(دکتر مریم اسلامی)

پیشرفت در تحقیقات CRISPR ممکن است منجر به ویرایش ژن موثرتر و ایمن تر شود

10 سال پیش ما شاهد پیشرفتی در زیست شناسی مدرن بودیم.

یک دانشمند آمریکایی کشف کرد که دستکاری پروتئین Cas9 منجر به یک فناوری ژنی می شود که شایسته یک فیلم علمی تخیلی است. پتانسیل بسیار زیاد است و هر چیزی را از حذف بیماری های ارثی گرفته تا تولید محصولاتی که قادر به مقاومت در برابر تغییرات آب و هوایی هستند را پوشش می دهد. با این حال، مانند هر فناوری جدید دیگری، CRISPR چالش های خود را داشته است. یکی از چالش‌های اصلی این بوده است که این فناوری را تا حد ممکن مؤثر کنیم و مطمئن شویم که قیچی فقط در جایی که ما می‌خواهیم برش می‌دهد.

ما مکانیسم های جدیدی را در پشت کریسپر توضیح داده ایم.

دو مطالعه جدید از دانشگاه کپنهاگ که همراه با محققان دانشگاه آرهوس انجام شده است می تواند به حل این مشکلات کمک کند.

یان گورودکین، پروفسور بیوانفورماتیک از گروه دامپزشکی و علوم دامی، می‌گوید: «ما مکانیسم‌های جدیدی را در پشت CRISPR توصیف کرده‌ایم. ما اکنون می‌توانیم توضیح دهیم که چرا برخی از اهداف خارج از هدف، که برش‌های ناخواسته در جاهای دیگر ژنوم است، مؤثرتر از اهداف روی هدف هستند، یعنی برش در محل مورد نظر. ما همچنین آموخته‌ایم که چگونه توالی‌های مختلف DNA اطراف روی هدف می‌تواند بر میزان کارآمدی پروتئین Cas9 بر DNA تأثیر بگذارد. امیدواریم این دانش راه را برای استفاده مؤثرتر و ایمن‌تر از CRISPR هموار کند. بنابراین CRISPR چگونه کار می کند؟ ابتدا یک دانشمند قطعه ای از RNA مصنوعی به نام RNA راهنما را طراحی می کند. سپس به پروتئین Cas9 متصل می شود که وظیفه برش DNA را انجام می دهد. RNA راهنما بخش DNA منطبق را جستجو می کند. هنگامی که RNA راهنما نقطه مناسب را پیدا کرد، Cas9 رشته DNA را قطع می کند. اکنون دانشمند قادر است هر قطعه مصنوعی DNA را در نقطه خالی وارد کند. اگر Cas9 و RNA راهنما به هدف برخورد کنند، دانشمندان از آن به عنوان هدف یاد می کنند. اگر به جای دیگری برخورد کنند، دور از هدف هستند. امروزه، CRISPR در زمینه پزشکی عمدتاً برای مطالعه نحوه عملکرد ژن ها و داروها در آزمایشگاه استفاده می شود و هنوز به طور گسترده در درمان انسان استفاده نمی شود. با این حال، در دراز مدت، ایده استفاده از CRISPR در درمان برخی بیماری‌های ژنتیکی است.

معمای اهداف موثر خارج از هدف حل شد

در یکی از دو مطالعه جدید، محققان به دنبال یافتن بهترین راه برای اتصال RNA راهنما به DNA بودند و برش را تا حد ممکن مؤثر می‌سازند - زیرا اگر برش به اندازه کافی مؤثر نباشد، دانشمندان نمی‌توانند DNA را ویرایش کنند. گورودکین می‌گوید: «ما قبلاً می‌دانیم که CRISPR واقعاً زمانی کار نمی‌کند که پیوند بین RNA راهنما و DNA خیلی ضعیف باشد. اکنون فهمیدیم که پیوند بیش از حد قوی نیز مشکل‌ساز است. در هر دو مورد، قیچی ژنی بسیار ضعیف و ناکارآمد است.

محققان سپس فاصله ای را شناسایی کردند که در آن پیوند بین RNA راهنما و DNA نه خیلی قوی و نه خیلی ضعیف است، و در نتیجه قیچی با وضوح کامل ایجاد می شود. گورودکین توضیح می‌دهد: «جالب است که این مشاهدات همچنین می‌تواند برای توضیح اینکه چرا برخی از اهداف خارج از هدف، فعالیت CRISPR قوی‌تری نسبت به هدف‌های مورد نظر خود نشان می‌دهند، استفاده شود – یعنی چرا قیچی برای برخی از اهداف خارج از هدف تیزتر از اهداف روی هدف است. "این به این دلیل است که اهداف بیش از حد قوی در بازه انرژی اتصال مناسب قرار نمی گیرند. اما اگر مقداری از انرژی را از این پیوندهای قوی حذف کنید، چیزی که در سایت های خارج از هدف اتفاق می افتد، می توانید وارد شوید. فاصله سمت راست، منجر به یک اثر قوی تر و در نتیجه یک قیچی شکل دهنده در خارج از اهداف می شود." این مطالعه همچنین موقعیت بهینه پروتئین Cas9 را برای دستیابی به موثرترین برش شناسایی کرده است. قبل از اینکه Cas9 بتواند DNA را برش دهد، پروتئین باید به بخش خاصی از رشته DNA متصل شود. DNA از چهار نوکلئوتید مختلف تشکیل شده است: A، C، G و T، و Cas9 تنها می تواند به دنباله ای با دو نوکلئوتید G متوالی متصل شود. اکنون محققان تأثیر چندین نوکلئوتید متوالی G را روی Cas9 شناسایی کرده‌اند - وضعیتی که در آن ضربه زدن به هدف دشوار است زیرا هر دو G متوالی برای اتصال با Cas9 رقابت می‌کنند. "وقتی چندین "بالادست" G وجود دارد، یعنی قبل از دنباله ای که Cas9 قرار بود به آن متصل شود، برش موثرتر خواهد بود. اما وقتی چندین "پایین دست" G وجود دارد، یعنی بعد از دنباله مورد نظر برای .Cas9برای اتصال، برش کارایی کمتری دارد،" Postdoc Giulia Corsi توضیح می دهد. کورسی امیدوار است دانش جدید در مورد نحوه عملکرد CRISPR شناسایی موقعیت صحیح Cas9 را در آینده آسان تر کند. این همچنین باید به به حداقل رساندن تعداد عوارض جانبی بالقوه کمک کند. کورسی. می‌گوید: «ما می‌خواهیم بتوانیم برش را پیش‌بینی کنیم، ویرایش هدف را بهبود بخشیم و اهداف خارج از هدف را حذف کنیم، که توسعه داروهای جدید را با نیاز به منابع

زیاد پیچیده می‌کند و می‌تواند منجر به عوارض جانبی شود که با قطع ژن اشتباه رخ می‌دهد.»

اهداف خارج از هدف می توانند مضر باشند - و در مورد آنها تحقیق نشده است

مطالعه دوم بر اهداف خارج از هدف متمرکز است. در اینجا محققان روشی را برای اندازه گیری اثربخشی اهداف خارج از هدف توسعه دادند. برای کنترل کیفی یک آزمایش CRISPR، دانشمندان معمولا تعداد کمتری از اهداف پیش‌بینی‌شده توسط کامپیوتر را برای آزمایش انتخاب می‌کنند. با این حال، با استفاده از فناوری جدید، آنها قادر خواهند بود تعداد بسیار بیشتری از اهداف خارج از هدف را آزمایش کنند و انتظار می‌رود که این امر توسعه داروهای جدید با عوارض جانبی کمتر را سرعت بخشد. با استفاده از روش جدید، محققان 8000 هدف بالقوه را برای 110 RNA راهنمای CRISPR در فرآیند ترجمه به پزشکی انسانی آزمایش کردند. آنها دریافتند که حدود 10 درصد از 8000 هدف بالقوه در واقع خارج از هدف بودند. گورودکین توضیح می‌دهد که ما خیلی بیشتر از آنچه که می‌توانستیم از روش‌های موجود استفاده کنیم، خارج از هدف پیدا کردیم. علاوه بر این، 37 مورد از این اهداف خارج از هدف در ژن‌های مرتبط با سرطان قرار دارند که خطر سخت‌تر یا حتی غیرممکن شدن ساخت دارو را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، برش های ناخواسته در این ژن ها حتی ممکن است به عنوان یک عارضه جانبی احتمالی منجر به سرطان شود.
گورودکین می‌گوید: محققان باید بتوانند چنین اهداف خارج از هدف را شناسایی کنند و RNAهای راهنما دیگری را انتخاب کنند

به گفته گورودکین، این نشان می دهد که نیاز زیادی به تحقیقات بیشتر در مورد اهداف خارج از هدف وجود دارد. " او می گوید."من استدلال می کنم - و برخی ممکن است مخالف باشند - که اهداف خارج از هدف بسیار مورد تحقیق قرار نگرفته اند. تصور من این است که مطالعات موجود در مورد ویرایش ژن اغلب فاقد ابزارها و تجزیه و تحلیل های کامل مورد نیاز برای نشان دادن اینکه هیچ اثر خارج از هدف در مطالعات آنها وجود ندارد، وجود ندارد. به گفته یان گورودکین، روش جدید در آینده تأثیر زیادی برای بررسی بهتر مطالعات برای اهداف خارج از هدف خواهد داشت. در 10 سال گذشته، ما گام بزرگی در جهت ویرایش ژنوم برداشته‌ایم. اکنون در حال ساخت روش‌های بهتر، ایمن‌تر و مؤثرتر هستیم.

https://phys-org.cdn.ampproject.org/c/s/phys.org/news/2022-10-breakthrough-crispr-effective-safer-gene.amp