

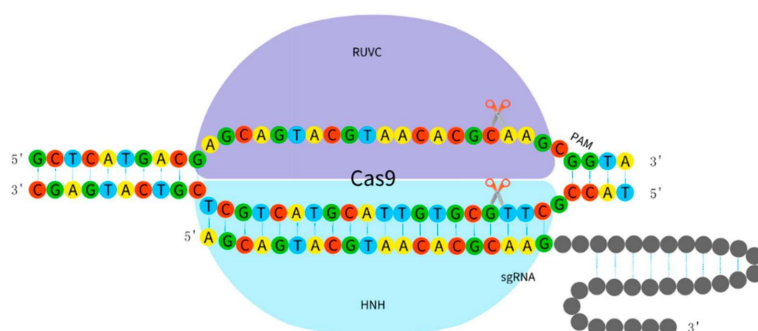


BLOOMING
Inclusion and Diversity in STEAM

CRISPR - Cas9

Rescrierea codului vieții.

Cum revoluționează foarfecele genetic ingineria genetică



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The_schematic_diagram_of_CRISPR-Cas9.webp

Rezumat

CRISPR-Cas9, un instrument revoluționar de editare genetică descoperit împreună de Dr. Jennifer Doudna și Dr. Emmanuelle Charpentier, a transformat biologia moleculară. Această tehnologie permite oamenilor de știință să efectueze modificări precise ale ADN-ului organismelor vii, permițând progrese în cercetarea, medicina și agricultura. Mecanismul implică o structură cu două ARN-uri care ghidează proteina Cas9 pentru a introduce rupturi dublu-catenare în ADN-ul țintă. Acest articol simplificat prezintă cercetările lor, explică sistemul CRISPR-Cas9, și discută implicațiile sale profunde.

TERMENI CHEIE

CRISPR-Cas9: O tehnologie care permite editarea precisă a ADN-ului.

Editarea genomului: Procesul de modificare a materialului genetic al unui organism.

ARN: Acid ribonucleic, o moleculă care joacă un rol crucial în codificarea, decodificarea, reglarea și expresia genelor.

ADN: Acid dezoxiribonucleic, molecula care transportă informația genetică în organisme vii.

Introducere

Cercetările Dr. Jennifer Doudna și Dr. Emmanuelle Charpentier se concentrează pe CRISPR-Cas9, un instrument inovator pentru editarea genomului. CRISPR-Cas9 permite oamenilor de știință să facă tăieturi precise în ADN, permițându-le să adauge, să elimine sau să modifice materialul genetic în locuri specifice din genom. Acest instrument este adesea denumit „foarfecă genetică” datorită capacității sale de a tăia firele de ADN.

Descoperirea CRISPR-Cas9 a început cu studiul sistemelor imunitare bacteriene. Bacteriile utilizează secvențele CRISPR pentru a-și aminti virușii care le-au atacat anterior. Atunci când virusul le atacă din nou, bacteriile produc segmente de ADN din secvențele CRISPR pentru a ghida proteina Cas9 către ADN-ul virusului, unde face o tăietură, dezactivând virusul. Exploatarea acestui sistem natural, oameni de știință precum Dr. Doudna și Dr. Charpentier au dezvoltat un instrument puternic pentru ingineria genetică.

Metode

Dr. Doudna și Dr. Charpentier, împreună cu colegii lor, au conceput un sistem care ar putea exploata răspunsul imun bacterian pentru editarea ADN-ului țintit în alte organisme. Abordarea lor a implicat sintetizarea unor molecule de ARN care ar putea ghida proteina Cas9 către secvențe ADN specifice din cadrul unui genom. Iată o defalcare detaliată a metodei lor:

1. Proiectarea ARN ghid (ARNg):

- Ei au proiectat molecule sintetice de ARN cunoscute sub numele de ARN-ghid (gRNA), care constau din două părți: o secvență complementară ADN-ului țintă (partea „ghid”) și o secvență de schelet care se leagă de proteina Cas9.
- Această structură dublă de ARN asigură că Cas9 este direcționat cu precizie către locația dorită din ADN.

2. Proteina Cas9:

- Proteina Cas9 este o enzimă care poate tăia ADN-ul în locuri specifice. Aceasta acționează ca o foarfecă moleculară, făcând o ruptură dublu-catenară în ADN în locul în care este direcționată de gRNA.
- Cercetătorii au purificat proteina Cas9 din bacterii, făcând-o disponibilă pentru utilizarea în experimentele lor.

3. In Vitro Experiments:

- Echipa a condus experimente în eprubete pentru a valida faptul că gRNA poate ghida în mod eficient Cas9 către secvența ADN țintă și poate crea o tăiere precisă.
- Aceștia au utilizat diferite secvențe de ADN ca ținte și au observat eficiența tăierii proteinei Cas9 atunci când este dirijată de gRNA.

4. Testarea in vivo:

- ○ După validarea in vitro cu succes, au testat sistemul CRISPR-Cas9 în celule vii, inclusiv celule bacteriene, vegetale și animale.
- ○ Ei au introdus gRNA și proteina Cas9 în aceste celule și au monitorizat editările ADN rezultate.

5. Verificarea:

- ○ Cercetătorii au utilizat tehnici precum secvențierea ADN, reacția în lanț a polimerazei (PCR) și electroforeza pe gel pentru a confirma că secvențele ADN vizate au fost tăiate și editate cu precizie.
- ○ Aceste metode le-au permis să vizualizeze și să verifice modificările precise aduse ADN-ului.

Femei în STEM - Fapte despre autori.



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Emmanuelle_Charpentier_and_Jennifer_Doudna.jpg

Dr. Jennifer Doudna este un biochimist de renume care a co-dezvăluit tehnologia de editare a genelor CRISPR-Cas9. Ea și-a finalizat doctoratul la Harvard Medical School și este în prezent profesor la Universitatea din California, Berkeley. Lucrările Dr. Doudna i-au adus numeroase premii, inclusiv Premiul Nobel pentru Chimie în 2020. Cercetările sale au avansat semnificativ înțelegerea ingineriei genetice și a aplicațiilor sale potențiale.

Dr. Emmanuelle Charpentier este un microbiolog de top care a descoperit tehnologia CRISPR-Cas9. Și-a obținut doctoratul la Institutul Pasteur și a lucrat în diverse instituții de cercetare din întreaga Europă. În prezent, este director al Unității Max Planck pentru Știința Patogenilor din Berlin. Lucrările Dr. Charpentier i-au adus, de asemenea, numeroase distincții, inclusiv Premiul Nobel pentru Chimie în 2020, împărțit cu Dr. Doudna.

Rezultate

Cercetările efectuate de Dr. Doudna, Dr. Charpentier și colegii lor au demonstrat mai multe rezultate-cheie:

Precizia sistemului CRISPR-Cas9:

Sistemul CRISPR-Cas9 poate efectua tăieturi precise, cu două catene, în ADN în locații specifice. ARN-ul ghid a direcționat cu precizie proteina Cas9 către secvența specifică de ADN, asigurând o specificitate ridicată și efecte minime în afara țintei.

Versatilitate în rândul organismelor:

Sistemul a fost eficient într-o varietate de organisme, inclusiv bacterii, plante, animale și celule umane. Acest lucru a demonstrat versatilitatea CRISPR-Cas9 ca instrument universal pentru editarea genomului.

Editare genetică reușită:

La bacterii, cercetătorii au reușit să dezactiveze genele țintă, ceea ce a confirmat funcționalitatea sistemului CRISPR-Cas9. În celulele vegetale și animale, ei au reușit să introducă mutații sau corecții specifice în ADN, demonstrând potențialul atât pentru cercetare, cât și pentru aplicații terapeutice.

Eficiența mecanismelor de reparare a ADN-ului:

Discuție

Cercetările Dr. Doudna și Dr. Charpentier au implicații profunde în diverse domenii:

1. Cercetare și terapie medicală: CRISPR-Cas9 permite dezvoltarea de terapii genice pentru tratarea tulburărilor genetice. Prin editarea precisă a genelor defecte, oamenii de știință pot vindeca boli care anterior erau considerate incurabile.

2. Progresele în agricultură: Tehnologia poate fi utilizată pentru a îmbunătăți reziliența și productivitatea culturilor, ceea ce este esențial pentru securitatea alimentară în contextul schimbărilor climatice și al creșterii populației globale.

3. Considerații etice: Deși CRISPR-Cas9 este foarte promițător, el ridică și probleme etice. Capacitatea de a edita embrioni umani, de exemplu, ar putea duce la consecințe nedorite și trebuie să fie reglementată cu atenție.

După ce ADN-ul este tăiat de Cas9, mecanismele naturale de reparare a ADN-ului din celulă preiau controlul. Acestea pot fi exploatate pentru a introduce modificări genetice precise. Cercetătorii au observat că celulele folosesc adesea mecanismele de reparare non-homologous end joining (NHEJ) sau homology-directed repair (HDR) pentru a repara rupturile, permițând fie întreruperea genelor, fie inserarea de material genetic nou.

Aplicații în medicină și agricultură:

Aplicațiile potențiale ale CRISPR-Cas9 erau vaste. În medicină, tehnologia s-a dovedit promițătoare pentru corectarea defectelor genetice din celulele umane, deschizând calea către potențiale terapii pentru tulburările genetice. În agricultură, a permis crearea de culturi cu caracteristici îmbunătățite, cum ar fi rezistența la boli și profiluri nutriționale îmbunătățite.

Concluzie

Munca de pionierat a Dr. Jennifer Doudna și a Dr. Emmanuelle Charpentier cu CRISPR-Cas9 a revoluționat ingineria genetică. Acest instrument puternic permite editarea precisă și eficientă a genomului, deschizând noi posibilități în medicină, agricultură și cercetare. Pe măsură ce oamenii de știință continuă să-și exploreze potențialul, CRISPR-Cas9 promite să ne transforme abordarea asupra tulburărilor genetice și să ne îmbunătățească capacitatea de a aborda provocările globale..

Resurse:

- Articolul original : Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816-821. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6286148/pdf/nihms-995853.pdf>
- Nobel Prize. (2020). *Jennifer A. Doudna - Biographical*. Retrieved from <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/doudna/biographical/>
- Ledford, H. (2015). CRISPR, the disruptor. *Nature*, 528, 469-470. <https://doi.org/10.1038/528469a>

Întrebări de reflecție:

1. Care este funcția principală a CRISPR-Cas9?

- a) Pentru a crea noi proteine.
- b) Pentru a tăia ADN-ul în anumite locații.
- c) Pentru a replica ADN-ul.
- d) Pentru a secvenționa ADN-ul.

Răspuns: b) Pentru a tăia ADN-ul în anumite locații.

2. Cum ajută ARN-urile ghid proteina Cas9?

- a) Replică ADN-ul.
- b) Se leagă de ADN pentru a preveni mutațiile.
- c) Ei direcționează proteina Cas9 către secvența ADN țintă.
- d) Ele dezactivează proteina Cas9.

Răspuns: c) Ei direcționează proteina Cas9 către secvența ADN țintă.

3. Care sunt unele aplicații potențiale ale CRISPR-Cas9 în medicină?

- a) Crearea de noi boli.
- b) Dezvoltarea de terapii genetice pentru tratarea tulburărilor genetice.
- c) Creșterea duratei de viață a celulelor.
- d) Îmbunătățirea abilităților fizice.

Răspuns: b) Dezvoltarea de terapii genetice pentru tratarea tulburărilor genetice.

4. De ce este important să reglementăm utilizarea tehnologiei CRISPR-Cas9?

- a) Pentru a se asigura că este utilizat numai în scopuri agricole.
- b) Pentru a preveni utilizarea necorespunzătoare și pentru a aborda preocupările etice.
- c) Să limiteze utilizarea sa la anumite regiuni geografice.
- d) Să-și crească costul.

Răspuns: b) Pentru a preveni utilizarea necorespunzătoare și pentru a aborda preocupările etice.

Plan de lecție:

Titlu:

Explorarea CRISPR-Cas9: Învățare practică despre editarea genelor

Obiectiv:

Pentru a ajuta elevii să înțeleagă elementele de bază ale tehnologiei CRISPR-Cas9, cum funcționează și aplicațiile sale prin activități interactive și captivante.

Materiale:

Șiruri colorate sau benzi de hârtie (pentru a reprezenta firele de ADN și ARN)
Markere (pentru a eticheta diferite regiuni ale catenelor)
Foarfece (pentru a tăia sforile sau benzile de hârtie)
Bandă sau lipici (pentru a uni firele între ele)
Coală mare de hârtie sau tablă albă pentru lucru în grup
Copii ale articolelor simplificate și studii de caz privind aplicațiile CRISPR-Cas9

Activități:

1. Introducere în CRISPR-Cas9 (15 minute)

Discuție: Începeți cu o scurtă trecere în revistă a tehnologiei CRISPR-Cas9.

Explicați cum funcționează și aplicațiile sale potențiale în medicină, agricultură și nu numai.

Video: Afișați un scurt videoclip care explică CRISPR-Cas9 pentru a oferi o imagine de ansamblu vizuală și captivantă.

2. Modelarea funcției CRISPR-Cas9 (30 minute)

Pregătiți catenele de ADN și ARN: utilizați șiruri colorate sau benzi de hârtie pentru a reprezenta catenele de ADN și ARN. Etichetați un capăt ca „secvență de ADN țintă” și altul ca „ARN ghid”.

Simulați tăierea ADN-ului: Demonstrați modul în care ARN-ul ghid direcționează proteina Cas9 către secvența ADN țintă, ceea ce duce la o tăiere precisă. Utilizați markere pentru a arăta unde sunt făcute tăieturile.

Activitate de grup: Împărțiți elevii în grupuri mici și furnizați-le materiale pentru a-și crea propriile modele ale procesului CRISPR-Cas9. Fiecare grup va crea o reprezentare vizuală a modului în care CRISPR-Cas9 reduce ADN-ul.

3. Analiza studiului de caz (25 minute)

Lucru în grup: Alocați fiecărui grup un studiu de caz diferit care implică CRISPR-Cas9, cum ar fi:
Utilizarea CRISPR pentru a vindeca boli genetice (de exemplu, anemia cu celule în secerată)

Dezvoltarea culturilor rezistente la dăunători

Utilizarea potențială a CRISPR pentru îmbunătățirea anumitor trăsături la animale

Cercetare și discuții: Fiecare grup va cerceta studiul de caz atribuit, concentrându-se pe aspectele științifice și pe aplicațiile din lumea reală. Oferiți resurse și articole pe care să le folosească.

Pregătirea prezentării: Grupurile vor pregăti o scurtă prezentare pentru a împărtăși concluziile lor cu clasa.

4. Prezentări de grup (20 de minute)

Prezentare: Fiecare grup își prezintă studiul de caz în fața clasei, explicând: Contextul și semnificația studiului de caz

Cum a fost utilizat CRISPR-Cas9 în studiul Rezultatele și aplicațiile potențiale

Discuție: După fiecare prezentare, acordați timp pentru întrebări și o scurtă discuție în clasă.

5. Experiment practic de extracție a ADN-ului (20 de minute)

Configurarea experimentului: furnizați materiale pentru un experiment simplu de extracție a ADN-ului din fructe (de exemplu, căpșuni sau banane). Acest lucru le va oferi studenților o experiență tangibilă de lucru cu ADN.

Materiale necesare: fructe proaspete, săpun de vase, sare, apă, alcool, pungi de plastic, filtre de cafea, pahare transparente sau eprubete și agitatoare din lemn.

Procedură:

Puneți fructele într-o pungă de plastic.

Adăugați un amestec de apă, săpun de vase și sare în pungă și amestecați bine. Se filtrează amestecul printr-un filtru de cafea într-o sticlă transparentă sau o eprubetă. Adăugați încet alcool rece pe marginea sticlei/eprubetă. Urmăriți cum ADN-ul precipită în stratul de alcool.

Folosiți un agitator de lemn pentru a strânge ADN-ul.

Observație și discuție: Discutați ceea ce elevii au observat în timpul experimentului și relaționați-l cu importanța ADN-ului în inginerie genetică.

6. Concluzie și reflecție (10 minute)

Rezumat: Rezumați punctele principale discutate în timpul lecției. Evidențiați importanța tehnologiei CRISPR-Cas9 și a aplicațiilor sale.

Reflecție: Cereți elevilor să reflecteze asupra a ceea ce au învățat despre CRISPR-Cas9 și impactul potențial al acestuia. Rugați-i să scrie un scurt paragraf despre gândurile lor despre utilizarea acestei tehnologii.