

CRISPR a tutta forza

Le ricerche mostrano come una fondamentale scoperta biotecnologica potrebbe andare oltre gli studi sugli animali per integrare gli strumenti della terapia genica nell'uomo.

Leah Cannon

La riparazione di geni difettosi negli esseri umani è un'idea che ha sollecitato per decenni la ricerca medica, con molte più delusioni di quanti non siano stati i successi. Ora, però, nuovi metodi di intervento sul DNA stanno offrendo agli scienziati dei sistemi precisi per cancellare o modificare specifiche sequenze genetiche.

Un metodo particolarmente promettente è stato ispirato dal modo in cui alcuni batteri combattono i virus. Quando un virus infetta un batterio, questo imita il DNA virale e lo inserisce all'interno del suo stesso genoma. Questo processo forma delle *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, o CRISPR. In sostanza, i CRISPR rendono i batteri immuni al virus. Nel successivo attacco, i batteri riconoscono il DNA virale e producono una breve sequenza di DNA che guida un enzima di nome nucleasi affinché ritagli il DNA del virus.

Nel 2012, gli scienziati hanno convertito il sistema di difesa CRISPR dei batteri in uno strumento di editing del genoma, che potrebbe venire affinato per prendere di mira qualunque gene. Siccome può venire utilizzata per abbattere geni o riparare mutazioni, questa tecnologia sta aiutando gli scienziati a comprendere meglio la connessione fra la genetica e le malattie.

La prevenzione delle malattie

Lo scorso anno, il laboratorio di Eric Olson presso l'Università Southwestern del Texas ha utilizzato il CRISPR per prevenire la distrofia muscolare di Duchenne (DMD) nei topi. Negli esseri umani, la DMD è provocata da mutazioni nel gene della distro-

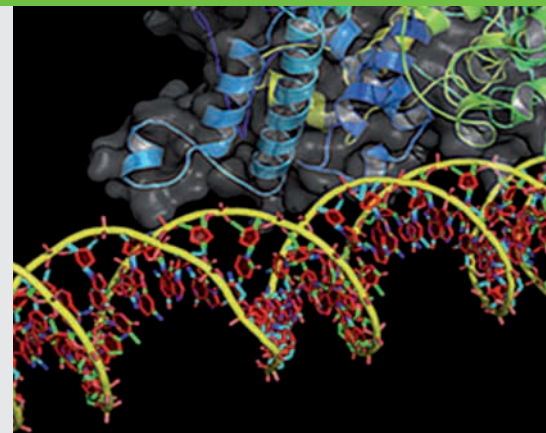
fia. Il gruppo di Olson ha utilizzato topi che erano stati alterati appositamente per presentare il difetto genetico. I ricercatori hanno iniettato singole cellule embrionali contenenti gli ingredienti per l'editing genomico del CRISPR, incluso un *template* corretto del DNA della distrofia. I topi trattati hanno mostrato minori danni muscolari e un migliore controllo rispetto ai topi che non avevano ricevuto il trattamento.

Sempre nel 2014, Jinsong Li, della Chinese Academy of Sciences di Shanghai, ha utilizzato il CRISPR per rimuovere nel gene *Crygc* una mutazione che provoca la cataratta, appartenente alla tipologia di cellule staminali che si sviluppa nelle cellule spermatiche. In seguito, le cellule trattate sono state iniettate nei testicoli di un topo maschio sterile, dove si sono sviluppate in cellule spermatiche immature. Queste cellule sono state raccolte e utilizzate per la fecondazione in vitro di cellule ovariche di topo. Una volta iniettate nel topo femmina, le cellule trattate si sono sviluppate in 39 cuccioli, ciascuno dei quali presentava il gene *Crygc* corretto, per cui non si sono sviluppate cataratte. È difficile che un approccio simile venga utilizzato su pazienti umani, dato che le cataratte possono venire risolte con sistemi più semplici. Ciononostante, questo studio indica che è possibile impedire che mutazioni responsabili di malattie vengano trasmesse da una generazione all'altra.

La cura delle malattie

È molto più semplice prevenire una malattia editando il genoma degli embrioni piuttosto che curare una malattia editando i geni negli animali adulti, che sono formati da miliardi di cellule. Eppure, lo scorso anno il gruppo di Daniel Anderson al MIT ha utilizzato il CRISPR per curare topi adulti affetti da tirosinemia ereditaria di tipo I, una malattia ereditaria del fegato. Proprio come gli esseri umani, questi topi presentano una mutazione nel gene *Fah*.

Il gruppo di Anderson è riuscito a trasmettere il CRISPR nei topi con una iniezione nelle vene delle loro code. Inizialmente, il trattamento CRISPR ha corretto il gene *Fah* in solo una cellula del fegato ogni 250. Ciononostante, dopo trenta giorni, il



33 per cento delle cellule del fegato presentava questa correzione, probabilmente perché il fegato ha un elevato tasso di ricambio cellulare e le cellule con un normale *Fah* erano più sane di quelle con il gene mutato. La presenza di un normale *Fah* in appena un terzo delle cellule è bastata ugualmente a preservare i topi dai danni più gravi subiti dai topi che non erano stati trattati.

Questo approccio ha funzionato perché il fegato filtra tutto il sangue, per cui qualunque sostanza iniettata nel sangue ha una maggiore probabilità di raggiungere le sue cellule. La trasmissione del CRISPR per iniezione ha minori probabilità di funzionare negli altri organi. Anderson sostiene che il suo gruppo «sta attivamente lavorando allo sviluppo di sistemi di trasmissione terapeuticamente rilevanti».

L'accensione dei geni

Fino a poco tempo fa, il CRISPR era stato usato principalmente per correggere le mutazioni. Ora, Feng Zhang e alcuni colleghi del MIT e del Broad Institute hanno alterato un enzima chiave nel sistema CRISPR che permette di «attivare i geni». I ricercatori hanno dimostrato come una tecnica di attivazione dei geni possa venire utilizzata per stabilire quali geni abbiano conferito una resistenza a un farmaco contro il melanoma. Diverse altre applicazioni potrebbero venire sviluppate: il gruppo ha realizzato una libreria di 70.290 RNA guida – le sequenze che guidano gli enzimi al loro posto – che attivano i singoli geni nel genoma umano. ■

Leah Cannon è una collaboratrice di MIT Technology Review USA.