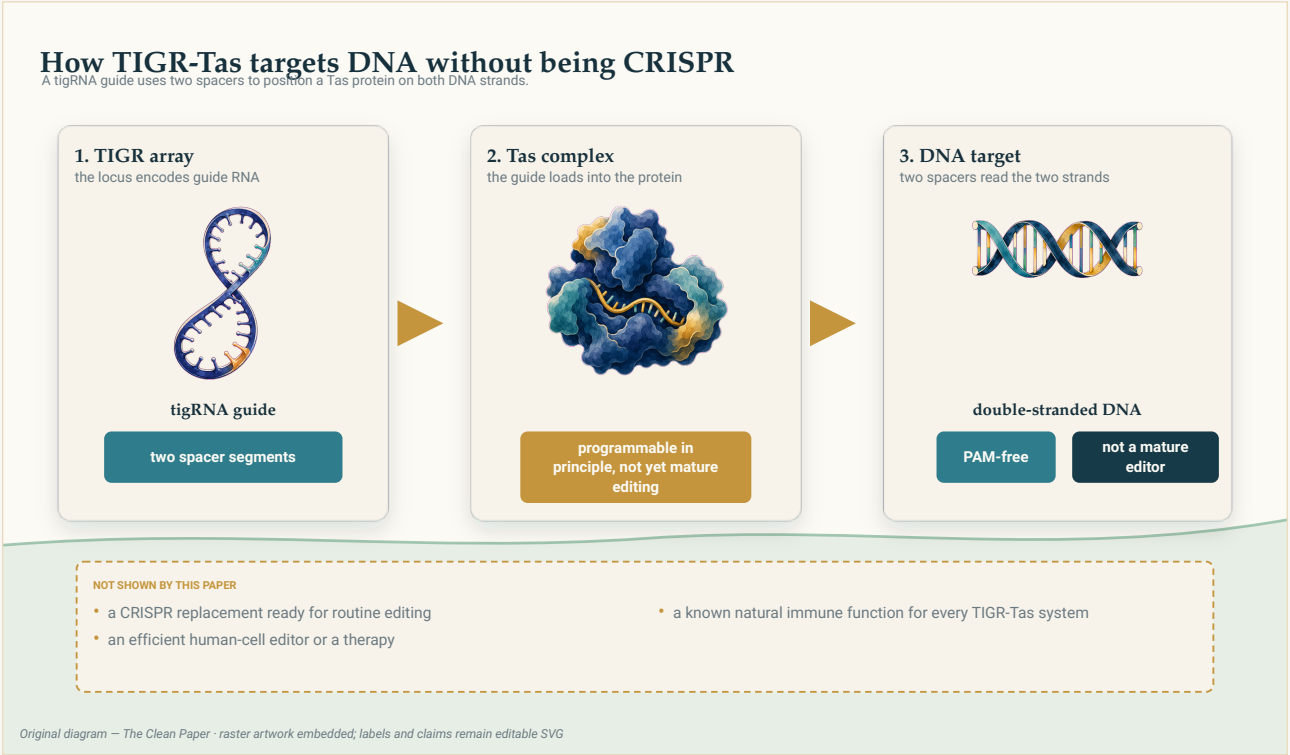
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

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

Um novo ramo na árvore das máquinas guiadas por RNA

De vez em quando aparece um artigo de biologia com uma manchete que nunca pediu. Neste caso foi «um novo CRISPR». O trabalho por trás dela é mais interessante do que isso — e, como habitualmente, mais modesto.

Comecemos pela coisa que tornou o CRISPR famoso: um *sistema guiado por RNA*. O truque é que a proteína não precisa de estar programada de forma rígida para reconhecer um único alvo. Em vez disso, transporta um pequeno fragmento de RNA — um guia — e vai para onde a sequência desse guia encontra correspondência. Mude-se o guia, muda-se o alvo. Essa programabilidade é toda a razão pela qual o CRISPR se tornou uma ferramenta. Mas o CRISPR não é o único sistema guiado por RNA na natureza, e a pergunta deste artigo é a paciente: quantos *outros* tipos existem e o que nos podem ensinar?



O TIGR-Tas usa um guia com dois segmentos para ler cadeias opostas de ADN. É uma arquitetura nova, não um editor genético pronto a usar.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

Para os procurar, os autores não pesquisaram sequências genéticas semelhantes — estas divergem demasiado ao longo do tempo evolutivo para revelar parentes distantes. Procuraram *formas*. Partindo da zona da proteína Cas9 do CRISPR que segura o RNA-guia, vasculharam bases de dados de estruturas proteicas previstas à procura de qualquer coisa construída de modo semelhante. Essa pista levou — passando por um «gene saltador» bacteriano e por uma peça da maquinaria que células comuns usam para modificar quimicamente o próprio RNA — a algo genuinamente novo.

O que fizeram os autores

A pesquisa estrutural revelou uma família de proteínas até então desconhecida, codificada sobretudo em bacteriófagos (vírus que infetam bactérias), em vírus de arqueias e em pequenas bactérias parasitas. Cada proteína aparece junto a uma região de ADN característica: uma longa matriz repetitiva a que os autores deram o nome de **matriz TIGR** (*Tandem Interspaced Guide RNA*). Chamaram às proteínas **Tas** (*TIGR-associated*). Algumas proteínas Tas são apenas a parte que segura o RNA; outras têm acoplada uma ferramenta de corte do ADN — um de dois tipos de tesouras moleculares, chamadas RuvC ou HNH.

Depois de encontrarem a família na base de dados, levaram-na para o laboratório: expressaram os sistemas em *E. coli* e sequenciaram os pequenos RNAs produzidos, determinaram as regras segundo as quais esses RNAs encontram um alvo de ADN, testaram se as versões com capacidade de corte cortavam realmente, tentaram programar uma delas para editar células humanas e, por fim, congelaram um complexo funcional e obtiveram imagens da sua estrutura com resolução quase atómica.

O que encontraram

O guia vem em duas partes. A matriz TIGR é processada em pequenos RNAs com cerca de 36 letras, cada um com *dois* segmentos de reconhecimento separados. Um segmento lê uma cadeia do ADN-alvo; o outro lê a cadeia oposta. Os dois trabalham em conjunto para fixar um local. É uma diferença mecanística real em relação ao CRISPR, cujo guia corresponde a uma única cadeia numa região contínua.

E não precisa de uma «pista de aterragem». Muitas nucleases CRISPR só conseguem cortar junto a um pequeno motivo específico de ADN (um «PAM») adjacente ao alvo — uma restrição que limita os locais onde podem atuar. Os sistemas TIGR não mostraram essa exigência: dependiam apenas da sequência-alvo. Em princípio, um sistema que não necessite de PAM pode ser apontado para mais locais.

As versões com capacidade de corte cortam com precisão. Guiadas pelo pequeno RNA, as proteínas Tas que continham RuvC ou HNH fizeram quebras limpas e específicas da sequência no ADN — e não fizeram nada na ausência do guia.

Uma versão pôde ser programada para editar células humanas — mal. Transferida para células humanas em cultura e apontada a seis genes diferentes, uma proteína Tas produziu de facto edições, confirmando que o sistema também é programável nas nossas células. Mas a eficiência foi baixa: na melhor das hipóteses, apenas alguns por cento das células. Para comparação, as ferramentas CRISPR otimizadas atuais editam rotineiramente uma grande fração das células onde são introduzidas. É uma prova de que *pode* funcionar, não uma ferramenta que funcione *bem*.

A estrutura explicou o mecanismo — e sugeriu as suas origens. O complexo observado é um par de proteínas em simetria de espelho que segura o RNA-guia em forma de oito, com o ADN-alvo dobrado numa curva apertada. De forma impressionante, esta arquitetura é muito semelhante a uma máquina

encontrada em parentes das nossas próprias células — a «snoRNP box C/D», que guia modificações químicas em RNA em vez de cortar ADN.

A sua função natural é incerta. Quando os autores expressaram um dos sistemas em *E. coli*, ele *não* defendeu a bactéria de vírus ou plasmídeos invasores — a função quotidiana do CRISPR. Em vez disso, eliminou gradualmente um plasmídeo-alvo ao longo de muitas gerações, sugerindo que o seu verdadeiro papel possa estar numa competição lenta entre elementos móveis de ADN, e não numa defesa imunitária de primeira linha. Mas este era um contexto artificial e emprestado, e a resposta honesta é que ainda ninguém sabe o que estes sistemas fazem na natureza.

O que isto provavelmente significa

Duas coisas, com níveis de confiança diferentes.

A sólida: o mundo conhecido dos sistemas guiados por RNA é maior e mais variado do que o CRISPR e os seus parentes descobertos recentemente. O TIGR-Tas é um ramo genuinamente distinto, com a sua própria forma de reconhecer ADN, em duas partes e sem PAM. É uma adição real ao mapa.

A mais profunda e especulativa: como a maquinaria TIGR é construída de forma semelhante à snoRNP que modifica RNA em células como as nossas e a um «gene saltador» conhecido, pode representar uma ligação evolutiva entre sistemas guiados por RNA que *modificam RNA* e sistemas guiados por RNA que *visam ADN* — uma possível peça em falta na história de como os guias de RNA programáveis surgiram ao longo da vida.

O que isto *não* prova

- **Não é uma ferramenta de edição genética pronta.** A edição em células humanas foi demonstrada, mas foi fraca — alguns por cento na melhor das hipóteses. É prova de programabilidade, não um editor maduro, e está muito longe de qualquer aplicação clínica.
- **Não é «CRISPR 2.0».** Medido como ferramenta hoje, o CRISPR-Cas9 edita muito melhor. O TIGR-Tas é uma nova *arquitetura* em fase de prova de conceito, não uma versão superior de um produto existente.
- A sua **função biológica é desconhecida**. No único teste dessa hipótese, não funcionou como sistema imunitário antivírus; «um novo sistema imunitário bacteriano» não está demonstrado.
- Muito do **mecanismo básico continua em aberto** — incluindo como o RNA-guia é cortado até ao comprimento final e quais são realmente os alvos destes sistemas na natureza (a maioria vive em micróbios que mal conseguimos cultivar).
- **Não há nada terapêutico aqui.** Trata-se de descoberta e caracterização em micróbios e cultura celular — sem doença, sem tratamento, sem doentes.

Quão forte é a evidência?

A descoberta propriamente dita assenta em bases firmes e invulgarmente completas: começa numa mineração estrutural em grande escala, segue-se a confirmação laboratorial de como o RNA é produzido e encontra e corta ADN, depois uma estrutura quase atómica do complexo em ação, além do teste em células humanas. A afirmação «esta é uma família nova e distinta de sistemas guiados por RNA que têm como alvo ADN» é sustentada por várias linhas independentes de evidência.

O que está *no início* é tudo o que diz respeito à utilidade: a edição funciona, mas mal, e toda a otimização que transformou o CRISPR de curiosidade em ferramenta ainda está, para o TIGR, por fazer. E o que é *inferencial* é o resto da história — a função natural é uma hipótese razoável a partir de uma experiência artificial, e a ligação evolutiva, embora elegante, é um argumento baseado em estrutura partilhada, não uma história estabelecida. O artigo distingue cuidadosamente estas coisas.

Porque é importante

Vários alargamentos anteriores do catálogo de sistemas guiados por RNA acabaram por dar frutos. Os sistemas por trás das ferramentas atuais — Cas9, Cas12, Cas13 e, mais recentemente, as proteínas IscB/OMEGA mais pequenas e os Fanzor eucarióticos — começaram todos por ser apenas biologia recém-descrita. Nenhum chegou como ferramenta acabada. Um sistema com um guia de duas partes e sem necessidade de PAM é um ponto de partida genuinamente diferente, e a capacidade de visar ADN sem PAM é precisamente o tipo de flexibilidade valorizado por quem constrói ferramentas.

Mas o resultado mais discreto pode ser ainda mais importante do que a perspetiva de ferramenta. Ao ligar um sistema que corta ADN à maquinaria snoRNP que modifica RNA e a um gene saltador, o trabalho esboça um possível fio que liga sistemas guiados por RNA muito diferentes ao longo da árvore da vida. É o tipo de descoberta que reorganiza a forma como uma área compreende a origem das suas ferramentas — algo que, a longo prazo, vale mais do que outra manchete sobre tesouras.

Resumo claro

Ao procurar *formas* de proteínas em vez de sequências, investigadores descobriram o TIGR-Tas: uma família até agora desconhecida de sistemas guiados por RNA que têm como alvo ADN, encontrada sobretudo em vírus de bactérias e bactérias parasitas. O seu RNA-guia é invulgar — cerca de 36 letras com dois segmentos de reconhecimento separados que leem cadeias opostas do ADN — e, ao contrário do CRISPR, não precisa de um motivo «PAM» adjacente. Os membros que cortam ADN fazem-no com precisão, uma versão pôde ser programada para editar células humanas (mas apenas com uma eficiência de alguns por cento) e uma estrutura quase atómica revelou um complexo construído de forma semelhante à maquinaria snoRNP que modifica RNA nas nossas próprias células — sugerindo uma ligação evolutiva profunda entre sistemas guiados por RNA que modificam RNA e sistemas que visam ADN. É uma expansão real da biologia guiada por RNA e uma possível nova

plataforma para ferramentas futuras — uma descoberta de ciência básica e uma prova de conceito, **não** um editor genético maduro, não «CRISPR 2.0» e não uma terapia. A sua função natural continua desconhecida.

Verificação sem exageros

O que o artigo mostra: Uma família nova e distinta de sistemas guiados por RNA que têm ADN como alvo (TIGR-Tas) em procariotas e nos seus vírus, encontrada por mineração estrutural; um RNA-guia com dois segmentos, sem PAM (~36 nt), que visa em conjunto as duas cadeias de ADN; corte de ADN preciso e guiado por RNA pelos membros com nuclease; edição programável de células humanas com baixa eficiência (até alguns por cento); uma estrutura de crio-EM quase atómica; e ligações estruturais/evolutivas às snoRNP box C/D e aos transposões IS110.

O que é plausível, mas não está provado: A função biológica natural dos sistemas (uma função não defensiva na competição entre elementos móveis é sugerida por uma experiência artificial); a ponte evolutiva proposta entre sistemas guiados por RNA que modificam RNA e sistemas que têm ADN como alvo (um argumento estrutural).

O que não mostra: Uma ferramenta de edição genética madura ou de alta eficiência; superioridade em relação ao CRISPR enquanto ferramenta; uma função natural confirmada; como amadurece o RNA-guia; qualquer aplicação terapêutica.

Principais limitações: A eficiência de edição em células humanas é baixa (apenas prova de conceito); a maioria dos sistemas vive em metagenomas difíceis de estudar, pelo que os alvos naturais são largamente desconhecidos; as afirmações sobre função biológica e origem evolutiva são inferenciais; a caracterização foi feita em micróbios e cultura celular, não num contexto de doença.

Quanta confiança deve ter um leitor geral? Confiança elevada de que esta é uma família genuína e distinta de sistemas guiados por RNA que têm ADN como alvo, com um mecanismo novo de duas partes e sem PAM, e de que os resultados estruturais e evolutivos são reais. Confiança elevada de que **não** é uma ferramenta de edição genética pronta, não é «CRISPR 2.0» e não é uma terapia. Confiança baixa na sua função natural e no alcance que poderá vir a ter enquanto ferramenta. A atitude adequada: entusiasmo genuíno por nova biologia e por uma possível ligação evolutiva em falta — e paciência quanto às aplicações, que estão apenas no início.

Fontes

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

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