



Mario Pezzotti

L'analisi del genoma di una specie permette di conoscere nei minimi dettagli il progetto genetico che controlla la vita degli individui, ma permette di avere una predizione solo teorica, in base a modelli matematici e statistici, di quali e quanti sono i geni potenzialmente attivi. L'insieme dei geni davvero espressi in un determinato momento e in una particolare condizione fisiologica costituisce il trascrittoma, ovvero l'insieme delle molecole di RNA (acido ribonucleico) presenti in ciascuna cellula e derivanti dalla trascrizione dei geni. A differenza del genoma, il trascrittoma è variabile e dinamico: mentre ogni cellula della pianta di vite possiede lo stesso genoma, il trascrittoma di una cellula del frutto è totalmente diverso da quello di una cellula della foglia. L'attivazione di geni diversi permette a ciascun tipo di cellula di vivere e svilupparsi secondo le sue peculiarità e di rispondere in maniera appropriata agli stimoli dell'ambiente esterno.

Questo tipo di conoscenza si può acquisire solo passando ad una fase di ricerca sperimentale che consente di studiare e capire il trascrittoma.

La decodifica del genoma della varietà Corvina clone 48 ha teoricamente predetto l'esistenza e la possibile attività di circa 30.000 geni. Fino a qualche anno fa, l'analisi globale del trascrittoma della Corvina avrebbe richiesto tempi di lavoro e investimenti economici improponibili: pensate a svolgere esperimenti, della durata di qualche mese ciascuno, su ogni singolo gene, per capire quando, come e in quali organi questo gene si attiva.

Negli ultimi cinque anni la ricerca genetica ha compiuto enormi progressi: potentissime e costosissime strumentazioni che impiegano nanotecnologie, hanno aperto la strada alla nuova era dell'analisi trascrittomica globale. E' ora possibile in tempi ragionevolmente brevi, studiare contemporaneamente tutti i geni attivi in una determinata condizione, in un unico esperimento.

Il Centro di Genomica Funzionale Vegetale dell'Università di Verona, sostenuto dalla Fondazione Cariverona, ha acquisito strumentazioni Combimatrix e NimbleGen basate su tecnologia "microarray". Il "microarray" o "gene chip" è in pratica una microscopica griglia sulla quale sono fisicamente portate le sequenze (sonde molecolari) che rappresentano tutti i geni di un organismo, per esempio tutti i geni di vite. Queste sono attaccate ad una superficie solida come vetro, plastica o "chip" di silicio e formano un "array" (raggruppamento). Per costruire le sonde molecolari di un microarray è fondamentale ovviamente conoscere la sequenza del genoma. Avendo quindi a disposizione il genoma di Corvina, e la predizione teorica dei geni in esso contenuti, abbiamo realizzato presso i nostri laboratori un microarray contenente tutti i possibili geni di questa varietà per studiarne il trascrittoma. Questo microarray rappresenta al momento lo strumento più avanzato esistente al mondo per valutare globalmente l'attività dei circa 30.000 geni di vite. Dopo aver prelevato dalle piante tessuti e organi in vari stadi è possibile, attraverso esperimenti piuttosto complessi, vedere fisicamente "accesi" o "spenti" i segnali luminosi emessi da ciascuna sonda molecolare, quando i geni sono attivi o quando non lo sono. L'intensità dell'emissione luminosa dà anche una misura di quanto ciascun gene sia attivo in un determinato campione.

Per comprendere l'attività genica globale della varietà Corvina abbiamo raccolto campioni da gemme, foglie, viticci, steli verdi e legnosi, infiorescenze, semi, bacche verdi e bacche rosse durante diversi stadi di sviluppo della pianta, nonché dalle bacche in appassimento. Da tutti questi campioni è stato estratto l'RNA, che contiene come detto i trascritti corrispondenti ai geni espressi. I risultati ci hanno mostrato complessivamente 18.214 geni attivi nei vari organi: significa cioè che buona parte del genoma non viene attivato nelle condizioni studiate, come risulta anche da studi in altre specie. Di questi geni attivi, 8530 sono comuni a tutti i campioni, e con circa 13.000 geni attivi mediamente in ciascun organo. Naturalmente è molto più interessante capire quali geni sono invece attivati specificamente solo in un organo: i dati ci dicono che relativamente pochi geni sono specifici delle foglie, dei viticci, degli steli, delle infiorescenze e degli acini verdi e rossi, mentre sono molto più numerosi i geni specifici delle gemme, dei semi e degli acini in appassimento. Questi organi, molto specializzati nelle loro funzioni, necessitano apparentemente dell'attivazione di programmi genetici complessi e specifici.

Il dato estremamente interessante e nuovo è che l'appassimento dei grappoli effettuato dai viticoltori veronesi, necessario per la produzione dell'Amarone, non è un processo passivo legato alla semplice disidratazione, ma è un processo biologico-tecnologico finemente controllato geneticamente e nel quale un cospicuo numero di geni (415) si attivano. Molti di questi sono geni necessari alla cellula per far fronte allo stress di appassimento, e alcuni, particolarmente importanti sono geni che controllano la produzione di metaboliti secondari e di aromi che caratterizzeranno il vino. Sono stati ad esempio identificati come geni specifici dell'appassimento il gene della beta amirina sintasi, che controlla nelle piante di liquirizia la biosintesi della glicirizzina - sostanza aromatica dolcificante - i geni strictosinidina sintasi e delta cadinene sintasi, che codificano precursori di una vasta gamma di molecole, sia aromatiche che di interesse farmaceutico. Inoltre sono presenti geni relativi al metabolismo dei polifenoli che portano alla sintesi del resveratrolo, composto molto noto per le sue proprietà salutistiche. Chiaramente siamo solo nella fase iniziale di uno studio che si è rivelato promettente; molte sono le possibilità di approfondimento, con lo specifico obiettivo di comprendere e interpretare scientificamente i fattori che concorrono alla qualità e alla tipicità della produzione viticola veronese.

Verona, 26 febbraio 2010