

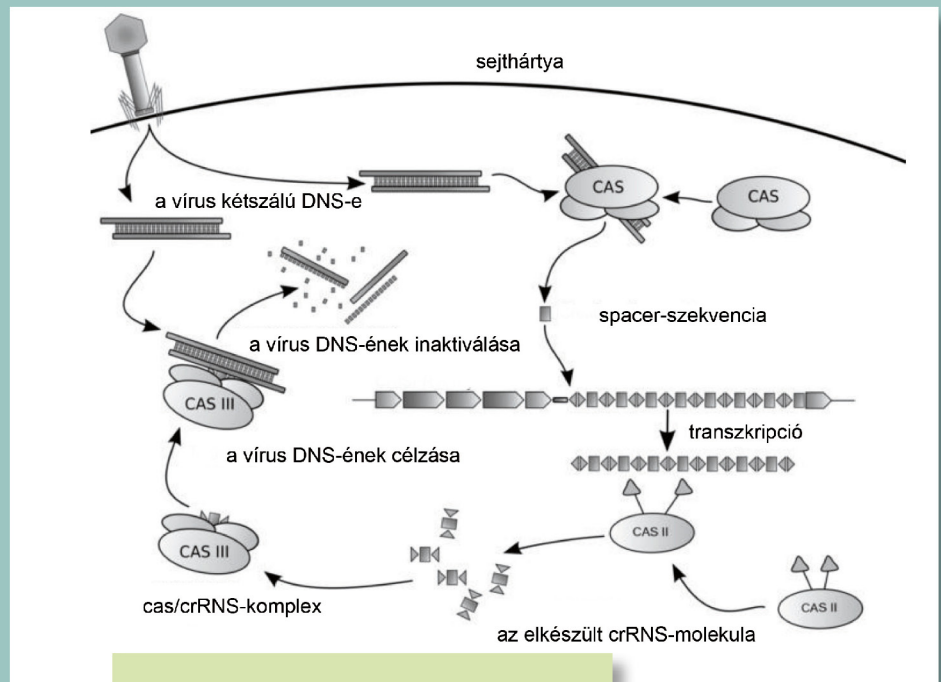
# A BAKTÉRIUMOK IMMUNRENDSZERE

**A baktériumok az élővilág talán legváltozatosabb csoportját képezik, a környezethez való alkalmazkodásuk olyan nagyfokú, hogy számos extrém életteret meghódítottak. Feltételezhető, hogy az alkalmazkodóképességük mellett egy aktív védekezőrendszer is szerepet játszott ebben. A magasabb rendű organizmusokhoz hasonlóan a baktériumokban is – eubaktériumokban és ősbaktériumokban egyaránt – megtalálható egy védekező mechanizmus, amely leginkább a genetikai paraziták ellen nyújt védelmet.**

**A** genomban található rövid, palindrom, ismétlődő szekvenciákból (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) és cas- (CRISPR associated) fehérjékből felépülő rendszer a baktérium adaptív immunrendszerének tekinthető. Az adaptív immunitás fő jellemzője a memória, amely képessé teszi az adott élőlényt egy újbóli fertőzés esetén gyorsabb és sokkal specifikusabb válasz kialakítására.

Az utóbbi években a CRISPR/cas-rendszer kutatása egyre inkább előtérbe került, ugyanis a mechanizmus pontos feltárásával lehetővé vált annak biológiai alkalmazása. A folyamat során a baktériumba bejutott bakteriofágból vagy idegen extrakromoszómális elemből származó DNS beépül a baktérium genomjába, tehát a baktérium az őt megtámadó vírusról egy lenyomatot készít az erre alkalmas genomrégiójában. Az ebből átíródó rendszer lehetővé teszi, hogy a baktérium már immunis legyen a következő azonos vírusfertőzésre, azaz célzottan tudjon védekezni, a beépített szekvenciát felhasználva.

A bakteriális adaptív immunrendszer alapját a genomban található CRISPR DNS-elemek jelentik, lefordítva: csoportos, szabályosan megszakított rövid pa-

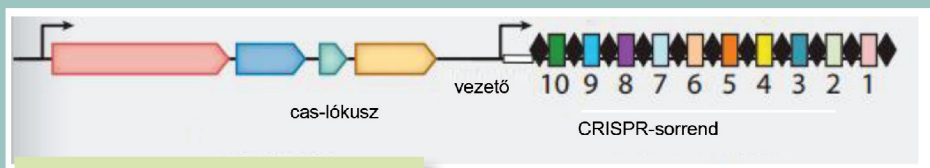


*A bakteriális adaptív immunrendszerben az exogén DNS a bakteriális genomba beinszertálva, mintaként szolgál a későbbi specifikus DNS-hasítás, és ezáltal a kórokozó (vírus, plazmid) megsemmisítéséhez*

lindrom ismétlések. Ezek 20–50 bázispárnyi ismétlődő szekvenciákat és közéjük beépülő spacer szekvenciákat tartalmaznak. A cas-fehérjék génei ugyancsak a baktérium genomjában kódolódnak, köztük vannak a DNS felismerésért, kötésért és hasításért felelős (nukleáz) enzimek. A cas-gének és a repetitív szekvenciák között a szabályozásért felelős leader szekvenciák találhatóak.

A CRISPR/cas-rendszernek három funkcionális típusa van, melyek közül gyakorlati alkalmazásra a II-es típust használják fel. Ennek fő jellemzője, hogy csak eubaktériumokban található meg, és a CRISPR-szekvenciáról keletkezett RNS-en kívül még transzaktívációs RNS is szükséges a folyamat lezajlásához. A folyamat három nagyobb szakaszra bontható: adaptáció, a crRNA bioszintézise és az idegen DNS hasítása.

Az adaptáció során a baktérium a kromoszómájában található CRISPR repetitív régiójába



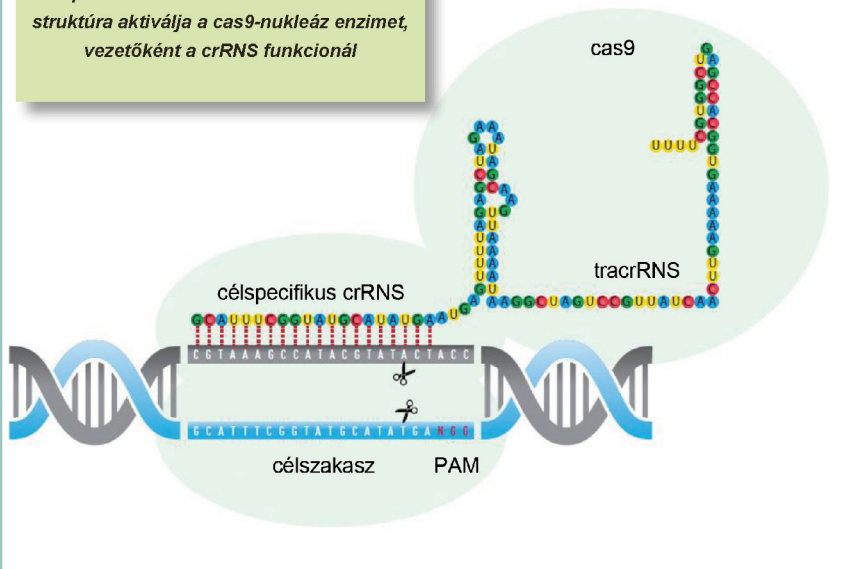
**CRISPR/cas-rendszer elhelyezkedése a genomban**

a fágból származó, úgynevezett protospacer DNS-szekvenciákat épít be. A protospacerek változatosságok lehetnek, de a szekvencia kiválasztása a protospacer melletti felismerőszekvenciák (PAM: protospacer adjacent motif) azonosítása alapján történik, a genomba beépülés pedig orientált. A CRISPR-be beépült idegen DNS-szakaszok mostantól annak részét képezik, így ezek tanulmányozásával vissza lehet tekinteni az adott baktérium „előtörténetébe”. A transzkripció során erről crRNS-molekula képződik, ami a transzaktiváló RNS-sel (tracrRNS) összekapcsolódva irányítja a cas9-nukleáz a hasítás helyéhez. A felismerés a crRNS-szekvencia alapján specifikusan történik. A cas9-nukleáz és a crRNS/tracrRNS hibrid komplexe végzi a protospacer szekvenciában a blunt végű törés kialakítását.

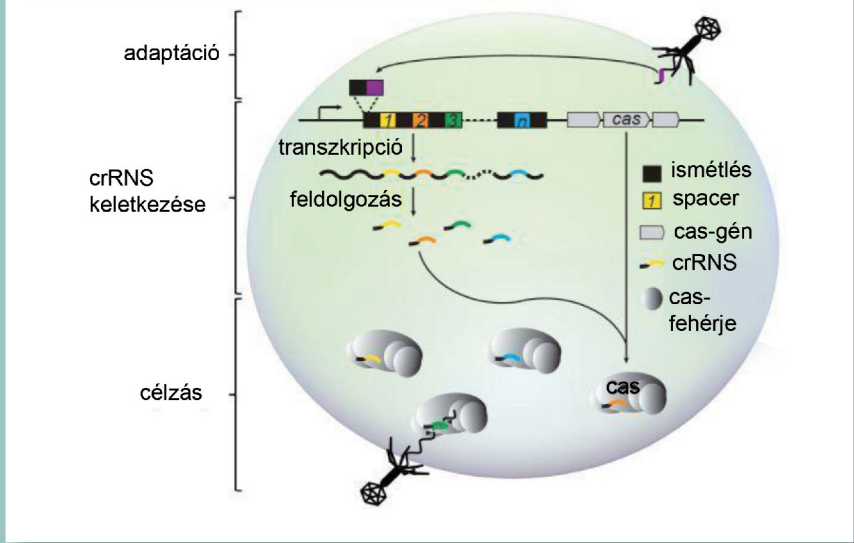
A kétszálú RNS irányított cas-nukleáz használatával a DNS-

ben célzott duplaszálú töréseket idézhetünk elő, amelyek javítása mutagenézis vagy génszerkesztés eszköze lehet. Az eddig alkalmazott eljárásokkal ellentétben ez egy sokkal specifikusabb és irányíthatóbb rendszer,

**A duplaszálú crRNS: tracrRNS hibrid RNS-struktúra aktiválja a cas9-nukleáz enzimet, vezetőként a crRNS funkcionál**



**A CRISPR/cas-rendszer működése**



zött, így ezzel elkerülhető a nem kívánt célpontok hasítása. A rendszer működtetéséhez szükséges három összetevő szekvenciája – processzált crRNS, tracrRNS és cas9 – akár egyetlen vektoron is bejuttatható a célsejtbe. Így a génszerkesztés és genetikai analízis egyszerűbben megvalósítható baktériumokban, illetve eukarióta sejtekben egyaránt.

KORSÓS MARIETTA MARGARÉTA

**A szerkesztő kiegészítése**  
Jennifer Doudna és kollégái felfedezésének jelentősége a modern biotechnológia eszköztárában csak a polimeráz láncreakcióéhoz (PCR) hasonlítható. A CRISPR/cas-eljárás a helyspecifikus DNS-módosítás és a molekuláris klónozás eddig megvalósíthatatlan feladatait oldja meg – Falus András.