

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ АНТИ-CRISPR БЕЛКА, ИНГИБИТОРА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА CAS12A

С.А. Тимощук, А.М. Шамухан, А.О. Амиргазин, А.М. Шайзадинова, С.О. Кириллов, А.М. Тургимбаева, С.К. Абельденов

Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, 000010, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

e-mail: abeldenov@biocenter.kz

В ответ на эволюционное давление со стороны вирусов, бактерии развили различные стратегии защиты, включая системы CRISPR-Cas. Внедрение генетического материала вируса в клетку хозяина активирует систему CRISPR-Cas, которая распознает и расщепляет чужеродную ДНК, что предотвращает размножение вируса и развитие инфекции. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) - это система иммунитета бактерий и архей, которая обеспечивает защиту от вирусов и других мобильных генетических элементов. Эта система состоит из коротких повторяющихся последовательностей ДНК (повторы), разделенных участками, называемыми спейсерами. CRISPR-ассоциированные белки, такие как Cas9 и Cas12a, разрезают ДНК в целевых участках, что делает их мощными инструментами для геномного редактирования.

Однако в постоянной «борьбе за выживание» бактериофаги эволюционно развили собственные механизмы защиты от систем CRISPR-Cas. Одним из таких механизмов являются белковые ингибиторы, известные как анти-CRISPR. Анти-CRISPR - это семейство белков, которые могут ингибировать или блокировать актив-

ность CRISPR-Cas систем. Эти белки были обнаружены в бактериальных плазидах и фагах и играют ключевую роль в регуляции активности системы CRISPR. Анти-CRISPR белки могут быть использованы для временного выключения или контроля активности CRISPR-Cas системы в различных биологических исследованиях или приложениях, таких как генная терапия и биотехнология.

С помощью средств биоинформатического анализа, над данными полногеномного секвенирования, был проведен широкий поиск потенциальных анти-CRISPR белков в геномных последовательностях изолятов *Moraxella* spp. В результате был обнаружен ген анти-CRISPR белка AcrVA2. Ген был успешно амплифицирован и клонирован в экспрессирующий вектор. После оптимизации экспрессии, последующая очистка двухэтапной хроматографией позволила получить белок высокой степени чистоты. Биохимические эксперименты подтвердили, что AcrVA2 обладает способностью ингибировать активность фермента Cas12a. Результаты открывают перспективы для дальнейших исследований и разработки новых методов регуляции активности системы CRISPR-Cas12a.