

**Bioingegneria.** Una tecnica semplice

ed economica che opera sul Dna. E cambia i caratteri degli animali. A Londra vogliono usarla sui nostri embrioni

# Le forbici sul genoma umano

PIETRO GRECO

**N**ON LASCIATEVI ingannare dal nome impossibile, CRISPR/Cas9. Né dalla giovane età, tre anni o poco più, essendo stata messa a punto nel 2012 da Bruce Conklin presso i Gladstone Institutes di San Francisco. La tecnica ha già le caratteristiche per sgominare tutte le altre. Per il semplice motivo che, come scrive *Nature*, è economica, veloce e facile da usare. Eppure è già al centro di polemiche al calor bianco. Perché permetterebbe di riscrivere l'uomo modificando a piacere il suo Dna. E non è uno spauracchio peregrino perché un'équipe di bioingegneri cinesi ha già manipolato embrioni umani proprio con la Crispr, suscitando un mare di proteste. I cinesi non badano alla bioetica, si è subito detto. Ma, qualche settimana fa, è stato un gruppo di scienziati del Francis Crick Institute di Londra a chiedere alla Human Fertilization and Embriology Authority di poter sperimentare la Crispr su un embrione umano «a scopo di ricerca», hanno precisato.

In attesa che l'Authority si pronunci, vale la pena di capire cos'è il "taglia e cuci genetico" che sta eccitando la comunità scientifica. Cominciando col dire che Bruce Conklin non ha creato la tecnica dal nulla. Ma ha utilizzato un metodo inventato dai

batteri fin dalla notte dei tempi per difendersi da virus e da materiale genetico "alieno" pericoloso. Si tratta di sequenze geniche che si ripetono, le Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats (CRISPR) cui sono associati dei geni, i cas (CRISPR associated) che codificano per enzimi capaci di tagliare il DNA nei punti giusti, eliminare le sequenze indesiderate e eventualmente sostituirle con quelle volu-

te. Quello che ha fatto Bruce Conklin è stato di trasformare il sistema, con opportuni accorgimenti, in una "forbice universale" in grado di lavorare bene in ogni ambiente cellulare, compreso quello degli eucarioti e di quegli eucarioti che noi consideriamo i più speciali fra tutti: gli uomini.

Questo "taglia e cuci" può essere utilizzato proprio come fanno i batteri: espellere con grande precisione ed efficacia i tratti di Dna deteriorati, malati o comunque indesiderati, e sostituirli con tratti integri, sani o comunque desiderati. La tecnica funziona bene su piante, topi e cellule umane adulte. Come su maiali e scimmie, così simili a noi. E non c'è voluto molto al genetista cinese Junjiu Huang, in forze all'università Sun Yat-sen di Guangzhou, di saltare a mettere le mani sull'uomo. Con quindici suoi collaboratori nel marzo scorso ha annunciato di aver utilizzato la tecnica CRISPR/Cas9 su embrioni umani per verificare se è efficace nella terapia genica della beta-talassemia. In pratica Huang e i suoi hanno utilizzato 86 zigoti nel tentativo di eliminare le mutazioni del gene HBB che causano la malattia. Nella prospettiva di curare fin dall'inizio, nella linea germinale, la diffusa patologia. Ma il lavoro viene subito rifiutato da riviste prestigiose, come *Nature* e *Science*, per il semplice motivo che la comunità scientifica internazionale considera sbagliato e in ogni caso prematuro correggere i difetti genetici nelle linee germinali, perché ogni eventuale errore si trasmette di genitore in figlio. Per nulla scoraggiato Huang tenta con una rivista cinese, *Protein & Cell*, che glielo pubblica in due giorni. E noi apprendiamo che su 86 embrioni manipolati, 15 non sono sopravvissuti; che solo su 28 le mutazioni indesiderate del gene della betatalassemia erano state eliminate e che solo in 4 zigoti era stato sosti-

tuito l'intero gene. Inoltre CRISPR/Cas9 aveva tagliato e cucito in una quantità di luoghi diversi dal gene responsabile della malattia, in maniera del tutto indesiderata e potenzialmente molto dannosa. Quindi né il genetista di Guangzhou né alcun altro nella comunità scientifica hanno la più pallida idea di cos'altro abbia combinato il taglia e cuci su quegli embrioni.

Insomma, l'esperienza di Huang è stata così negativa in ogni suo aspetto da suscitare reazioni veementi. Compresa una richiesta di moratoria sull'uso in medicina della CRISPR/Cas9 firmata, tra gli altri, da David Baltimore, premio Nobel e già presidente dell'Associazione Americana per l'Avanzamento delle Scienze (AAAS), la più grande società scientifica al mondo, editrice della rivista *Science*.

Ancora una volta ci troviamo di fronte a un bivio sulla strada dell'innovazione. Ed è tra i più importanti. Proprio perché la CRISPR/Cas9 è così economica, veloce e facile da usare da consentire di riscrivere a piacimento il Dna di piante, animali e uomini. E debellare, tra l'altro, odiose malattie. Certo, molto c'è ancora da imparare. Se la richiesta del Francis Crick Institute sarà accettata si potrà cominciare a capire come lavora la tecnica sul materiale umano. Un primo passo, ma è bene che dei limiti sul suo uso ci siano. Per esempio è bene consolidare il bando sul suo utilizzo su cellule della linea germinale umana.

---

**Si chiama Crispr/Cas9 e permette di eliminare sequenze geniche responsabili di malattie. Ma anche di tratti somatici**

---

---

**Il caso.** Liberare i suini dai virus che impediscono di trapiantare i loro organi: lo hanno fatto ad Harvard

---

## E nei maiali cancellate tutte le infezioni

ELENA DUSI

**M**ODIFICARE IL Dna dei maiali con la Crispr/Cas9 potrebbe rendere più vicini gli xenotrapianti. I suini, infatti, sono i principali candidati all'uso di organi da trapiantare, ma han-

no nel loro Dna dei geni di antichi virus che li infettarono migliaia di anni fa, i quali, in caso di trapianto nell'uomo, sono capaci di riattivarsi contagiando chi ha ricevuto l'organo.

George Church, che insegna ad Harvard ed è uno dei più vivaci biologi del momento (sua è l'idea di riportare in vita un mammut con la tecnica della clonazione) è riuscito grazie a

Crispr a cancellare dal Dna di alcune cellule di maiale il rischio di infezione. Lo scienziato si è infatti accorto che ogni virus suino ha un gene, sempre uguale, che utilizza per infettare l'individuo ospite. Costruendo una versione di Crispr mirata a cancellare questo gene, Church è riuscito a rendere inoffensivo il Dna virale dei maiali. Le "forbici" del sistema en-

zimatico di taglia e incolla sono intervenute 62 volte: tanti erano i virus che si erano insinuati fra i cromosomi dei suini per infettarli.

Il lavoro degli harvardiani è

---

**Ridotto di mille volte il rischio**

---

## di infettarsi

una pietra miliare perché Crispr non era mai stato usato per effettuare modifiche così numerose su un singolo genoma. E le cellule trattate con il nuovo metodo di gene editing hanno dimostrato un'intatta funzionalità e una capacità ridotta di mille volte di infettare le cellu-

le umane (in provetta).

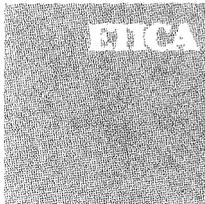
Il lavoro di Church - pubblicato su *Science* - è però ancora preliminare. Lo scienziato è intervenuto solo su singole cellule di rene di suino coltivate in laboratorio. Per ottenere organi da trapiantare bisognerà invece creare e allevare interi maiali ogm, modificando il Dna al livello degli embrioni. Nell'esperimento di Harvard, le cellule

perfettamente "ripulite" dai virus non erano il 100 per cento. Né l'uso di Crispr risolverà il problema del rigetto, che è particolarmente violento nel caso degli xenotrapianti.

Il fatto che con questo metodo si sia riusciti a eliminare l'ostacolo dei virus, lasciando per il resto le cellule dei reni intatte e perfettamente funzionan-

ti, è però un passo avanti per risolvere il problema della carenza di organi da trapianto. «L'intero settore degli xenotrapianti - ha commentato Church - è rimasto immobile per 15 anni, tenuto in vita solo da pochi esperti che ci credevano veramente. Questa ricerca, penso, cambierà la situazione».

©RIPRODUZIONE RISERVATA



## «Nessuna censura»

«Non demonizziamo questa tecnologia. Non ripetiamo errori già commessi in passato. È già molto utilizzata in laboratori di tutto il mondo per studi importanti, sul cancro o sulla terapia genica o nelle biotecnologie agrarie». Chi parla è Carlo Alberto Redi, professore dell'università di Pavia e membro dell'Accademia dei Lincei. Che, a chi ha chiesto una moratoria sulla Crispr parlando di rischio eugenetica, risponde: «La storia dice che non è concepibile una moratoria perché non è attuabile. Gli scienziati sono responsabilmente impegnati ad assicurarsi che le ricerche impieghino cellule che non saranno mai sviluppate oltre i primi stadi e mai impiantate in madri surrogate». A molti resta però il dubbio che possano esserci usi sbagliati, e che per questo si debba fare qualcosa. Certo che sì, risponde Redi, ma «la storia insegna che ben più efficace della censura sono le campagne per spiegare le possibilità

offerte da una nuova tecnica. Molto meglio della moratoria totale è chiamare da subito filosofi, giuristi, psicologi, economisti a dare il proprio contributo a togliere le nebbie che offuscano la ragione e fanno vivere nella paura di mondi che non esistono, quelli dei cattivi scienziati. Una nuova tecnica potente come CRISPR/Cas9 riempie il bicchiere a metà. L'altra metà dobbiamo riempirla noi, chiedendo norme capaci di evitare derive non accettabili e lavorare ciascuno per una società democratica della conoscenza. Che chiede un esercizio di cittadinanza scientifica alla quale siamo chiamati tutti».

(p. g.)

## COSÌ È NATA CRISPR

**2012**

Il team di Jennifer Douda chiede il brevetto di Crispr

Douda spiega il meccanismo di questa tecnica

Feng Zhang chiede il brevetto di Crispr per l'utilizzo su animali e piante

**2013**

Zhang pubblica un articolo sull'impiego della tecnica in cellule animali e umane

**2014**

Crispr viene usata su pesci zebra

Impiego della tecnica su batteri

Utilizzo su grano, soia e riso

Primi esperimenti di Crispr sulle scimmie (macachi)

Lavori sui topi con disturbi epatici

Zhang brevetta in Usa l'utilizzo di Crispr su cellule di mammiferi

**2015**

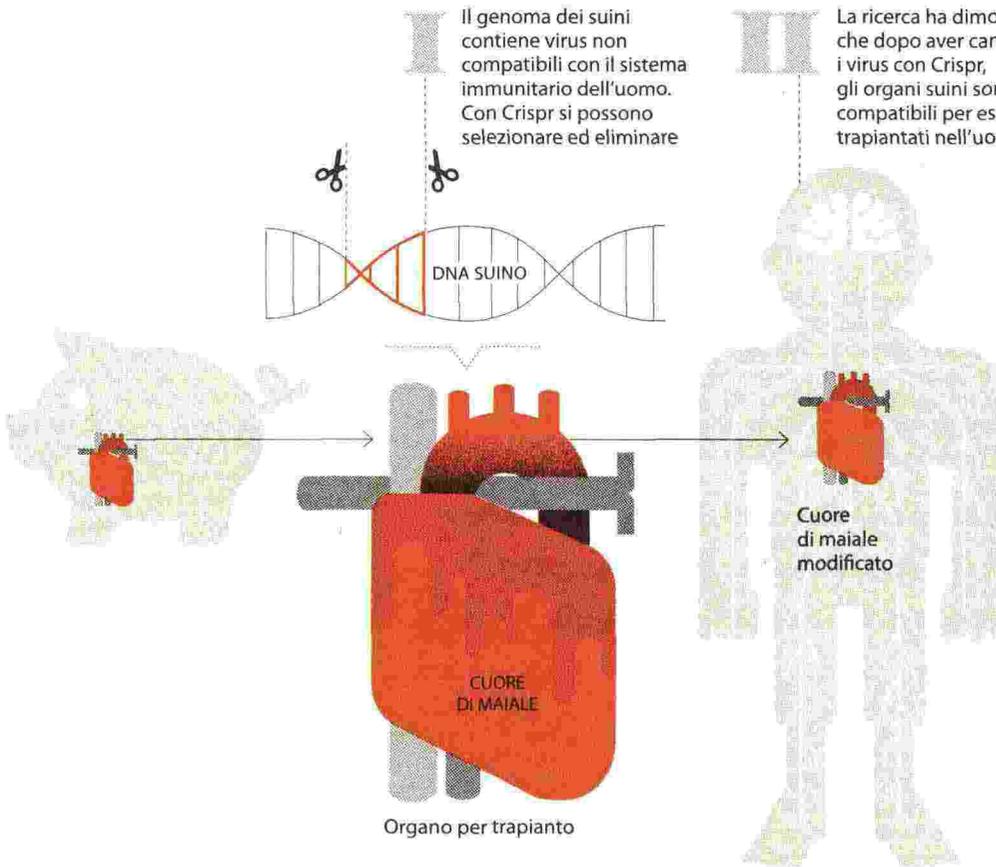
Studi sul lievito dimostrano le potenzialità della tecnica su intere popolazione ("gene drive")

Il team di Junjiu Huang sperimenta per la prima volta su embrioni umani in Cina

## OBIETTIVO XENO

**I** Il genoma dei suini contiene virus non compatibili con il sistema immunitario dell'uomo. Con Crispr si possono selezionare ed eliminare

**II** La ricerca ha dimostrato che dopo aver cancellato i virus con Crispr, gli organi suini sono più compatibili per essere trapiantati nell'uomo



### CASO I TAGLIA E RIMPIAZZA

Il frammento viene rimpiazzato con un altro integro, sano o comunque desiderato

Gene eliminato



Gene da donatore



Dna riparato

### CASO II TAGLIA E BASTA

Il frammento viene eliminato e non rimpiazzato

Gene eliminato



Dna riparato

FONTE: RIELABORAZIONE DATI ISALITE/NEWSWEEK/NATURE

INFOGRAFICA PAULA SIMONETTI

## SI PUÒ O NON SI PUÒ

Misure adottate dai governi sulla manipolazione genetica di embrioni umani

