

Introduzione

La ricerca della Dott.ssa Jennifer Doudna e della Dott.ssa Emmanuelle Charpentier si concentra su CRISPR-Cas9, uno strumento innovativo per l'editing del genoma. CRISPR-Cas9 permette agli scienziati di effettuare tagli precisi nel DNA, consentendo di aggiungere, rimuovere o alterare materiale genetico in punti specifici del genoma. Questo strumento viene spesso definito "forbici genetiche" per la sua capacità di tagliare i filamenti di DNA.

La scoperta di CRISPR-Cas9 è iniziata con lo studio dei sistemi immunitari batterici. I batteri utilizzano le sequenze CRISPR per ricordare i virus che li hanno attaccati in precedenza. Quando il virus attacca di nuovo, i batteri producono segmenti di RNA dalle sequenze CRISPR per guidare la proteina Cas9 verso il DNA del virus, dove esegue un taglio, disabilitando il virus. Sfruttando questo sistema naturale, scienziati come la Dott.ssa Doudna e la Dott.ssa Charpentier hanno sviluppato un potente strumento di ingegneria genetica.

Metodi:

La Dott.ssa Doudna e la Dott.ssa Charpentier, insieme ai loro colleghi, hanno ideato un sistema che potrebbe sfruttare la risposta immunitaria batterica per l'editing mirato del DNA in altri organismi. Il loro approccio prevedeva la sintesi di molecole di RNA in grado di guidare la proteina Cas9 verso specifiche sequenze di DNA all'interno di un genoma. Ecco una descrizione dettagliata del loro metodo:

Progettazione dell'RNA guida (gRNA):

- Hanno progettato molecole di RNA sintetico note come RNA guida (gRNA), che consistono in due parti: una sequenza complementare al DNA bersaglio (la parte "guida") e una sequenza scaffold che si lega alla proteina Cas9.
- Questa struttura a doppio RNA garantisce che Cas9 venga indirizzato con precisione verso la posizione desiderata nel DNA.

Proteina Cas9:

- La proteina Cas9 è un enzima in grado di tagliare il DNA in siti specifici. Agisce come una forbice molecolare, creando una rottura a doppio filamento nel DNA dove il gRNA la indirizza.
- I ricercatori hanno purificato la proteina Cas9 dai batteri, rendendola disponibile per l'uso nei loro esperimenti.

Esperimenti in vitro:

- Il team ha condotto esperimenti in provetta per verificare che il gRNA potesse guidare efficacemente Cas9 verso la sequenza di DNA bersaglio e creare un taglio preciso.
- Hanno usato diverse sequenze di DNA come bersaglio e hanno osservato l'efficienza di taglio della proteina Cas9 quando è diretta dal gRNA.

Sperimentazione in vivo:

- Dopo una riuscita sperimentazione in vitro, hanno testato il sistema CRISPR-Cas9 in cellule viventi, tra cui cellule batteriche, vegetali e animali.
- Hanno introdotto il gRNA e la proteina Cas9 in queste cellule e hanno monitorato le modifiche del DNA risultanti.

2. Verifica:

- I ricercatori hanno utilizzato tecniche come il sequenziamento del DNA, la reazione a catena della polimerasi (PCR) e l'elettroforesi su gel per confermare che le sequenze di DNA mirate sono state tagliate e modificate con precisione.
- Questi metodi hanno permesso di visualizzare e verificare le precise modifiche apportate al DNA.

Donne in ambito STEM – Notizie sulle autrici.



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

La dott.ssa Jennifer Doudna è una famosa biochimica che ha co-scoperto la tecnologia di editing genetico CRISPR-Cas9. Ha conseguito il dottorato di ricerca presso la Harvard Medical School e attualmente è docente presso la University of California, Berkeley. Il lavoro della dott.ssa Doudna le è valso numerosi riconoscimenti, tra cui il Premio Nobel per la Chimica nel 2020. La sua ricerca ha fatto progredire in modo significativo la comprensione dell'ingegneria genetica e delle sue potenziali applicazioni.

La dott.ssa Emmanuelle Charpentier è un'importante microbiologa che ha co-scoperto la tecnologia CRISPR-Cas9. Ha conseguito il dottorato di ricerca presso l'Institut Pasteur e ha lavorato in diversi istituti di ricerca in Europa. Attualmente è direttore dell'Unità Max Planck per la scienza degli agenti patogeni a Berlino. Il lavoro della dottoressa Charpentier le è valso numerosi riconoscimenti, tra cui il Premio Nobel per la Chimica nel 2020, condiviso con la dottoressa Doudna.

Risultati

La ricerca condotta dalla Dott.ssa Doudna, dalla Dott.ssa Charpentier e dai loro colleghi ha dimostrato diversi risultati chiave:

Precisione di CRISPR-Cas9:

Il sistema CRISPR-Cas9 è in grado di effettuare tagli precisi a doppio filamento nel DNA in punti mirati. L'RNA guida ha indirizzato con precisione la proteina Cas9 verso la sequenza specifica di DNA, garantendo un'elevata specificità e minimi effetti fuori bersaglio.

Versatilità tra gli organismi:

Il sistema è stato efficace in una varietà di organismi, tra cui batteri, piante, animali e cellule umane. Ciò ha dimostrato la versatilità di CRISPR-Cas9 come strumento universale per l'editing del genoma.

Editing genico di successo:

Nei batteri, i ricercatori sono riusciti a disattivare i geni bersaglio, confermando la funzionalità del sistema CRISPR-Cas9. Nelle cellule vegetali e animali, sono riusciti a introdurre mutazioni o correzioni specifiche nel DNA, dimostrando il potenziale sia per la ricerca che per le applicazioni terapeutiche.

Efficienza dei meccanismi di riparazione del DNA:

Dopo che il DNA è stato tagliato da Cas9, subentrano i meccanismi naturali di riparazione del DNA della cellula. Questi possono essere sfruttati per introdurre precise modifiche genetiche. I ricercatori hanno osservato che le cellule spesso utilizzano la giunzione delle estremità non omologhe (NHEJ) o la riparazione diretta dall'omologia (HDR) per riparare le rotture, consentendo l'interruzione dei geni o l'inserimento di nuovo materiale genetico.

Applicazioni in medicina e agricoltura:

Le potenziali applicazioni di CRISPR-Cas9 erano vaste. In medicina, la tecnologia si è dimostrata promettente per la correzione di difetti genetici nelle cellule umane, aprendo la

Discussione

La ricerca della Dott.ssa Doudna e della Dott.ssa Charpentier ha profonde implicazioni in diversi campi:

1. **Ricerca e terapia medica:** CRISPR-Cas9 consente lo sviluppo di terapie geniche per il trattamento di malattie genetiche. Modificando con precisione i geni difettosi, gli scienziati possono potenzialmente curare malattie che in precedenza erano ritenute incurabili.
2. **Progressi in campo agricolo:** La tecnologia può essere utilizzata per migliorare la resilienza e la produttività delle colture, che è fondamentale per la sicurezza alimentare di fronte ai cambiamenti climatici e alla crescita della popolazione mondiale.
3. **Considerazioni etiche:** Sebbene la CRISPR-Cas9 sia molto promettente, solleva anche questioni etiche. La possibilità di modificare embrioni umani, ad esempio, potrebbe portare a conseguenze indesiderate e deve essere attentamente regolamentata.

strada a potenziali terapie per le malattie genetiche. In agricoltura, ha permesso la creazione di colture con caratteristiche migliorate, come la resistenza alle malattie e profili nutrizionali migliorati.

Conclusioni

Il lavoro pionieristico di Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier con CRISPR-Cas9 ha rivoluzionato l'ingegneria genetica. Questo potente strumento consente un editing del genoma preciso ed efficiente, aprendo nuove possibilità in medicina, agricoltura e ricerca. Mentre gli scienziati continuano a esplorare il suo potenziale, CRISPR-Cas9 promette di trasformare il nostro approccio alle malattie genetiche e di migliorare la nostra capacità di affrontare le sfide globali.

Fonti:

- L'articolo originale: 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>

Domande di riflessione:

1. Qual è la funzione principale di CRISPR-Cas9?

- a) Creare nuove proteine.
- b) Tagliare il DNA in punti specifici.
- c) Replicare il DNA.
- d) Sequenziare il DNA.

Risposta: b) Tagliare il DNA in punti specifici.

2. In che modo gli RNA guida aiutano la proteina Cas9?

- a) Replicano il DNA.
- b) Si legano al DNA per prevenire mutazioni.
- c) Dirigono la proteina Cas9 verso la sequenza di DNA bersaglio.
- d) Disattivano la proteina Cas9.
- **Risposta** c) Dirigono la proteina Cas9 verso la sequenza di DNA bersaglio.

3. Quali sono le potenziali applicazioni di CRISPR-Cas9 in medicina?

- a) Creare nuove malattie.
- b) Sviluppo di terapie geniche per il trattamento di malattie genetiche.
- c) Aumentare la durata di vita delle cellule.
- d) Migliorare le capacità fisiche.
- **Risposta:** b) Sviluppo di terapie geniche per il trattamento di malattie genetiche.

4. Perché è importante regolamentare l'uso della tecnologia CRISPR-Cas9?

- a) Per garantire che venga utilizzata solo per scopi agricoli.
- b) Per prevenire un uso improprio e affrontare le questioni etiche.
- c) Per limitarne l'uso a specifiche regioni geografiche.
- d) Per aumentarne il costo.
- **Risposta:** b) Per prevenire un uso improprio e affrontare le questioni etiche.

Idea di piano didattico:

Titolo:

Esplorare CRISPR-Cas9: apprendimento pratico dell'editing genico

Obiettivo:

Aiutare gli studenti a comprendere le basi della tecnologia CRISPR-Cas9, il suo funzionamento e le sue applicazioni attraverso attività interattive e coinvolgenti.

Materiali:

Strisce colorate o strisce di carta (per rappresentare i filamenti di DNA e RNA).

Pennarelli (per etichettare le diverse regioni dei filamenti)

Forbici (per tagliare le stringhe o le strisce di carta)

Nastro o colla (per unire i filamenti)

Foglio di carta grande o lavagna per il lavoro di gruppo

Copie di articoli e casi di studio semplificati sulle applicazioni di CRISPR-Cas9.

Attività:

1. Introduzione a CRISPR-Cas9 (15 minuti)

Discussione: Iniziare con una breve rassegna della tecnologia CRISPR-Cas9. Spiegare come funziona e le sue potenziali applicazioni in medicina, agricoltura e altro.

Video: Mostrare un breve video che spiega CRISPR-Cas9 per fornire una panoramica visiva e coinvolgente.

2. Modellare la funzione di CRISPR-Cas9 (30 minuti)

Preparare i filamenti di DNA e RNA: Utilizzare corde colorate o strisce di carta per rappresentare i filamenti di DNA e RNA. Etichettare un'estremità come "sequenza di DNA bersaglio" e un'altra come "RNA guida".

Simulare il taglio del DNA: Dimostrare come l'RNA guida indirizzi la proteina Cas9 verso la sequenza di DNA bersaglio, provocando un taglio preciso. Usate dei marcatori per mostrare dove vengono effettuati i tagli.

Attività di gruppo: Dividere gli studenti in piccoli gruppi e fornire loro i materiali per creare i propri modelli del processo CRISPR-Cas9. Ogni gruppo creerà una rappresentazione visiva di come CRISPR-Cas9 taglia il DNA.

3. Analisi del caso di studio (25 minuti)

Lavoro di gruppo: Assegnate a ogni gruppo un caso di studio diverso che coinvolga CRISPR-Cas9, come ad esempio:

Utilizzo di CRISPR per curare malattie genetiche (ad esempio, anemia falciforme).

Sviluppo di colture resistenti ai parassiti

Uso potenziale di CRISPR per migliorare alcuni tratti negli animali.

Ricerca e discussione: Ogni gruppo farà una ricerca sul caso di studio assegnatogli, concentrandosi sugli aspetti scientifici e sulle applicazioni reali. Fornite risorse e articoli da utilizzare.

Preparazione della presentazione: I gruppi prepareranno una breve presentazione per condividere le loro scoperte con la classe.

4. Presentazioni di gruppo (20 minuti)

Presentazione: Ciascun gruppo presenta il proprio caso di studio alla classe, spiegando

Il contesto e il significato del loro caso di studio

Come è stata utilizzata la CRISPR-Cas9 nello studio

I risultati e le potenziali applicazioni

Discussione: Dopo ogni presentazione, lasciate spazio alle domande e a una breve discussione in classe.

5. Esperimento pratico di estrazione del DNA (20 minuti)

Preparazione dell'esperimento: Fornite i materiali per un semplice esperimento di estrazione del DNA dalla frutta (ad esempio, fragole o banane). In questo modo gli studenti potranno fare un'esperienza tangibile di lavoro con il DNA.

Materiali necessari: Frutta fresca, sapone per piatti, sale, acqua, alcool, sacchetti di plastica, filtri di caffè, bicchieri o provette trasparenti e agitatori di legno.

Procedura:

Schiacciate la frutta in un sacchetto di plastica.

Aggiungere al sacchetto una miscela di acqua, sapone per piatti e sale e mescolare bene.

Filtrare il composto attraverso un filtro da caffè in un bicchiere trasparente o in una provetta.

Aggiungere lentamente alcool per sfregamento freddo lungo il lato del bicchiere/provetta.

Osservare come il DNA precipita nello strato di alcol.

Usare un agitatore di legno per far scorrere il DNA.

Osservazione e discussione: Discutete di ciò che gli studenti hanno osservato durante l'esperimento e mettetelo in relazione con l'importanza del DNA nell'ingegneria genetica.

6. Conclusione e riflessione (10 minuti)

Riassunto: Riassumere i punti principali discussi durante la lezione. Evidenziare l'importanza della tecnologia CRISPR-Cas9 e delle sue applicazioni.

Riflessione: Chiedere agli studenti di riflettere su ciò che hanno imparato su CRISPR-Cas9 e sul suo potenziale impatto. Chiedete loro di scrivere un breve paragrafo sui loro pensieri riguardo all'uso di questa tecnologia.