

30. Giugno

## Il "bridge editing" potrebbe essere ancora più efficace del CRISPR nel rimodellare i genomi

La tecnica di editing genetico CRISPR ha rivoluzionato la biologia, ma ora un sistema ancora più potente chiamato **bridge editing** potrebbe consentirci di rimodellare completamente il DNA genomico

Il team di Patrick Hsu del **ARC Institute** di Palo Alto, California



ha scoperto nei batteri l'esistenza di un macchinario di editing del DNA che potrebbe consentirci di apportare modifiche molto più grandi ai genomi di quanto sia attualmente possibile con le tecniche basate su CRISPR. Il lavoro

*Durrant MG et al.*

**Bridge RNAs direct modular and programmable recombination of target and donor DNA.**  
*bioRxiv [Preprint]. 2024 Jan 26:2024.01.24.577089..*

definisce il nuovo editor del genoma il **sistema di "bridge editing"** perché collega fisicamente, o crea ponti, tra due pezzi di DNA e pertanto può essere utilizzato per modificare enormi sezioni di un genoma,

I **riarrangiamenti genomici**, che comprendono cambiamenti mutazionali nel genoma come inserzioni, delezioni o inversioni, sono essenziali per la diversità genetica. Questi riarrangiamenti sono tipicamente orchestrati da enzimi coinvolti nei processi fondamentali di riparazione del DNA, come la ricombinazione omologa, o nella trasposizione di materiale genetico estraneo da parte di virus ed elementi genetici mobili

Il **team Hsu** riporta che le **sequenze di inserzione IS110**, una famiglia di elementi genetici mobili minimi e autonomi, esprimono un RNA strutturato non codificante che si lega specificamente alla loro ricombinasi codificata.

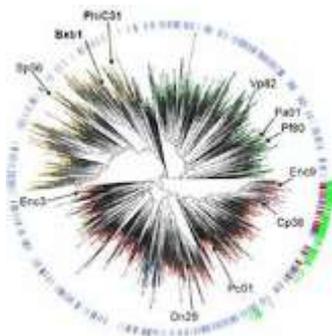
Questo RNA ponte contiene due anelli interni che codificano tratti nucleotidici che si accoppiano con il DNA bersaglio e il DNA donatore, che è l'elemento IS110 stesso.

Attraverso una serie di complesse procedure ([vedi lavoro](#)) si dimostra che i cicli di legame del bersaglio e del donatore possono essere **riprogrammati in modo indipendente** per dirigere la ricombinazione sequenza-specifica tra due molecole di DNA.

**Questa modularità consente l'inserimento del DNA nei siti target genomici, nonché l'escissione e l'inversione programmabili del DNA.**

Il sistema di *ricombinazione a ponte IS110* espande la diversità dei sistemi guidati dagli acidi nucleici oltre CRISPR e l'interferenza dell'RNA, offrendo un meccanismo unificato per i tre riarrangiamenti fondamentali del DNA – inserzione, escissione e inversione – necessari per la progettazione del genoma.

### Considerazioni e riflessioni



Le molecole di RNA non codificanti che legano uno specifico acido nucleico bersaglio sono fondamentali sia per la vita procariotica che per quella eucariotica. Le guide degli acidi nucleici sono un meccanismo ampiamente utilizzato nei processi biologici fondamentali, come gli anticodoni tRNA che governano la traduzione ribosomiale, i piccoli RNA interferenti e i microRNA dell'interferenza dell'RNA, i crRNA dell'immunità CRISPR-Cas e i piccoli RNA nucleolari per la regolazione genetica.

Per consentire il controllo modulare della specificità del bersaglio enzimatico, il loro tema comune prevede un'interazione fissa tra un RNA guida e una proteina effettrice insieme a un sito bersaglio variabile dell'acido nucleico specificato dall'accoppiamento di basi con la guida.

L'RNA ponte scoperto dal [team Hsu](#) è il primo esempio, a nostra conoscenza, di una molecola guida bispecifica che codifica regioni modulari di specificità sia per il DNA bersaglio che per quello donatore, coordinando queste due sequenze di DNA in stretta prossimità per catalizzare una ricombinazione efficiente.

Gli **RNA ponte** codificano tutta questa complessa logica molecolare in una sequenza straordinariamente compatta (~150-250 nt) insieme al loro singolo partner effettrice ricombinasi (~300-460 aa). Il targeting IS110 si ottiene utilizzando anelli di legame interni che ricordano gli anelli a forcina di tRNA o gli anelli interni di snoRNA, distinti dalle sequenze di legame terminale degli RNA guida CRISPR-Cas o Argonaute. Ciascun ciclo di RNA codifica segmenti che si accoppiano con regioni sfalsate del filamento superiore e inferiore di ciascun partner affine di legame del DNA, in contrasto con i meccanismi di accoppiamento delle basi a filamento singolo dei noti sistemi

guidati da RNA. Infine, l'autoriconoscimento guidato dall'RNA dell'elemento IS110 in forma di donatore illustra un meccanismo di mobilità del DNA precedentemente non osservato.

Gli **RNA guida** sono alla base di una rivoluzione tecnologica nella biologia programmabile. Tuttavia, l'attività enzimatica diretta delle proteine autonome riprogrammabili guidate dall'RNA è stata notevolmente limitata alla funzione dell'endonucleasi. Le generazioni successive di nucleasi e nickasi programmabili hanno fatto avanzare il metodo prevalente di modifica del genoma, dalla cattura originale basata sull'omologia di un donatore di DNA alla stimolazione mirata dell'inserimento del donatore, che richiedono tutti una complessa interazione con i processi di riparazione del DNA endogeno.

La diversificazione funzionale di questi sistemi oltre il legame o la scissione dell'acido nucleico ha generalmente richiesto il reclutamento o la fusione di proteine effettrici aggiuntive, con il risultato di fusioni di editing genomico sempre più grandi e complesse.

Il **sistema a ponte IS110**, al contrario, impiega una singola e compatta proteina ricombinante guidata dall'RNA che è necessaria e sufficiente per la ricombinazione diretta del DNA. La riprogrammazione modulare del riconoscimento del donatore e del bersaglio da parte dell'RNA ponte bispecifico consente in modo univoco i tre riarrangiamenti fondamentali del DNA di inserzione, escissione e inversione per manipolare sequenze di DNA su larga scala e l'organizzazione complessiva del genoma.

Con ulteriori esplorazioni e sviluppi, il team prevede che il **meccanismo ponte** stimolerà una terza generazione di strumenti programmabili guidati da RNA oltre i meccanismi basati su RNAi e CRISPR per consentire una nuova frontiera della progettazione del genoma.



**Patrick Hsu** è cofondatore dell'**Arc Institute** e professore assistente di bioingegneria e Deb Faculty Fellow presso l'Università della California, Berkeley.

Il laboratorio Hsu lavora all'intersezione tra biologia, ingegneria e intelligenza artificiale per sviluppare tecnologie per la programmazione e la progettazione biologica. Patrick ha conseguito AM e Ph.D. lauree presso l'Università di Harvard e il Broad Institute, dove è stato uno dei primi pionieri delle tecnologie CRISPR-Cas9 per l'editing del genoma. La sua ricerca è stata riconosciuta dagli Innovators Under 35 del MIT Technology Review, dall'Amgen Young Investigator Award, dai 30 Under 30 di Forbes, dal NIH Early Independence Award e dal Rainwater Prize for Innovative Early Career Scientist.

## Come festeggiare il compleanno ogni 19 mesi

*Bryan Johnson Il fondatore di NEUROTECH afferma di essere riuscito a rallentare il suo invecchiamento modificando il suo DNA*

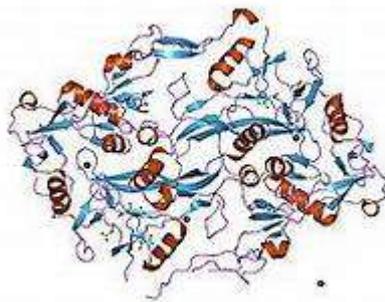
L'imprenditore tecnologico noto per essersi in un recente passato autosomministrato il plasma di suo figlio nel tentativo di prolungare la propria vita, ora afferma di essere riuscito a rallentare il processo di invecchiamento sottoponendosi a una procedura di editing del DNA non testata su un'isola dell'Honduras, nel settembre 2023.

**Bryan Johnson**, ha acquisito crescente visibilità nell'ambiente dell'aging grazie ai suoi sforzi altamente pubblicizzati per vivere per sempre – o almeno per rallentare il processo di invecchiamento.

Mangia solo tra le 4:30 e le 11, va a letto regolarmente alle 20:30 e prende più di 100 pillole al giorno.



L'ultima incursione di Johnson nella scienza anti-invecchiamento lo ha portato a Roatan, un'isola al largo della costa dell'Honduras, dove ha ricevuto la terapia genica con **follistatina** sotto forma di due iniezioni.



L'imprenditore afferma di aver speso 20.000 dollari per la terapia genica reversibile sviluppata dalla società di sviluppo metodi **Minicircle**.

*“Gli esseri umani attualmente hanno una durata massima di vita di circa 120 anni. Tuttavia le terapie geniche hanno il potenziale per aiutare a superare questa barriera”,* ha scritto Johnson su X, la piattaforma precedentemente nota come Twitter. *“La terapia genica con follistatina si colloca al 7° posto tra gli studi sulla durata della vita, estendendo la durata della vita dei topi di oltre il 30%”.*

Johnson ha spiegato che in precedenza aveva preso in considerazione la terapia genica, ma ha respinto l'idea per motivi di sicurezza. La Food and Drug Administration non ha approvato l'editing del DNA, motivo per cui Johnson si è recato a Roatan per ricevere due iniezioni di terapia genica.

Se una terapia causasse, ad esempio, il cancro nel mio corpo, non potrei fare nulla per invertire il processo", ha spiegato Johnson in un [video](#) sul processo di modifica genetica. *"Ciò che rende diversa la terapia Minicircle è che ha un **kill switch integrato**. Se il mio corpo reagisce male posso prendere l'antibiotico tetraciclina, che uccide e disattiva istantaneamente le molecole di DNA che mi sono state iniettate"*.

Johnson sostiene che le iniezioni di *editing genetico*, insieme alle altre sue scelte di vita, hanno rallentato la velocità del suo invecchiamento al punto da festeggiare **il suo compleanno solo ogni 19 mesi**.

**"Il sonno, la dieta e l'esercizio fisico rimangono fondamentali "Queste terapie di prossima generazione rafforzano ulteriormente le nostre possibilità di essere la prima generazione che ha la scelta di dire sì a un "domani continuo".**

## **Lecture consigliate**

***Pan J et al.***

**Elevated circulating follistatin associates with increased risk of mortality and cardiometabolic disorders.**

***Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2024 Feb;34(2):418-425.***

L'epatocina follistatina (FST) circolante elevata si associa a un rischio aumentato di diabete di tipo 2 inducendo resistenza all'insulina del tessuto adiposo. Qui esploriamo ulteriormente le relazioni tra i livelli plasmatici di FST con mortalità e risultati sulla salute. un'elevata FST circolante si associa a un aumento del rischio di mortalità e scompenso cardiaco, che in parte può essere mediato dal diabete. La FST è anche associata a ictus, ictus ischemico, CE e CKD, indipendentemente da fattori di rischio accertati incluso il diabete.

***Korzonek-Szlacheta I et al.***

**The Association between Circulating Cytokines and Body Composition in Frail Patients with Cardiovascular Disease. *Nutrients*. 2024 Apr 20;16(8):1227.**

Il peso delle malattie cardiovascolari e la percentuale di pazienti fragili nella popolazione che invecchia aumenterà. Questo studio mira a valutare i livelli circolanti di diverse citochine in pazienti fragili. Questa è un'analisi accessoria dello studio FRAPICA. Il rapporto uomini/donne è passato da gruppi robusti a gruppi fragili da 3:1 a 1:2. I gruppi sono comparabili in termini di analisi dell'età e delle misurazioni corporee (peso, altezza e indice di massa corporea), tuttavia i pazienti fragili hanno una massa magra significativamente ridotta e più spesso è stato diagnosticato il diabete. I pazienti fragili hanno livelli più elevati di fattore di crescita dei fibroblasti di base (FGF basic) e di follistatina (significatività borderline). Nella modellazione di regressione lineare multipla della massa magra, abbiamo identificato FGF basico, osteopontina, fattore delle cellule staminali, soppressione solubile della tumorigenicità 2, recettore solubile del fattore di crescita epidermico, recettore solubile del fattore di crescita epidermico umano 2, follistatina, prolattina, recettore solubile dell'interleuchina 6 alfa, molecola 1 di adesione delle cellule endoteliali piastriniche, recettore solubile 1 del fattore di crescita delle cellule endoteliali vascolari, leptina, angiopoietina/tirosina chinasi solubile 2 e fattore stimolante le colonie di granulociti. Abbiamo identificato alcune citochine correlate alla massa magra, un segno distintivo di fragilità. Comprendono le chinine implicate nel metabolismo osseo e muscolare, nella fibrosi, nella funzione della parete vascolare, nell'infiammazione, nella funzione endocrina o nella regolazione dell'integrità del midollo osseo.

