

## Narzędzia CRISPR do badania rozwoju zarodkowego danio pręgowanego

Modele zwierzęce są niezbędne w badaniach biomedycznych. Danio pręgowany (*Danio rerio*) jest szeroko stosowanym modelem badawczym, ponieważ ryby te mają wiele zalet, w tym zewnętrzne zapłodnienie, szybki rozwój zarodkowy i przejrzystość organizmu. Ponadto, badania genetyczne u ryb mogą dostarczyć informacji na temat fizjologii człowieka. Większość ludzkich genów ma ortologi (geny tego samego ewolucyjnego pochodzenia) u danio pręgowanego, i odwrotnie. Pomimo kilkuset milionów lat oddzielnej ewolucji funkcje wielu genów są nadal podobne tak u ludzi, jak i u ryb, a utrata genu ma podobne konsekwencje dla rozwoju organizmu. Możliwość przeniesienia istotnych pytań naukowych związanych z rozwojem lub zdrowiem ludzi na model rybi wydaje się bardzo pożądana dla naukowców.

W ciągu ostatnich 20 lat stało się jasne, że bakterie mają nie tylko ogólną odporność na ich patogeny i są zabezpieczone przed inwazją obcego materiału genetycznego, ale także posiadają formę odporności adaptacyjnej. Odporność adaptacyjna opiera się na zbudowaniu własnej "czarnej listy" niepożądanego materiału genetycznego. Ze względu na sposób, w jaki zorganizowana jest czarna lista, jest ona prezentowana jako CRISPR – biblioteka (zgrupowanie) regularnie rozproszonych krótkich powtórzeń palindromowych (*ang.* clustered regularly interspaced short palindromic repeats). Ponadto, bakterie wytwarzają również białka (Cas9, kompleksy Csm lub inne), które degradują obcy materiał genetyczny najeźdźcy na podstawie informacji z własnej czarnej listy.

Badania nad białkami bakteryjnymi, które pobierają czarną listę zleceń do niszczenia materiału genetycznego (DNA) najeźdźców, doprowadziły do rewolucji w inżynierii genomowej, ponieważ łatwo jest podmienić taką czarną listę, aby kierować maszyną niszczącą dowolny kwas nukleinowy. Narzędzia CRISPR-Cas9 działają dobrze, jeśli ich celem jest DNA jako nośnik informacji dziedzicznej. W przypadku matrycowego RNA (mRNA), nośnika instrukcji do wytwarzania białek, technologia ta nie jest tak zaawansowana. Niemniej jednak, nasi koledzy, dr Gintautas Tamulaitis i prof. Virginijus Siksnys, wnieśli kluczowy wkład w rozwój badań nad niszczeniem RNA przy użyciu kompleksu typu IIIA CRISPR.

Niedawno przeprowadziliśmy wstępne eksperymenty u ryby, aby przetestować narzędzia w zarodkach danio pręgowanego. Uzyskaliśmy zachęcające wyniki w nieco sztucznych warunkach mających na celu uproszczenie pilotażowych testów. Teraz chcemy wypróbować "prawdziwe" przypadki i poradzić sobie z niektórymi wadami naszego wdrażania pionierskiej metody. Ponadto, chcemy sprawdzić czy można rozszerzyć naszą metodę i użyć jej w badaniach pilotażowych do degradacji wytypowanych mRNA. Ma to na celu uzyskanie nowego spojrzenia na wczesny rozwój zarodkowy danio pręgowanego.