



scientifica

presenta le LEZIONI DI SCIENZA
gli eventi di approfondimento sulle materie scientifiche

 **MONDADORI**
EDUCATION



CRISPR, un'invenzione da Nobel

Anna Meldolesi

Emmanuelle Charpentier

Francia
Microbiologa
Max Planck Institute
for Infectious Biology di Berlino

Jennifer Doudna

USA
Biochimica
Innovative Genomics Institute di Berkeley



Il lavoro del Nobel per la chimica 2020

A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity

Martin Jinek,^{1,2*} Krzysztof Chylinski,^{3,4*} Ines Fonfara,⁴ Michael Hauer,^{2†}
Jennifer A. Doudna,^{1,2,5,6‡} Emmanuelle Charpentier^{4‡}

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) systems provide bacteria and archaea with adaptive immunity against viruses and plasmids by using CRISPR RNAs (crRNAs) to guide the silencing of invading nucleic acids. We show here that in a subset of these systems, the mature crRNA that is base-paired to trans-activating crRNA (tracrRNA) forms a two-RNA structure that directs the CRISPR-associated protein Cas9 to introduce double-stranded (ds) breaks in target DNA. At sites complementary to the crRNA-guide sequence, the Cas9 HNH nuclease domain cleaves the complementary strand, whereas the Cas9 RuvC-like domain cleaves the noncomplementary strand. The dual-tracrRNA:crRNA, when engineered as a single RNA chimera, also directs sequence-specific Cas9 dsDNA cleavage. Our study reveals a family of endonucleases that use dual-RNAs for site-specific DNA cleavage and highlights the potential to exploit the system for RNA-programmable genome editing.

D&C (Science, 2012)

Doudna e Charpentier «Il nostro studio evidenzia la possibilità di sfruttare il sistema per editare il genoma in modo RNA-programmabile».

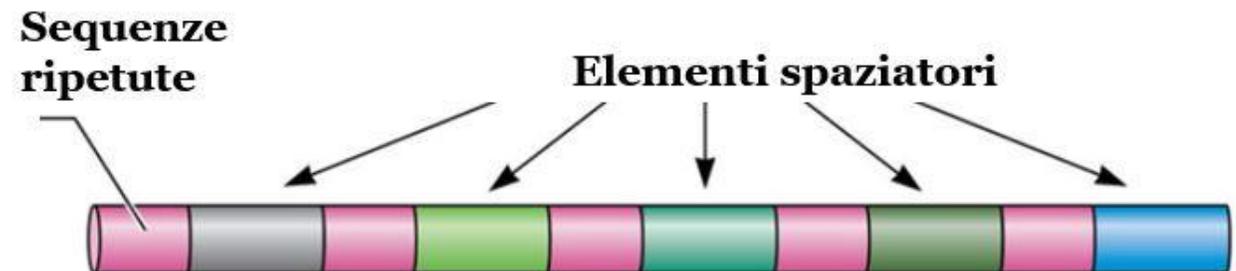
W&C (Nature 1953)

«Non è sfuggito alla nostra attenzione che l'appaiamento specifico delle basi che abbiamo postulato suggerisce immediatamente un possibile meccanismo di copiatura del materiale genetico».

L'acronimo

Si riferisce al sistema naturale microbico a cui è ispirata la tecnica inventata da D&C.

Vuol dire: brevi sequenze palindrome raggruppate e regolarmente interspaziate.



L'enzima Cas9

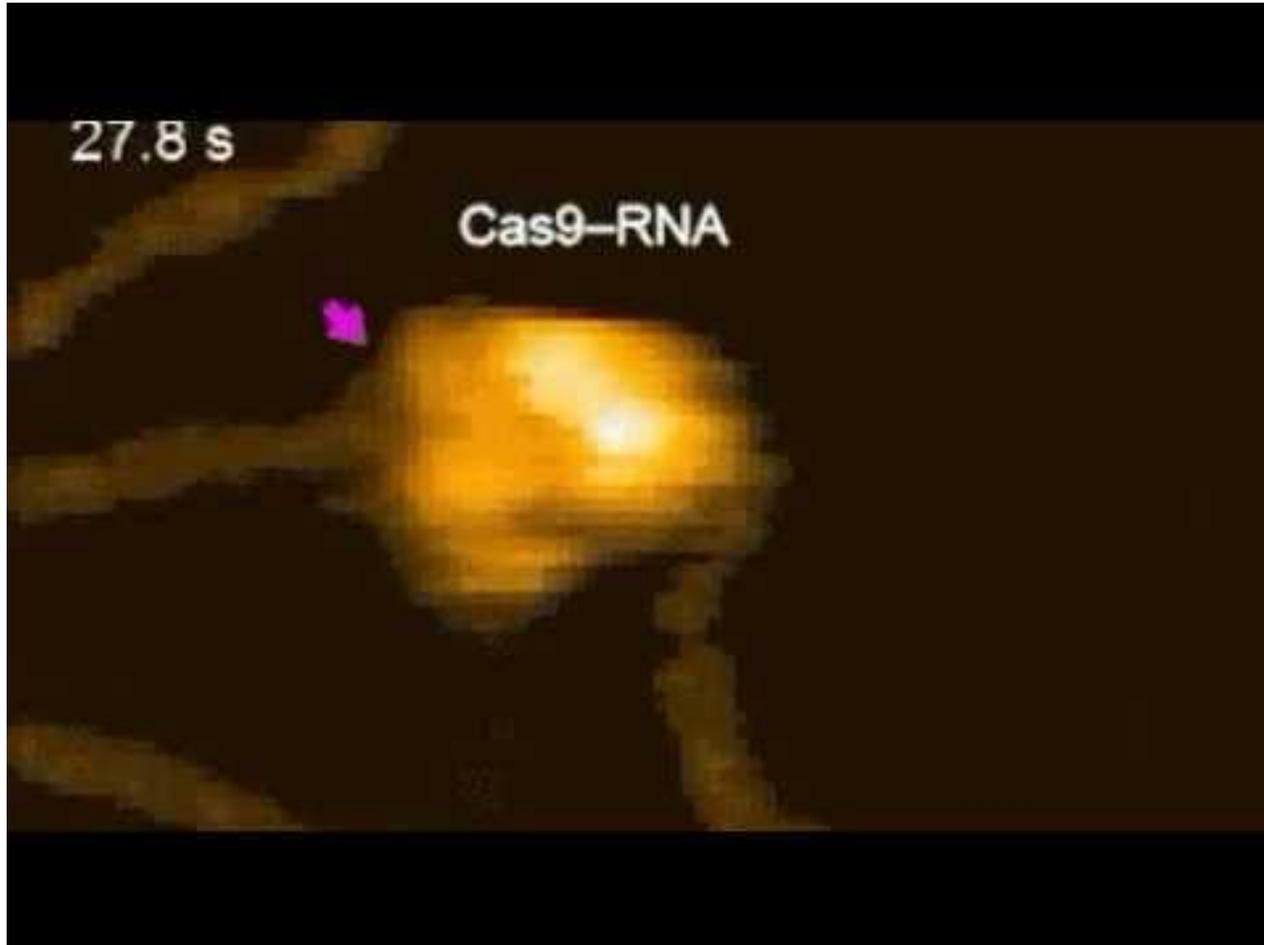


Cas = CRISPR associated.

Cas9 è una nucleasi programmabile: taglia il DNA seguendo le istruzioni di una molecola guida di RNA.

Esistono altri enzimi della famiglia Cas usati per altri scopi, per es. tagliare l'RNA.

Cas9 in real time



Shibata M. et al., 2017,
Nature Communications.

Microscopia a forza atomica.

Freccia rosa: il dominio enzimatico
si attiva.

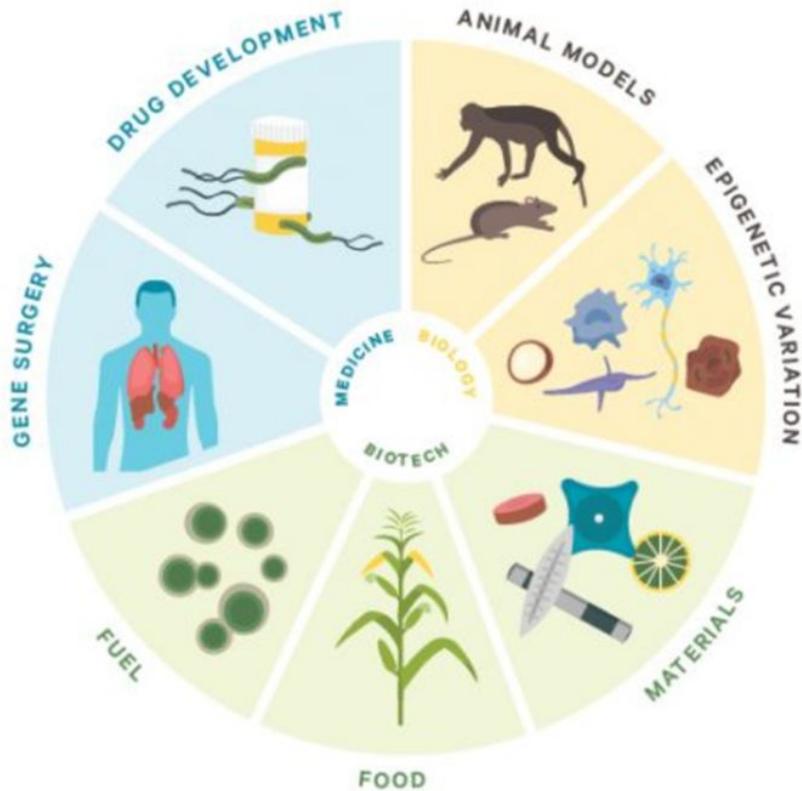
Come funziona CRISPR?



<https://www.youtube.com/watch?v=2pp17E4E-O8>

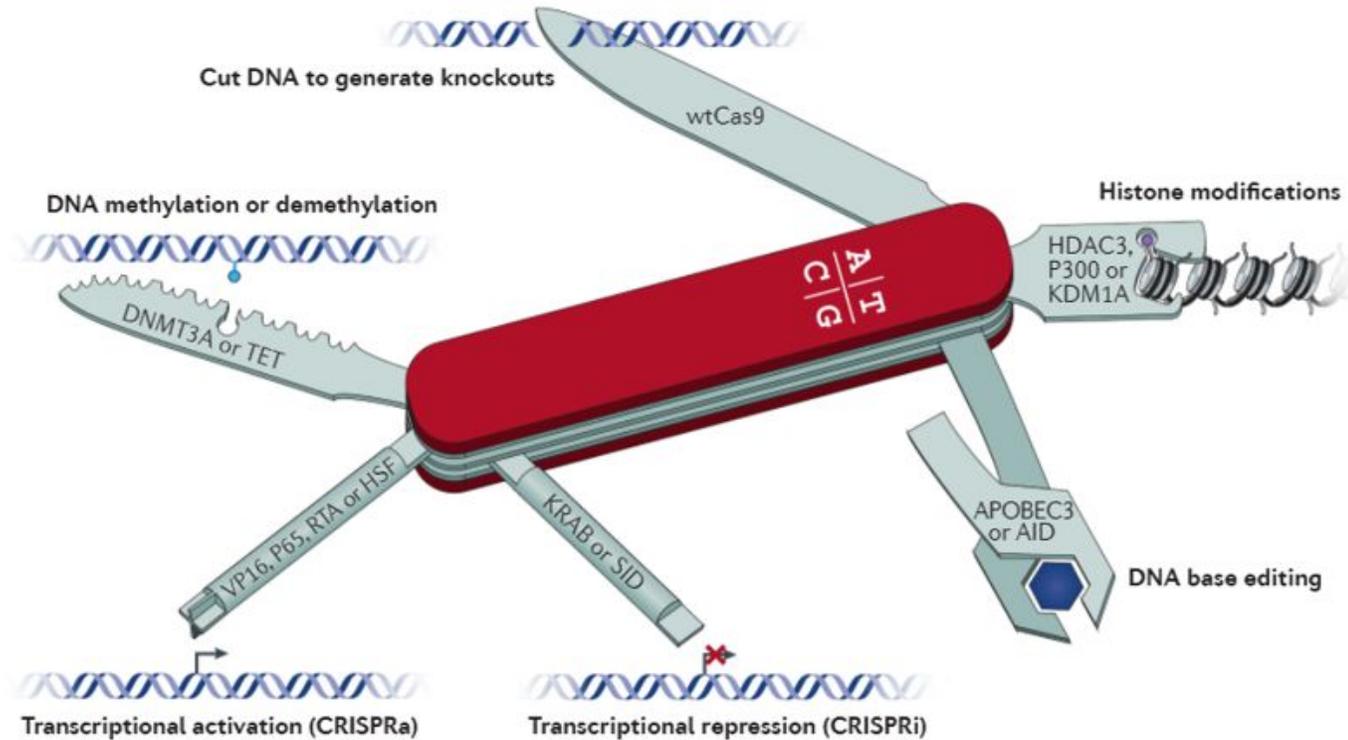
A cosa serve CRISPR?

APPLICATION OF GENOME EDITING
(Modified from Hsu et al. 2014)



Ma anche test diagnostici, ricerca per xenotrapianti, immagazzinamento dati su supporti biologici, gene drive, e tanta ricerca di base.

Il coltellino svizzero



CRISPR continua a evolvere come tecnica, con il contributo di tant* scienziat*.

Ne esistono modelli pluriaccessoriati, per accendere e spegnere i geni, illuminarli, modificare i marcatori epigenetici...

Editing = revisione editoriale



.....

Questa variante di CRISPR assomiglia alla funzione trova-e-sostituisci di Word.

Invece di tagliare il DNA, ne modifica chimicamente le singole lettere. Si chiama correttore di basi e la sua attività è il “base editing”.

.....

La prima paziente: Victoria Gray



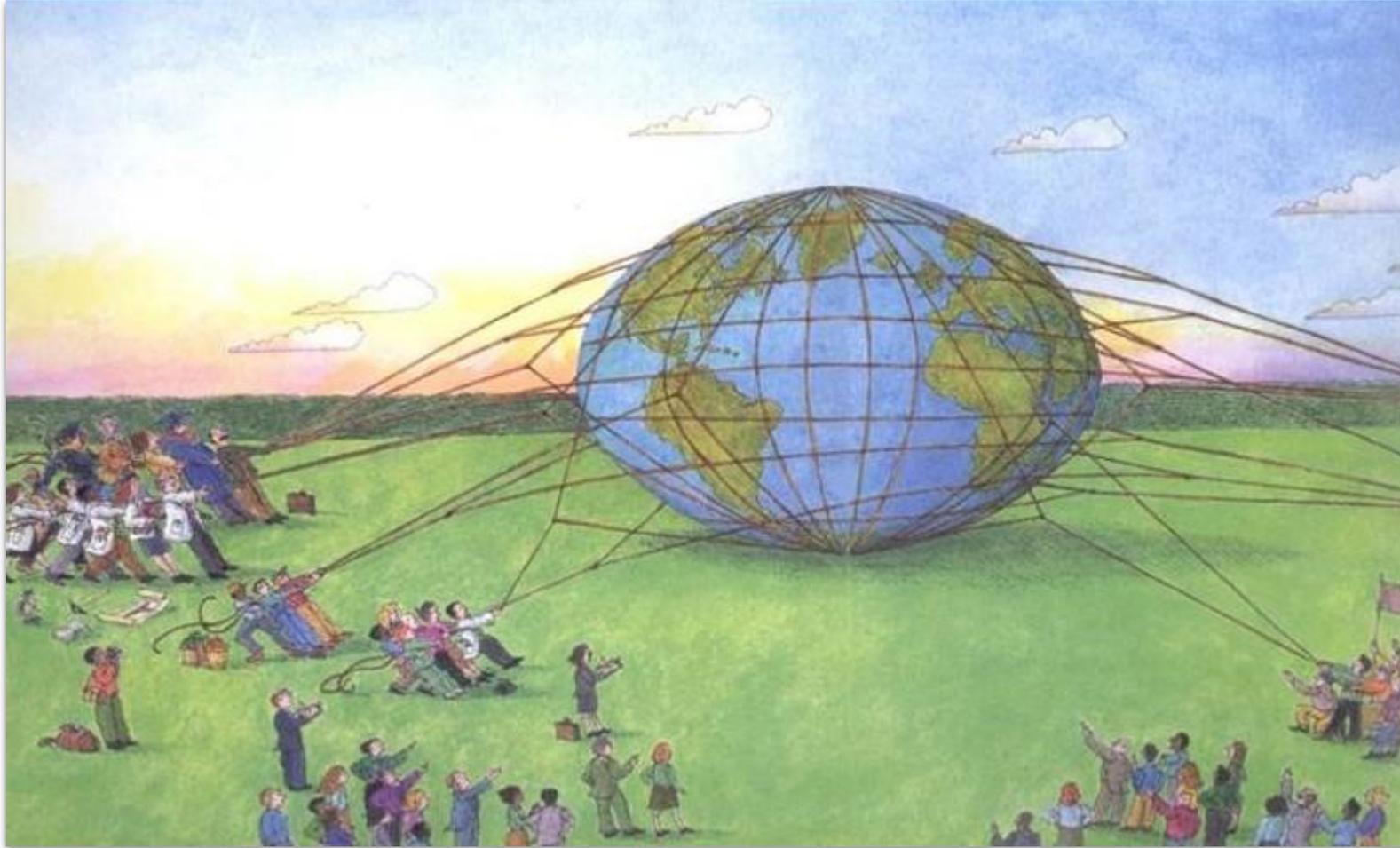
Sperimentazione internazionale per anemia falciforme e beta-talassemia: si effettua l'editing "ex vivo" delle cellule del midollo per riattivare l'emoglobina fetale. Risultati su *Frangoul et al., NEJM 2020*.

Editing somatico \neq editing ereditabile



25 Nov. 2018: He Jiankui (SUSTech di Shenzhen) annuncia la nascita di Lulu e Nana. Le gemelle sono state editate allo stadio embrionale, modificando il gene CCR5.

Tre controversie per il futuro



Domanda n1: l'editing ereditabile è sempre sbagliato?



Domanda n.2: le piante editate sono OGM?

prima i geni

LIBERIAMO IL FUTURO DELL'AGRICOLTURA

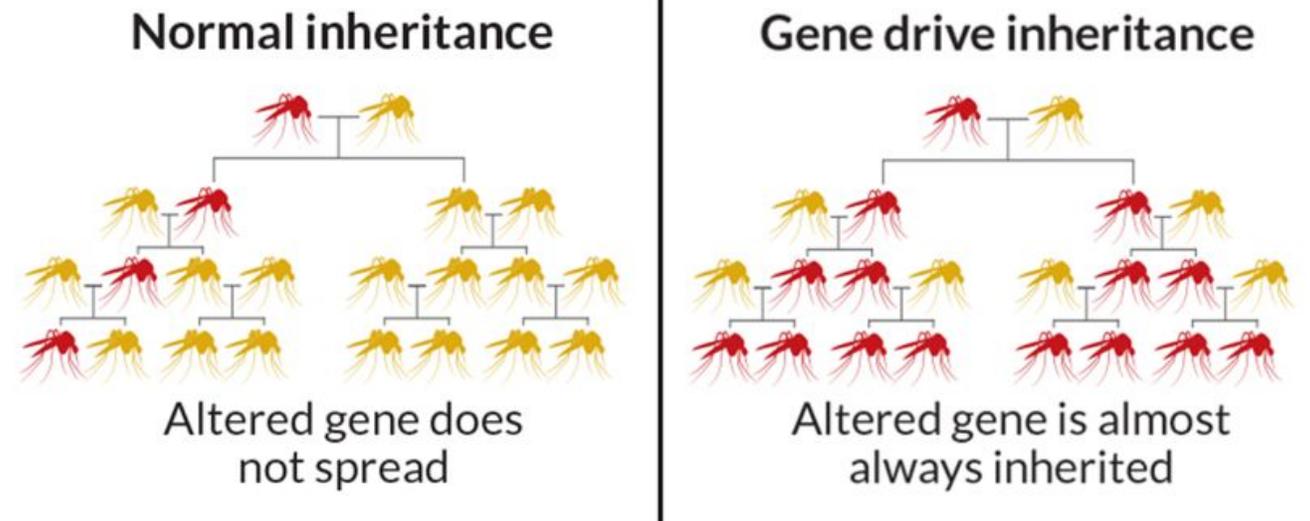
**Il *genome editing* è per tutti.
E la sua regolamentazione deve mantenerlo tale.**

- 1** La Storia è cominciata con il miglioramento genetico delle piante. Non solo la storia dell'agricoltura.
- 2** Con l'aiuto della scienza siamo solo diventati più bravi a fare quello che abbiamo sempre fatto. Ma è cambiato il mondo.
- 3** L'agricoltura italiana è nata da tante innovazioni genetiche. Che col tempo sono diventate tradizioni.
- 4** Il miglioramento genetico non si può fermare perché la natura non si ferma mai. E neppure la Storia.
- 5** Il miglioramento genetico è l'unica tecnologia agricola che adatta la pianta all'ambiente, anziché l'ambiente alla pianta. E dovrebbe quindi essere sempre la tecnologia di prima scelta.
- 6** Il miglioramento genetico è sempre stato sicuro. Qualunque metodo sia stato utilizzato.
- 7** Una regolazione sbagliata può soffocare l'innovazione. Ma favorire le aziende sementiere più grandi.
- 8** L'Italia ha perso la sua scommessa contro l'innovazione. Aggravando i problemi della sua agricoltura.
- 9** Il *genome editing* è un passo avanti decisivo. Ma solo perché rende molto più facile quello che abbiamo sempre fatto.
- 10** Con il *genome editing* si possono ottenere varietà come quelle che potrebbe produrre la natura. E che non sono OGM.
- 11** A controllare le nuove tecnologie sarà chi conosce meglio la biologia delle piante. Più che chi controlla il metodo.
- 12** Il *genome editing* ci permette di scegliere una "via italiana" al nuovo miglioramento genetico.



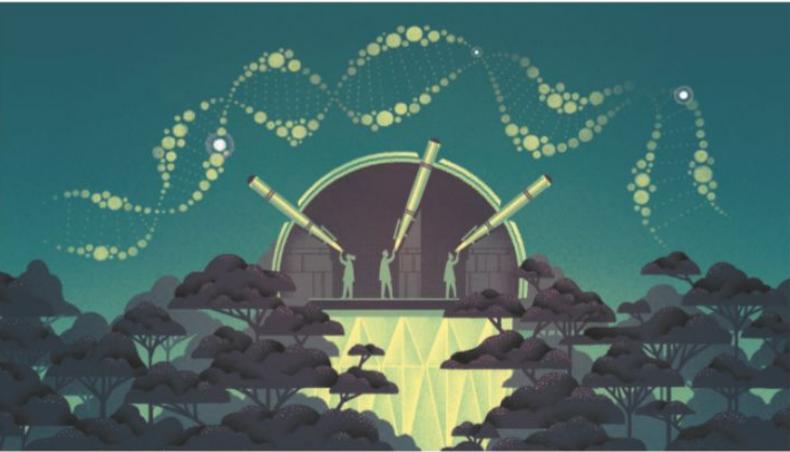
Domanda n.3: cancellare una specie per battere una malattia?

I GENE DRIVE sono una strategia genetica per fermare la trasmissione della malaria modificando gli insetti vettori. La malaria colpisce 200 milioni di persone all'anno, uccidendone 400.000.



Chi deve decidere?

ILLUSTRATION BY MARINA MALIN



**A global observatory
for gene editing**

Sheila Jasanoff and J. Benjamin Hurlbut call for an international network of scholars and organizations to support a new kind of conversation.



Genome editing

Human Genome Editing in the EU

Statement from the Danish Council on Ethics on genetic modification of future humans

The use of gene editing in healthcare

A path through the thicket

Human Genome Editing: SCIENCE, ETHICS, AND GOVERNANCE

THE FUTURE OF PRECISION MEDICINE IN AUSTRALIA



MONDADORI

EDUCATION