

"سیستم ویرایش ژنوم کریسپر، مکانیسم عمل و کاربردها"

سیستم های CRISPR/Cas9 آخرین عضو از این مجموعه ابزارهای مهندسی ژنوم می باشند. سیستم کریسپر اخیراً به عنوان سیستم دفاعی خودی بر علیه عناصر ژنتیکی مهاجم در باکتری ها و آرکنی ها شناخته شده است. در این سیستم، لوکوس کریسپر به یک نسخه طولی اولیه (pre-crRNA) رونویسی و سپس به مجموعه ای از RNAهای کوتاه مشتق از کریسپر موسوم به crRNA پردازش می شوند. guide RNA (مجموعه crRNA و tracrRNA در تیپ II سیستم کریسپر) وظیفه هدایت نوکلئاز Cas9 را به سوی توالی هدف به منظور ایجاد برش به عهده دارد. دو شرط لازم برای شناسایی منطقه ژنومی مورد نظر توسط سیستم کریسپر تیپ II و اعمال اثر نوکلئاز Cas9، وجود یک موتیف سه نوکلئوتیدی NGG (بنام PAM site) در پایین دست و مجاور توالی هدف (توالی 20 نوکلئوتیدی) و همچنین برقراری رابطه مکملی بین gRNA طراحی شده و توالی 20 نوکلئوتیدی هدف بر روی رشته مقابل ناحیه PAM site می باشد. پیامدهای برش دو رشته DNA ناشی از نوکلئاز عبارتند:

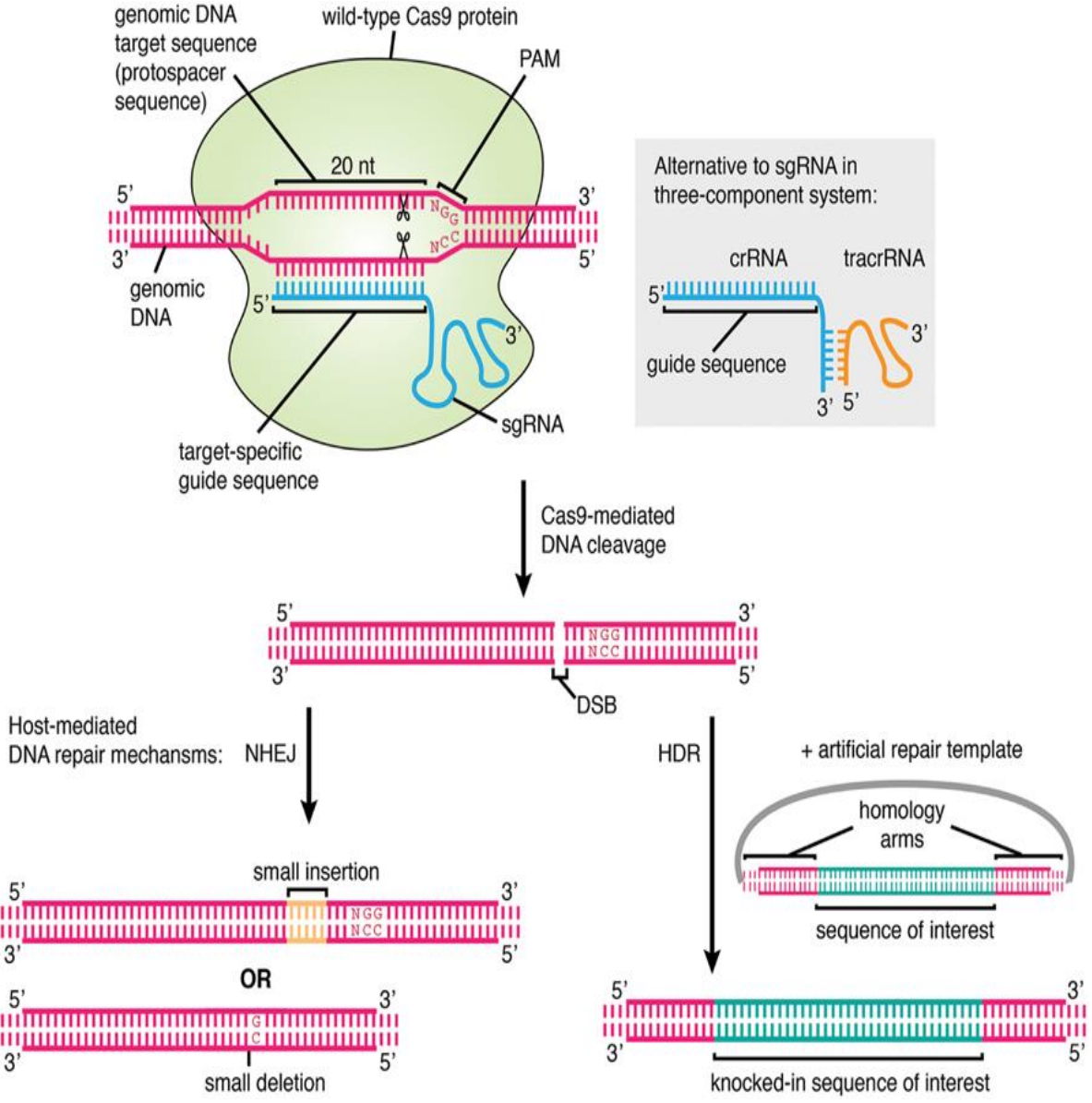
- 1) ایجاد Indel در منطقه شکست DNA و متعاقباً راه اندازی سیستم ترمیمی سلول NHEJ، ایجاد موتاسیون های nonsense و یا frameshift و در نتیجه تخریب و از دست رفتن عملکرد ژن مورد هدف.
- 2) انتقال هم زمان سیستم کریسپر همراه با donor DNA، منجر به الحاق توالی donor از طریق مکانیسم نوترکیبی همولوگ (HDR) در جایگاه برش و در نتیجه اصلاح ژن معیوب و یا الحاق ترانسژن می گردد (تصویر).

سه نوع واریانت مختلف Cas9 عبارتند از :

- 1- Cas9 wild type : نوکلئاز تیپ وحشی حاوی دو دمین کاتالیتیک HNH و RuvC
- 2- Cas9 nickase : وجود موتاسیون غیرفعال کننده در یکی از دمین های RuvC (D10A) و یا HNH (H840A)
- 3- dCas9 : هر دو دمین این تیپ Cas9 از طریق موتاسیون غیرفعال شده اند و فاقد فعالیت کاتالیتیک هستند. این نوع Cas9 میتواند با فیوز شدن به سایر دمین های افکتور، برای اهداف مختلف طراحی گردد.

کاربردهای استفاده از انواع مختلف سیستم های مبتنی بر کریسپر :

- 1- مهندسی ژنوم به منظور تولید حیوانات ترانسژنیک و مدل جهت مطالعات بیولوژیک
- 2- فعالسازی و مهار بیان ژنهای هدف در سلول جهت مطالعات بیان ژن
- 3- اصلاح ژن های مسبب بیماری (ژن درمانی)
- 4- شناسایی تارگت های دارویی جدید
- 5- استفاده در مطالعات طراحی دارو



مکانیسم ویرایش ژنوم با استفاده از تکنولوژی CRISPR/Cas9

گردآوری مطالب :

لیلا نوروزی- دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین