生物物理所等揭示anti-CRISPR沉默CRISPR-Cas9系统的分子机理

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/5871.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！

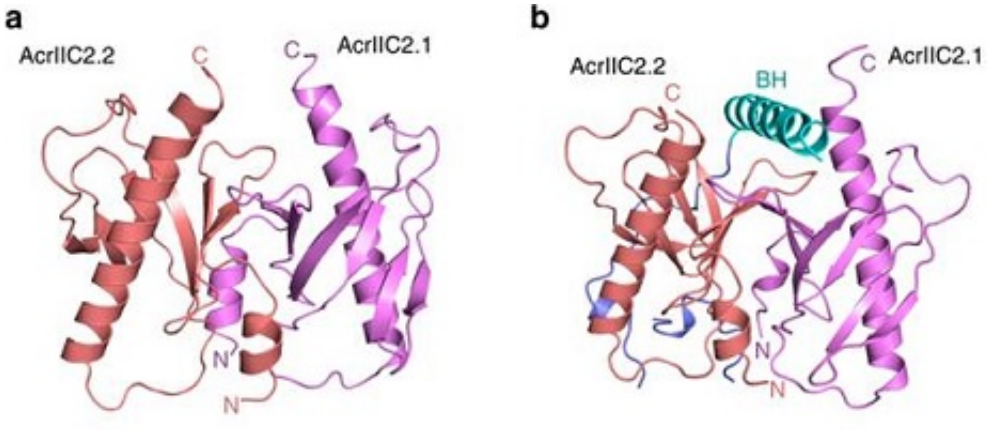
生物物理所等揭示anti-CRISPR沉默CRISPR-Cas9系统的分子机理。6月26日，中国科学院生物物理研究所王艳丽课题组和加拿大多伦多大学Karen Maxwell课题组的合作论文Inhibition of CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein complex assembly by anti-CRISPR AcrIIC2 在《自然-通讯》(Nature Communications)杂志在线发表。该工作报道了2.45埃的apo AcrIIC2和2.28埃的结合了Neisseria meningitides Cas9 (Nme1Cas9) BH domain的AcrIIC2复合物晶体结构，结合体内和体外实验，系统阐述了anti-CRISPR蛋白AcrIIC2沉默CRISPR-Cas9系统的分子机理。王艳丽课题组一直致力于CRISPR-Cas系统抗病毒作用机理的研究，前期研究揭示了一系列重要的CRISPR-Cas系统的作用机理(Nature 2014, Cell 2015, Cell Res. 2016, Cell 2017a, Cell 2017b, Mol. Cell 2017, Cell 2018, Mol. Cell 2019, Cell 2019)。

CRISPR/Cas系统是广泛存在于细菌和古菌中的抵抗病毒和外源质粒入侵的获得性免疫防御系统。CRISPR-Cas系统分为两大类。第一大类CRISPR-Cas系统由多亚基组成的效应复合物(如Cascade，Csm complex等)发挥功能;第二大类是由单个效应蛋白(如Cas9, Cas12，Cas13等)来发挥功能。Cas9具有RNA介导的DNA内切酶和RNA内切酶活性。由于可以特异性识别、结合、切割DNA，且具有可编程性，Cas9被广泛运用于基因编辑和基因表达调控领域。2017年，Karen Maxwell课题组报道了3个来自于致病菌Neisseria meningitides 的anti-CRISPR蛋白，并命名为AcrIIC1，AcrIIC2，AcrIIC3。这是首次发现的可以抑制CRISPR-Cas9系统的anti-CRISPR蛋白。结构和功能研究表明，AcrIIC1通过和Cas9的HNH结构域催化中心结合，抑制Cas9的基因编辑活性。

该研究中，研究人员通过生化实验发现AcrIIC2和Nme1Cas9结合后，可以抑制sgRNA(由crRNA和tracrRNA融合而成)的结合，从而使Nme1Cas9的功能被抑制。研究人员随后解析了2.45埃的apo状态AcrIIC2晶体结构。结构发现AcrIIC2应该是一个dimer。两个AcrIIC2结合形成一个带负电荷的口袋，这提示AcrIIC2可能和带正电荷的BH domain结合，从而发挥抑制功能。研究人员将复合物Nme1Cas9-AcrIIC2用蛋白酶预处理，收到了分辨率高达2.28埃的晶体衍射数据。解出来AcrIIC2与Nme1Cas B H复合物结构;功能实验进一步验证AcrIIC2和sgRNA竞争性地结合Nme1Cas9 BH结构域。

王艳丽和Karen Maxwell为论文的共同通讯作者。Karen Maxwell课题组的Annoj Thavalingam、Bianca Garcia，王艳丽课题组的博士生程志、黄雪为论文的共同第一作者。该研究得到科技部、国家自然科学基金以及中科院的资助，上海同步辐射光源(SSRF)为该研究提供了重

要的技术支持。



(a) 自由AcrIIC2结构;(b) AcrIIC2-BH复合物结构

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转发