

Anna Meldolesi, *E l'uomo creò l'uomo. CRISPR e la rivoluzione dell'editing genomico*, Bollati Boringhieri Editore, Torino 2017, pp. 159, € 19.00, ISBN 9788833928401

Antonio Danese, Università degli Studi di Padova

Nel sessantesimo anno dell'attività editoriale di Bollati Boringhieri, l'editor Michele Luzzatto decide di informare i lettori sull'attuale fase di completa revisione delle modalità di intervento tecnologico sul genoma degli esseri viventi. La scrittura e l'infaticabile attività di ricerca di Anna Meldolesi realizzano il primo libro italiano interamente dedicato alla tecnica di editing genomico CRISPR-Cas9.

Nel primo capitolo l'A. spiega significato e funzionamento della nuova tecnologia. In natura il 50% dei batteri e il 90% degli archeobatteri sono dotati di questo meccanismo di difesa immunitaria dagli attacchi virali. Si tratta di una specie di album segnaletico in cui i batteri archiviano la fotografia, intesa come sequenze di DNA, di un virus che hanno già incontrato e sgominato. Grazie a questa memoria molecolare, se il virus si ripresenta, il batterio identifica la sua sequenza genomica e lo riconosce. In altre parole, le sequenze archiviate sono replicate sotto forma di un filamento di RNA, al quale si lega una proteina capace di tagliare il DNA virale: l'enzima Cas9. Questa coppia di sentinelle si muove controllando l'intero genoma della cellula, alla continua ricerca di una corrispondenza con l'RNA che funge da identikit e guida Cas9 sul punto del genoma da tagliare. Una volta riconosciuto, il DNA virale è afferrato, reciso e degradato dalla proteina. In questo modo il batterio può combattere l'infezione virale che ha subito.

I biologi hanno scoperto questo meccanismo difensivo e l'hanno sfruttato per realizzare una forbice molecolare che pattugli e tagli, nelle cellule di qualsiasi organismo, il DNA in un sito bersaglio. Il nome di questa nuova tecnica è CRISPR-Cas9: un sistema di editing genetico capace di modificare simultaneamente molti geni alla volta.

Nel secondo capitolo l'A. ricostruisce la genitorialità di CRISPR. Due ricercatrici, l'americana Jennifer A. Doudna e la francese Emmanuelle Charpentier, una volta scoperto il sistema di difesa naturale dei batteri, hanno trasformato l'enzima Cas9 in una piattaforma tecnologica in grado di legarsi all'RNA guida, scandagliare il DNA target, trovare un punto preciso e

tagliarlo in modo da poterlo modificare. Infatti, se i sistemi di riparazione della cellula si preoccupano di ricucire le interruzioni imposte al DNA, anche i ricercatori possono ricorrere a diverse tecniche per orientare la chiusura della lesione, generando così modificazioni genetiche precise e mirate come: la disattivazione del gene tagliato, la correzione della copia mutante di un gene con la versione sana, l'integrazione di un'intera sequenza estranea di DNA in corrispondenza del taglio. Inoltre la versatilità di CRISPR-Cas9, grazie alla quale possiamo editare simultaneamente molti siti usando diverse guide di RNA e un unico enzima taglia-DNA, consente di introdurre modificazioni genetiche multiple, utili per studiare ad esempio le malattie che sono generate da più di un gene. Un risultato che può essere raggiunto anche senza introdurre un DNA estraneo e quindi evitando di produrre un organismo legalmente riconosciuto come transgenico.

La trasformazione di un sistema immunitario evoluto nei batteri in una piattaforma per l'editing genomico illumina lo straordinario talento delle due scienziate e dimostra l'inestricabile legame tra ricerca pura e ricerca applicata: a partire dai finanziamenti per uno studio sui batteri si è ottenuta una tecnologia rivoluzionaria che riguarda tutti gli esseri viventi. Dopo la pubblicazione dei risultati di Doudna e Charpentier, sono stati George Church e Feng Zhang a dimostrare l'efficace applicazione della tecnica nelle cellule di organismi più complessi: Zhang si è impegnato a sperimentare direttamente sui mammiferi e ha dimostrato la versatilità di CRISPR in termini di programmabilità e applicabilità al genoma umano e murino; Church ha sviluppato l'ingegneria genetica con CRISPR al fine di modificare il codice genetico umano in maniera sempre più economica e precisa.

Nel terzo capitolo l'A. descrive le preoccupazioni che accompagnano le straordinarie potenzialità applicative della nuova tecnologia e i suoi punti deboli. In un documento pubblicato su *Science* il 3 Aprile del 2015 (*A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification*), firmato da eminenti scienziati tra cui anche Jennifer Doudna e George Church, gli autori condividono la convinzione che sia necessario promuovere una discussione democratica e partecipativa per riuscire a capire come indirizzare e regolamentare questo futuro di ricerca. Prima di tutto perché con CRISPR-Cas9 possiamo intervenire sulla linea

germinale umana con finalità molto diverse: dall'eliminazione di patologie orribili al miglioramento di tratti che sono percepiti come positivi dalla società. Sono necessarie delle linee guida bioetiche per distinguere tra un intervento terapeutico e un intervento esclusivamente fenotipico. In secondo luogo, introdurre una modifica ereditaria nel codice di un organismo significa disporre di una tecnologia dal diretto impatto evolutivo: per la prima volta gli esseri umani assumono un ruolo fino ad oggi rivestito dalla selezione naturale. Abbiamo bisogno di protocolli d'intesa largamente condivisi per evitare il rischio di un'evoluzione fuori controllo. Infine, le nostre conoscenze del sistema genetico umano, delle interazioni geni-ambiente e delle modalità di sviluppo di una malattia ereditaria sono limitate: un uso responsabile di queste tecniche non può prescindere dalla considerazione dell'alto rischio di potenziali effetti collaterali. Nonostante i bassi costi e l'ampia diffusione, concludono gli scienziati, CRISPR-Cas9 è una tecnologia ancora immatura per poter intervenire sulla linea germinale umana.

Pochi giorni dopo sul sito della rivista *Protein & Cell* sono pubblicati i dati del primo caso di utilizzo della tecnica di editing genetico su embrioni umani. La ricerca è stata svolta alla Sun Yat-sen University di Canton in Cina, un paese in cui non è permesso il trasferimento in utero degli embrioni manipolati a scopo di ricerca. L'obiettivo era la correzione della mutazione all'origine della beta-talassemia. Su 86 embrioni iniettati solo una piccola frazione ha sviluppato la correzione genetica.

Il secondo esperimento pioniero avviene sempre in Cina un anno dopo. Si tratta di introdurre un gene capace di dotare alcune persone della resistenza al virus HIV in embrioni dotati anche questa volta di un set cromosomico in eccesso e, per questo motivo, scartati dalle cliniche di fecondazione assistita. Ma solo quattro su ventisei embrioni sono risultati modificati e non tutti contenevano la correzione prevista. In definitiva i risultati dei gruppi di ricerca cinesi hanno confermato che la tecnica non è ancora sotto controllo: troppi tagli fuori bersaglio che hanno generato mutazioni impreviste.

Nel mondo occidentale, è stata la Gran Bretagna la prima ad autorizzare la modificazione degli embrioni con CRISPR in modo da comprendere in tutta la sua complessità la fecondazione in vitro. Tuttavia il contesto culturale e politico è quello di una nazione che da molto tempo decide in maniera

trasparente e consapevole caso per caso: gli embrioni modificati sono stati confinati alla ricerca di base e le modificazioni indotte non sono state ereditate, ma distrutte alla fine della sperimentazione.

Il quarto capitolo si occupa delle applicazioni in campo medico. L'utilizzo della nuova tecnica di editing negli studi di post-genomica per studiare l'origine di molte malattie e sperimentare su modelli animali portatori di più mutazioni contemporaneamente, realizzerà un'accelerazione esponenziale nella ricerca di cure per le patologie di origine ereditaria. Oggi possiamo cercare il gene di una malattia di cui conosciamo molto bene il meccanismo ereditario, trovarlo, tagliarlo e modificarlo in modo da rendere innocua una sequenza genetica prima patologica. È possibile fare tutto ciò *in vivo*: la coppia Cas9-RNA guida compie il suo lavoro controllando tutte le cellule dell'organismo in cui è inserita.

Sintesi di farmaci, elaborazione rapida di nuovi vaccini capaci di rispondere a eventuali sfide epidemiche e pandemiche, maggiore efficacia terapeutica nella lotta contro l'HIV e tumori sono solo alcuni degli aspetti innovativi di una tecnologia sempre più diffusa nel mondo. Ma l'editing genomico promette di regalare una seconda giovinezza anche alla terapia genica applicata a malattie di occhi, fegato e sangue: sono in atto tentativi per disattivare il gene che facilita l'insorgenza di distrofia corneale di Meesmann, tirosinemia di tipo I, anemia falciforme e corea di Huntington.

Anche l'epigenetica si rivela un ambito che si può arricchire grazie all'utilizzo di una variante di CRISPR-Cas9 che dispone di una nuova funzione: è possibile modificare il genoma senza tagliare specifiche sequenze genetiche, ma aggiungendo o rimuovendo i gruppi chimici sul DNA o sulle proteine che ne fanno parte.

Il capitolo quinto e sesto sono dedicati al raffinamento delle tecniche di editing nel campo dell'ingegneria genetica applicata alla sperimentazione animale e vegetale. Il rinnovamento consiste in interventi molecolari multipli, difficilmente distinguibili dalle mutazioni naturali, grazie ai quali è possibile sviluppare modelli animali per lo studio di evoluzioni tumorali, malattie neurodegenerative, autismo. Inoltre si possono riaprire filoni di ricerca che si erano chiusi in passato, come quello degli xenotrapianti, arenatosi verso la fine degli anni 90 per l'impossibilità di rendere le cellule suine abbastanza simili a

quelle umane e garantire una sufficiente compatibilità. Ora con CRISPR anche questo è possibile, come modificare il genoma degli insetti che portano la malaria, al fine di renderli sterili o non più in grado di trasportare il plasmodio.

Le nuove prospettive alimentari attendono i risultati dell'applicazione di CRISPR nel miglioramento genetico di varietà vegetali coltivate. Mutazioni favorevoli possono essere introdotte negli agrumi, vite, olivo, grano e tante altre fonti vegetali per rafforzare la resistenza ai parassiti, eliminare allergeni, sviluppare capacità di crescita in condizioni ecologiche ostili, produrre sostanze d'interesse farmaceutico o industriale come i biocombustibili.

Nell'ultimo capitolo l'A. si chiede come si svolgerà la lunga guerra legale prevista per i diritti di proprietà. È appena iniziata e la prima vittoria è stata raggiunta da Feng Zhang: la conquista del primo brevetto di CRISPR su cellule degli organismi superiori ha fatto riscuotere alle azioni della *Editas Medicine*, la società cui lo scienziato è legato, un incremento del 30%.

Ma si tratta di una tecnica in evoluzione: presto aumenteranno i componenti coinvolti e le varianti utilizzabili, il patrimonio brevettuale verrà frazionato creando una situazione per niente simile all'oligopolio che in passato aveva alimentato le preoccupazioni politiche e i ragionamenti pseudoscientifici di molti oppositori degli OGM. I segnali attuali, infatti, fanno sperare per un futuro diverso: il consorzio no-profit *Addgene*, che dispone dei componenti del nuovo sistema di editing donati dai gruppi di ricerca su CRISPR, garantisce democratica accessibilità ai laboratori scientifici universitari e di ricerca pubblica.

Anna Meldolesi appartiene alla nuova generazione di giornalisti scientifici, i nuovi mediatori tra la ricerca scientifica e il pubblico: studiosi che ritengono un dovere moralmente necessario prendere i dati immersi nel gergo scientifico dei laboratori e prepararli e confezionarli affinché la società possa fruirne. Il suo lavoro produce e trasmette cultura: racconta le ragioni della scienza, descrive fatti e condivide risultati, bilancia l'enfasi che adorna la nuova scoperta e disarmo polemiche pseudoscientifiche mantenendo un approccio dialogante con i soggetti che la pensano diversamente.