



## Cell Rep: 揭示Cas4蛋白在CRISPR/Cas系统中的功能

👁️ 发布时间: 2018-04-04 09:31:17 分享到:

全球的科学家们越来越多地将一种被称作CRISPR-Cas9的细菌免疫防御系统作为对活细胞中的DNA进行编辑的工具。这种新技术让基因编辑变得更加容易和更加精确。但是，这些CRISPR系统如何在自然界中起作用还获得完全理解。如今，在一项新的研究中，来自荷兰代尔夫特理工大学的研究人员确定了存在于多种CRISPR系统中的一种被称作Cas4的蛋白的作用。他们证实这种蛋白有助于细菌细胞形成对入侵病毒的DNA序列的记忆，从而保护它们免受病毒感染。利用Cas4获得的病毒记忆能够有助细菌细胞足够快地找到并摧毁入侵病毒，从而存活下来。这一发现是为全面理解CRISPR系统而取得的另一项重要进展。相关研究结果发表在2018年3月27日的Cell Reports期刊上，论文标题为“Cas4 Facilitates PAM-Compatible Spacer Selection during CRISPR Adaptation”。





图片来自Getty Images/TU Delft。

尽管人眼观察不到，但是细菌和病毒一直在相互交战。每天，被称作噬菌体的微小病毒样颗粒都会杀死地球海洋中的大约三分之一的细菌。代尔夫特理工大学的Stan Brouns博士解释道，“这类病毒将它们的DNA或RNA注入细菌细胞中，尝试并控制它。如果这种劫持取得成功，那么这种病毒就能够将细菌用作生产自身拷贝的小型工厂。”

## 基因记忆

作为对病毒入侵的反击，细菌经过进化产生防御机制，如具有切割病毒DNA的能力因而中和这种威胁的CRISPR-Cas9。然而，在这种情形发生之前，细菌需要拥有对一种病毒的基因记忆。它必须认识到这种病毒是一种威胁。

这种记忆是通过细菌获取病毒的DNA片段并将这些片段插入到自己的遗传密码中形成的。如果相同类型的病毒再次攻击这种细菌，那么细菌细胞就会识别入侵者并派遣切割蛋白，如Cas9。将这些病毒DNA片段产生的RNA作为一种“备忘单”，这种切割蛋白开始寻找并破坏这种病毒，从而让细菌保持安全。

## 病毒DNA片段



一起作为论文第一作者的博士生Sebastian Kieper说，“鉴于这种蛋白存在于大多数的CRISPR系统中，我们知道它定是比较重要的。”

为了发现Cas4到底发挥什么作用，这些研究人员将Cas4基因导入到含有主要的CRISPR记忆形成机制的大肠杆菌细胞中。他们并没有将这个基因引入到其他的细胞中。Brouns说，“我们发现，在没有Cas4的情况下，这种细菌仍然形成针对入侵病毒的记忆，但是这些记忆不能提供保护。”换言之，仅当Cas4存在时，入侵病毒的DNA片段才被插入到这种细菌的基因组中，从而让这种细菌细胞产生病毒抵抗力。

## 功能性记忆

进一步的研究揭示出细菌在没有使用Cas4的情况下为什么不能够使用它们形成的记忆。这与前间隔序列邻近基序（protospacer adjacent motif, PAM）有关，其中PAM是由少量碱基对组成的短DNA序列，起着作为Cas9等DNA切割蛋白的识别点的作用。Brouns说，“利用Cas9进行基因组编辑的任何人都知道选择PAM对实验取得成功是至关重要的。”

细菌面临同样的问题。Brouns解释道，“当选择一段病毒DNA作为记忆插入到细菌基因组中时，CRISPR系统也需要选择侧翼有PAM的序列。Cas蛋白将利用PAM序列寻找它的靶序列，它不会靶向侧翼没有PAM的DNA序列。”因此，PAM也起着保护作用，阻止Cas蛋白切割细菌自己的DNA。

Cas4的作用是确保仅侧翼有PAM的病毒DNA序列插入到细菌的DNA中。这导致细菌产生功能性记忆，从而确保当病毒再次尝试攻击，这些细菌能够利用形成的记忆阻止病毒入侵。

这些研究人员如今正在研究这个过程是如何发挥作用的，以及如何利用这一发现。（生物谷 Bioon.com）

## 参考资料：

Sebastian N. Kieper, Cristóbal Almendros, Juliane Behler et al. Cas4 Facilitates PAM-Compatible Spacer Selection during CRISPR Adaptation. Cell Reports, 27 March 2018, 22(13):3377–3384, doi:10.1016/j.celrep.2018.02.103

来源：生物谷



© 版权所有 中国实验动物学会 京ICP备14047746号 京公网安备11010502026480

地址: 北京市朝阳区潘家园南里5号 (100021) 电话: 010 - 67776816 传真: 010 - 67781534 E-mail: calas@cast.org.cn

技术支持: 山东瘦课网教育科技股份有限公司

| 站长统计

