DOPPIOZERO

DNA. Colmare i vuoti

Pino Donghi
20 Aprile 2022

Curiosa data, quella del 1° Aprile, per annunciare una scoperta epocale: almeno qualcuno, almeno per qualche ora, si sarà chiesto chi fosse il burlone che aveva architettato la più importante, finta pubblicazione scientifica del 2022. Ma evidentemente non è tempo di scherzi, ancora tutti ammaccati come siamo dai due anni e più di Covid-19, e mentre ciò che sembrava appartenere ai libri di storia rigurgita acido ai confini del nostro vivere quotidiano.

Nessuno scherzo e anzi una grande notizia, importante, quella che viene annunciata nello "special issue" di Science del 1° Aprile 2022, con il titolo "*FILLING THE GAPS. Closing in on a complete human genome*". Titolazione in rilievo su un'immagine astratta quanto figurativa era stata quella del 16 Febbraio 2001, sempre su Science, dove un'elica con volti di età, sesso, etnie diverse confermava l'avvenuto (già allora!) sequenziamento dell'"Human Genome", annunciato in un'iconica conferenza stampa alla Casa Bianca il 26 Giugno dell'anno precedente, il primo del nuovo millennio, protagonisti J. Craig Venter, mente e motore di Celera Genomics Corporation e Francis Collins, lo scienziato a capo del consorzio pubblico del progetto HumanGenome.

Ad officiare l'allora Presidente degli Stati Uniti Bill Clinton, ben consapevole del rilievo mediatico che la sua composizione politica della corsa privato-pubblica – "Stiamo imparando il linguaggio usato da Dio nel creare la vita", così si espresse, con non dissimulata audacia – poteva fruttargli in termini di popolarità.Ventuno anni dopo, sembra di nuovo avvenire ciò che era già avvenuto giacché, evidentemente, quel "stiamo imparando" era un gerundio più che opportuno con riferimento ai segreti del genoma e, viene facile dire, in relazione a tutti segreti che l'indagine scientifica si prova a svelare.

Per capirne un po' di più e un po' meglio, abbiamo chiesto lumi a Carlo Alberto Redi, ordinario di Zoologia all'Università di Pavia, accademico dei Lincei, da sempre attento al valore sociale della divulgazione scientifica, autore insieme a Manuela Monti di alcuni volumi per Carocci, "*Genomica sociale. Come la vita quotidiana può modificare il nostro DNA*" e "*DNA. La vita in tre miliardi di lettere*" che possono aiutare non poco chi fosse curioso, non già di parlare la lingua di Dio, ma almeno di orientarsi meglio tra vari e ogni volta definitivi annunci. Da segnalare anche la cura di un volume collettaneo del 2021, per le edizioni del Collegio Ghisleri di Pavia, a venticinque anni dalla nascita della pecora *Dolly: la tecnica e il prodotto della tecnica*.

Eccoci di nuovo! Ventuno anni dopo il primo annuncio del completo sequenziamento del genoma umano, possiamo commentare una nuova tappa di questa impresa di ricerca e scoperta. Cos'è che sappiamo oggi di più e meglio di ciò che avevamo già capito appena all'inizio del nuovo millennio?

Grazie, e anche per l'opportunità di fare un po' di chiarezza. Non entro nel merito delle necessità della semplificazione giornalistica, termini come "completo" e "definitivo" ricorrono troppo spesso e sono, a ben vedere, inopportuni rispetto a qualsiasi impresa di ricerca. E benché io appartenga alla generazione che si

chiedeva come conquistare l'attenzione della casalinga di Voghera (Arbasino *docet*), pure mi corre l'obbligo di invitare chi si occupa di informazione scientifica ad astenersi da annunci definitivi: la scienza è *in progress* o non è! Il genoma umano non era completo nel 2001 come non è completo quello appena oggetto della pubblicazione su Science: in realtà, ma ci tornerò più volte, c'è un sacco di lavoro da fare e anche molto interessante.

La premessa mi pare d'obbligo. Ora però, attribuzioni giornalistiche a parte, c'è stato effettivamente un significativo avanzamento nella conoscenza del genoma?

Senza alcun dubbio. Da oggi abbiamo una visione più completa, quasi totale, sequenza per sequenza, di quelle porzioni di DNA che avevamo già "visto" grazie alle diverse tecniche usate, a cavallo del millennio, dall'impresa di J. Craig Venter e dal consorzio di Francis Collins. Nel 2001 c'erano ancora dei buchi molto grandi per le sequenze di DNA ripetute, e questo forse vale la pena spiegarlo. I sette miliardi e passa di lettere arrotolate nella famosa doppia elica, accoppiate di necessità AT, CG – Adenina-Timina e Citosina-Guanina – si presentano a volte in una sequenza lineare e unica ma spessissimo in sequenze ripetute, in ragione di come si è evoluta la formazione dei genomi che giocano spesso, se così si può dire, con sistemi trasponibili, che si ripetono, sistemi che diventano ridondanti e non espressi: di fatto più del 98% del genoma non è espresso. Noi avevamo dei buchi enormi su queste sequenze ripetute che sono molto importanti nel loro significato evolutivo, andando ad organizzare la struttura del genoma e cioè le porzioni finali, in gergo telomeriche, e quelle centrali, centromeriche, porzioni che sono strutturalmente utili al genoma per esprimersi singolarmente nelle cellule con le proteine, poi nei tessuti, negli organi, negli organismi. Ora, finalmente, quelle porzioni di DNA fortemente ripetuto le conosciamo, nessun buco, al posto di una generica N vediamo invece le lettere corrispondenti alle quattro basi di cui impariamo a scuola.

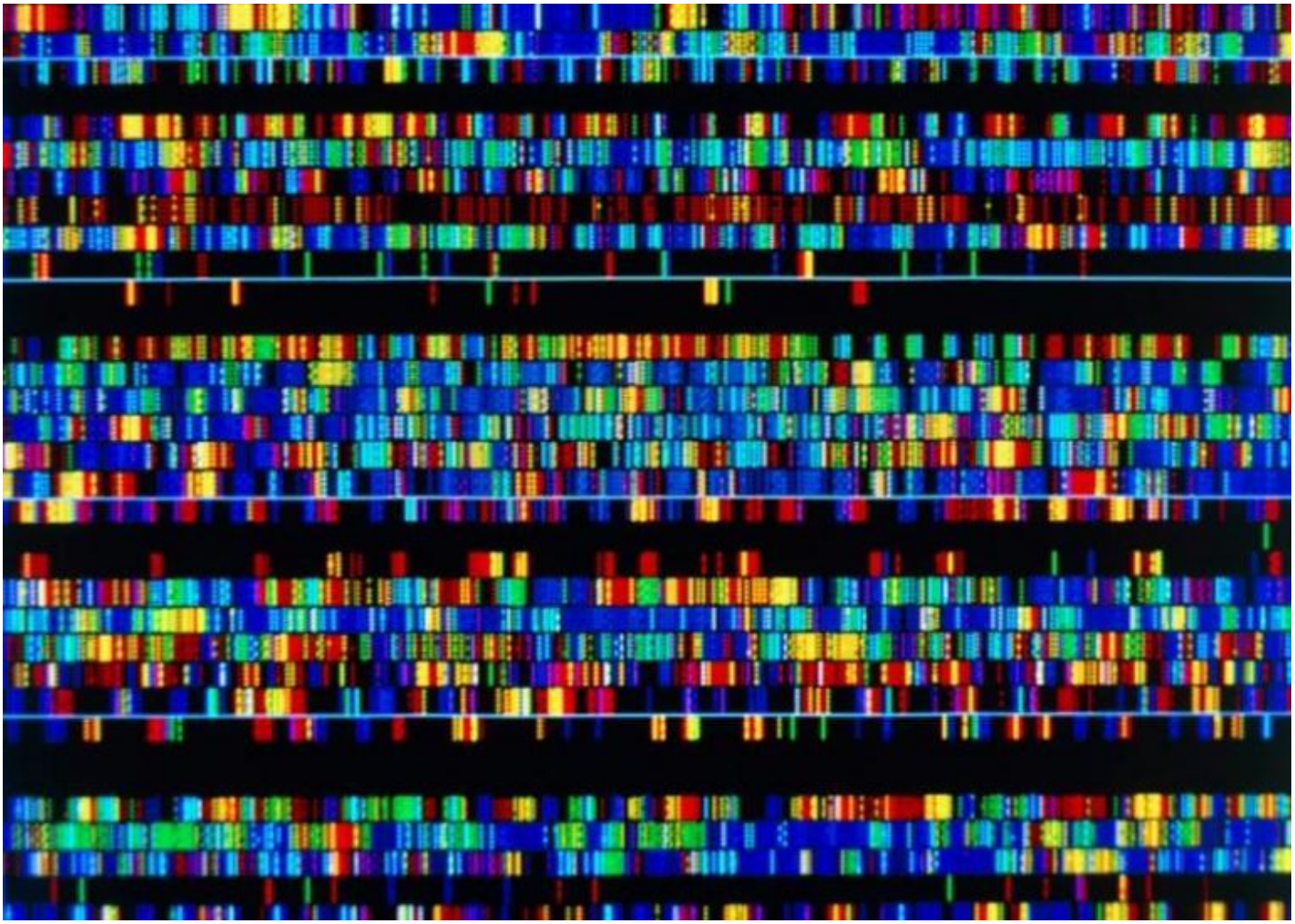
Come siamo riusciti a riempire questi buchi, com'è che oggi possiamo leggere tutto il messaggio?

Due aspetti. Certamente perché in vent'anni le tecnologie di sequenziamento si sono enormemente evolute, siamo in grado di sequenziare in maniera più precisa ma soprattutto di sequenziare pezzi lunghi, molto lunghi di genoma; con le tecniche precedenti ci dovevamo limitare a tratti brevi, ciò che comportava errori, specialmente laddove una sequenza è ripetuta molte volte le serie potevano accavallarsi, si creavano equivoci, confusione nella lettura. Ora siamo in grado di fare letture lunghe o ultra lunghe, e questo permette sia di evitare errori ma soprattutto di sequenziare i tratti di DNA ripetuto che sta nei telomeri e nei centromeri. Di questo aspetto si è letto in tutta l'informazione al grande pubblico che ha dato conto del nuovo avanzamento. Ma per arrivare a una grande scoperta scientifica l'evoluzione tecnica, in genere, non è sufficiente, ci vuole una nuova idea concettuale. Da questo punto di vista i due biologi ricercatori che hanno lanciato il progetto T2T (da telomero a telomero, da estremità a estremità), Karen Miga, della Università della California a Santa Cruz e Adam Phillippy, del National Human Research Institute, hanno avuto una grandissima intuizione di cui nella stampa non specialistica non mi pare si sia parlato. Hanno pensato di utilizzare un diverso reagente biologico: tecnologia avanzatissima ma diverso reagente biologico di partenza.

Immagino lei si riferisca al "corpus", chiamiamolo così, di DNA preso in esame. Nel 2011, la copertina di Science ci ridava l'immagine stilizzata dei 6 "tipi" relativi alle 11 persone che avevano messo a disposizione il loro DNA: un anziano e un neonato, altri due uomini di cui uno di colore, due donne di cui una con tratti orientali.

Esattamente. L'idea di Miga e Phillippy, invece, è stata quella di utilizzare quella che in anatomia si chiama una "mole idatiforme", e che era stata raccolta 20 anni prima e conservata in un reagentario di anatomia patologica. Anticipo la domanda della casalinga di Voghera. La mole idatiforme è qualcosa di cui si insegna

e si impara nelle lezioni di istologia e embriologia: per i biologi fa parte del corso base, i medici la incontrano al secondo, terzo anno. Di cosa si tratta? Succede a volte, purtroppo, che lo zigote non si componga con il contributo dei 23+23 cromosomi paterni e materni ma si formi solo con il corredo o dell'uno o dell'altro: come si può facilmente immaginare, ciò che in anatomia è una struttura, in embriologia ha un esito abortivo e anche di una certa qual pericolosità per la gestante. Sicché ciò che, sfortunatamente, non è in grado di nascere e vivere, può però risultare utile per la ricerca.



E infatti: se come reagente biologico, ovvero il genoma da sequenziare, si prende quello di uno dei 6 individui tipo che abbiamo appena ricordato, quel genoma ha dentro tutta la variabilità che è possibile ereditare dal padre o dalla madre, a volte avendo un allele materno, in un'altra sequenza quello paterno. Nel caso della mole idatiforme, invece, abbiamo a che fare con un genoma che costitutivamente non presenta variazioni alleliche: le sequenze di nucleotidi sono di un solo tipo. Questo diverso "campione" elimina la possibilità di cadere in errore confondendo la provenienza allelica, e permette invece la lettura del genoma punto per punto, nucleotide per nucleotide, in maniera tanto precisa quanto favorevole è, appunto, il reagente biologico. La "trovata" concettuale, l'idea di ricerca è stata quella semplicissima – tutto diventa sempre facile quando qualcun altro lo pensa per la prima volta – di sequenziare un genoma che presentasse implicitamente meno confusione.

È lecito avventurarsi con una metafora?

Rischiamo, via! Se io prendo questo brano della *Recherche*, "Appartenenti alla piccola nobiltà di provincia legata ai Guermantes, i Cambremer costituiscono una delle quattro baronie della Bretagna" e lo penso come una sequenza di lettere dell'alfabeto e lo riscrivo, e lo ripeto più volte… se il brano/sequenza appartiene ad una mole idatiforme, osserverò tante identiche ripetizioni; se quella stessa sequenza di lettere, invece, proviene dal mio genoma, che si è composto dal corredo di mio padre e di mia madre, una volta magari leggerò **G**uermantes, un'altra **g**uermantes: stessa lettera dell'alfabeto ma una volta maiuscola, la seconda in minuscolo. Queste varianti alleliche confondono il sequenziamento, lo rendono impreciso. Miga e Phillippy hanno avuto l'idea di misurarsi con un genoma che non contenesse implicitamente l'opportunità di far confusione tra i diversi alleli.

In questo senso è "completo" ed è ancora più completo di quello del 2001.

E cosa possiamo fare oggi più e meglio di quello che abbiamo potuto fare nei precedenti venti anni?

Moltissimo, tantissimo. Avendo letto, senza possibilità di errore, come si costituiscono i telomeri e i centromeri, adesso sì che possiamo andare a studiare tutta la variabilità umana. Ora possiamo guardare dentro quegli individui che avevano donato il loro DNA, dentro l'asiatico, dentro quello di colore, nel neonato, nell'anziano, nella donna caucasica e in quelle orientali… ora possiamo affrontare la variabilità.

Per il puro avanzamento della conoscenza?

Per il piacere della scoperta, certo. Ma anche per le applicazioni: "la tecnica e il prodotto della tecnica", come raccontiamo nel volume per i 25 anni di Dolly. Le applicazioni non si contano ma fermiamoci alla più ovvia: la conoscenza delle malattie. Se si escludono le monogeniche, a volte gravissime ma che si contano nel palmo di una mano, forse due, tutte le altre, quelle complesse – ipertensione, diabete, tumore… la lista è infinita – sono poligeniche, determinate dall'espressione di una valanga di geni. Indagare per conoscere la variabilità, ora che possiamo confrontarla con il calco base, può aiutarci a leggere dentro una coorte di pazienti arruolati, per identificare i tratti dove si esprimono alcune differenze e verificando poi se le correlazioni sono significative. È questa la strada della medicina personalizzata di cui si parla da parecchi anni. Oggi il sequenziamento del mio personale genoma costa qualcosa come 1000 €: fino a ieri era non molto più di una curiosità. Oggi posso confrontare il mio genoma con un riferimento che mi dice com'è costituito il telomero e il centromero di tutti i cromosomi. Si tratta di un avanzamento fondamentale. Con la lente d'ingrandimento del T2T, ora possiamo andare a leggere il più largo numero di genomi in tutta la loro variabilità presente sul pianeta terra: alti, bassi, malati, sani, delle tante etnie, meticci… e quando nello specifico osservo una coorte di 100 individui che presentano la tal patologia, posso vedere qual è il contesto genomico che è incline a esprimere una certa malattia.

Serviranno molto genomi.

È un punto dirimente. Ci deve essere una chiamata di responsabilità, un appello alla generosità. Capisco bene il richiamo alla privacy, in molti campi non è derogabile. Ma io credo che noi tutti abbiamo il dovere di far conoscere qual è la "nostra" sequenza per contribuire alla costruzione dell'enciclopedia del genere umano, alla consultabilità della sua biblioteca: completa sì, in questo senso si può ben dire! Di fronte alla potenzialità che intravediamo dietro la pubblicazione dei *papers* su Science, c'è un reale, tangibile beneficio per tutti. Un riferimento personale: sono appena, di nuovo, diventato nonno, con una battuta vorrei dire che è mio dovere quello di diventare un bravo antenato.

Flash-back: se quello dello scorso 1° Aprile è stato l'ultimo traguardo, quali le principali tappe di questa affascinante corsa della conoscenza?

Alcune date e qualche nome. Nel 1869 un chimico svizzero di nome Friederich Miescher estrae dalle bande usate per medicare ferite infette una sostanza biancastra che lui chiama "nucleina": lo stesso Miescher suggerirà che la nucleina sia una sostanza adatta a immagazzinare il fosforo cellulare. La nucleina diventerà poi l'"acido timo-nucleico" e, negli anni '20 del '900, si comincerà a parlare di un "principio trasformante". Che quel principio è il DNA diventerà chiaro solo nel 1944 grazie al lavoro di Oswald Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty.

Poi, certo, l'aprile del 1953 dei due paper di Watson e Crick sulla struttura del DNA, quelli con l' *understatement* del secolo, "Non abbiamo mancato di notare che l'appaiamento specifico da noi postulato suggerisce implicitamente un possibile meccanismo di copiatura del materiale genetico". *Quite!* Non sono uno storico della Scienza ma non mancherò di ricordare anche tutta la polemica che, a distanza di quasi settant'anni, accompagna ancora i contributi di quei due giganti con riferimento al ruolo di Maurice Wilkins, che condivise il Nobel con Crick e Watson, e di Rosalind Franklin che morì di un tumore nel 1957, prima che il riconoscimento alla scoperta arrivasse da Stoccolma nel 1962… e che forse non l'avrebbe comunque ottenuto. Materia, appunto, per la storia della scienza e la storia di genere.

Direi poi la fondamentale "scoperta" – ci torno più tardi – della PCR da parte di Kary Mullis, Nobel nel 1993 (ma le ricerche erano cominciate dieci anni prima) per la rivoluzione del *metodo della reazione a catena della polimerasi* (o PCR, appunto).

Mi permetterei di raccomandare ancora la lettura del suo "*Ballando nudi nel campo della mente*" che, oltretutto, racconta della singolarissima figura di uno scienziato che attribuiva all'uso di LSD la capacità di "vedere i singoli oligonucleotidi mentre reagivano". Il Progetto Genoma Umano, il cui esito abbiamo ricordato appena all'inizio di questa conversazione, si deve anche all'impulso di un nostro Nobel, il grande Renato Dulbecco, e forse non si deve mai smettere di ricordare che tre Nobel della medicina italiani, Salvador Luria, Renato Dulbecco e Rita Levi-Montalcini, furono tutti e tre allievi di un unico grande maestro, il torinese Giuseppe Levi, se non bastasse anche padre di Natalia Ginzburg: quando si dice del valore di un "buon maestro"! Il resto è la cronaca che stiamo commentando. Ma visto che ho consigliato la lettura di qualche volume, e anche di quelli da me redatti insieme a Manuela Monti di cui alla sua introduzione, mi lasci anche suggerire il *Sillabario di Genetica per Principianti* dell'amico, collega Guido Barbujani, per i tipi di Bompiani. Se si volesse, e si dovrebbe tutti, capire qualcosa di più della rivoluzione cui stiamo assistendo, i testi di cui abbiamo dato conto possono essere un buon punto d'attacco.

A proposito del Progetto Human Genome, ricordo anche le critiche puntute e politicamente militanti di Dick Lewontin.

Grandissimo genetista delle popolazioni, uomo di cultura straordinaria. Io non mi associo, nemmeno ex-post, alla sua critica, ovvero all'invito che rivolgeva a cavallo tra gli anni '80 e i '90 in volumi che hanno trovato giusta eco anche da noi, come il suo *Biologia come ideologia: la dottrina del DNA* (Boringhieri, 1993). Rimane che la sua critica al determinismo genetico era necessaria giacché, se l'impresa andava portata avanti, su questo non ho dubbi, andava anche chiarito che per quella strada non si arrivava, come non si arriva, al gene dell'omosessualità. L'espressione di ogni gene è epigenetica, dipende dal contesto ambientale in cui il genoma si trova ad esprimersi. Se fosse diversamente, saremmo già tutti Matusalemme e ogni cosa sarebbe chiara. La genomica è sociale, come appunto al titolo del mio volume con Manuela Monti.

La genomica è sociale e la natura è artificiale: un ossimoro di cui avete scritto spesso, forse anche con un po' di divertimento.

Ma perché la scienza è divertente. Non smetto mai di confermarlo a me stesso e ai giovani che si affacciano nelle nostre aule. E sì, la natura è artificiale, un modo paradossale per dire che i nostri artefatti copiano dalla Natura: ciò che "inventiamo" in realtà è una scoperta. Noi, molto spesso, riproponiamo in maniera artificiale acquisizioni sul funzionamento naturale. Basta pensare a come si sono costituiti i nostri genomi, come si sono "costruiti", a come si sono evoluti. Facevo riferimento alla PCR, all'"invenzione procedurale" di Kary Mullis. Ma la PCR "accade in natura", altrimenti come potremmo spiegare tutta quella quantità di geni ripetuti nel nostro genoma?

Nella sua riflessione, in effetti, l'artificiale si presenta in maniera contro intuitiva. E la hubris? E come la mettiamo con il timore prometeico?

Pian piano stiamo prendendo confidenza con ciò che è nelle capacità della Natura, stiamo sempre più convintamente facendoci Prometeo, eventualità che a me non spaventa affatto, riproponendo artificialmente in laboratorio ciò che è accaduto nelle nostre cellule nel corso del tempo, durante il tempo profondo dei processi evolutivi. Un esempio dalla "quasi" attualità. Oggi siamo giustamente entusiasti delle potenzialità della tecnologia CRISPR-Cas9 premiata con il Nobel a Jennifer Doudna e a Emanuelle Charpentier nel 2020: servirà in medicina, in ambito energetico, nella produzione delle vernici, in quella della produzione di benzine. Un'invenzione? Ma l'avevamo sotto gli occhi! Sicuramente anche sotto quelli di Francisco Mojica, a Valencia, quando osservava la vita dei batteri ipersalinici (ndr: per chi volesse approfondire, in italiano è raccomandabile, Anna Meldolesi, *E l'uomo creò l'uomo. CRISPR e la rivoluzione dell'editing genomico*, Bollati Boringhieri, nuova edizione ampliata, 2021). Che cosa ha di artificiale un genoma di una pianta nel quale siano state cambiate delle basi del DNA di un gene così da aumentarne la resa o per rendere la pianta resistente a un parassita?

Come scriviamo nel nostro *DNA La vita in tre miliardi di lettere*: "Nulla i due genomi sono indistinguibili e rappresentano variabili minime rispetto alla variabilità che la natura è stata ed è in grado di creare nel mondo naturale". La natura è artificiale da sempre e forse – ripeto ciò che abbiamo già argomentato – sarebbe più utile e proficuo un dibattito sulle categorie "sicuro/pericoloso" o "uguaglianza/disuguaglianza": naturale/artificiale è opposizione categorica che ha smesso di essere rilevante.

E se lasciamo le piante e torniamo a Homo Sapiens: come spiegarsi altrimenti quelle 3mila ripetizioni TTAGGG nei nostri telomeri, quegli elementi trasponibili come fossero OGM se non perché siamo noi stessi OGM, organismi geneticamente modificati da quel grande, costante esperimento biologico che è l'evoluzione? Siamo pieni di elementi trasponibili che saltano di qui e di là. Se solo si riflettesse a come e quanto questa consapevolezza potrebbe evitare qualsiasi riferimento a una non meglio definita razza ariana, a qualsiasi razza di fatto: siamo tutti OGM, altro che purezza dell'uomo bianco!

Tutto ciò che rubrichiamo come tecnica riflette quel che via via comprendiamo di come funziona la Natura. Se mi è concessa una battuta, bisognerebbe riformulare il significato del termine "copy-right" nella sua traduzione letterale: bisogna imparare e mai smetter di "copiare-bene". Che c'è di male nel copiare dall'evoluzione?

Genoma, società, naturale, artificiale, sembra un po' il dilemma dell'uovo e la gallina: da dove si parte?

Ma dall’uovo, ci mancherebbe! La gallina è lo strumento che l’uovo ha inventato per propagarsi. Discorso lungo, basterebbe pensare a come si organizzano i virus… magari per un'altra occasione!

La verità, almeno una verità, è quella che profetizzava Umberto Veronesi. “I medici del domani saranno un po’ tutti genetisti”. Lavori come quelli apparsi su Science corroborano la previsione. Ci avviamo verso la medicina delle quattro “P”: personalizzata, preventiva, predittiva, partecipativa. Ognuno dovrà essere trattato come individuo unico (prima P), quel qualcuno potrà conoscere la sua matrice ereditaria (seconda P) e capire come assecondarla o combatterla (terza P). Infine la quarta, la partecipazione… non più medici *ex cathedra* ma condivisione e consapevolezza. Ogni avanzamento di conoscenza ci rende più liberi.

Se continuiamo a tenere vivo questo spazio è grazie a te. Anche un solo euro per noi significa molto.
Torna presto a leggerci e SOSTIENI DOPPIOZERO