

# Обнаружены новые свойства белка Cas9

Новосибирские ученые установили, что белок Cas9 при попадании в ДНК человека выполняет свою функцию и при этом не влияет на работу системы репарации, маскируя вызванное им повреждение. Эти данные можно использовать при применении инструментов редактирования генома в биотехнологии и медицине. Результаты исследования, поддержанного грантом Российского научного фонда (РНФ), опубликованы в журнале PLoS ONE.

В последние несколько лет со страниц новостей не сходит система CRISPR/Cas9 — мощный инструмент редактирования генома живых организмов, с помощью которого можно устранять мутации, приводящие к наследственным заболеваниям, получать новые сорта растений, породы животных и штаммы микроорганизмов для биотехнологии. Эта система основана на действии белка Cas9, который производят некоторые бактерии для своей защиты от вирусов. Белок «нацеливается» на определенную последовательность в вирусной ДНК при помощи РНК, точно соответствующей этому месту, и расщепляет геном вируса. Точно так же, сделав нужную РНК, можно нацелить Cas9 на любую точку, например, на вредную мутацию в геноме человека, и белок разрежет ДНК в этом месте, а потом разрыв можно «залечить» уже правильной последовательностью ДНК.

Поскольку белок Cas9 происходит из бактерий, для клетки человека он совершенно чужероден. Но вдруг он по какой-то причине будет влиять на другие процессы в нашей клетке? Когда биологи в своих целях внедряют в клетку что-то совершенно ей неизвестное, идеально было бы, чтобы этот чужой объект делал только то, что от него хотят, и никак не взаимодействовал бы с прочим клеточным аппаратом. Такое свойство называется *биоортогональностью*. Взять, например, разрывы ДНК. В клетке человека есть несколько систем *репарации ДНК*, которые отвечают за их устранение: обычно разрывы появляются при радиоактивном облучении или воздействии токсичных веществ и мутагенов, поэтому их нужно очень быстро ликвидировать. В этих системах работают, в частности, сенсоры разрывов поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1), поли(АДФ-рибоза)полимераза 2 (PARP2) и Ku-антиген, зашивающая разрывы ДНК-лигаза I, белки RPA и YB-1, которые связывают ДНК и РНК и «раскрывают» их для репарации, и многие другие. Но будут ли все эти белки воспринимать разрыв, внесенный Cas9, как свои природные субстраты, которые нужно исправлять?

Изучением этого вопроса занялись исследователи ИХБФМ СО РАН под руководством академика РАН Ольги Ивановны Лаврик и члена-корреспондента РАН Дмитрия Олеговича Жаркова. Ученые выяснили, что после того, как Cas9 вносит разрыв в ДНК, белок маскирует это повреждение, делая его на долгое время невидимым для клеточных систем репарации. Эффективность редактирования в живых клетках не зависела от того, есть ли в них белок PARP1 — главный сенсор разрывов в обычной ситуации. Лишь фермент репарации PARP2, который в обычной ситуации «чувствует» разрыв ДНК и присоединяет к окружающим белкам специальную «сигнальную метку», поли(АДФ-рибозу), был способен таким же образом модифицировать и Cas9, но это не оказывало никакого влияния на активность геномного редактора. Не мешало ему работать и связывание белка YB-1 с направляющей РНК. Таким образом, по крайней мере с точки зрения процесса репарации разрывов, Cas9 в клетках человека действительно выступает как биоортогональный фермент. Что и хорошо: чем меньше неожиданных взаимодействий, тем проще контролировать активность системы геномного редактирования, когда она применяется (или будет применяться) в биотехнологии и медицине.