

Литвинов Юрий Владимирович

магистрант

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

г. Ставрополь, Ставропольский край

МЕТОД CRISPR/CAS9: РЕВОЛЮЦИЯ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Аннотация: в данной статье рассмотрен метод *crispr/cas9*. В работе представлен механизм работы *CRISPR(cas)*.

Ключевые слова: биомедицинские исследования, ген, метод *crispr/cas9*, спейсер.

Разработка методов для целенаправленного изменения генома живой клетки является давней целью биомедицинских исследований. Появление нового метода на основе уникальной иммунной системы бактерии стрептококка (*CRISPR*) серьезно взбудоражило общественность. *CRISPR* – Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами).

CRISPR представляет собой короткие повторы генов, играющих ключевое значение в адаптивном иммунитете некоторых бактерий и архей. Эти генетические повторы позволяют распознать вторжение чужеродного генетического материала (бактериофага). Такая уникальная особенность впервые была обнаружена у кишечной палочки в 80-е года XX века, но ее функция была непонятна. И только в 2007 году Виргиниус Шикшнис вместе с коллегами установил, что бактерии могут приобретать иммунитет против вирусных частиц путем включения в геном фрагмента этого вируса. А уже в 2008 была открыта *CRISPR-РНК* (*crРНК*), которая необходима для осуществления ДНК-интерференции. Под ДНК-интерференцией понимается «вырезание» определенного участка молекулы ДНК. Также было выявлено ключевое значение особого белка (*Cas*). Именно с помощью белка *Cas* осуществляется ДНК-интерференция.

Стоит отметить, что системы *CRISPR-Cas* проявляют некоторые свойства эволюции по Дарвину – в частности, выглядящее на уровне популяции

случайным приобретение спейсеров, вслед за чем следует отбор выживающих клонов с наилучшей приспособленностью.

Механизм работы CRISPR(cas) включает три этапа: приобретение, экспрессию и интерференцию.

На первом этапе происходит образование спейсера (включение генетического материала CRISPR). Именно спейсеры составляют иммунологическую память клетки, в них хранится информация о прошлых вторжениях вирусов. При встрече с одним и тем же бактериофагом бактерии будут вставлять разные участки его генома, тем самым повысив сопротивляемость (при мутации фага только один спейсер станет неэффективным).

На этапе экспрессии происходит образование CRISPR-РНК (crРНК), нацеленной на определенный участок. Нацеленность определяется тем, что crРНК содержит уникальную генетическую последовательность, комплементарную бактериофагу.

Во время интерференции crРНК распознаёт нуклеиновую кислоту-мишень за счёт комплементарного спаривания оснований, после чего разрезает мишень благодаря эндо- и/или экзонуклеазной активности белков Cas.

На сегодняшний день CRISPR – одна из самых востребованных и перспективных технологий в генной инженерии. Многие молодые люди, студенты, грезят о работе с CRISPR(Cas). Технология CRISPR-Cas успешно применяется в генной инженерии растений, в том числе декоративных растений (например, петунии) и многих важных сельскохозяйственных культур: риса, сои, пшеницы, сорго, кукурузы, томата и апельсина. Исследуются возможности внедрения систем CRISPR-Cas в культурные растения для создания противовирусного иммунитета. Для генной инженерии растений также может использоваться система CRISPR-Cpf1.

Технология CRISPR(Cas) революционна тем, что в ее основе лежит естественный механизм изменения генома.