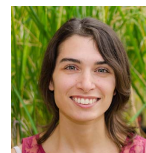




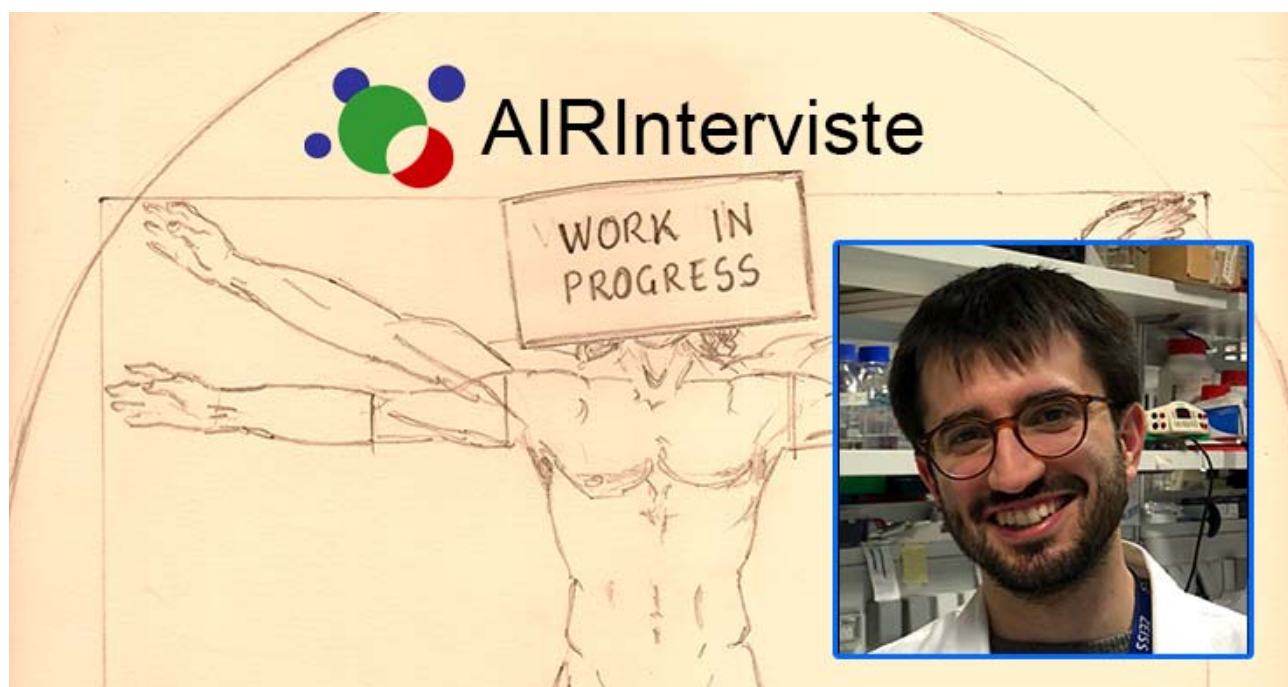
Per fare buona scienza, a volte ci vuole incoscienza! – Intervista a Antonio Casini

A cura di Elisa Dell'Aglio
Logo creato da Chiara Marabelli

Parole Chiave: Biologia, Biologia Molecolare, Ricerca di Base, Ricerca in Vitro, Tecnologia, Italia



Permalink: <http://informa.airicerca.org/2018/05/21/intervista-antonio-casini/>



In un centro di ricerca italiano contornato dalle Alpi, il CIBIO di Trento, il gruppo della Prof. Anna Cereseto ha messo a punto una proteina altamente precisa per modificare il DNA. L'hanno battezzata evoCas9, perché è una versione ingegnerizzata di quella naturale (chiamata appunto Cas9) ottenuta mediante la selezione di mutazioni casuali favorevoli. Il risultato potrebbe avere presto interessanti risvolti applicativi in ambito terapeutico ed è stato ottenuto sbaragliando la concorrenza di gruppi competitori, con molte più risorse economiche e prestigio internazionale. Dietro a questo successo c'è Antonio Casini, giovane dottorando della Prof. Cereseto. È lui che ha pianificato ed eseguito la maggior parte del lavoro sperimentale e che oggi può vedere il suo nome su due riviste scientifiche di primo piano: Nature Biotechnology e Nature Communications. Antonio ha accettato di ripercorrere con me il percorso che lo hanno condotto fin qui e le sue prospettive per il futuro.

Ciao Antonio!

“Ciao Elisa, scusa per il ritardo ma in questo periodo abbiamo molti imprevisti e riunioni dell'ultimo minuto.”

Ci sono stati cambiamenti dovuti all'improvvisa notorietà?

“Sì, anche se credo che sia sono una fase. Oltre agli impegni di laboratorio ci capita spesso di rilasciare interviste o commenti per la stampa. Ho anche avuto la possibilità di presentare la mia ricerca in molte scuole superiori. Mi fa molto piacere riuscire ad appassionare le nuove generazioni a tematiche così attuali e promettenti!”

Partiamo dall'inizio. Sei uno studente di liceo scientifico e quando si tratta di scegliere un percorso universitario tu...

“Sono cresciuto con due genitori entrambi medici, cosa che mi ha portato ad appassionarmi alle scienze biologiche fin da piccolo. Ma più che il rapporto con i pazienti, mi affascinavano i meccanismi di funzionamento del corpo umano e delle malattie.”

Non hai scelto un corso di laurea qualsiasi...

“Ho avuto la fortuna di essere ammesso alla Scuola Normale Superiore di Pisa e per me è stata un'esperienza fondamentale. L'Università di Pisa dà un'ottima (e faticosa!) preparazione e il percorso della Normale, oltre ad alcuni corsi aggiuntivi, mi ha permesso di vivere gomito a gomito con persone stimolanti che hanno plasmato la mia *forma mentis* e mi hanno proiettato verso la ricerca.”

Come hai conosciuto la Prof. Cereseto, che è poi diventata la tua tutor di dottorato?

“Ho conosciuto Anna proprio a Pisa e ho svolto con lei lo stage della laurea triennale. Durante la specialistica, invece, ho anticipato tutti gli esami al quarto anno per poi andare a lavorare un anno a Trieste, nel laboratorio del prof. Burrone, un collaboratore di lunga data di Anna.”

Come hai poi ottenuto la borsa di dottorato a Trento? E che cosa ti ha convinto ad accettarla?

“Alla fine della mia tesi Anna era da poco diventata group leader al CIBIO di Trento e mi ha proposto di presentare domanda di dottorato da lei. Sono quindi andato a fare un sopralluogo al CIBIO e sono

rimasto molto colpito. Il centro era all'epoca molto piccolo ma giovane, dinamico e in crescita. Da allora ad oggi, infatti, da una manciata di gruppi siamo arrivati a una trentina, anche grazie agli investimenti degli enti locali. Ovviamente siccome conoscevo già Anna non ho avuto dubbi sulla qualità del lavoro di ricerca. Per questi motivi ho affrontato il concorso di dottorato ministeriale senza dubbi e non ho considerato altre scelte.”

Quali sono state le difficoltà principali nel corso del tuo dottorato?

“Non è stato un percorso lineare. Il progetto iniziale riguardava il virus dell'HIV, che da sempre era l'argomento principale delle ricerche di Anna. Ma l'approccio che avevamo scelto era troppo 'rocket science': molto ambizioso, rischioso e tecnicamente difficile. Per cui i primi due anni sono stati poco produttivi.”

Cos'è cambiato al terzo anno?

“Ci ha raggiunto Gianluca Petris, un ex dottorando che avevo conosciuto a Trieste. Io avevo già iniziato a usare la versione “naturale” di Cas9, che è in grado di apportare modifiche specifiche al DNA ma con un margine di errore troppo elevato per poter essere usata in ambito terapeutico. Per le mie ricerche di base su HIV questo non era importante (non stavamo cercando di sviluppare una cura), ma Gianluca si è interessato all'argomento e, con l'approvazione di Anna, abbiamo deciso di ricentrare la tematica di ricerca sull'editing del genoma, in particolare su come ottimizzare la Cas9 per renderla più affidabile. È nato così il progetto evoCas9.”

Dal 2013 l'editing genomico è un argomento di primo piano nel settore della biologia molecolare. Nel momento in cui voi avete preso questa decisione era già il 2015 e molti concorrenti internazionali, tra cui gli scopritori della stessa Cas9, potevano essere già al lavoro su progetti simili... non vi siete lasciati intimorire?

“Da questo punto di vista siamo stati forse un po' incoscienti. Con i grandi nomi dell'editing non avevamo nessun contatto. Ci siamo buttati perché avevamo visto che fino ad allora non era ancora uscito nessun lavoro finalizzato a migliorare la specificità della tecnica. È stato così fino al 2016, quando invece sono usciti due articoli di fila che descrivevano nuove versioni di Cas9 ad alta affidabili. Le migliori proposte non erano efficienti quanto le nostre ma a quel punto ci siamo messi a correre come dei matti, nella paura di arrivare tardi.”

Ci sono stati picchi di lavoro super intensivo, in cui lavoravo fino a tarda sera e anche nel finesettimana. Forse siamo arrivati giusto in tempo!”

Per questo nuovo progetto avete dovuto acquisire competenze specifiche?

“Ci mancavano le competenze bioinformatiche, ma già all’interno al CIBIO abbiamo trovato collaboratori con cui eravamo già in ottimi rapporti. In caso contrario avremmo dovuto cercarci aiuti esterni che all’epoca non avevamo, rallentando di molto la tempistica.”

E per quanto riguarda i fondi?

“Dal punto di vista finanziario è stato soprattutto il CIBIO ad aiutarci. È stata una fortuna, perché senza esperienza pregressa nel settore non avevamo grandi speranze con bandi pubblici o privati.”

Intanto il tuo dottorato era già quasi agli sgoccioli...

“Sì, in teoria avrei dovuto chiudere in tre anni, ma questo non mi avrebbe permesso di sviluppare il progetto evoCas9. Per questo motivo ho prolungato di altri due anni il mio dottorato di ricerca. La borsa ministeriale era “esaurita” ma sono stato pagato con i rimasugli di finanziamenti ottenuti in passato dalla prof. Cereseto sull’HIV. Con i nuovi cicli di dottorato l’estensione è stata però vietata, quindi i dottorandi di oggi non avrebbero questa possibilità.”

Cosa vedi nel futuro?

“La scelta più ovvia sarebbe di andare a fare un post-dottorato all’estero. Prima di pubblicare gli articoli abbiamo però depositato una domanda di brevetto su evoCas9 e una serie di altre mutazioni. Da un po’ di mesi siamo in contatto con un gruppo privato italiano di finanziatori biotech con l’intento di far nascere una start-up. L’idea è di creare una piattaforma biotecnologica sulla delivery in vivo del sistema, ottimizzandolo per diverse aree terapeutiche. All’inizio ero un po’ scettico ma quello dell’imprenditoria si è rivelato un ambiente nuovo e stimolante. Per tutti gli aspetti non prettamente scientifici abbiamo ampio sostegno dal fondo ma anche dall’ufficio di trasferimento tecnologico dell’università e HIT (Hub innovazione Trentino) che nasce come joint venture dei principali centri di ricerca sul territorio (Università di Trento, FBK, FEM e Trentino Sviluppo) con lo scopo di valorizzare i risultati di ricerca ottenuti dai soci. Al momento, quindi, il mio obiettivo è diventato la nascita e la

buona riuscita della start-up. Se andasse male, si fa presto a cambiare lavoro!”

Come descriveresti il tuo percorso?

“Un incrocio di persone e di luoghi: l’incontro con Anna Cereseto alla Normale, poi quello con Gianluca nel laboratorio di Oscar Burrone a Trieste... Anche il gruppo di dottorandi del CIBIO era molto affiatato: il sostegno vicendevole, le grigliate e le gite al lago (a volte organizzate dallo stesso centro di ricerca) mi sono molto serviti, soprattutto nei momenti di sconforto dei primi due anni di dottorato.”

Cosa pensi che ti manchi?

“L’esperienza all’estero. Ma sono molto soddisfatto del mio percorso e se tornassi indietro non lo cambierei.”

L’editing genomico ed evoCas9

Negli ultimi anni si stanno affermando nuove tecnologie di editing genomico, o “forbici molecolari”, che permettono di modificare il DNA in modo molto preciso. Questi sistemi potrebbero presto permettere la nascita di terapie per malattie genetiche come la fibrosi cistica o alcune forme di anemia.

Il sistema di editing genomico più semplice da usare prende il nome di CRISPR-Cas9 ed è stato scoperto pochi anni fa nel batterio *Streptococcus pyogenes*. Ma c’è un problema: la sua specificità non è abbastanza elevata ed esiste un rischio non trascurabile che le modifiche al DNA avvengano anche in punti indesiderati.

Il gruppo di Anna Cereseto ha avuto l’idea di ingegnerizzare il sistema batterico per renderlo più preciso.

A tale scopo, i ricercatori hanno trasferito le forbici batteriche in un organismo facile da coltivare ma più simile all’uomo: il lievito. In seguito, usando mutazioni casuali, i ricercatori hanno identificato delle varianti delle forbici che funzionano meglio delle originali, alcune delle quali non sarebbero state previste con un approccio razionale. Combinando insieme quattro varianti, i ricercatori sono riusciti a generare forbici con una specificità vicina al 99%, le più sicure mai ottenute. La super-proteina ha preso il nome di “evoCas9” (Casini et al, *Nature Biotechnology* 2017).

In parallelo, i ricercatori hanno anche sviluppato un sistema, chiamato SLiCES, per limitare l’attività delle forbici nelle cellule e quindi ridurre ancora di più la probabilità di mutazioni indesiderate (Petris et al, *Nature Communications* 2017).

Tutte queste migliorie potrebbero permettere una notevole accelerazione nell’utilizzo del sistema CRISPR-Cas9 in ambito terapeutico.

L’intervistato: Antonio Casini

Antonio Casini lavora come postdoc nel gruppo di Anna Cereseto, presso il Centre for Integrative Biology dell’Università di Trento. Il gruppo di Anna Cereseto ha avuto l’idea di ingegnerizzare il sistema batterico CRISPR-Cas9 per renderlo più preciso. Il contributo di Antonio in questo sviluppo durante il suo dottorato è stato decisivo, e gli ha permesso di ottenere gli importanti risultati pubblicati su *Nature Biotechnology* nel 2017.

Curatrice dell'intervista: Elisa Dell'Aglio

Sin dai primi anni dell'università, Elisa si è dedicata alla comprensione dei meccanismi che permettono alla piante di adattarsi alle condizioni ambientali anche senza potersi muovere. Le sue prime ricerche, condotte presso il Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi a Torino, vertevano sulle relazioni simbiotiche che i vegetali stabiliscono con funghi del suolo per facilitare l'assorbimento radicale di fosfato e composti azotati. Con una borsa di dottorato internazionale, nel 2010 si è poi trasferita in Francia (Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives di Grenoble), dove ha messo a punto tecniche biofisiche per lo studio delle interazioni proteiche e la regolazione di enzimi fotosintetici. Dopo un Master in Traduzione tecnico-scientifica e uno stage presso la redazione del mensile Le Scienze, attualmente lavora all'Università di Ginevra come Post-Doc. Il suo progetto verte sui meccanismi che regolano la produzione di vitamine nelle piante in risposta a stress ambientali, utilizzando anche le più avanzate tecniche di genome editing come il sistema CRISPR/Cas.