

## Ricerca corrente IZS VE 11/22

### CRISPR-Cas: una nuova frontiera per la diagnosi delle zoonosi virali (CRISPR-ZOO)

Responsabile scientifico: Isabella Monne

Il diffondersi della pratica dell'allevamento intensivo a livello globale, l'impiego di tecnologie ad alto impatto ambientale nell'industria e in agricoltura, l'espansione di processi insediativi umani e la sempre crescente emergenza climatica hanno causato una progressiva riduzione degli habitat naturali per numerose specie di animali selvatici. Questo ha spinto diverse specie ad occupare nuove nicchie ecologiche e ad adattarsi a paesaggi antropizzati aumentando l'interazione con gli ambienti sfruttati dall'uomo per l'allevamento e con la popolazione umana stessa. L'avvicinarsi di mondi un tempo distinti rende sempre più facile l'emergere ed il diffondersi di nuovi patogeni spesso con un impatto anche per la salute pubblica. In un simile contesto, l'identificazione precoce ed il tracciamento epidemiologico di patogeni emergenti rappresentano elementi fondamentali della lotta alle epidemie, a tutela della salute dell'uomo, delle produzioni, e della biodiversità della fauna selvatica. Il presente progetto si propone di esplorare le potenzialità di un recente ritrovamento delle moderne biotecnologie: la forbice genetica CRISPR/Cas. Il sistema di editing genomico CRISPR-Cas, originariamente scoperto nei batteri come meccanismo di difesa dai virus. Il sistema si basa sulla combinazione di due elementi: un enzima Cas capace di tagliare il DNA (Cas9, 12 e 14) o l'RNA (Cas13) e un RNA guida (sgRNA o crRNA) che media il riconoscimento specifico da parte di Cas della sequenza target da tagliare (1). Inizialmente utilizzati in ingegneria genetica, recenti studi hanno dimostrato le potenzialità dei sistemi CRISPR-Cas nell'ambito della diagnostica virologica molecolare emergendo come tecnologie più performanti rispetto alle classiche metodiche PCR-based. Sulla base delle indagini effettuate, le tecnologie diagnostiche basate su CRISPR-Cas infatti non solo garantiscono performance elevate in termini di sensibilità e specificità ma offrono anche il vantaggio di poter espandere la loro dimensione applicativa alle condizioni di campo poiché non richiedono né sistemi di rilevazione né procedure pre-analitiche complesse (1, 2).

Oltre all'identificazione di una sequenza target virale, la tecnologia CRISPR-Cas ha anche la potenzialità di essere utilizzata in studi next generation sequencing (NGS) di virus discovery, per rimuovere mediante taglio specifico l'rRNA dell'ospite e quello batterico aumentando quindi la sensibilità del sequenziamento (3).

Al fine di disporre di nuovi strumenti per la tempestiva identificazione e caratterizzazione di virus prioritari per la salute animale ed umana, gli obiettivi che si prefigge il progetto sono di:

- sviluppare un sistema diagnostico basato su CRISPR-Cas per l'identificazione del virus dell'influenza aviaria;
- valutare l'uso CRISPR-Cas9 quale sistema di deplezione del genoma dell'ospite in indagini di metagenomica virale.