
微生物所在解析CRISPR高效适应机制方面取得新进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/4839.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

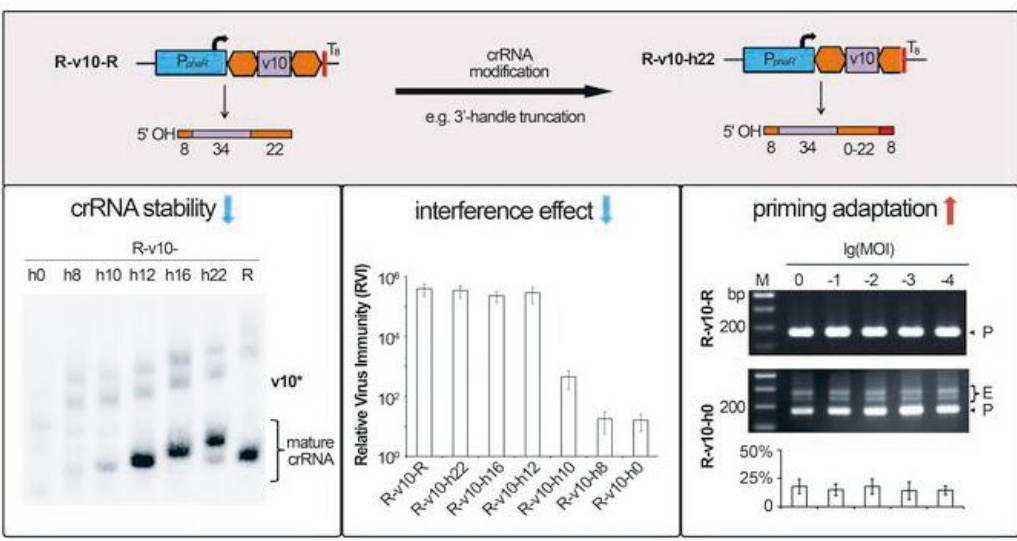
微生物所在解析CRISPR高效适应机制方面取得新进展。CRISPRs(全称clustered regularly interspaced short palindromic repeats, 即“成簇的规律性间隔的短回文重复序列”)与Cas蛋白(CRISPR-associated proteins)共同构筑了原核生物界的一道适应性免疫防线。当病毒等外源DNA入侵细菌或古菌时, Cas蛋白可获取入侵病毒特定DNA序列整合至CRISPR结构中, 从而对该病毒产生永久性“记忆”, 这些记忆性序列称为spacer。这些序列的转录本经加工后产生成熟的crRNA, 后者指导Cas蛋白特异地识别和切割再次入侵的病毒DNA。该系统丰富多样的功能组分和核酸靶向机制, 为人类提供了迄今最高效的基因组编辑技术(如CRISPR-Cas9系统)和基因检测技术(如CRISPR-C2c2/Cas13a系统), 同时为人们理解生命的进化与适应机制提供了重要素材。

中国科学院微生物研究所微生物资源前期开发国家重点实验室向华研究组是我国较早从事CRISPR-Cas系统基础研究的团队, 面对国际上很长一段时间内缺乏CRISPR从纯病毒高效获取spacer的适应系统的困境, 他们于2014年从辽宁废弃的海水晒盐场分离到一株嗜盐古菌病毒, 在古菌中建立了首例(所有系统中第二例)CRISPR-Cas对纯病毒的高效适应体系, 揭示了该过程的“引发”本质, 并首次提出引发适应可能是CRISPR在自然界中对病毒发生高效适应的主要模式(Nucleic Acids Res., 2014, 42: 2483–2492), 这一论断现已得到国际同行的广泛认同, 并推动了高效适应实验模型的广泛建立和研究。近年来, 他们利用这一高效适应模型, 进一步揭示了引发过程中严谨的异己区分机制——基于引发位点的PAM识别(Nucleic Acids Res., 2014, 42: 7226–7235); spacer获取复合物对整合位点的精确识别原理——基于repeat两个内部元件的识别和“双分子尺”机制(Nucleic Acids Res., 2016, 44: 4266–4277); spacer底物切取过程中尺寸多态性原理——基于末端碱基的识别偏好性(Nucleic Acids Res., 2017, 45: 4642–4654)。上述原创性发现系统揭示了CRISPR引发适应过程的核心功能和机制, 已被Nature, Cell, Science, PNAS等引用150余次。最近该研究组进一步揭示“引发”机制赋予了CRISPR极强的病毒适应能力, 为理解I型CRISPR系统的工作机制提供了更深入的素材和视角, 相关论文发表在最新一期的《核酸研究》(Nucleic Acids Res)上。

虽然“引发”机制对于CRISPR免疫的重要性已成为科学家们的普遍共识, 但这一认识仅限于逃逸病毒的再次入侵, 或近缘病毒(与spacer来源病毒具有相似的序列)的入侵等生理场景。向华课题组近期通过对引发crRNA分子进行大量改造, 发现当改变该分子的一些保守特征时(如3'端保守handle序列缺失、5'末端的羟基基团替换成三磷酸基团等), crRNA的胞内稳定性和浓度大大降低, 同时该分子介导的病毒干扰过程几近被阻断;但值得注意的是, 引发适应过程几乎不受影响, 甚至会有所增强(如图)。更令人吃惊的是, 该RNA分子最少仅需要5'端的6个保守碱基(当然还有spacer序列)就可以引发适应过程。另外, 引发过程比干扰过程还能耐受更大范围的spacer长度变化。这些数据表明, 引发过程中crRNA分子的可塑性极强, 且极低的胞内浓度即可引发高

效的适应过程，凸显了引发机制超凡的高效性和鲁棒性，与早前发现的引发适应严格异己区分机制相得益彰;而相比之下，干扰过程耐受性较差，需要较高的crRNA胞内浓度。这暗示在病毒感染初期，引发适应可通过从病毒快速获取新spacer提高有效crRNA分子的浓度，强化干扰效果，这对清除快速复制增殖的病毒分子非常重要。因此，他们认为“引发”机制对CRISPR免疫的重要性体现在多个层面，在病毒感染初期(强化对病毒干扰效果，保障对快速复制的病毒分子的彻底清除)和病毒感染后期(应对病毒逃逸突变，保障对不断进化的病毒分子的快速适应)均发挥重要作用，这也可能解释了具备该机制的I类CRISPR系统在自然界中的更高普遍性。

该研究成果发表在国际学术期刊Nucleic Acids Research上，龚路遥是该论文(Nucleic Acids Res., doi: 10.1093/nar/gkz244)的第一作者，向华和李明为该论文通讯作者。该研究得到国家自然科学基金委、国家转基因科技专项和中国科协青年人才托举工程的资助。



图：crRNA分子保守结构的改变显著降低其稳定性和干扰能力，而引发适应仍可高效发生(Nucleic Acids Res., 2019, doi: 10.1093/nar/gkz244)

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发