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

Новое семейство РНК-направляемых систем нацеливания на ДНК — отличное от CRISPR и пока не инструмент редактирования генов

Исследуя микробные геномы, ученые обнаружили TIGR-Tas — ранее неизвестное семейство РНК-направляемых систем, которые разрезают ДНК с помощью двухкомпонентного гида и, в отличие от CRISPR, не требуют соседнего сайта PAM. Они показали, что один вариант можно запрограммировать для редактирования человеческих клеток, но лишь с низкой эффективностью, и проследили глубокие эволюционные связи этого семейства с другими РНК-направляемыми машинами. Это настоящее расширение наших знаний о РНК-направляемой биологии и возможная новая отправная точка для будущих инструментов — фундаментальное открытие и proof of concept, а не зрелый редактор генов или терапия.

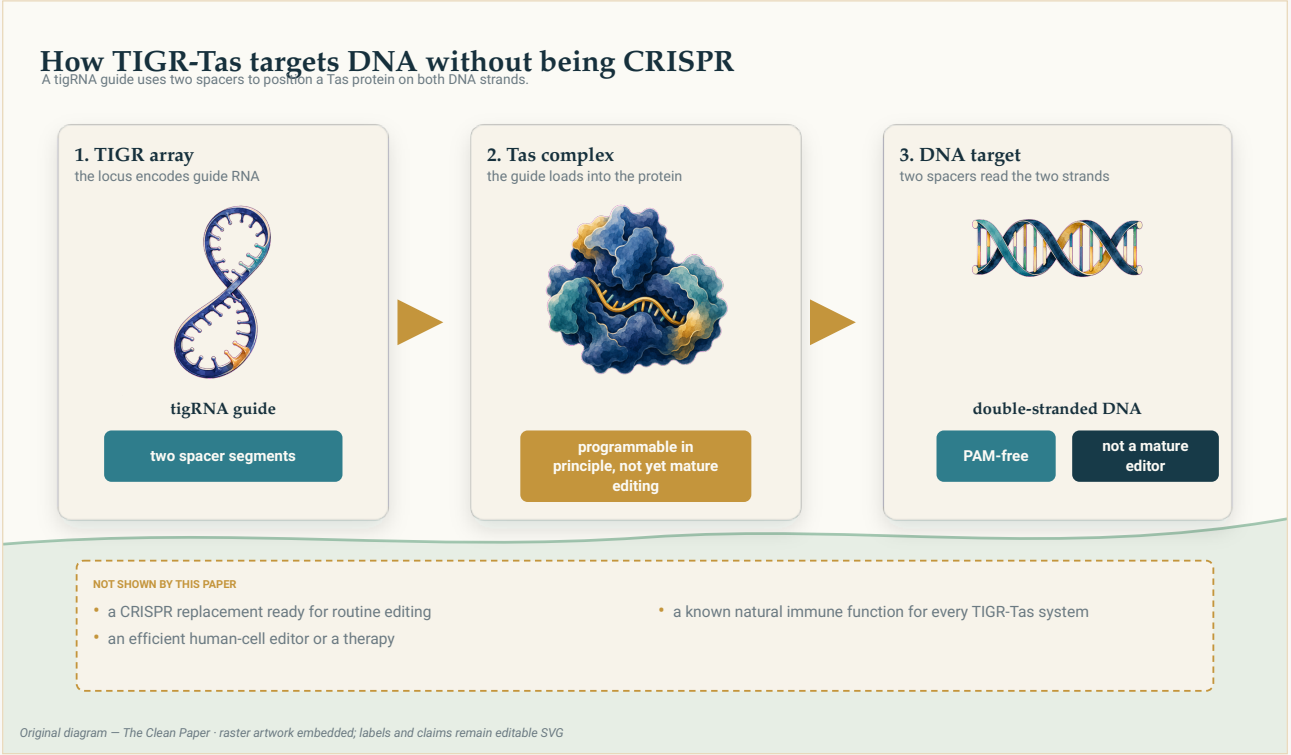
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

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

Новая ветвь на дереве РНК-направляемых машин

Время от времени выходит биологическая статья, которой приписывают заголовок, о котором она никогда не просила. На этот раз это было «новый CRISPR». Работа за этим заголовком интереснее — и, как обычно, скромнее.

Начнем с того, чем прославился CRISPR: с *РНК-направляемой системы*. Ее хитрость в том, что белок не обязан быть жестко «запрограммирован» на распознавание одной мишени. Вместо этого он несет короткий фрагмент РНК — гид — и направляется туда, где последовательность этого гида совпадает с мишенью. Измените гид — изменится и мишень. Именно эта программируемость превратила CRISPR в инструмент. Но CRISPR — не единственная РНК-направляемая система в природе, и эта работа задает терпеливый вопрос: сколько *других* типов таких систем существует и чему они могут нас научить?



TIGR-Tas использует гид с двумя спейсерами, чтобы считывать противоположные цепи ДНК. Это новая архитектура, а не готовый редактор генов.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

Чтобы искать такие системы, авторы не пытались находить похожие генные последовательности — за эволюционное время они меняются слишком сильно, чтобы по ним уверенно распознавать дальних родственников. Они искали *формы*. Взяв за отправную точку часть белка Cas9 системы CRISPR, удерживающую гидовую РНК, исследователи прочесали базы предсказанных белковых структур в поисках чего-то, построенного похожим образом. Этот след — через бактериальный «прыгающий ген» и механизм, которым обычные клетки химически модифицируют собственную РНК, — привел к

действительно новому объекту.

Что сделали авторы

Структурный поиск выявил ранее нераспознанное семейство белков, кодируемых преимущественно бактериофагами (вирусами, заражающими бактерии), вирусами архей и крошечными паразитическими бактериями. Рядом с каждым таким геном находится характерный участок ДНК: длинный повторяющийся массив, который авторы назвали **массивом TIGR** (Tandem Interspaced Guide RNA). Сами белки они назвали **Tas** (TIGR-associated). Некоторые белки Tas — лишь «зажим» для РНК; к другим присоединен инструмент для разрезания ДНК — один из двух типов молекулярных ножниц, RuvC или HNH.

Найдя это семейство в базах данных, исследователи перенесли его в лабораторию: экспрессировали системы в *E. coli* и секвенировали образующиеся малые РНК, выяснили правила, по которым эти РНК находят мишень в ДНК, проверили, действительно ли варианты с нуклеазами режут ДНК, попытались запрограммировать один из них для редактирования человеческих клеток, а в конце заморозили работающий комплекс и определили его структуру с почти атомным разрешением.

Что они обнаружили

Гид состоит из двух частей. Массив TIGR обрабатывается в короткие РНК длиной примерно 36 нуклеотидов, каждая из которых содержит *два* отдельных направляющих сегмента. Один сегмент считывает одну цепь целевой ДНК, второй — противоположную. Вместе они фиксируют комплекс на нужном участке. Это реальное механистическое отличие от CRISPR, где гид соответствует одной цепи одним непрерывным участком.

И ему не нужна «посадочная площадка». Многие нуклеазы CRISPR могут резать только рядом с коротким специфическим мотивом ДНК («PAM»), расположенным возле мишени, — это ограничивает места, на которые их можно нацелить. Для систем TIGR такого требования не обнаружили: они полагались только на саму последовательность мишени. Систему, которой не нужен PAM, в принципе можно направлять на большее число участков.

Варианты с нуклеазами режут — и делают это точно. Направляемые малой РНК белки Tas с доменами RuvC или HNH создавали чистые, специфичные к последовательности разрывы ДНК — и ничего не делали без гида.

Один вариант удалось запрограммировать для редактирования человеческих клеток — едва-едва. Когда белок Tas перенесли в человеческие клетки в культуре и нацелили на шесть разных генов, он действительно внес изменения, подтвердив, что

систему можно программировать и в наших клетках. Но эффективность была низкой: в лучшем случае редактировались несколько процентов клеток. Для сравнения, современные оптимизированные инструменты CRISPR обычно редактируют большую долю клеток, в которые их вводят. Это доказательство того, что система *может* работать, а не инструмент, который работает *хорошо*.

Структура объяснила механизм — и намекнула на происхождение. Визуализированный комплекс состоит из зеркально-симметричной пары белков, охватывающих гидовую РНК в форме восьмерки, тогда как целевая ДНК проходит через комплекс с резким изгибом. Примечательно, что эта архитектура очень напоминает механизм в клетках родственных нам организмов — box C/D **snoRNP**, который направляет химические модификации РНК, а не разрезает ДНК.

Ее естественная работа непонятна. Когда авторы экспрессировали одну из систем в *E. coli*, она *не* защищала клетки от чужих вирусов или плазмид — то есть не выполняла обычную работу CRISPR. Вместо этого на протяжении многих поколений она постепенно вытесняла плазмиду, на которую была нацелена. Это намекает, что ее настоящая роль может быть связана с медленной конкуренцией между мобильными элементами ДНК, а не с первой линией иммунной защиты. Но это был искусственный эксперимент в заимствованном клеточном контексте, поэтому честный ответ таков: пока никто не знает, что эти системы делают в природе.

Что это, вероятно, означает

Две вещи — с разным уровнем уверенности.

Первая, надежная: известный мир РНК-направляемых систем больше и разнообразнее, чем CRISPR и его недавно найденные родственники. TIGR-Tas — действительно отдельная ветвь со своим двухкомпонентным, независимым от PAM способом распознавания ДНК. Это настоящее дополнение к карте.

Вторая, более глубокая и спекулятивная: поскольку механизм TIGR устроен подобно snoRNP, модифицирующему РНК в клетках вроде наших, и подобно известному «прыгающему гену», он может обозначать эволюционную связь между РНК-направляемыми системами, ориентированными на *модификацию РНК*, и РНК-направляемыми системами, ориентированными на *ДНК*, — возможно, это недостающее звено в истории появления программируемых РНК-гидов в разных формах жизни.

Чего это *не* доказывает

- Это **не готовый инструмент редактирования генов**. Редактирование человеческих клеток продемонстрировали, но оно было слабым — в лучшем случае несколько

процентов. Это доказательство программируемости, а не зрелый редактор, и до клинического применения очень далеко.
- Это **не «CRISPR 2.0»**. Если оценивать их как инструменты сегодня, CRISPR-Cas9 редактирует несравнимо эффективнее. TIGR-Tas — новая *архитектура* на стадии проверки концепции, а не улучшенная версия готового продукта.
- Ее **биологическая роль неизвестна**. В одном тесте этой идеи система не вела себя как противовирусный иммунный механизм; утверждение о «новой бактериальной иммунной системе» не подтверждено.
- Многие детали **базового механизма остаются открытыми** — в том числе как гидовая РНК обрезается до окончательной длины и на что эти системы в действительности нацеливаются в природе (большинство из них происходит из микробов, которые мы почти не умеем культивировать).
- Здесь **нет ничего терапевтического**. Это открытие и характеристика систем в микробах и клеточной культуре — без болезни, лечения или пациентов.

Насколько сильны доказательства?

Само открытие стоит на прочном фундаменте и исследовано необычно разносторонне: оно опирается на масштабный структурный поиск, лабораторное подтверждение того, как образуется РНК и как она находит и разрезает ДНК, структуру активного комплекса с почти атомным разрешением, а также тест в человеческих клетках. Утверждение «это новое, отдельное семейство РНК-направляемых систем нацеливания на ДНК» поддерживается сразу несколькими независимыми линиями доказательств.

Ранним остается все, что касается полезности: редактирование работает, но едва, и вся оптимизация, превратившая CRISPR из биологической диковинки в инструмент, для TIGR еще впереди. А *выводной* остается остальная история: естественная роль — обоснованное предположение из одного искусственного эксперимента, а эволюционная связь, хотя и элегантная, — аргумент по общей структуре, а не установленная история. Статья аккуратно различает эти уровни уверенности.

Почему это важно

Несколько предыдущих расширений каталога РНК-направляемых систем в итоге дали практические плоды. Системы, лежащие в основе современных инструментов — Cas9, Cas12, Cas13, а недавно также меньшие белки IscB/OMEGA и эукариотические Fanzor, — поначалу были просто только что описанной биологией. Ни одна из них не появилась как готовый инструмент. Система с двухкомпонентным гидом и без требования PAM — действительно другая отправная точка, а возможность нацеливаться без PAM — именно тот вид гибкости, который ценят разработчики молекулярных инструментов.

Но более тихий результат может оказаться важнее перспективы нового инструмента. Связывая систему, разрезающую ДНК, с snoRNP-механизмом модификации РНК и с «прыгающим геном», работа намечает возможную нить, соединяющую очень разные РНК-направляемые системы на дереве жизни. Такие находки перестраивают представление целой области о происхождении ее инструментов — и в долгой перспективе это ценнее еще одного громкого заголовка о молекулярных ножницах.

Краткий итог

Ища не похожие последовательности, а *формы* белков, исследователи открыли TIGR-Tas — ранее неизвестное семейство РНК-направляемых систем нацеливания на ДНК, встречающееся преимущественно у вирусов бактерий и паразитических бактерий. Его гидовая РНК необычна: примерно 36 нуклеотидов с двумя отдельными направляющими сегментами, считывающими противоположные цепи ДНК; в отличие от CRISPR ей не нужен соседний мотив «PAM». Представители с нуклеазами точно разрезают ДНК, один из них удалось запрограммировать для редактирования человеческих клеток (хотя с эффективностью всего несколько процентов), а структура с почти атомным разрешением показала комплекс, устроенный подобно snoRNP-механизму, модифицирующему РНК в наших клетках, — это намекает на глубокую эволюционную связь между РНК-направляемыми системами модификации РНК и системами нацеливания на ДНК. Это настоящее расширение известной биологии РНК-направляемых систем и возможное новое шасси для будущих инструментов — фундаментальное открытие и проверка концепции, **не** зрелый редактор генов, не «CRISPR 2.0» и не терапия. Его естественная роль в природе остается неизвестной.

Проверка без преувеличений

Что показывает статья: Новое, отдельное семейство РНК-направляемых систем нацеливания на ДНК (TIGR-Tas) у прокариот и их вирусов, найденное с помощью структурного поиска; двухсегментную гидовую РНК без требования PAM (~36 нт), которая последовательно нацеливается на обе цепи ДНК; точное РНК-направляемое расщепление ДНК представителями с нуклеазами; программируемое редактирование человеческих клеток с низкой эффективностью (до нескольких процентов); крио-ЭМ-структуру с почти атомным разрешением; а также структурные и эволюционные связи с box C/D snoRNP и транспозонами IS110.

Что правдоподобно, но не доказано: Естественная биологическая роль этих систем (один искусственный эксперимент намекает на неиммунную роль в конкуренции мобильных элементов); предложенный эволюционный мост между РНК-направляемыми системами модификации РНК и нацеливания на ДНК (аргумент по структуре).

Чего работа не показывает: Зрелого или высокоэффективного инструмента редактирования генов; преимущества над CRISPR как инструментом; подтвержденной естественной функции; механизма созревания гидовой РНК; какого-либо терапевтического применения.

Основные ограничения: Эффективность редактирования человеческих клеток низка (только проверка концепции); большинство систем происходит из труднодоступных для исследования метагеномов, поэтому их естественные мишени в основном неизвестны; утверждения о биологической роли и эволюционном происхождении имеют выводной характер; характеристика проведена в микробах и клеточной культуре, а не в контексте какого-либо заболевания.

Сколько доверия стоит иметь обычному читателю? Высокое к тому, что это действительно новое, отдельное семейство РНК-направляемых систем нацеливания на ДНК с новым двухкомпонентным, независимым от PAM механизмом и что структурные и эволюционные наблюдения реальны. Столь же высокое к тому, что это **не** готовый инструмент редактирования генов, не «CRISPR 2.0» и не терапия. Низкое — к его естественной роли и к тому, насколько далеко оно зайдет как инструмент. Самая уместная позиция: искренний интерес к новой биологии и возможному недостающему эволюционному звену — и терпение в отношении применений, которые только начинаются.

Источники

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

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