

Жизневская А.А.

CRISPR-CAS: ОТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ДО ВАЖНЕЙШЕГО ИНСТРУМЕНТА МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Научный руководитель: д-р биол. наук Фомина Е.Г.

ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск

За последние несколько десятилетий геновая инженерия сделала значительный шаг вперед благодаря появлению и развитию CRISPR-Cas9 технологии редактирования геномов. CRISPR-Cas можно расшифровать как «сгруппированные короткие палиндромные повторы, разделенные промежутками (CRISPR), и ассоциированная с ними система (Cas)» (от англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats and CRISPR-associated system).

Впервые структура в виде повторяющихся элементов была обнаружена в 1987 г. в клетках *Escherichia coli*, однако предположение об ее функции было выдвинуто лишь после обнаружения сгруппированных повторов в геномах архей (*Haloferax mediterranei*, 1995 г.), поскольку наличие схожей структуры у эволюционно отдаленных организмов говорит о значимости для выживания. Активное изучение локуса привело к гипотезе о хранении здесь информации о чужеродной ДНК для выполнения функции защиты от патогенов, т.е. роли приобретенного «иммунитета». Задача CRISPR-Cas состоит в формировании нуклеазного комплекса, который с помощью направляющей РНК, синтезированной на основе чужеродной последовательности, специфически распознает патогенную нуклеиновую кислоту-мишень и разрезает ее.

С 2013 г. адаптированная для работы с эукариотическими клетками CRISPR-Cas9 система успешно внедряется в геномную инженерию и применяется для различных целей, включая направленное выключение генов за счет точечных мутаций или делеций (нокаут, от англ. knock-out), добавление новых фрагментов в состав генов (нокин, от англ. knock-in), активацию и интерференцию экспрессии, редактирование пар оснований и т.д.

Одной из важнейших сфер применения CRISPR-Cas9 является медицина. В доклинической медицине технология применяется для создания моделей заболеваний на клеточных культурах или животных. С помощью нокинов возможно редактирование и/или замена мутированных генов на нормальные. Нокауты позволяют изучить онкогены, гены, связанные с метастазированием и устойчивостью к лечебным препаратам для улучшения терапии неопластических заболеваний. Направляя CRISPR-Cas9 на гены устойчивости к антибиотикам и доставляя систему с помощью бактериофагов, стало возможным лечение пациентов, инфицированных резистентными штаммами бактерий. Также эта технология является перспективной для терапии хронических инфекций, опосредованных ВИЧ или вирусом гепатита В.

Для изоляции вирусов и производства вакцин используют клеточные линии. Перспективным является направленное выключение генов автономного клеточного иммунитета для увеличения титра вирусных частиц, в частности, различных генов сигнальных путей. В рамках НИР планируется получить нокаутированные клеточные линии Vero – универсальной платформы для размножения вирусов – по генам адапторных белков, передающих сигнал от эндосомных и цитозольных рецепторов (TRIF, MyD88, MAVs); транскрипционных факторов (IRF1, IRF3); а также по гену, кодирующему киназу IKK γ , задействованную в активации NF- κ B; гену, кодирующему одну из субъединиц гетерорецептора интерферона I типа IFNAR1; и генам белков с широким антивирусным действием (RNase L, PKR, IFITM3).