

## **La tecnologia del Gene Editing nella didattica esperienziale per studenti delle scuole secondarie di secondo grado**

---

Emanuele Panza, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, DIMEC,  
Università di Bologna

Stefania Barbieri, G-LAB, Bologna

Raffaella Spagnuolo, Fondazione Golinelli, Bologna

### ABSTRACT

---

The modern technologies of Gene Editing, such as the CRISPR system, have allowed the spread of these technologies in all the laboratories of the world, at the same time fuelling hopes and fears for its applications. Since these technologies are destined to have a strong impact on society, it is very important to communicate and provoke reflection especially among the youngest. In order to bring secondary school students closer to major scientific topics and to let them experiment with new technologies and understand their potential, in recent years we have developed a Gene Editing course. The students' response to this type of course demonstrates the effectiveness of the experimentation in informing and sparking discussion on these issues. In this article we report and comment on the results of this study.

### SINTESI

---

Le moderne tecnologie di Gene Editing, come il sistema CRISPR, si sono diffuse in tutti i laboratori del mondo, alimentando al contempo speranze e timori per le sue applicazioni. Poiché queste tecnologie sono destinate ad avere un enorme impatto sulle nostre vite, è fondamentale comunicare e suscitare un dibattito, soprattutto tra i più giovani. Per avvicinare gli studenti delle scuole secondarie di secondo grado ai grandi temi scientifici e far sperimentare loro l'utilizzo di nuove tecnologie per comprenderne le potenzialità, negli ultimi anni abbiamo messo a punto un corso di Gene Editing. La risposta degli studenti a questo tipo di corso dimostra l'efficacia della sperimentazione nell'informare e suscitare una discussione su queste tematiche. In questo articolo riportiamo e commentiamo i risultati dello studio.

**KEYWORDS:** Gene Editing, CRISPR/Cas9, science, high school, bioethics

**PAROLE CHIAVE:** Editing genetico, CRISPR/Cas9, scienza, scuole secondarie, bioetica

## 1. Le STEM e le scuole: l'importanza dell'insegnamento delle scienze. L'esempio delle biotecnologie

L'insegnamento delle STEM, ovvero Scienza, Tecnologia, Ingegneria e Matematica, rappresenta un elemento chiave per lo sviluppo scientifico e tecnologico di ogni Paese (Brown, 2011)<sup>1</sup>.

Nonostante gli effetti dell'utilizzo di questo nuovo approccio non siano ancora completamente visibili, molti docenti hanno iniziato a integrare queste discipline con la conseguenza di far sperimentare agli studenti problemi del mondo reale. Come riportato da Merrill: «L'insegnamento e l'apprendimento STEM si concentra su contenuti e problemi autentici, utilizzando strumenti tecnologici, attrezzature e procedure pratiche in modi innovativi per aiutare a risolvere i desideri e le esigenze umane» (Merrill, 2009).

L'acronimo STEM è quindi diventato sinonimo di didattica integrata e inclusiva (Dewsbury, 2019). L'approccio all'insegnamento delle STEM deve essere necessariamente innovativo, per garantire una didattica incentrata sullo studente, in grado di preparare gli adolescenti su uno degli obiettivi chiave dell'apprendimento del XXI secolo, ossia l'alfabetizzazione scientifica. Cittadini scientificamente alfabetizzati sono pensatori critici in grado di affrontare in modo efficiente le ripercussioni del nostro mondo tecnologicamente avanzato (Christine, 2016).

Un'alfabetizzazione scientifica è importante per affrontare complesse questioni sociali (Sabelli, 2009). Le biotecnologie sono un classico esempio di disciplina con un forte impatto sulla società e soggetta a molteplici questioni etiche e sociali.

Dalla scoperta degli enzimi di restrizione e del loro utilizzo nella tecnologia del DNA ricombinante sono nate le prime aziende di biotecnologia. Lo stesso termine biotecnologie è divenuto sinonimo di alterazioni genetiche portando in sé al contempo un significato di avanzamento tecnologico e di timore per i suoi effetti.

Nel campo delle biotecnologie, negli ultimi anni abbiamo assistito alla diffusione del concetto di *editing genetico*, inteso come correzione o modifica accurata del materiale genetico codificante per proteine.

Questa tecnologia si riferisce alla possibilità di modificare in vivo il DNA di ogni organismo vivente di cui sia nota la sequenza del genoma. Questo tipo di intervento era stato reso possibile inizialmente mediante una diversa tecnologia chiamata Gene Targeting. Il primo articolo riguardante questa tecnologia è stato pubblicato nel 1986 (Thomas & Capecchi, 1986) ed è valso nel 2007 il premio Nobel per la Medicina e la Fisiologia ai suoi scopritori. Personaggio di spicco tra questi ricercatori è il professor Mario Capecchi, docente di genetica umana e biologia presso l'Università dello Utah a Salt Lake City, negli Stati Uniti.

---

<sup>1</sup> Si ringraziano i tutor di G-LAB di Fondazione Golinelli che hanno contribuito alla realizzazione del corso: Sara Bernardi, Giuliano Carrara, Paolo Manzi, Gabriele Mazzotta, Maria Chiara Pascerini, Stefania Zampetti, ed Enrico Tombesi per la coordinazione del lavoro per il laboratorio online.

In seguito, attraverso l'impiego di varie tecnologie, si è arrivati al concetto di Gene Editing (Klug, 2010; Yoshida, 2018; Zhang, 2019). Tuttavia, tali tecnologie sono sempre state limitate dagli alti costi e dai tempi lunghi per la realizzazione degli esperimenti. L'avvento del sistema CRISPR/cas9 ha rivoluzionato il Gene Editing poiché ha reso l'approccio alle modifiche del DNA uno strumento economico e facile da implementare in ogni laboratorio del mondo.

Il grande cambiamento apportato dalla CRISPR è stato oggetto di un altro premio Nobel per la chimica conferito nel 2020 a Jennifer Doudna, dell'Università della California di Berkeley, e alla microbiologa francese Emmanuelle Charpentier, oggi al Max Planck Institute di Berlino.

## **1.2. Impatto sociale ed etico**

Gene Editing è divenuto un termine comune soprattutto tra i pazienti di malattie genetiche, che spesso interrogano i medici e i ricercatori sulle opzioni terapeutiche ad oggi disponibili con questa tecnologia.

La possibilità di intervenire sul genoma di organismi viventi, modificandone il DNA con precisione, e la diffusione di tali tecnologie, in ogni laboratorio del mondo, ha sollevato molte speranze e preoccupazioni nell'opinione pubblica. Il Gene Editing in campo medico ha riportato in auge l'ipotesi di interventi di terapia genica, superando almeno in parte le limitazioni del tradizionale approccio con vettori virali. Allo stesso tempo, questi interventi hanno fatto riemergere i timori di un ritorno dell'eugenetica, implicando l'utilizzo deregolato di queste tecnologie per il miglioramento indiscriminato di caratteri quali il colore degli occhi o di capacità fisiche o intellettuali.

Non a caso qualche anno fa fece molto scalpore nell'opinione pubblica il caso del ricercatore cinese Jiankui He, che, agendo quasi indipendentemente, utilizzò queste tecnologie per modificare il genoma di embrioni umani, inducendo un silenziamento genico permanente (Knock-out genico) del gene CCR5. L'abolizione di questo gene avrebbe dovuto rendere gli individui portatori di questa modifica, immuni all'infezione virale da HIV, responsabile della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

La comunità scientifica e le autorità cinesi condannarono duramente il ricercatore responsabile degli esperimenti in quanto l'applicazione del Gene Editing su cellule embrionali era ed è ancora vietato. Ma qual è stato l'impatto sull'opinione pubblica che spesso è chiamata a dover prendere parte a decisioni importanti per la ricerca scientifica?

Nel giugno del 2005 l'Italia ha dovuto votare su quattro referendum per abrogare la Legge 40 che limitava fortemente la procreazione medicalmente assistita e proibiva la ricerca scientifica sulle cellule staminali embrionali. Il quorum non fu raggiunto, il referendum fu invalidato. Quale motivo ha portato le persone a non esprimere il proprio pensiero? La mancanza di una conoscenza dei temi su cui era stato chiesto di esprimere la propria opinione potrebbe essere una motivazione?

## **2. Dichiarazione del problema: la sfida dell'insegnamento di questa tecnologia in laboratorio per i ragazzi**

Il cambio di prospettiva introdotto da queste tecnologie richiede che figure come ricercatori e scienziati che lavorano direttamente in questo ambito possano avvicinarsi agli studenti per portare loro l'esperienza ottenuta attraverso la conduzione di esperimenti prima semplicemente impossibili da realizzare per costi e tempi. Occorrerebbero quindi figure e strutture che possano creare un ponte tra queste due realtà, quella della ricerca universitaria e della scuola, e figure che possano altresì occuparsi di far sperimentare agli studenti queste tecnologie, con un approccio laboratoriale inclusivo.

In Fondazione Golinelli da più di trent'anni si lavora con le scuole per contribuire all'alfabetizzazione scientifica. In particolare, questo studio ha dato modo di lavorare su temi attuali che richiedono oltre che la pratica di laboratorio anche attente discussioni etiche.

## **3. Domanda: è possibile disegnare un'esperienza di laboratorio per comunicare la portata dell'editing genetico?**

Siamo quindi partiti dall'ipotesi di creare un corso di Gene Editing rivolto a studenti delle scuole secondarie di secondo grado, offrendo un'esperienza di laboratorio che potesse coinvolgerli nel ruolo dello sperimentatore per comprendere la potenza di questo tipo di intervento genetico e, da questa prospettiva, riflettere sulle conseguenze e sulle implicazioni etiche di tali tecnologie.

Abbiamo utilizzato l'approccio *hands-on* della didattica esperienziale per accompagnare lo studente nel percorso di laboratorio. Questa didattica permette agli studenti di trarre essi stessi le riflessioni dalla loro attività di laboratorio, per arrivare alla consapevolezza sia delle esigenze che hanno portato alla definizione di una determinata tecnologia sia delle risposte che con essa sono state ottenute.

Abbiamo quindi utilizzato le nostre conoscenze per mettere a punto un protocollo sperimentale e un percorso formativo incentrato sull'editing genetico.

## **4. Descrizione della metodologia e dei materiali**

Il percorso sperimentale proposto durante il corso si svolge nell'arco di una settimana e prevede ampio coinvolgimento dello studente nella preparazione degli esperimenti e nel confronto sui dati ottenuti.

Per facilitare l'esecuzione dell'esperimento e la discussione, gli studenti sono suddivisi in piccoli gruppi di 10, seguiti da un tutor esperto.

Il corso inizia con una presentazione in cui vengono mostrate le tappe che hanno portato alla scoperta del Gene Editing e alle sue applicazioni, sottolineando l'evoluzione delle tecnologie di modifica del DNA partendo dal Gene Targeting, fino alla tecnologia CRISPR. In laboratorio i tutor introducono a ogni gruppo la parte teorica relativa ad ogni fase della sperimentazione.

Gli studenti, oltre a utilizzare direttamente nell'esperimento plasmidi e batteri, partecipano in parte anche alla preparazione dei terreni e dei reagenti di seguito descritti. Tutti gli esperimenti sono stati condotti seguendo le buone pratiche di laboratorio microbiologiche, pertanto la manipolazione da parte degli studenti è stata condotta in sicurezza. Tutti i batteri e il materiale che è venuto a contatto con i microorganismi sono stati sterilizzati prima di essere smaltiti.

*Preparazione dei terreni selettivi.* I ceppi batterici utilizzati nei nostri esperimenti sono stati coltivati in terreno liquido Luria Bertani (LB, Merck) e piastrati su terreno solido (LB-agar, Merck), utilizzando gli appropriati antibiotici alle concentrazioni di lavoro (Ampicillina 100 µg/ml, Kanamicina 50 µg/ml e Streptomycin 100 µg/ml). In breve, i terreni sono stati preparati pesando le quantità necessarie (25 gr/L per il terreno liquido e 32 gr/L per il terreno solido) e dissolti in acqua bidistillata. Tutti i terreni sono stati sterilizzati mediante autoclave. Raggiunta la temperatura di circa 40°C, sono stati aggiunti gli antibiotici. Per quanto riguarda la preparazione delle piastre Petri, il terreno ancora liquido è stato versato in condizioni che mantenessero la sterilità.

*Trasformazione dei batteri mediante trasformazione chimica.* L'espansione e il mantenimento dei vettori pCRISPR e pCas9 sono avvenuti utilizzando un ceppo batterico usualmente impiegato in laboratorio (DH5alfa), reso chimicamente competente. Lo stesso tipo di trasformazione è stata usata per trasferire il vettore pCas9 nel ceppo HME63. Per questa procedura abbiamo utilizzato un protocollo standard (Ausubel, 2003). In breve, circa 50 ng di ogni DNA plasmidico sono stati inseriti nelle cellule (trasformazione), sottoponendoli ad uno shock termico di 42°C per 55 secondi. Le cellule poi sono state immediatamente trasferite in ghiaccio per due minuti. In seguito, sono stati aggiunti 250 microlitri di terreno LB e le cellule sono state fatte crescere a 37°C in agitazione (250 rpm) per 1 ora, prima di essere seminate su terreno solido (piastre Petri) e incubate a 37°C per 16 ore. Nel caso delle HME63 dopo l'aggiunta del terreno LB le cellule sono state incubate per 2 ore a 32°C e le piastre seminate sono state lasciate in incubatore a 32°C per 24-32 ore.

*Estrazione dei plasmidi.* I plasmidi utilizzati in questi esperimenti sono stati acquisiti dal database AddGene (pCRISPR::rpsl, codice 44505, e pCas9, codice 42876; [www.addgene.org](http://www.addgene.org)). Le aliquote di plasmidi ricevute originali sono state piastrate per ottenere singoli cloni contenenti i plasmidi. Singole colonie contenenti i plasmidi sono state inoculate in terreno liquido LB e incubate per 16 ore, con i relativi antibiotici. Dopo l'incubazione, le cellule sono state centrifugate a 4°C alla velocità di 3000 g per 10 minuti, e il DNA plasmidico è stato estratto con un kit commerciale (Machery-Nagel, mini extraction kit). Due microlitri del DNA così ottenuto sono stati infine quantificati mediante Nanodrop (Nanodrop 2000, Thermo). I plasmidi sono stati infine verificati mediante digestione enzimatica (Fastdigest, Fermentas) e sequenziamento (vedi in seguito).

*Sintesi degli oligonucleotidi.* L'oligonucleotide mutante per l'introduzione della mutazione è stato sintetizzato da Integrated DNA Technologies (IDT,

<https://eu.idtdna.com>). È stata scelta la scala di sintesi 25 nM della categoria “Ultramer DNA oligo”:

Oligo mutante:

ATACTTTACGCAGCGCGGAGTTCGGTTTTgTAGGAGTGGTAGTATATAC  
ACGAGTACAT

Anche i primer per l’amplificazione della porzione di genoma batterico (rpsl-F ed R), sono stati ordinati da IDT, utilizzando una scala di sintesi standard:

rpsl-F ATGGCAACAGTTAACCAGCT  
rpsl-R TTAAGCCTTAGGACGCTTCA

*Crescita dei batteri HME63.* Per l’esperimento di Gene Editing sono stati scelti i batteri HME63, poiché sono un ceppo di *E.Coli* modificato geneticamente per facilitare la ricombinazione omologa (Recombineering strain, Costantino, 2003). Questo avviene sfruttando un meccanismo di ricombinazione mediato da proteine fagiche, i cui geni sono stati ingegnerizzati e clonati nelle cellule HME63 ed esprimibili in maniera inducibile. Normalmente, alla temperatura di crescita di 30-32°C, queste proteine non vengono espresse. Per l’attivazione di questo sistema, ottenuto un OD<sub>600</sub> di crescita di 0.5-0.7, è necessario esporre queste colture per 15 minuti alla temperatura di 42°C. A questo punto le cellule vengono tenute in ghiaccio e sono pronte per essere rese elettrocompetenti.

*Preparazione dei batteri HME63 elettrocompetenti.* Il trasferimento di DNA e proteine all’interno di cellule batteriche mediante elettroporazione rappresenta uno dei sistemi di trasformazione più efficiente. Per rendere le cellule HME63 attivate elettrocompetenti, i batteri sono sottoposti a due centrifugazioni con una soluzione di glicerolo al 10%. Infine i pellet ottenuti vengono risospesi in un millilitro della stessa soluzione di glicerolo al 10% e questa soluzione viene divisa in aliquote da 100 microlitri, per essere conservate a -80°C fino al loro utilizzo.

*Elettroporazione.* Per trasferire i vettori all’interno delle cellule, è stato usato l’elettroporatore MicroPulser™ della Biorad. Le impostazioni sperimentali per l’impulso elettrico sono state impostate a 1.80 kV, con tempo costante di 5 ms. In breve, il protocollo di elettroporazione prevede di assemblare in ghiaccio i componenti della reazione in cuvette da 0.1 cm. Le cellule HME63 attivate e rese elettrocompetenti vengono fatte scongelare in ghiaccio e vengono aggiunti 100 ng di vettore pCRISPR, 50 nmoli di oligonucleotide test o controllo. Le cuvette vengono poste nello strumento e sottoposte all’impulso elettrico. Immediatamente dopo l’elettroporazione, ai batteri viene aggiunto 1 ml di terreno e le cellule sono lasciate a 32°C per 2 ore prima di procedere alla semina.

*Semina.* Dopo il periodo di recupero, diverse quantità di batteri test e controllo sono stati distribuiti su 2 piastre resistenti alla streptomina (in genere 100 e 400 microlitri). In parallelo, vengono inoltre effettuati ulteriori controlli, quali batteri seminati su kanamicina (controllo elettroporazione) e su kanamicina e streptomina (controllo specificità).

*PCR su colonie.* Per verificare la specificità dell'editing genetico, le singole colonie sono state recuperate e diluite in 50 microlitri di acqua. Cinque microlitri di questa soluzione sono stati direttamente usati per l'amplificazione della porzione del gene rpsL, mediante la reazione della polimerasi (PCR), utilizzando un kit commerciale (KAPA, ready mix, Merck). Il termociclatore utilizzato è uno strumento della Applied Biosystem serie 2720 (Tabella 1).

Colonia batterica diluita in acqua	5.00 $\mu$ l	95°C	2'	1 ciclo
Mix Kapa 2x	6.25 $\mu$ l	95°C	15''	25 cicli
Oligonucleotidi [5mM] <sub>i</sub>	1.25 $\mu$ l	55°C	10''	
Volume finale 12.50 $\mu$ l		72°C	15''	

TABELLA 1 - REAZIONE DI PCR. CONDIZIONI E CICLI DI AMPLIFICAZIONE

Infine, 3 microlitri sono stati verificati tramite corsa elettroforetica su gel di agarosio.

*Sequenziamento dei prodotti di PCR.* L'amplificato rimanente è stato purificato mediante piastre Millipore e il DNA eluito in 46 microlitri di acqua. L'equivalente di 100-300 ng di prodotto di PCR è stato sottoposto a sequenziamento diretto mediante metodo di Sanger, utilizzando un buffer di reazione commerciale (Big-Dye, Thermo-Fischer) e l'oligo rpsL-F. I prodotti di sequenziamento sono stati corsi sullo strumento ABI3730-XL (Applied Biosystem, Tabella 2).

DNA purificato	7.00 $\mu$ l	95°C	30''	1 ciclo
Buffer 5X	2.00 $\mu$ l	95°C	10''	25 cicli
Oligonucleotide	1.00 $\mu$ l [5 pmoli]	60°C	4'	
Volume finale 10.00 $\mu$ l		15°C	$\infty$	1 ciclo

TABELLA 2 - SEQUENZIAMENTO. CONDIZIONI E CICLI DI AMPLIFICAZIONE PER LA REAZIONE DI SEQUENZA

#### 4.1. L'esperimento

Abbiamo preso come spunto una parte del lavoro di Jiang e colleghi, pubblicato su Nature Biotechnology (Jiang, 2013), utilizzando i vettori plasmidici dal database AddGene ([www.addgene.org](http://www.addgene.org)) e alcuni dei reagenti messi a disposizione direttamente dagli autori.

Questo esperimento di editing genetico prevede quindi la sostituzione di una singola base nucleotidica nel genoma di *E.Coli*. Il bersaglio dell'esperimento è il gene rpsL, che codifica per la proteina s12 della subunità 30S del ribosoma batterico. Questa proteina strutturale del ribosoma è importante nella precisione del processo di traduzione. Alcune mutazioni di s12 causano resistenza alla streptomicina, un antibiotico della classe degli aminoglicosidi, che inibisce la

sintesi proteica legandosi alla subunità 30S del ribosoma batterico (Springer, 2001; Hosaka, 2003). L'obiettivo dell'esperimento è quello di modificare il genoma di un ceppo di *E. Coli*, le HME63, nel nucleotide n. 128 della sequenza del gene *rpsL*. In questo punto, nella sequenza *wild-type* del DNA, è presente un'adenina. Con il Gene Editing cerchiamo di sostituire questa adenina con una citosina. Questo renderà le HME63 resistenti alla streptomicina (Figura 1).

Abbiamo quindi fatto sintetizzare un oligonucleotide di 56 basi omologo alla regione del gene *rpsL* con la mutazione desiderata (oligo mutante). Abbiamo poi sfruttato un vettore CRISPR che tagliasse la sequenza del DNA *wild-type* in prossimità della mutazione, per ottenere due effetti:

1. un'induzione della via di riparazione del DNA mediante ricombinazione omologa che favorisse la correzione del taglio genetico usando il nostro oligo come DNA stampo;
2. una selezione negativa dei batteri che sono soggetti a digestione e che a seguito del taglio non vanno incontro a ricombinazione omologa con la nostra sequenza e quindi alla modifica genetica dello stesso sito bersaglio, risultando nella morte dei batteri.

Le cellule HME63 sono state prima trasformate solo con il vettore esprime la proteina Cas9, per evitare che il vettore CRISPR iniziasse subito a tagliare il genoma dei batteri risultando nella morte degli stessi.

In seguito queste cellule sono state elettroporate con il vettore pCRISPR::*rpsL* e l'oligonucleotide omologo (test) oppure con il vettore pCRISPR::*rpsL* e un oligonucleotide non omologo di controllo (Figura 1).



## 5. Presentazione dei risultati

Questo corso si è svolto in diverse edizioni, dal 2018, presso la Fondazione Golinelli, registrando sempre un altissimo interesse sia da parte degli studenti delle scuole secondarie di secondo grado, sia da parte degli insegnanti cui è stata dedicata una formazione specifica. La possibilità di coinvolgere gli studenti direttamente nella pratica sperimentale rende questo corso particolarmente attraente per le scuole di tutta Italia. Dal 2018 gli studenti che hanno partecipato alle diverse edizioni hanno occupato tutti i posti disponibili arrivando, in alcune settimane, a creare una lista di attesa. Questo dimostra l'efficacia del corso e l'interesse per questo argomento.

Per la natura di questa ricerca, abbiamo analizzato principalmente due tipi di risultati.

### 5.1. La valutazione dell'esperienza di laboratorio degli studenti

In ogni edizione, gli studenti del corso mostrano sempre un grandissimo interesse per la parte sperimentale. Per molti, infatti, oltre alle esperienze nei laboratori degli istituti di provenienza, questa rappresenta un'opportunità unica di sperimentare in prima persona alcune applicazioni biotecnologiche. Inoltre, per eseguire il protocollo di laboratorio è necessaria l'autorizzazione a impieghi finalizzati all'uso di Microrganismi Geneticamente Modificati (MOGM) in ambiente confinato, spesso difficilmente implementabili negli istituti di insegnamento secondario.

Agli studenti è stato chiesto di valutare, in una scala da 1 (insufficiente) a 5 (eccellente) tre aspetti del corso:

- la strumentazione di laboratorio fornita;
- il supporto del tutor di riferimento;
- l'innovatività dell'attività di laboratorio rispetto ad altre esperienze.

---

<sup>2</sup> In figura è mostrato il percorso sperimentale seguito dagli studenti:

A) Un plasmide esprimente la proteina Cas9 è stato trasformato nei batteri HME63 mediante shock termico.

B) I batteri così ottenuti sono stati trasformati mediante elettroporazione con un plasmide pCRISPR::rpsl e un oligonucleotide omologo alla sequenza genetica di rpsl con la mutazione desiderata per indurre la resistenza alla streptomina (Test) oppure il vettore pCRISPR::rpsl e un oligonucleotide non omologo (Controllo). C) Sono mostrati i risultati ottenuti tipicamente nel corso dell'esperimento. Sulle piastre Petri costituite da terreno selettivo sono cresciuti solo i batteri che hanno subito l'editing genetico.

D) Le colonie cresciute su terreno selettivo sono state amplificate e sequenziate. È così verificata in sequenza la sostituzione di una Adenina con una Citosina.

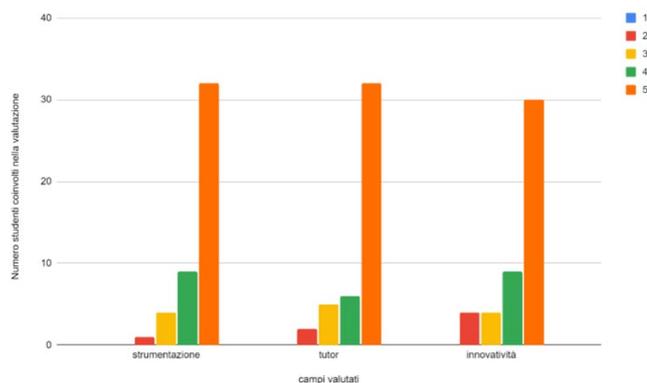


GRAFICO 1 - VALUTAZIONE DELLA STRUMENTAZIONE, DEL TUTOR E DELL'INNOVATIVITÀ DEL LABORATORIO

## 5.2. Le competenze di laboratorio

La maggior parte degli studenti che hanno partecipato alla Summer School, pur avendo frequentato i laboratori scolastici, non è abituata a lavorare a posto singolo. Il costo delle strumentazioni di un laboratorio di biotecnologie costituisce uno degli ostacoli alla realizzazione di sperimentazioni di questo tipo. Questo porta le scuole a proporre attività di gruppo dove lo studente non è coinvolto costantemente nella pratica di laboratorio ma spesso osserva quanto viene svolto praticamente da un tecnico o da un compagno. Una delle domande poste agli studenti è stata quindi se ritenessero di aver potenziato le proprie competenze di laboratorio dopo una sola settimana di attività.

Come evidenziato nel Grafico 2 (in verde la percentuale di studenti che ha risposto “molto”, in giallo la percentuale che ha risposto “abbastanza” e in rosso la percentuale che ha risposto “poco”), la quasi totalità degli studenti ha risposto positivamente (46,8% ha risposto “molto” e 48,9% “abbastanza”). Solo il 4,3% pensa di aver potenziato poco le proprie competenze e nessuno ha risposto di non aver migliorato per nulla la manualità di laboratorio.

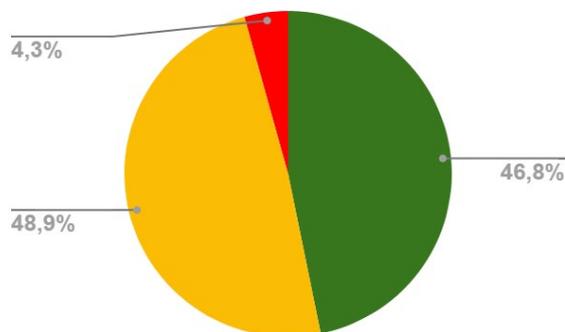


GRAFICO 2 - RISULTATI DELLE VALUTAZIONI DELLE COMPETENZE DI LABORATORIO

## **6. La pandemia e la sfida del trasferimento del corso in modalità DAD: il laboratorio online**

L'edizione del corso del 2020, a causa delle misure di contenimento dovute alla pandemia da COVID-19, si è svolta online. È stato difficile trasferire un corso di questo tipo, basato sulla sperimentazione in laboratorio, in un'attività da remoto, ma abbiamo accettato la sfida. Così la didattica di laboratorio ha lasciato il posto a una maggiore riflessione sul processo sperimentale che ha portato a una più grande consapevolezza sulle tematiche trattate e sull'innovazione tecnologica introdotta dal sistema CRISPR.

Per raggiungere l'obiettivo sono state utilizzate dirette con i tutor dal laboratorio, interviste ai ricercatori che lavorano sul campo, laboratori virtuali, moduli di interazione e di condivisione tra i partecipanti. Questo ha consentito agli studenti di vedere in diretta i luoghi dove si fa ricerca e di poter fare domande, interagendo maggiormente con i tutor e concentrandosi sulla parte sperimentale. Questo sforzo ha portato alla realizzazione di una diversa offerta formativa che consente di fruire del percorso anche per chi non può recarsi a Bologna. Gli iscritti all'edizione del 2020 sono stati 195, a testimonianza di un immutato interesse per gli argomenti trattati.

## **7. Discussione**

L'insegnamento delle STEM e in particolare delle scienze biologiche e biotecnologiche è caratterizzato da una componente tecnologica molto spiccata che necessita di una formazione specializzata. Non tutti gli istituti di istruzione secondaria sono dotati di laboratori attrezzati per la sperimentazione biologica, il che rende impossibile la pratica di laboratorio, importante per permettere la discussione sulle implicazioni sociali delle nuove tecnologie biomolecolari.

In questo lavoro abbiamo mostrato come un corso che integri lezioni frontali e un training pratico di livello superiore porti il fruitore (nel nostro caso principalmente studenti delle scuole secondarie di secondo grado) a un'esperienza diretta dell'efficacia delle tecnologie di modificazione del DNA (Gene Editing) e, a seguito di questo, a una riflessione profonda su temi di interesse ad alto impatto sociale. Questo è stato dimostrato dall'interesse suscitato dal corso e dai risultati del questionario di gradimento. Infatti, i dati relativi al 2019 (Grafico 1), in linea con i dati relativi agli altri anni, evidenziano come la grande maggioranza degli studenti apprezzi la strumentazione di laboratorio spesso non disponibile negli istituti di provenienza.

Un altro elemento valutato molto positivamente dagli studenti è il rapporto con il tutor di riferimento. Nel caso della Fondazione Golinelli, il rapporto tra lo studente e i tutor ricopre un ruolo fondamentale. Il tutor, come figura professionale, coinvolge lo studente portandolo al centro del problema sperimentale e lo guida alla risoluzione delle difficoltà incontrate e all'interpretazione dei risultati.

Dal questionario è emerso inoltre che un altro punto molto apprezzato dagli studenti è l'aspetto innovativo del corso. La combinazione tra gli approfondimenti

teorici e il percorso sperimentale garantisce l'efficacia del corso proposto, confermata dalla grande interazione registrata tra gli studenti, i tutor e i docenti universitari coinvolti.

Un altro elemento rilevato che ci offre indirettamente una valutazione del corso è stato infatti il grande numero di domande nei momenti di confronto e durante le presentazioni teoriche. Queste diventavano anche il punto di partenza per argomenti a più ampio respiro, dimostrando la trasversalità del corso e la sua capacità di suscitare dibattiti e riflessioni. Proprio la spontaneità di alcune di queste domande e il confronto avvenuto anche all'interno dei singoli gruppi dimostrano, a nostro parere, l'efficacia del contenuto pedagogico del corso. Infatti, come indicato precedentemente in questo articolo, la finalità ultima del percorso è quella di avere un impatto positivo sulla capacità critica dei partecipanti. Questo aspetto non è semplice da valutare pienamente, soprattutto per il suo effetto a lungo termine.

Sicuramente il corso, con i suoi differenti livelli di informazione, è strutturalmente avanzato: partendo dalla pratica inclusiva di laboratorio, consente agli studenti di riflettere su questo argomento da una posizione privilegiata.

Questo, in ultima analisi, dà maggiori strumenti ai ragazzi per affrontare un confronto con i loro coetanei a scuola o anche con adulti dentro e fuori dall'ambiente scolastico. Un dibattito che li vedrà arricchiti non solo di informazioni, ma di un senso critico alimentato dalla consapevolezza generata dall'aver sperimentato in prima persona queste tecnologie.

In conclusione, i dati che abbiamo ottenuto dai questionari somministrati agli studenti e dall'interazione degli studenti con i tutor, mostrano l'efficacia della modalità didattica presentata. Questa modalità va oltre la semplice presentazione di informazioni poiché porta lo studente al centro dell'esperienza scientifica grazie all'applicazione in prima persona della tecnologia oggetto di studio.

Riteniamo che il corso da noi progettato rappresenti quindi uno strumento valido, non solo per sviluppare una più profonda conoscenza scientifica, ma anche per formare i futuri cittadini della nostra società che, grazie alle riflessioni che li spronano a sviluppare il senso critico, saranno in grado di comprendere meglio i cambiamenti che metteranno in discussione i paradigmi attuali e di prendere decisioni informate e consapevoli.

## **Bibliografia**

AUSUBEL, F. M., BRENT, R., KINGSTON, R. E., MOORE, D. D., SEIDMAN, J. G., SMITH, J. A., & STRUHL, K. (2003). *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/mrd.1080010210>

COSTANTINO, N., & COURT, D. L. (2003). Enhanced levels of lambda Red-mediated recombinants in mismatch repair mutants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26), 15748–53. <https://doi.org/10.1073/pnas.2434959100>

DEWSBURY, B., & BRAME, C. J. (2019). Inclusive Teaching. *CBE Life Science Education*, 18(2). <https://doi.org/10.1187/cbe.19-01-0021>

HOSAKA, T., TAMEHIRO, N., CHUMPOLKULWONG, N., HORI-TAKEMOTO, C., SHIROUZU, M., YOKOYAMA, S., & OCHI, K. (2004). The novel mutation K87E in ribosomal protein S12 enhances protein synthesis activity during the late growth phase in *Escherichia coli*. *Mol Genet Genomics*, 271(3), 317–24. <https://doi.org/10.1007/s00438-004-0982-z>

JIANG, W., BIKARD, D., COX, D., ZHANG, F., & MARRAFFINI, L. A. (2013). RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nature Biotechnology*, 31(3), 233–9. <https://doi.org/10.1038/nbt.2508>

KLUG, A. (2010). The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annual review of biochemistry*, 79, 213–31. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-010909-095056>

MCDONALD, C. V. (2016). STEM Education: A review of the contribution of the disciplines of science, technology, engineering and mathematics. *Science Education International*, 27(4), 530–569.

<http://www.icaseonline.net/sei/december2016/p4.pdf>

MERRILL, C., & DAUGHERTY, J. (2009). The future of TE masters degrees: STEM [Conference presentation]. *Annual International Technology Education Association*, Louisville, KY, USA.

[https://digitalcommons.usu.edu/ncete\\_present/91/](https://digitalcommons.usu.edu/ncete_present/91/)

SABELLI, N. H. (2019). Complexity, technology, science, and education. *The Journal of the Learning Sciences*, 15(1), 5–9.

[https://doi.org/10.1207/s15327809jls1501\\_3](https://doi.org/10.1207/s15327809jls1501_3)

SPRINGER, B., KIDAN, Y. G., PRAMMANANAN, T., ELLROTT, K., BÖTTGER, E. C., & SANDER, P. (2001). Mechanisms of Streptomycin Resistance: Selection of Mutations in the 16S rRNA Gene Conferring Resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(10): 2877–2884. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2877-2884.2001>

THOMAS, K. R., & CAPECCHI, M. R. (1987). Site-directed mutagenesis by gene targeting in mouse embryo-derived stem cells. *Cell*, 51(3), 503–12. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90646-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90646-5)

YOSHIDA, K., & TREEN, N. (2018). TALEN-Based Knockout System. *Advances in experimental medicine and biology*, 1029, 131–139. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7545-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7545-2_12)

ZHANG, H. X., ZHANG, Y., & YIN, H. (2019). Genome Editing with mRNA Encoding ZFN, TALEN, and Cas9. *Molecular Therapy*, 27(4), 735–746. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.01.014>